(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 201992074 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.02.27

(22) Дата подачи заявки
2018.03.07

(51) Int. Cl. *A61K 47/10* (2017.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 31/4965 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ СЕЛЕКСИПАГ

(31) **PCT/EP2017/055406**
(32) **2017.03.08**
(33) **EP**
(86) **PCT/EP2018/055551**
(87) **WO 2018/162527 2018.09.13**

(71) Заявитель:
АКТЕЛИОН ФАРМАСЬЮТИКЛЗ ЛТД (CH)

(72) Изобретатель:
Хеллербранд Клаус (DE), Шликкер-Шпайн Александра (CH)

(74) Представитель:
Веселицкая И.А., Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)

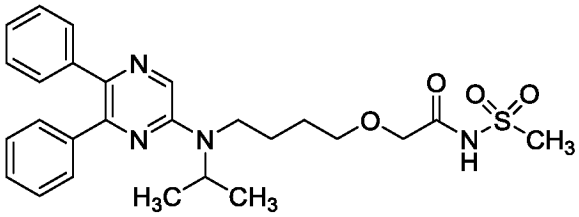
(57) Настоящее изобретение относится к водным фармацевтическим композициям, содержащим соединение 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамид; глицин; полисорбат 20; и водный фосфатный буфер, причем относительные количества соответствуют приведенному выше описанию, при этом значение pH указанной фармацевтической композиции составляет от около 7 до 8; к лиофилизированным фармацевтическим композициям, полученным из указанных водных композиций, и к их разведенным водным композициям, которые приемлемы для в/в введения. Изобретение дополнительно относится к способам получения указанных композиций и к их применению для лечения заболеваний и расстройств, относящихся к рецептору IP.

201992074 A1

201992074 A1

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ СЕЛЕКСИПАГ

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамид (селексипаг, NS-304, ACT-293987; далее в данном документе «СОЕДИНЕНИЕ»), которые приемлемы для внутривенного (в/в) введения.



Селексипаг

Получение и медицинское применение селексипага и его активного метаболита 2-(4-((5,6-дифенилпиразин-2-ил)(изопропил)амино)бутокси)уксусной кислоты (MRE-269, ACT-333679) описаны в WO2002/088084; WO2009/157396; WO2009/107736; WO2009/154246; WO2009/157397; WO2009/157398; WO2010/150865; WO2011/024874; Nakamura et al., Bioorg Med Chem (2007), 15, 7720–7725; Kuwano et al., J Pharmacol Exp Ther (2007), 322(3), 1181–1188; Kuwano et al., J Pharmacol Exp Ther (2008), 326(3), 691–699; O. Sitbon et al., N Engl J Med (2015), 373, 2522–33; Asaki et al., Bioorg Med Chem (2007), 15, 6692–6704; Asaki et al., J. Med. Chem. (2015), 58, 7128−7137. Некоторые составы описаны в WO2013/024051 и WO2014/069401.

Конкретно, селексипаг или его активный метаболит могут использоваться в качестве профилактического или терапевтического агента при язве, язве пальцев, диабетической гангрене, диабетической язве стопы, пролежневой язве (пролежне), гипертензии, легочной гипертензии, легочной артериальной гипертензии, болезни Фонтена и легочной гипертензии, ассоциированной с болезнью Фонтена, саркоидозе и легочной гипертензии, ассоциированной с саркоидозом, нарушении периферического кровообращения (например, хронической окклюзии артерии, перемежающейся хромоте, периферической эмболии, вибрационном синдроме, болезни Рейно), заболевании соединительной ткани (например, системной красной волчанке, склеродермии, смешанном заболевании соединительной ткани, васкулитном синдроме), реокклюзии/рестенозе после чрескожной транслюминальной коронарной

ангиопластики (PTCA), артериосклерозе, тромбозе (например, тромбозе сосудов головного мозга в острой фазе, легочной эмболии), транзиторной ишемической атаке (TIA), диабетической нейропатии, ишемическом расстройстве (например, инфаркте головного мозга, инфаркте миокарда), стенокардии (например, стабильной стенокардии, нестабильной стенокардии), хронических заболеваниях почек, включая гломерулонефрит и диабетическую нейропатию на любой стадии, аллергии, бронхиальной астме, рестенозе после коронарного вмешательства, такого как атерэктомия и имплантация стента, тромбоцитопении после диализа, заболеваниях, при которых наблюдается фиброз органов или тканей [например, заболеваниях почек (таких как тубулоинтерстициальный нефрит), респираторных заболеваниях (например (обычной) интерстициальной пневмонии / (идиопатическом) легочном фиброзе, хронической обструктивной болезни легких), заболеваниях пищеварительного тракта (например, гепатоциррозе, вирусном гепатите, хроническом панкреатите и скиррозном раке желудка), сердечно-сосудистых заболеваниях (например, миокардиальном фиброзе), заболеваниях костей и суставов (например, фиброзе костного мозга и ревматоидном артрите), заболеваниях кожи (например, рубце после операции, рубце после ожога, келоиде и гипертрофическом рубце), гинекологических заболеваниях (например, гистеромиоме), заболеваниях мочевой системы (например, гипертрофии простаты), других заболеваниях (например, болезни Альцгеймера, склерозирующем перитоните, сахарном диабете I типа и образовании спаек между органами после операции)], эректильной дисфункции (например, диабетической эректильной дисфункции, психогенной эректильной дисфункции, психотической эректильной дисфункции, эректильной дисфункции, ассоциированной с хронической почечной недостаточностью, эректильной дисфункции после внутритазовой операции по удалению предстательной железы и сосудистой эректильной дисфункции, ассоциированной со старением и атеросклерозом), воспалительном заболевании кишечника (например, язвенном колите, болезни Крона, туберкулезе кишечника, ишемическом колите и язве кишечника, ассоциированной с болезнью Бехчета), гастрите, язве желудка, ишемической офтальмопатии (например, окклюзии артерии сетчатки, окклюзии вены сетчатки, ишемической нейропатии зрительного нерва), внезапной потере слуха, аваскулярном некрозе кости, повреждении кишечника, вызванном введением нестероидного противовоспалительного средства, и симптомах, ассоциированных со стенозом поясничного отдела позвоночного канала.

Показано, что селексипаг эффективен при лечении легочной артериальной гипертензии. В клиническом исследовании фазы III у пациентов с легочной артериальной гипертензией риск развития первичной комбинированной конечной точки, представляющей собой смерть или осложнение, связанное с легочной артериальной гипертензией, был существенно ниже у пациентов, получавших селексипаг, чем у пациентов, получавших плацебо. Селексипаг получил разрешение на продажу, например в США, и предназначен для лечения легочной артериальной гипертензии (ЛАГ, группа I ВОЗ) для замедления прогрессирования заболевания и снижения риска госпитализации по поводу ЛАГ.

До настоящего времени использовались стандартные таблетированные составы селексипага с пленочным покрытием, предназначенные для перорального введения два раза в день, причем эксципиенты содержат D-маннитол, кукурузный крахмал, низкозамещенную гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу и стеарат магния; и таблетки, покрытые пленочной оболочкой, содержащей гипромеллозу, пропиленгликоль, диоксид титана, карнаубский воск и смеси оксидов железа.

Считается, что селексипаг функционирует как пролекарство (сам по себе обладая некоторой агонистической активностью в отношении рецептора IP), которое может проявлять продолжительную селективную активность агониста рецептора IP в форме активного метаболита 2-(4-((5,6-дифенилпиразин-2-ил)(изопропил)амино)бутокси)уксусной кислоты у млекопитающих, особенно людей. Метаболизм селексипага in vivo может эффективно выступать в качестве своего рода «медленно высвобождающего механизма», который потенциально продлевает активность и снижает типичные нежелательные эффекты, связанные с высокими концентрациями агонистов PGI2 (Kuwano et al., J Pharmacol Exp Ther (2007), 322(3), 1181–1188).

Нежелательные эффекты, связанные с агонистами PGI2, также устраняются с помощью конкретной схемы повышения дозы. Рекомендуемая начальная доза перорального селексипага составляет 200 микрограмм два раза в день. Затем дозу повышают с приращением 200 микрограмм (два раза в день), как правило с недельными интервалами, до наивысшей переносимой дозы не более 1600 микрограмм два раза в день. Если пациент достигает дозы, которую не может перенести, дозу необходимо снизить до предыдущей переносимой дозы.

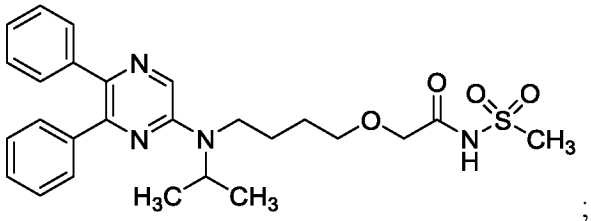
В некоторых случаях применение перорального состава селексипага может быть неподходящим или невозможным (например, при оказании неотложной помощи или в

том случае, если пациент по каким-либо причинам не в состоянии глотать таблетку). Более того, лечение некоторых заболеваний может требовать только краткосрочного лечения или лечения, включающего чередующиеся периоды лечения / отсутствия лечения, и в этом случае вышеупомянутая схема повышения дозы может быть неподходящей. Такие заболевания могут включать в себя, например, язву, язвы пальцев, диабетическую гангрену, диабетические язвы стопы, пролежневые язвы (пролежни), нарушения периферического кровообращения и т. д. Таким образом, существует необходимость в разработке стабильного и воспроизводимого в/в состава селексипага. В исследовании фазы 1 «Абсолютная пероральная биодоступность селексипага, нового перорального агониста простациклинового рецептора IP у здоровых пациентов» селексипаг в целом хорошо переносился при пероральном введении или в/в инфузии (N. Hurst, P. Kaufmann, M. Richard, B.Astruc, J. Dingemanse, стендовый доклад, представленный на ежегодном собрании Американского колледжа клинической фармакологии, 25–27 сентября 2016 г., г. Бетесда, США). Более того, 15 июня 2017 г. был представлен доклад «Исследование безопасности перехода с перорального селексипага на внутривенный селексипаг у пациентов со стабильной легочной артериальной гипертензией» (https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03187678). Определенные сложности при разработке такого в/в состава, содержащего селексипаг, возникают в связи с тем, что требуемая доза селексипага в день, чаще всего, находится в микрограммовом или одноразрядном миллиграммовом диапазоне, что требует жесткого количественного контроля введенной дозы. Например, адсорбция активного ингредиента на шприцах или трубках может оказывать влияние на пригодность в/в состава селексипага. Кроме того, из-за природы селексипага, являющегося гидролизуемым пролекарством, в таком в/в составе следует предотвращать преждевременный гидролиз до активного метаболита. Таким образом, стабильность, включая химическую стабильность, может быть другим важным критерием для выбора фармацевтической композиции, приемлемой для внутривенного введения.

В настоящее время обнаружено, что только некоторые композиции, содержащие селексипаг, наполнитель, детергент и буфер, приводят к получению химически и физически стабильных водных составов, которые можно воспроизводимо лиофилизировать в стабильную сухую массу и развести в контролируемую композицию, подходящую для в/в введения. Абсорбции активного ингредиента трубками и шприцами можно избежать.

1) Первый вариант осуществления относится к водной фармацевтической композиции, содержащей:

- от около 0,1 г/кг до 1 г/кг, в особенности около 0,5 г/кг (в отношении общей массы указанной водной фармацевтической композиции) соединения: 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида:



;

- от около 2,5% масс. до 10% масс. наполнителя, который представляет собой глицин (а именно от около 3% масс. до 6% масс. глицина; в особенности около 5% масс. глицина) (т. е. около 25–100 г/кг; в частности около 30–60 г/кг, в особенности около 50 г/кг глицина);
- от около 0,05% масс. до 0,4% масс. детергента, который представляет собой полисорбат 20 (в частности, от около 0,1% масс. до 0,3% масс. полисорбата 20; в особенности около 0,1, 0,2 или 0,3% масс. полисорбата 20) (причем используется предпочтительно около 5–40 г/кг; в частности от около 10 до 30 г/кг; в особенности около 10, 20 или 30 г/кг около 10% масс. водного раствора полисорбата 20); и
- водный фосфатный буфер (в особенности водный фосфатно-натриевый буфер (т. е. водный буфер, состоящий из H_3PO_4 и NaOH)), причем общее количество указанного фосфатного буфера составляет от около 5 ммоль/кг до 20 ммоль/кг (относительно общей массы указанной водной фармацевтической композиции), в частности около 10 ммоль/кг;

причем значение pH указанной водной фармацевтической композиции составляет от около 7 до 8 (в частности, pH составляет 7,5 ± 0,3; в особенности 7,5 ± 0,2).

Настоящие композиции в соответствии с вариантом осуществления 1) представляют собой жидкие изотропные смеси, которые содержат СОЕДИНЕНИЕ в форме свободного основания. СОЕДИНЕНИЕ можно использовать для получения настоящих композиций в аморфной, или в одной или более кристаллических формах, или в смесях аморфной и кристаллической форм. Кристаллические формы могут быть безводными,

сольватными или гидратированными. Такие морфологические формы включены в объем СОЕДИНЕНИЯ. Предпочтительно СОЕДИНЕНИЕ используется в кристаллической форме. Композиции настоящего изобретения охватывают СОЕДИНЕНИЕ в по существу чистой форме. Количество СОЕДИНЕНИЯ может быть скорректировано с учетом фактической химической чистоты или наличия сольвата или гидрата СОЕДИНЕНИЯ.

Термин «наполнитель» относится к веществу или компоненту, который химически совместим с активным фармацевтическим ингредиентом и с дополнительными эксципиентами композиции и который добавляет лиофилизированной композиции массу. Наполнитель, подходящий для фармацевтических композиций в соответствии с вариантом осуществления 1) настоящего изобретения, представляет собой глицин. К наполнителям, обычно используемым в фармацевтических композициях, относятся, например, маннитол, трегалоза, L-пролин и поливинилпирролидон.

Эксципиент полисорбат 20 или полиоксиэтилен (20) сорбитана монолаурат, используемый в рамках объема настоящего изобретения, относится к коммерчески доступному полисорбату 20 (№ CAS 9005-64-5, E 432), предпочтительно Tween® 20 / Tween® 20 EMPROVE® от компании Croda Americas / Merck Chemicals. Альтернативные коммерческие формы полисорбата 20 представляют собой, например, Armotan® PML 20; Capmul® POE-L; Crillet™ 1; Eumulgin® SML 20; Glycosperse® L-20; Liposorb® L-20; Montanox™ 20; Nonion® LT-221; Ritabate 20; Sorbax PML-20; T-Maz® 20; Protasorb™ L-20; Tego® SML 20; Alkest® TW 20; Wilsurf® TF-20.

Полисорбат 20 может быть определен как (неионный) детергент / эмульгатор / поверхностно-активное вещество. Детергенты, в особенности присутствующие на рынке продукты-детергенты, обычно не являются чистыми соединениями, но могут представлять собой довольно сложные смеси соединений, содержащие один основной детергентный компонент. Полисорбат 20, например, представляет собой неионный детергент типа полисорбата, образованный путем этоксилирования сорбитана перед добавлением лауриновой кислоты. В ходе процесса этоксилирования образуется молекула с 20 повторяющимися звеньями полиэтиленгликоля; на практике они распределены по 4 различным цепям, обеспечивая коммерческий продукт, содержащий ряд химических веществ. Полисорбат 20 может содержать переменные количества указанного основного детергентного компонента и остаточные количества дополнительных компонентов, таких как, например, остаточные полиэтиленгликоли (которые могут получаться в процессе химического производства). Вышеупомянутое

изменение состава химических веществ и остаточных дополнительных компонентов, потенциально содержащихся в коммерческом продукте, входит в объем термина «полисорбат 20» в контексте настоящего документа.

Общее % масс. содержание фармацевтических композиций, определенных в варианте осуществления 1) и вариантах осуществления 2)–6) ниже составляет 100.

Во избежание каких-либо неясностей следует понять, что фармацевтические композиции, определенные в варианте осуществления 1) и 2)–6) ниже, могут дополнительно содержать дополнительные стандартные ингредиенты и/или добавки, которые можно использовать самостоятельно или в комбинации (*quantum satis*, т. е. может потребоваться уменьшить максимальные количества указанных дополнительных стандартных ингредиентов и/или добавок для получения общего % масс., равного 100). Следует понимать, что фармацевтические композиции, определенные в варианте осуществления 1) и 2)–6) ниже, не будут содержать дополнительного наполнителя или дополнительного детергента.

Приводится ссылка на обширную литературу по данному вопросу для этих и других фармацевтически приемлемых эксципиентов и процедур, упомянутых в настоящем документе; см., например, R.C. Rowe, P.J. Seskey, S.C. Owen, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5th edition, Pharmaceutical Press 2006; Remington, *The Science and Practice of Pharmacy*, 21st Edition (2005), Part 5, “Pharmaceutical Manufacturing” (опубликовано Lippincott Williams & Wilkins).

Примеры таких стандартных ингредиентов или добавок представляют собой регуляторы тоничности, такие как соли (например, NaCl, KCl, $MgCl_2$, $CaCl_2$). Дополнительные стандартные ингредиенты или добавки представляют собой, например, противомикробные консерванты, такие как, например, используемые в бактериостатической воде для инъекций. Примером является бензиловый спирт.

Абсолютные количества каждого фармацевтически приемлемого наполнителя и количества, относящиеся к другим фармацевтически приемлемым эксципиентам, зависят от желаемых свойств фармацевтической композиции и могут быть выбраны с помощью стандартных экспериментов.

Общее массовое процентное содержание фармацевтической композиции составляет 100.

Термин «фармацевтическая композиция» взаимозаменяем с терминами «состав» или «композиция».

Кроме случаев употребления в отношении температуры, термин «около», размещенный перед числовым значением «X», относится в настоящей заявке к интервалу, проходящему от X минус 10% X до X плюс 10% X, и предпочтительно к интервалу, проходящему от X минус 5% X до X плюс 5% X (причем понятно, что процентные значения ниже 0%, соответственно выше 100%, не применимы). Если термин «около» помещен перед диапазоном, то соответствующий интервал следует применять к обоим значениям диапазона. Если термин «около» помещен перед списком определенных значений, соответствующий интервал следует применять ко всем значениям списка. Например, около 10, 20 или 30 г/кг около 10% масс. водного раствора полисорбата 20 относятся к 10 ± 1, 20 ± 2 или 30 ± 3 г/кг 10 ± 1% масс. водного раствора полисорбата 20; предпочтительно к 10 ± 0,5, 20 ± 1 или 30 ± 1,5 г/кг 10 ± 0,5% масс. водного раствора полисорбата 20. В конкретном случае температур термин «около», помещенный перед значением температуры «Y», относится в текущей заявке к интервалу, проходящему от температуры Y минус 10 °C до Y плюс 10 °C; и предпочтительно, в случае если температура составляет по меньшей мере 30 °C, к интервалу, проходящему от Y минус 5 °C до Y плюс 5 °C; или, в случае если температура ниже 30 °C, к интервалу, проходящему от Y минус 2 °C до Y плюс 2 °C.

При использовании слов «от … до» для описания числового диапазона следует понимать, что конечные точки указанного диапазона явным образом описаны и включены в этот диапазон. Например, если описан температурный диапазон от 40 °C до 80 °C, это означает, что в диапазон включены конечные точки 40 °C и 80 °C; или если переменная определена как целое число от 1 до 4, это означает, что переменная является целым числом 1, 2, 3 или 4.

Выражение «% масс.» (или % (масс./масс.)) относится к процентному содержанию по массе в сравнении с общей массой рассматриваемой композиции. Если четко не указано иное, рассматриваемая общая масса представляет собой общую массу фармацевтической композиции. В случае если определенное значение приведено в виде % значения, в отсутствие дополнительных указаний такое значение относится к % масс. Выражение (масс./масс.), относящееся к соотношению, означает соотношение соответствующих компонентов по массе.

Термин «состоящий по существу из» следует понимать в контексте настоящего изобретения как означающий, в частности, что соответствующая композиция состоит в количестве по меньшей мере 90, в частности по меньшей мере 95, в особенности по меньшей мере 99, и предпочтительно в количестве 100 процентов по массе (т. е. в

значении «состоящий из») из соответствующей композиции в количествах, четко указанных в соответствующем варианте осуществления. Термин «содержащий» предпочтительно следует понимать в значении термина «состоящий по существу из». Термин «по существу», например, при использовании в таком термине, как «по существу чистый», следует понимать в контексте настоящего изобретения как означающий, в частности, что соответствующая композиция / соединение и т. д. состоит в количестве по меньшей мере 90, в особенности по меньшей мере 95, и в частности по меньшей мере 99 процентов по массе из соответствующей чистой композиции / соединения и т. д.

Ниже представлены дополнительные варианты осуществления настоящего изобретения.

2) В другом варианте осуществления изобретение относится к фармацевтической композиции в соответствии с вариантом осуществления 1), содержащей:

- от около 0,1 г/кг до 1 г/кг, в особенности около 0,5 г/кг соединения: 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида;
- от около 3% масс. до 6% масс. глицина; в особенности 5 ± 0,5% масс. глицина (т. е. 50 ± 5 г/кг глицина);
- от около 0,1% масс. до 0,3% масс. (в особенности около 0,1% масс., 0,2% масс. или 0,3% масс.) полисорбата 20 (причем используется предпочтительно около 10 г/кг, 20 г/кг или 30 г/кг около 10% масс. водного раствора полисорбата 20); и
- водный фосфатно-натриевый буфер (состоящий из H_3PO_4 и NaOH), причем концентрация указанного фосфатно-натриевого буфера составляет от около 5 ммоль/кг до 20 ммоль/кг, в частности около 10 ммоль/кг;

при этом pH указанной фармацевтической композиции составляет 7,5 ± 0,2.

3) В другом варианте осуществления изобретение относится к фармацевтической композиции в соответствии с вариантом осуществления 1), содержащей:

- от около 0,1 г/кг до 1 г/кг, в особенности около 0,5 г/кг соединения: 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида;
- 5 ± 0,5% масс. глицина (т. е. 50 ± 5 г/кг глицина);
- около 0,3% масс. полисорбата 20 (причем используется предпочтительно около 30 г/кг около 10% масс. водного раствора полисорбата 20); и

- водный фосфатно-натриевый буфер (т. е. водный буфер, состоящий из H_3PO_4 и NaOH), причем концентрация указанного фосфатно-натриевого буфера составляет от около 5 ммоль/кг до 20 ммоль/кг, в частности около 10 ммоль/кг;

при этом pH указанной фармацевтической композиции составляет 7,5 ± 0,2.

4) В другом варианте осуществления изобретение относится к фармацевтической композиции в соответствии с вариантом осуществления 1), содержащей:

- от около 0,1 г/кг до 1 г/кг, в особенности около 0,5 г/кг соединения: 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида;
- 5 ± 0,5% масс. глицина (т. е. 50 ± 5 г/кг глицина);
- около 0,2% масс. полисорбата 20 (причем используется предпочтительно около 20 г/кг около 10% масс. водного раствора полисорбата 20); и
- водный фосфатно-натриевый буфер (т. е. водный буфер, состоящий из H_3PO_4 и NaOH), причем концентрация указанного фосфатно-натриевого буфера составляет от около 5 ммоль/кг до 20 ммоль/кг, в частности около 10 ммоль/кг;

при этом pH указанной фармацевтической композиции составляет 7,5 ± 0,2.

5) В другом варианте осуществления изобретение относится к фармацевтической композиции в соответствии с вариантом осуществления 1), содержащей:

- от около 0,1 г/кг до 1 г/кг, в особенности около 0,5 г/кг соединения: 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида;
- 5 ± 0,5% масс. глицина (т. е. 50 ± 5 г/кг глицина);
- около 0,1% масс. полисорбата 20 (причем используется предпочтительно около 10 г/кг около 10% масс. водного раствора полисорбата 20); и
- водный фосфатно-натриевый буфер (т. е. водный буфер, состоящий из H_3PO_4 и NaOH), причем концентрация указанного фосфатно-натриевого буфера составляет от около 5 ммоль/кг до 20 ммоль/кг, в частности около 10 ммоль/кг;

при этом pH указанной фармацевтической композиции составляет 7,5 ± 0,2.

6) В другом варианте осуществления изобретение относится к фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 1)–5), в которой соединение 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамид в кристаллической форме, в особенности чистой кристаллической форме (предпочтительно в по существу чистой кристаллической

форме I или по существу чистой кристаллической форме II, как описано в WO2010/150865), используется для получения указанной композиции.

Фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением перед сушкой сублимацией предпочтительно должна быть внесена в контейнеры (такие контейнеры для однократной дозы или многократной дозы, как флаконы), приемлемые для хранения лиофилизированной сухой массы и приемлемые для последующего разведения фармацевтической композиции. Такие контейнеры могут быть наполнены в атмосфере инертного газа (такой как, в частности, атмосфера азота). Такая атмосфера инертного газа может уменьшать окислительное разложение активного ингредиента. Таким образом, дополнительный вариант осуществления относится к контейнеру, такому как, например, флакон, ампула, шприц, связанное с камерой устройство, шприц-ручка или автоинъектор, в особенности флакон, наполненному фармацевтической композицией в соответствии с любым из вариантов осуществления 1)–6).

7) Дополнительный вариант осуществления относится к способу получения лиофилизированной фармацевтической композиции (т. е. лиофилизированной сухой массы); причем указанный способ включает стадии, на которых:

a) получают водную фармацевтическую композицию в соответствии с любым из вариантов осуществления 1)–6); и

b) сушат сублимацией указанную водную фармацевтическую композицию с образованием сухой массы с использованием способа, включающего стадии, на которых:

(i) замораживают водную фармацевтическую композицию при первой температуре в течение периода, достаточного для преобразования жидкого состава в твердое состояние (в особенности в течение по меньшей мере около 1 часа), причем указанная первая температура находится в диапазоне от около -55 °C до -25 °C (в особенности около -45 °C);

(ii) нормализуют замороженную композицию при второй температуре (в частности, в течение по меньшей мере около 1 часа, в особенности по меньшей мере около 2 часов); причем указанная вторая температура находится в диапазоне от около -20 °C до -1 °C (в частности, от около -10 °C до -2 °C; в особенности около -3 °C);

(iii) воздействуют на замороженную композицию вакуумом (в частности, вакуумом от около 0,1 до 1,5 мбар, в особенности от около 0,2 до 1,2

мбар, в частности 0,5 ± 0,1 мбар) при третьей температуре, причем указанная третья температура находится в диапазоне от около -55 °C до -25 °C (в особенности около -45 °C); и

(iv) сушат композицию в указанном вакууме при четвертой температуре (в частности, в течение по меньшей мере около 2 часов, в особенности по меньшей мере около 5 часов, в частности от 5 до 15 часов, от около 5 до 19 часов, предпочтительно от около 5 до 22 часов или от 5 до 15 часов), причем указанная четвертая температура находится в диапазоне от около 20 °C до 40 °C; в особенности в диапазоне от около 25 °C до 35 °C; в особенности около 35 °C.

(v) необязательно композицию могут выдерживать при температуре завершения от около 20 °C до 35 °C, предпочтительно 20 °C.

Термин «сухая масса» относится к сухому твердому материалу, который образуется при лиофилизации или сублимационной сушке жидкого состава.

8) Дополнительный вариант осуществления относится к лиофилизированной фармацевтической композиции, полученной путем лиофилизации водной фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 1)–6); в особенности с использованием способа варианта осуществления 7).

9) В другом варианте осуществления изобретение относится к лиофилизированной фармацевтической композиции в соответствии с вариантом осуществления 8); причем указанная лиофилизированная фармацевтическая композиция находится в контейнере; в частности во флаконе или шприце; в особенности во флаконе.

10) В другом варианте осуществления изобретение относится к лиофилизированной фармацевтической композиции в соответствии с вариантами осуществления 8) или 9); причем указанная лиофилизированная фармацевтическая композиция имеет остаточное содержание воды менее около 2% масс. (например, при определении с помощью анализа Карла Фишера); в частности, менее около 1,5% масс.

11) В другом варианте осуществления изобретение относится к лиофилизированной фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 7)–10); причем указанная лиофилизированная фармацевтическая композиция является химически стабильной при комнатной температуре и относительной влажности около 75% или ниже (в особенности при ОВ около 25 °C и около 60%) в течение по меньшей мере 6 месяцев.

12) В другом варианте осуществления изобретение относится к лиофилизированной фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 7)–10); причем указанная лиофилизированная фармацевтическая композиция является химически стабильной при температуре около 2–8 °C и относительной влажности около 75% или ниже (в особенности при ОВ около 60%) в течение по меньшей мере 12 месяцев.

13) В другом варианте осуществления изобретение относится к лиофилизированной фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 7)–10); причем сухая масса указанной лиофилизированной фармацевтической композиции является физически стабильной при комнатной температуре и относительной влажности около 75% или ниже (в особенности при ОВ около 25 °C и около 60%) в течение по меньшей мере 6 месяцев.

14) Дополнительный вариант осуществления относится к способу получения разведенной фармацевтической композиции; причем указанный способ включает стадию разведения лиофилизированной фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 8)–13) путем добавления по меньшей мере одного разбавителя к указанной лиофилизированной композиции.

Приемлемые разбавители для разбавления указанной фармацевтической композиции включают любой разбавитель, который представляет собой безопасный, стабильный и фармацевтически приемлемый носитель. Предпочтительной является вода для инъекций (WFI), такая как, в особенности, стерильная вода для инъекций (SWFI) или бактериостатическая вода для инъекций (BWFI), необязательно содержащая регулятор тоничности или смеси нескольких регуляторов тоничности. Предпочтительными разбавителями являются WFI и, в особенности, водный (предпочтительно физиологический) солевой раствор.

15) В другом варианте осуществления изобретение относится к способу в соответствии с вариантом осуществления 20); причем указанный разбавитель представляет собой воду для инъекций или солевой раствор (в частности солевой раствор, в особенности физиологический солевой раствор / водный солевой раствор, имеющий концентрацию около 0,9% масс.).

16) В другом варианте осуществления изобретение относится к способу в соответствии с вариантами осуществления 14) или 15); причем указанную разведенную фармацевтическую композицию дополнительно разбавляют вторым разбавителем (в особенности разбавляют до общего объема около 50 мл) (причем следует понимать, что

указанный второй разбавитель может быть таким же или отличным от первого разбавителя).

17) В другом варианте осуществления изобретение относится к способу в соответствии с вариантом осуществления 16); причем указанный второй разбавитель представляет собой солевой раствор, в особенности физиологический солевой раствор / водный солевой раствор, имеющий концентрацию около 0,9% масс.

18) Дополнительный вариант осуществления относится к разведенной фармацевтической композиции, полученной из лиофилизированной фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 8)–13); в особенности полученной в соответствии со способом, описанным в вариантах осуществления 14) или 15); причем в особенности указанную разведенную фармацевтическую композицию разводят с использованием в качестве разбавителя воды для инъекций (в особенности стерильной воды для инъекций) или солевого раствора (в особенности физиологического солевого раствора / водного солевого раствора, который имеет концентрацию около 0,9% масс.).

19) В другом варианте осуществления изобретение относится к разведенной фармацевтической композиции в соответствии с вариантом осуществления 18); причем указанная разведенная фармацевтическая композиция находится в контейнере; в частности флаконе, ампуле или шприце; в особенности во флаконе.

20) В другом варианте осуществления изобретение относится к разведенной фармацевтической композиции в соответствии с вариантами осуществления 18) или 19); причем указанную разведенную фармацевтическую композицию разводят в течение менее около 2 минут, в особенности в течение около 1 минуты или менее, в особенности в течение около 30 секунд или менее.

21) В другом варианте осуществления изобретение относится к разведенной фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 18)–20); причем указанную разведенную фармацевтическую композицию разводят с использованием в качестве разбавителя воды для инъекций (в особенности стерильной воды для инъекций) или солевого раствора (в особенности физиологического солевого раствора / водного солевого раствора, который имеет концентрацию около 0,9% масс.); при этом общий объем указанной разведенной фармацевтической композиции составляет, в частности, от около 2 до 10 мл, в особенности от около 3 до 4,5 мл или предпочтительно от около 8 до 8,5 мл.

22) В другом варианте осуществления изобретение относится к разведенной фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 18)–21); причем указанная разведенная фармацевтическая композиция имеет осмоляльность менее около 1500 мОсм/кг, в особенности менее около 1000 мОсм/кг, в частности осмоляльность менее около 950 мОсм/кг; причем общий объем составляет, в частности, от около 8 мл до 8,5 мл.

23) В другом варианте осуществления изобретение относится к разведенной фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 18)–22); причем указанная разведенная фармацевтическая композиция содержит от около 0,1 до 0,5 мг/мл, в особенности около 0,225 мг/мл соединения: 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида.

24) Дополнительный вариант осуществления относится к разведенной фармацевтической композиции для в/в введения в соответствии с любым из вариантов осуществления 18)–23); причем указанную разведенную фармацевтическую композицию или часть указанной разведенной фармацевтической композиции дополнительно разбавляют (в особенности дополнительно разбавляют до общего объема около 50 мл); в особенности, в соответствии со способом варианта осуществления 16) или 17); причем указанная разведенная и дополнительно разбавленная фармацевтическая композиция содержит около 4,5 мкг/мл, 9 мкг/мл, 13,5 мкг/мл, 18 мкг/мл, 22,5 мкг/мл, 27 мкг/мл, 31,5 мкг/мл или 36 мкг/мл соединения 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида; причем допустимое отклонение указанных количеств составляет, в частности, 10%, в особенности 5%.

25) В другом варианте осуществления изобретение относится к разведенной и дополнительно разбавленной фармацевтической композиции в соответствии с вариантом осуществления 24); причем указанную разведенную и дополнительно разбавленную фармацевтическую композицию дополнительно разбавляют с использованием солевого раствора (в особенности гипотонического или физиологического солевого раствора, в частности физиологического солевого раствора / водного солевого раствора, который имеет концентрацию около 0,9% масс.); причем, в частности, общий объем указанной разведенной и дополнительно разбавленной фармацевтической композиции составляет 50 мл.

26) В другом варианте осуществления изобретение относится к разведенной и дополнительно разбавленной фармацевтической композиции в соответствии с

вариантами осуществления 24) или 25); причем указанная разведенная и дополнительно разбавленная фармацевтическая композиция имеет осмоляльность менее около 1000 мОсм/кг (в особенности менее около 500 мОсм/кг, в частности она является приблизительно изотонической).

Осмоляльность представляет собой показатель концентрации текучих сред и выражается в виде количества растворенных веществ на кг текучей среды. Нормальная осмоляльность внеклеточной текучей среды в теле человека составляет около 275–295 мОсм/кг. Гипертонические растворы имеют осмоляльность выше, чем внеклеточная текучая среда (выше около 350 мОсм/кг); физиологические (или изотонические) растворы имеют осмоляльность, аналогичную осмоляльности тела (около 275–295 мОсм/кг), гипотонические растворы имеют осмоляльность ниже, чем тело (ниже около 250 мОсм/кг), что активно способствует абсорбции текучей среды.

Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением можно применять в качестве лекарственного средства.

Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением являются приемлемыми для в/в введения; и могут быть приемлемыми для альтернативных способов парентерального введения, таких как подкожное или внутримышечное введение; или при преобразовании в аэрозоль для ингаляционного введения.

Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением могут в особенности использоваться для получения лекарственного средства и/или являются особенно приемлемыми для применения в лечении язвы, язвы пальцев, диабетической гангрены, диабетической язвы стопы, пролежневой язвы (пролежня), гипертензии, легочной гипертензии, легочной артериальной гипертензии, болезни Фонтена и легочной гипертензии, ассоциированной с болезнью Фонтена, саркоидоза и легочной гипертензии, ассоциированной с саркоидозом, нарушения периферического кровообращения (например, хронической окклюзии артерии, перемежающейся хромоты, периферической эмболии, вибрационного синдрома, болезни Рейно), заболевания соединительной ткани (например, системной красной волчанки, склеродермии, смешанного заболевания соединительной ткани, васкулитного синдрома), реокклюзии/рестеноза после чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики (PTCA), артериосклероза, тромбоза (например, тромбоза сосудов головного мозга в острой фазе, легочной эмболии), транзиторной ишемической атаки (TIA), диабетической нейропатии, ишемического расстройства (например, инфаркта головного мозга, инфаркта миокарда), стенокардии (например, стабильной

стенокардии, нестабильной стенокардии), хронических заболеваний почек, включая гломерулонефрит и диабетическую нейропатию на любой стадии, аллергии, бронхиальной астмы, рестеноза после коронарного вмешательства, такого как атерэктомия и имплантация стента, тромбоцитопении после диализа, заболеваний, при которых наблюдается фиброз органов или тканей [например, заболеваний почек (таких как тубулоинтерстициальный нефрит), респираторных заболеваний (например, интерстициальной пневмонии, (идиопатического) легочного фиброза, хронической обструктивной болезни легких), болезней пищеварительного тракта (например, гепатоцирроза, вирусного гепатита, хронического панкреатита и скиррозного рака желудка), сердечно-сосудистых заболеваний (например, миокардиального фиброза), заболеваний костей и суставов (например, фиброза костного мозга и ревматоидного артрита), заболеваний кожи (например, рубца после операции, рубца после ожога, келоида и гипертрофического рубца), гинекологических заболеваний (например, гистеромиомы), заболеваний мочевой системы (например, гипертрофии простаты), других заболеваний (например, болезни Альцгеймера, склерозирующего перитонита, сахарного диабета I типа и спаек между органами после операции)], эректильной дисфункции (например, диабетической эректильной дисфункции, психогенной эректильной дисфункции, психотической эректильной дисфункции, эректильной дисфункции, ассоциированной с хронической почечной недостаточностью, эректильной дисфункции после внутритазовой операции по удалению предстательной железы и сосудистой эректильной дисфункции, ассоциированной со старением и атеросклерозом), воспалительного заболевания кишечника (например, язвенного колита, болезни Крона, туберкулеза кишечника, ишемического колита и язвы кишечника, ассоциированной с болезнью Бехчета), гастрита, язвы желудка, ишемической офтальмопатии (например, окклюзии артерии сетчатки, окклюзии вены сетчатки, ишемической нейропатии зрительного нерва), внезапной потери слуха, аваскулярного некроза кости, повреждения кишечника, вызванного введением нестероидного противовоспалительного средства, и симптомов, ассоциированных со стенозом поясничного отдела позвоночного канала.

Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением могут в частности использоваться для получения лекарственного средства и/или являются особенно приемлемыми для применения в лечении язвы, язвы пальцев, диабетической гангрены, диабетической язвы стопы, легочной гипертензии, легочной артериальной гипертензии, болезни Фонтена и легочной гипертензии, ассоциированной с болезнью

Фонтена, саркоидоза и легочной гипертензии, ассоциированной с саркоидозом, нарушения периферического кровообращения (например, перемежающейся хромоты, болезни Рейно), заболевания соединительной ткани (например, системной красной волчанки, склеродермии), хронических заболеваниях почек, включая гломерулонефрит и диабетическую нейропатию на любой стадии, заболеваний, при которых наблюдается фиброз органов или тканей (например, заболеваний почек, таких как тубулоинтерстициальный нефрит), или респираторных заболеваний (например, (обычной) интерстициальной пневмонии / (идиопатического) легочного фиброза)).

Водная (например, разведенная или разведенная и дополнительно разбавленная) фармацевтическая композиция считается физически «стабильной», если в течение определенного периода времени по меньшей мере 80%, предпочтительно по меньшей мере 90% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 95% исходного содержания СОЕДИНЕНИЯ поддерживается в течение указанного периода времени в солюбилизированном состоянии.

Лиофилизированная композиция (т. е. лиофилизированная сухая масса) считается физически «стабильной», если в течение определенного периода времени наблюдаются колебания менее 30%, предпочтительно менее 20% и наиболее предпочтительно менее 10% в отношении времени разведения и/или остаточной влажности. Кроме того, внешний вид сухой массы можно рассматривать в качестве критерия для определения физической стабильности лиофилизированной композиции.

Фармацевтическая композиция считается химически «стабильной», если в определенных условиях и в течение определенного периода времени по меньшей мере 80%, в частности по меньшей мере 95%, в особенности по меньшей мере 98% и предпочтительно по меньшей мере 99% исходного содержания СОЕДИНЕНИЯ сохраняется в указанных условиях и в течение указанного периода времени без разложения. В частности, разложение может быть определено как разложение, при котором образуется менее 1%, предпочтительно менее 0,5%, 2-(4-((5,6-дифенилпиразин-2-ил)(изопропил)амино)бутокси)уксусной кислоты (т. е. продукта, полученного в результате гидролиза СОЕДИНЕНИЯ) в указанных условиях и в течение указанного периода.

Кроме того, в частности для любой водной фармацевтической композиции, можно дополнительно учитывать химическую стабильность под воздействием света (измеренную, например, с помощью лампы OSRAM L58W/840 на расстоянии 65 см).

Описанные выше значения, определяющие химическую стабильность, должны быть получены в отсутствие дополнительного воздействия света.

Предпочтительно лиофилизированные фармацевтические композиции настоящего изобретения будут химически и физически «стабильными» в течение по меньшей мере 6, предпочтительно по меньшей мере 12 месяцев при хранении при температуре от 5 °C до 50 °C и ОВ около 75% или ниже. Более предпочтительно они будут стабильными в течение по меньшей мере 6 или предпочтительно в течение 12 месяцев при хранении при температуре от 15 °C до 45 °C и ОВ около 75% или ниже. Наиболее предпочтительно они будут стабильными в течение по меньшей мере 6 или предпочтительно в течение 12 месяцев при хранении при температуре от 25 °C до 40 °C и ОВ около 75% или ниже, в особенности при температуре 40 °C и ОВ 75% или в частности при температуре 25 °C и ОВ 60%.

Предпочтительно водные фармацевтические композиции (например, водная композиция перед лиофилизацией, разведенный состав или разведенный и дополнительно разбавленный состав) настоящего изобретения будут химически и физически «стабильными» в течение по меньшей мере 6 часов, предпочтительно в течение по меньшей мере 12 часов при хранении при температуре от 5 °C до 50 °C. Более предпочтительно они будут стабильными в течение по меньшей мере 6 или предпочтительно в течение 12 часов при хранении при температуре от 15 °C до 45 °C. Наиболее предпочтительно они будут стабильными в течение по меньшей мере 6 или предпочтительно в течение 12 часов при хранении при температуре от 25 °C до 40 °C, в особенности при комнатной температуре.

Химическую стабильность фармацевтических композиций можно исследовать стандартным способом, например путем измерения содержания СОЕДИНЕНИЯ и продуктов его разложения (таких как, в частности, 2-(4-((5,6-дифенилпиразин-2-ил)(изопропил)амино)бутокси)уксусная кислота). Содержание СОЕДИНЕНИЯ и продуктов его разложения можно оценивать с помощью стандартной ВЭЖХ.

Физическую стабильность фармацевтических композиций можно исследовать стандартным способом, например, путем измерения времени разведения; содержания воды; оценки внешнего вида и/или микроскопического исследования лиофилизированной композиции (т. е. лиофилизированной сухой массы), например после хранения при определенных температуре и относительной влажности в течение определенных периодов времени; и путем измерения способности водного состава (например, водной композиции перед лиофилизацией, разведенного состава или

разведенного и дополнительно разбавленного состава) поддерживать солюбилизацию лекарственного средства и предотвращать осаждение после хранения при определенной температуре в течение определенных периодов времени.

Водная фармацевтическая композиция по любому одному из вариантов осуществления 1)–6) может быть приготовлена в контейнерах. Например, из размера партии, соответствующей дозе 500 мг СОЕДИНЕНИЯ (размер партии 1 кг фармацевтической композиции), можно получить 250 флаконов, содержащих около 3,8 г фармацевтической композиции на флакон, и такую партию можно получить следующим образом.

Материал	**Функция**	**Процентное содержание (% масс./масс.)**	**Разовая доза (г)**
Вода для инъекций (WFI)	Растворитель	80	800
Водный раствор гидроксида натрия (15% масс.)	Буфер (основание)	0,316	3,16
КОМПОЗИЦИЯ	Активный ингредиент	5,00	0,500
Полисорбат 20 (10% масс. водный маточный раствор)	Эксципиент: детергент	3	30,00
Глицин	Эксципиент: наполнитель	5	50,00
Водный раствор фосфорной кислоты (85% масс.)	Буфер (кислота)	0,1153	1,153
Водный раствор гидроксида натрия (1% масс.)	Буфер (основание)	Непостоянный, скорректировать до pH 7,5	Непостоянный, скорректировать до pH 7,5
WFI	Растворитель	Непостоянный, скорректировать до суммы 100	Непостоянный, скорректировать до суммы 1000
Итого		*100,000*	*1000*

Количества могут быть скорректированы в зависимости от чистоты соответствующего ингредиента, что может приводить к увеличению количества СОЕДИНЕНИЯ.

Способ получения лиофилизированной фармацевтической композиции, описанный выше, и наполнения ей контейнера в соответствии с настоящим изобретением, может включать следующие стадии.

- Смешайте определенные количества СОЕДИНЕНИЯ: целевое значение: 0,500 г (например, в стеклянном лабораторном стакане объемом 1500 мл); с соответствующими количествами WFI: целевое значение: 800 г; глицина: целевое значение: 50,00 г; 10% (масс./масс.) полисорбата 20: целевое значение: 30,00 г; 15%

(масс./масс.) NaOH: целевое значение: 3,16 г; и фосфорной кислоты, 85% (масс./масс.): целевое значение: 1,153 г;

- Перемешайте до гомогенности.
- Доведите pH до pH 7,5 с использованием 1,0% (масс./масс.) NaOH.
- Добавьте WFI до целевой массы: 1000 г.
- Отфильтруйте (например, в условиях ламинарного потока через мембранный фильтр из PVDF с размером пор 0,22 мкм).
- Наполните флаконы (например, в условиях ламинарного потока): Целевая масса наполнения: 3,80 г ± 3%.

Способ лиофилизации указанной выше фармацевтической композиции может, например, включать следующие стадии.

Стадия		**Темп. полки**	**Темп. ледового конденсатора**	**Давление**	**Время стадии**	**Общее время**
№	**Описание**	**[°C]**	**[°C]**	**[мбар]**	**[ч:мин]**	**[ч:мин]**
1	Загрузка	20	–	атм	00:01	00:01
2	Замораживание, изменение температуры	-45	–	атм	01:05	01:06
3	Замораживание	-45	–	атм	01:30	02:36
4	Нормализация, изменение температуры	-3	–	атм	00:40	03:16
5	Нормализация	-3	–	атм	02:00	05:16
6	Нормализация, изменение температуры	-45	–	атм	00:40	05:56
	Замораживание	-45	-70	атм	00:30	06:26
7	Корректировка вакуума	-45	-70	0,5	00:30	06:56
8	Первичная сушка, изменение температуры	35	-70	0,5	02:00	08:56
9	Первичная сушка	35	-70	0,5	05:00	13:56
10	Вторичная сушка	35	-70	0,5	05:00	18:56
13	Завершение	35	-70	800	00:10	19:06

Альтернативный способ лиофилизации указанной выше фармацевтической композиции может, например, включать следующие стадии.

Стадия		Темп. полки	Темп. ледового конденсатора	Давление	Время стадии	Общее время
№	**Описание**	**[°C]**	**[°C]**	**[мбар]**	**[ч:мин]**	**[ч:мин]**
1	Загрузка	20	–	атм	00:01	00:01
2	Замораживание, изменение температуры	-45	–	атм	01:05	01:06
3	Замораживание	-45	–	атм	01:30	02:36
4	Нормализация, изменение температуры	-3	–	атм	00:40	03:16
5	Нормализация	-3	–	атм	02:00	05:16
6	Нормализация, изменение температуры	-45	–	атм	00:40	05:56
	Замораживание	-45	-70	атм	00:30	06:26
7	Корректировка вакуума	-45	-70	0,5	00:30	06:56
8	Первичная сушка, изменение температуры	35	-70	0,5	03:00	09:56
9	Первичная сушка	35	-70	0,5	11:00	20:56
10	Вторичная сушка	35	-70	0,5	05:00	25:56
13	Завершение	35	-70	800	00:10	26:06

Стадия нормализации (стадии 4–6) в описанном выше способе не является обязательной. Способ, включающий стадию нормализации, может предотвращать усадку в нижней области сухой массы, а также образование «крышки» из сухой массы.

Дополнительный альтернативный способ лиофилизации указанной выше фармацевтической композиции может, например, включать следующие стадии.

Стадия		Темп. полки	Темп. ледового конденсатора	Давление	Время стадии	Общее время
№	**Описание**	**[°C]**	**[°C]**	**[мбар]**	**[ч:мин]**	**[ч:мин]**
1	Загрузка	20	–	атм	00:01	00:01
2	Замораживание, изменение температуры	-45	–	атм	01:05	01:06
3	Замораживание	-45	–	атм	01:30	02:36

Стадия		Темп. полки	Темп. ледового конденсатора	Давление	Время стадии	Общее время
№	Описание	[°C]	[°C]	[мбар]	[ч:мин]	[ч:мин]
4	Нормализация, изменение температуры	-3	–	атм	00:40	03:16
5	Нормализация	-3	–	атм	02:00	05:16
6	Нормализация, изменение температуры	-45	–	атм	00:40	05:56
	Замораживание	-45	-70	атм	00:30	06:26
7	Корректировка вакуума	-45	-70	0,5	00:30	06:56
8	Первичная сушка, изменение температуры	35	-70	0,5	06:00	12:56
9	Первичная сушка	35	-70	0,5	11:00	23:56
10	Вторичная сушка	35	-70	0,5	05:00	28:56
13	Завершение	20	-70	800	00:10	29:06

Иными словами, температура завершения может представлять собой пятую температуру (в отношении варианта осуществления 7), а именно около 20 °C. Опять же, стадия нормализации (стадии 4–6) в описанном выше способе является необязательной. Способ, включающий стадию нормализации, может предотвращать усадку в нижней области сухой массы, а также образование «крышки» из сухой массы.

В соответствии со способом лиофилизации упомянутой выше фармацевтической композиции, флаконы можно герметизировать, например, путем обжатия с использованием следующего способа.

- Расположите колпачки на каждом флаконе и выполните обжатие, например, с помощью полу- или полностью автоматической обжимной машины или аналогичного устройства.

Лиофилизированная фармацевтическая композиция может быть разведена с использованием следующего способа.

Добавьте солевой раствор или WFI (например, целевое значение 8,1 мл) и осторожно встряхивайте до полного растворения сухой массы.

ПРИМЕРЫ

Аббревиатуры (используемые в настоящем документе и в представленном выше описании)

водн.	водный
атм	атмосферное давление
DSC	дифференциальная сканирующая калориметрия
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
мин	минута (-ы)
полоксамер 188	сополимер полиоксипропилена и полиоксиэтилена, например Kolliphor® P188
PS20	полисорбат 20, например Tween® 20
PS80	полисорбат 80, например Tween® 80
ОВ	относительная влажность
ОФ	обращенная фаза
КТ	комнатная температура
WFI	вода для инъекций

Сырье приобретали у коммерческих поставщиков.

Вещество	**Поставщик/ Производитель**	**Кат. №**
Натриевая соль октан-1-сульфоновой кислоты (≥ 98%)	Carl Roth GmbH	KK55.2
Очищенная вода (≤ 0,2 мкмСм/см, < 10 ppb TOC)		–
Солевой раствор для инфузий, 0,9%	B Braun	6726174
орто-Фосфорная кислота (85%)	Merck KGaA	1.00563.1000
Метанол, ROTISOLV® HPLC для градиентного элюирования	Carl Roth GmbH	4627,2
Гидроксид натрия, ≥ 98% (Евр. фарм., Фармакопея США, Фармакопея Великобритании, в гранулах)	Carl Roth GmbH	P031
Kolliphor® P 188, полоксамер, Евр. фарм.	BASF	50259527

Tween® 20 EMPROVE® (эксц. Евр. фарм. Фарм. Японии, Национальный формуляр)	Merck Chemicals	8.17072.1000
Tween® 80, EMPROVE (эксц., Евр. фарм., Фарм. Японии, Национальный формуляр)	Merck Chemicals	8.17061.1000
Глицин, (≥ 98,5% Евр. фарм.)	Carl Roth GmbH	T873
Трегалозы дигидрат, 100PH	Hayashibara	33016
Kollidon® 17 PF, поливинилпирролидон	BASF	51598188
Материал		
Колонка ОФ-ВЭЖХ	phenomenex	CH0-3387
Виалы для ВЭЖХ из темного стекла	WICOM Germany GmbH	WIC 42720
Стеклянные флаконы 10R, тип I FIOLAX	Nipro Glass Germany	MG037-002-0049-086
Лиофильная пробка, 20 мм, 1319 4023	West Pharmaceutical	7002-2716
Шприц с люэровским наконечником, коричневый	BD Plastipak™	300869
Инфузионная трубка	Cair LGL	P03115B
Шприцевой фильтр из PVDF, 0,22 мкм	Merck Millipore Ltd.	SLGUM33RS
Шприцевой фильтровальный блок Millex®-GV, 33 мм, 0,22 мм, мембрана PVDF	Merck Millipore Ltd.	SLGV033RS
Комбинированный колпачок для люэровского наконечника	Braun	4495101
Силиконовая трубка для стерильной фильтрации, толщина 1,6 мм, внутренний Ø 3,2 мм, наружный Ø 6,4 мм	Carl Roth GmbH	CH26.1
Насадки PD для пипетки многократного дозирования	Brand®	702382

Использовали следующие устройства.

Оборудование для ВЭЖХ

Производитель: Agilent Technologies (г. Санта-Клара, штат Калифорния, США)

Тип: серия 1100

Дегазатор: G1322A

Насос BinPump: G1312A

ALS: G1329A

ALSTherm: G1330A

ColCom: G1316A

Детектор VWD: G1314A

ПО для управления хроматографической системой: Dionex, Chromeleon 6.80
Agilent, Chemstation B.04.03 SP1
Wyatt, Astra 6.1

УФ-спектрофотометр: Agilent Technologies Cary 50; источник очищенной воды: Siemens Ultra Clean UV UF TM; измеритель pH: Mettler Toledo SevenMulti; электрод: InLab Micro; весы: Kern EW 6200-2NM

Получение СОЕДИНЕНИЯ

Получение селексипага (СОЕДИНЕНИЕ: 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамид) описано в WO2002/088084. Получение полиморфных форм, т. е. кристаллических форм I, II и III свободного основания описано в WO2010/150865; полиморфные формы фармацевтически приемлемых солей описаны в WO2011/024874. СОЕДИНЕНИЕ использовали в следующих примерах и анализах в форме свободного основания, в особенности кристаллов полиморфной формы I.

Аналитические способы

Дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC)

Термические свойства замороженного раствора нерасфасованного лекарственного препарата оценивают с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии. С помощью DSC могут быть определены температуры фазового перехода (т. е. температуры кристаллизации и плавления) путем измерения поведения пробы при охлаждении/нагревании по сравнению с пустым эталонным тиглем. При возникновении эндотермической реакции, например плавления, система должна

передать пробе больше энергии, чем эталону для того, чтобы поддерживать у них одинаковый уровень температуры. Эту требуемую мощность измеряют и используют для расчета температуры фазового перехода и энтальпии.

Температуры фазового перехода композиций перед лиофилизацией определяют с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии с использованием DSC-8000 (Perkin Elmer, г. Уолтем, штат Массачусетс, США). Прибл. 20 мг соответствующего раствора взвешивают в алюминиевый тигель для проб объемом 50 мкл. Тигель закрывают герметичной алюминиевой крышкой для DSC. В качестве эталона используют пустой алюминиевый тигель для пробы. Выполняют следующий цикл.

Стадия	Начальная температура	Конечная температура	Скорость сканирования	Продолжительность
Равновесное состояние	25 °C	25 °C	–	1 мин
1-ая стадия охлаждения	25 °C	-65 °C	10 °C/мин	9 мин
Равновесное состояние	-65 °C	-65 °C	–	1 мин
1-ая стадия нагрева	-65 °C	25 °C	10 °C/мин	9 мин
Равновесное состояние	25 °C	25 °C	–	1 мин
2-ая стадия охлаждения	25 °C	-65 °C	10 °C/мин	9 мин
Равновесное состояние	-65 °C	-65 °C	–	1 мин
2-ая стадия нагрева	-65 °C	25 °C	10 °C/мин	9 мин

Оценку температуры плавления проводят на второй стадии нагрева.

Обращенно-фазная ВЭЖХ для анализа содержания и чистоты

ОФ-ВЭЖХ используют для количественного определения СОЕДИНЕНИЯ в лиофилизированных композициях и для отделения СОЕДИНЕНИЯ от потенциальных примесей для оценки чистоты продукта. Результаты измерения методом ОФ-ВЭЖХ преобразуют путем пересчета на концентрацию СОЕДИНЕНИЯ в соответствующей пробе.

Хроматографические параметры

Подвижная фаза: Растворяют 3,24 г натриевой соли октан-1-сульфоновой кислоты в 1500 мл очищенной воды. Добавляют 1,5 мл 85% орто-фосфорной кислоты. Добавляют 3500 мл метанола.

Скорость потока: 1,0 мл/мин (изократический режим)

Температура: 40 °C

Детектор VWD: 302 нм

Объем введенной пробы: 10 мкл

Температура пробы: 10 °C

Время анализа: 40 мин

Эталонный раствор и калибровочная кривая

Разбавитель: 70% метанол, 30% очищенная вода (об./об.)

Стандартный маточный раствор (100 мкг/мл СОЕДИНЕНИЯ)

В мерный сосуд из коричневого стекла объемом 200 мл добавляют 180 мл разбавителя. Затем добавляют 20 мг эталонного СОЕДИНЕНИЯ. Смесь обрабатывают в ультразвуковой бане в течение 10 минут при 20 °C. После полного растворения СОЕДИНЕНИЯ объем доводят до 200 мл.

Стандартный раствор (5 мкг/мл): Стандартный маточный раствор (100 мкг/мл) разводят 1 : 20 (об./об.) с помощью разбавителя.

Калибровочная кривая

На колонку наносят по пять различных объемов введения эталонного раствора (5 мкг/мл) с одинаковым шагом (т. е. 5 мкл, 10 мкл, 15 мкл, 20 мкл и 25 мкл) в начале и в конце каждой последовательности анализа. Площади обнаруженных пиков совмещают с соответствующими нанесенными массами, и посредством линейной регрессии средних значений получают формулу для преобразования измеренных с помощью УФ ответов в массу СОЕДИНЕНИЯ.

Подготовка пробы

Разбавитель: 70% метанол, 30% очищенная вода (об./об.).

Перед анализом пробы разводили до концентрации 10 мкг/мл с помощью разбавителя или использовали их без разбавления, если концентрация составляла менее 10 мкг/мл.

Титрование по методу Карла Фишера для анализа остаточной влаги

Взвешивают 50–100 мг из трех случайных флаконов каждого цикла лиофилизации в стеклянный флакон, который герметично закрывали обжимной крышкой. Пробу переносят в печь кулонометра Карла Фишера (756/774; Metrohm), которую нагревают до 100 °C. Перегородку колпачка прокалывают инъекционной иглой, и полученный водяной пар непосредственно переносят в камеру для титрования кулонометра Карла Фишера посредством сухого потока азота. Для коррекции по холостой пробе используют пустые стеклянные флаконы.

Внешний вид

На фотографиях изображены примеры флаконов после каждого цикла лиофилизации. Лиофилизаты извлекают из флакона путем аккуратного разбивания стеклянного флакона, а лиофилизированную сухую массу разрезают по вертикали для проверки внутреннего слоя на наличие зон сжатия.

Растровая электронная микроскопия (SEM)

Лиофилизаты анализируют с помощью SEM для оценки их микроструктуры. Соответствующие лиофилизаты аккуратно разрезают, а вертикальные поперечные срезы, а также верхнюю/нижнюю поверхности анализируют с помощью SEM.

Пример 1

Партию, размер которой соответствует дозе 500 мг СОЕДИНЕНИЯ (размер партии 1 кг фармацевтической композиции), и образующую 250 флаконов, содержащих около 3,8 г фармацевтической композиции на флакон, составляли и получали следующим образом.

Материал	**Функция**	**Процентное содержание (% масс./масс.)**	**Разовая доза (г)**
Вода для инъекций (WFI)	Растворитель	80	800
Водный раствор гидроксида натрия (15% масс.)	Буфер (основание)	0,316	3,16
КОМПОЗИЦИЯ	Активный ингредиент	5,00	0,500
Полисорбат 20 (10% масс. водный маточный раствор)	Эксципиент: детергент	3	30,00
Глицин	Эксципиент: наполнитель	5	50,00
Водный раствор фосфорной кислоты (85% масс.)	Буфер (кислота)	0,1153	1,153
Водный раствор гидроксида натрия (1% масс.)	Буфер (основание)	Непостоянный, скорректировать до pH 7,5	Непостоянный, скорректировать до pH 7,5
WFI	Растворитель	Непостоянный, скорректировать до суммы 100	Непостоянный, скорректировать до суммы 1000
Итого		*100,000*	*1000*

- Внесите определенное количество WFI в стеклянный стакан объемом 1500 мл. Целевое значение: 800 г.
- Добавьте определенное количество 15% (масс./масс.) NaOH. Целевое значение: 3,16 г.
- Перемешайте до гомогенности.

- Добавьте определенное количество СОЕДИНЕНИЯ. Целевое значение: 0,500 г.
- Перемешайте до гомогенности.
- Добавьте определенное количество глицина. Целевое значение: 50,00 г.
- Перемешайте до гомогенности.
- Добавьте определенное количество 10% (масс./масс.) полисорбата 20. Целевое значение: 30,00 г.
- Перемешайте до гомогенности.
- Добавьте определенное количество фосфорной кислоты, 85% (масс./масс.). Целевое значение: 1,153 г.
- Перемешайте до гомогенности.
- Доведите pH до pH 7,5 с использованием 1,0% (масс./масс.) NaOH.
- Добавьте WFI до целевой массы: 1000 г.
- Отфильтруйте в условиях ламинарного потока через мембранный фильтр из PVDF с размером пор 0,22 мкм.
- Наполните флаконы в условиях ламинарного потока. Целевая масса наполнения: 3,80 г ± 3%.

Флаконы лиофилизировали с использованием следующей процедуры.

Стадия		**Темп. полки**	**Темп. ледового конденсатора**	**Давление**	**Время стадии**	**Общее время**
№	**Описание**	**[°C]**	**[°C]**	**[мбар]**	**[ч:мин]**	**[ч:мин]**
1	Загрузка	20	–	атм	00:01	00:01
2	Замораживание, изменение температуры	-45	–	атм	01:05	01:06
3	Замораживание	-45	–	атм	01:30	02:36
4	Нормализация, изменение температуры	-3	–	атм	00:40	03:16
5	Нормализация	-3	–	атм	02:00	05:16
6	Нормализация, изменение температуры	-45	–	атм	00:40	05:56
	Замораживание	-45	-70	атм	00:30	06:26
7	Корректировка вакуума	-45	-70	0,5	00:30	06:56
8	Первичная сушка, изменение температуры	35	-70	0,5	02:00	08:56
9	Первичная сушка	35	-70	0,5	05:00	13:56

Стадия		Темп. полки	Темп. ледового конденсатора	Давление	Время стадии	Общее время
№	Описание	[°C]	[°C]	[мбар]	[ч:мин]	[ч:мин]
10	Вторичная сушка	35	-70	0,5	05:00	18:56
13	Завершение	35	-70	800	00:10	19:06

В соответствии со способом лиофилизации упомянутой выше фармацевтической композиции, флаконы герметизировали путем обжатия с использованием следующего способа.

- Расположите колпачки на каждом флаконе и выполните обжатие, например, с помощью полу- или полностью автоматической обжимной машины.

Пример 2

Получали партию размером 60 флаконов следующей композиции (что соответствует 0,50 мг/г СОЕДИНЕНИЯ, 5% масс. глицина, 0,3% масс. полисорбата 20 в 10 ммоль/кг фосфатно-натриевого буфера, pH 7,5).

a	WFI	3200 мг	3200 мг
b	NaOH, 15% (масс./масс.)	12,0 мг	12,0 мг
c	КОМПОЗИЦИЯ	1,90 мг	--
d	Глицин	190 мг	190 мг
e	H_3PO_4, 85% (масс./масс.)	4,38 мг	4,38 мг
f	Полисорбат 20, 10% (масс./масс.)	114 мг	11,4 мг
g	NaOH, 1% (масс./масс.)	Дов. pH до 7,5 ± 0,2	Дов. pH до 7,5 ± 0,2
h	WFI	Доб. до конечной массы 3800 мг	Доб. до конечной массы 3800 мг

1. Поместите a) в сосуд для смешивания
2. Добавьте b) при перемешивании
3. Добавьте c) при перемешивании для получения прозрачного раствора в отсутствие света
4. Добавьте d) при перемешивании для получения прозрачного раствора
5. Добавьте e) при перемешивании
6. Добавьте f) при перемешивании
7. Доведите pH с помощью g) (целевой показатель: pH 7,5)
8. Наполните h) до конечной массы 3800 мг
9. Дважды проверьте целевое значение pH

С использованием вышеописанной процедуры приготовили 60 флаконов.

Флаконы лиофилизировали с использованием следующих процедур.

А. Параметры процесса цикла лиофилизации с использованием вакуума 0,85 мбар

Стадия		Температура полки	Температура ледового конденсатора	Давление	Время стадии	Общее время
№	Описание	[°C]	[°C]	[мбар]	[ч:мин]	[ч:мин]
1	Загрузка	20	–	атм	00:01	0:01
2	Изменение температуры для замораживания	-5	–	атм	00:25	0:26
3	Замораживание	-5	–	атм	01:00	1:26
4	Изменение температуры для замораживания	-45	–	атм	00:40	2:06
5	Замораживание	-45	–	атм	06:00	8:06
6	Корректировка вакуума	-45	-70	0,85	00:30	8:36
7	Изменение температуры для первичной сушки	35	-70	0,85	02:00	10:36
8	Первичная сушка	35	-70	0,85	25:00	35:36
9	Вторичная сушка	35	-70	0,85	15:00	50:36

При визуальной проверке обнаружили, что в нижней области лиофилизированных сухих масс присутствует небольшая усадка, а их верхние поверхности (также называемые крышками) имеют более плотную структуру, что, вероятно, вызывает усадку / повышение плотности в нижней области из-за сопротивления сухой массы.

Анализ лиофилизированной сухой массы

Остаточное содержание воды (по Карлу Фишеру) составляло 0,41%.

Для анализа содержания и чистоты СОЕДИНЕНИЯ в лиофилизированном лекарственном препарате два случайных флакона разводили 3,6 мл солевого раствора. Разведенные растворы разбавляли 1:50 с помощью разбавителя и затем анализировали методом ОФ-ВЭЖХ:

Содержание СОЕДИНЕНИЯ (целевое значение = 0,50 мг/мл): 0,54 мг/мл; чистота СОЕДИНЕНИЯ: 100%

В. Параметры процесса цикла лиофилизации с использованием вакуума 0,5 мбар

Стадия		Температура полки	Температура ледового конденсатора	Давление	Время стадии	Общее время
№	Описание	[°C]	[°C]	[мбар]	[ч:мин]	[ч:мин]
1	Загрузка	20	–	атм	00:01	0:01
2	Изменение температуры для замораживания	-5	–	атм	00:25	0:26
3	Замораживание	-5	–	атм	01:00	1:26
4	Изменение температуры для замораживания	-45	–	атм	00:40	2:06

Стадия		Температура полки	Температура ледового конденсатора	Давление	Время стадии	Общее время
№	Описание	[°C]	[°C]	[мбар]	[ч:мин]	[ч:мин]
5	Замораживание	-45	–	атм	01:30	3:36
6	Корректировка вакуума	-45	-70	0,50	00:30	4:06
7	Изменение температуры для первичной сушки	35	-70	0,50	02:00	6:06
8	Первичная сушка	35	-70	0,50	20:00	26:06
9	Вторичная сушка	35	-70	0,50	10:00	36:06

При визуальной проверке выявили лиофилизированные сухие массы с образованием плотной крышки, а также усадкой в нижней области.

Анализ лиофилизированной сухой массы

Остаточное содержание воды (по Карлу Фишеру) составляло 0,50%.

Для анализа содержания и чистоты СОЕДИНЕНИЯ в лиофилизированном лекарственном препарате два случайных флакона разводили 3,6 мл солевого раствора. Разведенные растворы разбавляли 1:50 с помощью разбавителя и затем анализировали методом ОФ-ВЭЖХ:

Содержание СОЕДИНЕНИЯ (целевое значение = 0,50 мг/мл): 0,52 мг/мл; чистота СОЕДИНЕНИЯ: 100%

С. Параметры процесса цикла лиофилизации, включая стадию нормализации

Стадия		Температура полки	Температура ледового конденсатора	Давление	Время стадии	Общее время
№	Описание	[°C]	[°C]	[мбар]	[ч:мин]	[ч:мин]
1	Загрузка	20	–	атм	00:01	0:01
2	Изменение температуры для замораживания	-45	–	атм	01:00	1:01
3	Замораживание	-45	–	атм	01:30	2:31
4	Изменение температуры для нормализации	-3	–	атм	00:40	3:11
5	Нормализация	-3	–	атм	02:00	5:11
6	Изменение температуры для нормализации	-45	–	атм	00:40	5:51
7	Замораживание	-45	–	атм	00:30	6:21
8	Корректировка вакуума	-45	-70	0,50	00:30	6:51
9	Изменение температуры для первичной сушки	35	-70	0,50	02:00	8:51
10	Первичная сушка	35	-70	0,50	10:00	18:51
11	Вторичная сушка	35	-70	0,50	10:00	28:51

При визуальной проверке выявлены лиофилизированные сухие массы без усадки в нижней области сухой массы и без образования крышки.

Анализ лиофилизированной сухой массы

Остаточная вода (по Карлу Фишеру): 0,20%

Содержание СОЕДИНЕНИЯ (целевое значение = 0,50 мг/мл): 0,51 мг/мл

Чистота СОЕДИНЕНИЯ: 100%

Остаточное содержание воды существенно уменьшилось на стадии нормализации до 0,20%.

Пример 3

Аналогично примеру 2 получали партию размером 60 флаконов следующей композиции (что соответствует 0,50 мг/г СОЕДИНЕНИЯ, 5% масс. глицина, 0,1% масс. полисорбата 20 в 10 ммоль/кг фосфатно-натриевого буфера, pH 7,5).

a	WFI	3200 мг	3200 мг
b	NaOH, 15% (масс./масс.)	12,0 мг	12,0 мг
c	КОМПОЗИЦИЯ	1,90 мг	--
d	Глицин	190 мг	190 мг
e	H_3PO_4, 85% (масс./масс.)	4,38 мг	4,38 мг
f	Полисорбат 20, 10% (масс./масс.)	38,0 мг	3,80 мг
g	NaOH, 1% (масс./масс.)	Дов. pH до 7,5 ± 0,2	Дов. pH до 7,5 ± 0,2
h	WFI	Доб. до конечной массы 3800 мг	Доб. до конечной массы 3800 мг

Композиции, представленные в примере 3, подвергали воздействию условий лиофилизации, как описано в примере 2 A)–C).

При визуальном исследовании обнаружили, что лиофилизированные сухие массы не отличались от соответствующих сухих масс, полученных для композиций примера 2 в аналогичных условиях.

Пример 4. Испытание стабильности при использовании

Для оценки потенциальной адсорбции СОЕДИНЕНИЯ на инфузионной системе применяли следующую процедуру:

Получали имитацию инфузионного раствора в 0,9% NaCl с содержанием СОЕДИНЕНИЯ 4,5 мкг/мл и 36 мкг/мл, соответственно, путем прямого смешивания в шприце:

Соответствующий лиофилизат разводили в 3,6 мл солевого раствора (с получением общего объема прибл. 3,8 мл с концентрацией СОЕДИНЕНИЯ 0,5 мг/мл), концентрацию СОЕДИНЕНИЯ оценивали методом ОФ-ВЭЖХ (точка 1 выборки). Удаляли поршень коричневого шприца из полипропилена объемом 50 мл и шприц закрывали комбинированным колпачком для люэровского наконечника. Для 4,5 мкг/мл СОЕДИНЕНИЯ: Набирали 49,55 г 0,9% NaCl (плотность при 25 °C = 1,003 г/мл) в шприц объемом 50 мл. Для 36 мкг/мл СОЕДИНЕНИЯ: Набирали 46,40 г 0,9% NaCl (плотность при 25 °C = 1,003 г/мл) в шприц объемом 50 мл.

Для 4,5 мкг/мл СОЕДИНЕНИЯ: Извлекали 0,450 мл разведенного варианта состава (0,5 мг/мл СОЕДИНЕНИЯ) из стеклянного флакона 10R и переносили в шприц из ПП объемом 50 мл, заполненный солевым раствором, для получения концентрации СОЕДИНЕНИЯ для инфузии 4,5 мкг/мл. Для 36 мкг/мл СОЕДИНЕНИЯ: Извлекали 3,6 мл разведенного варианта состава (0,5 мг/мл СОЕДИНЕНИЯ) из стеклянного флакона 10R и переносили в шприц из ПП объемом 50 мл, заполненный солевым раствором, для получения концентрации СОЕДИНЕНИЯ для инфузии 36 мкг/мл. Шприц закрывали вставкой плунжера. Раствор перемешивали до однородности путем осторожного встряхивания. Избыточное давление в шприце устраняли путем аккуратного открывания закрывающего колпачка в вертикальном положении. Шприц хранили в течение 4 часов (моделирование худшего случая) при комнатной температуре и в отсутствие света. Инфузионную трубку соединяли со шприцем и промывали инфузионным раствором. Собирали первый мл (точка 2 выборки) и анализировали методом ОФ-ВЭЖХ. Оценивали концентрацию СОЕДИНЕНИЯ и профиль примесей. По прошествии полного периода извлечения (тестирование при инфузионном потоке 0,625 мл/мин), равного 80 мин, при комнатной температуре и при отсутствии света высвобождали и собирали оставшийся инфузионный раствор, а последний 1 мл отбирали непосредственно в виалу для ВЭЖХ из темного стекла для анализа (точка 3 выборки). Оценивали концентрацию СОЕДИНЕНИЯ и профиль примесей. Полный высвобожденный на предыдущих стадиях объем инфузии собирали и гомогенизировали. Общий объем документировали и определяли концентрацию СОЕДИНЕНИЯ и профиль примесей с помощью ОФ-ВЭЖХ (точка 4 выборки). Все определения чистоты и содержания СОЕДИНЕНИЯ в растворе проводили в двух повторениях методом ОФ-ВЭЖХ с использованием стандартной кривой.

Для определения общей дозы СОЕДИНЕНИЯ, доставленной пациенту, содержание СОЕДИНЕНИЯ, измеренное в различных точках выборки, суммировали в общий баланс массы (точка 4 выборки). Ниже показана относительная общая доза по отношению (100%) к измеренной концентрации СОЕДИНЕНИЯ в разведенном флаконе.

№	Целевой pH	Детергент	Наполнитель	Целевая концентрация СОЕДИНЕНИЯ для инфузии, [мкг/мл]	Относительное общее извлечение СОЕДИНЕНИЯ (точка 4 выборки)
1a	7,5	0,1% PS20	5% глицина	4,5 36	90% 97%
2	7,5	0,1% полоксамера 188	5% глицина	4,5 36	87% 96%
3	7,5	0,1% полоксамера 188	5% трегалозы	4,5 36	87% 96%
4	7,5	0,1% PS20	5% трегалозы	4,5 36	88% 97%
5	7,5	0,1% PS80	5% глицина	4,5 36	83% 97%
1b	7,5	0,3% PS20	5% глицина	4,5	93%, 94%

Относительное снижение содержания СОЕДИНЕНИЯ выше в более разбавленных инфузионных растворах (4,5 мкг/мл), чем в более низких разведениях (36 мкг/мл). Для 4,5 мкг/г СОЕДИНЕНИЯ наибольшее снижение можно было наблюдать в варианте № 5; наименьшее снижение — в варианте № 1a. В вариантах с 36 мкг/г СОЕДИНЕНИЯ адсорбция на инфузионной системе была сопоставимой во всех протестированных вариантах с потерей содержания СОЕДИНЕНИЯ от 3% до 4%.

При испытании стабильности при использовании с 3-кратной концентрацией полисорбата 20 в варианте № 1b с 4,5 мкг/г СОЕДИНЕНИЯ было получено дополнительное улучшение на 3–4 процента по сравнению с наблюдаемым извлечением СОЕДИНЕНИЯ на 90% в варианте № 1a с 0,1% полисорбатом 20.

<u>Пример 5.</u> Испытания физической и химической стабильности

<u>Получение буфера и пробы</u>

Маточный раствор СОЕДИНЕНИЯ (1 мг/г СОЕДИНЕНИЯ в 10 ммоль/кг Na-PO4, pH 7,5, посредством предварительного растворения в NaOH):

поверх 1680 мг 4 М NaOH наливали 500 г очищенной воды, после чего добавляли 600 мг СОЕДИНЕНИЯ. Смесь перемешивали в лабораторном стакане из нержавеющей стали при комнатной температуре в течение 60 минут до получения прозрачного

раствора. Добавляли 691,2 мг орто-фосфорной кислоты (85%) и доводили pH до 7,5 с помощью 1 M NaOH. В итоге в раствор добавляли очищенную воду до конечной массы 600 г.

Маточные растворы наполнителя (10% наполнителя в 10 ммоль/кг Na-PO4, pH 7,5):

поверх 287,5 мг орто-фосфорной кислоты (85%) наливали 75,0 г очищенной воды. Добавляли 10,00 г соответствующего наполнителя и смесь перемешивали до получения прозрачного раствора. После этого pH доводили до 7,5 с помощью 1 M NaOH и раствор доводили до конечной массы 100 г.

Маточные растворы детергента (10% масс. детергента в 10 ммоль/кг Na-PO4, pH 7,5):

к 1,00 г соответствующего детергента добавляли 10 ммоль/кг Na-PO4 до 10,0 г, pH 7,5, и перемешивали до получения прозрачного раствора.

Приготовление и разделение на аликвоты вариантов состава для лиофилизации:

900 мг соответствующего маточного раствора детергента, 45 г соответствующего маточного раствора наполнителя и 45 г маточного раствора СОЕДИНЕНИЯ смешивали в лабораторном стакане из нержавеющей стали с получением соответствующего варианта состава, содержащего 0,5 мг/г СОЕДИНЕНИЯ, 5% (масс./масс.) наполнителя и 0,1% (масс./масс.) детергента в 10 ммоль/кг фосфатно-натриевого буфера при pH 7,5. Затем полученный раствор фильтровали через фильтр из PVDF с размером пор 0,22 мкм и наливали во флаконы 10R аликвотами по 3,8 мл. Флаконы герметично закрывали лиофильной пробкой и надлежащим обжимным колпачком.

Были получены следующие пробы.

№	Целевой pH	Детергент	Наполнитель
6	7,5	0,1% полоксамера 188	5% глицина
7	7,5	0,1% полоксамера 188	5% маннитол
8	7,5	0,1% полоксамера 188	5% трегалозы
9	7,5	0,1% полоксамера 188	5% Kollidon® 17PF
10	7,5	0,1% полоксамера 188	5% L-пролин
11	7,5	0,1% PS20	5% глицина
12	7,5	0,1% PS20	5% маннитол
13	7,5	0,1% PS20	5% трегалозы
14	7,5	0,1% PS20	5% Kollidon® 17PF
15	7,5	0,1% PS20	5% L-пролин
16	7,5	0,1% PS80	5% глицина
19	7,5	0,1% PS80	5% Kollidon® 17PF
20	7,5	0,1% PS80	5% L-пролин

Выбрали консервативный цикл лиофилизации, который, как считается, является приемлемым для всех вариантов состава. Стадию нормализации выполняли в соответствии с литературой (Xiaolin Tang and Michael J. Pikal, Pharmaceutical Research, Vol. 21, No. 2, February 2004).

Стадия	Температура полки [°C]	Температура ледового конденсатора [°C]	Давление (MKS) [мбар]	Время стадии [ч:мин]	Общее время [ч:мин]
Загрузка	20	–	1000	00:01	0:01
Изменение температуры для замораживания	-45	–	1000	01:00	1:01
Замораживание	-45	–	1000	04:00	5:01
Изменение температуры для нормализации	-20	–	1000	01:00	6:01
Нормализация	-20	–	1000	03:00	9:01
Изменение температуры для замораживания	-45	–	1000	01:00	10:01
Замораживание	-45	–	1000	02:00	12:01
Корректировка вакуума	-45	-75	0,05	00:30	12:31
Изменение температуры для первичной сушки	-10	-75	0,05	01:00	13:31
Первичная сушка	-10	-75	0,05	50:00	63:31
Изменение температуры для вторичной сушки	40	-75	0,05	03:00	66:31
Вторичная сушка	40	-75	0,05	05:00	71:31

Физическая стабильность

Варианты, содержащие глицин (№ 6, № 11 и № 16) и маннитол (№ 7 и № 12), демонстрировали практически полное отсутствие видимой деформации сухой массы. Варианты, содержащие трегалозу (№ 8 и № 13), демонстрировали небольшую усадку, при которой трещины не наблюдались. Варианты, содержащие Kollidon® 17PF (№ 9, № 14 и № 19), демонстрировали сильную усадку, а также растрескивание сухой массы. В этих конкретных композициях L-пролин (№ 10, № 15 и № 20) был неприемлем. Несмотря на относительно низкий уровень температуры, содержащие L-пролин лиофилизаты расплавлялись в процессе лиофилизации, создавая сублимационное давление для выталкивания сухой массы вверх.

Химическая стабильность

Для анализа содержания и чистоты методом ОФ-ВЭЖХ брали шесть различных проб каждого варианта состава после различных стадий получения.

Чистоту СОЕДИНЕНИЯ в разные моменты времени отбора проб определяли путем расчета относительных площадей пиков при 302 нм.

№	До фильтрации	После фильтрации	После лиофилизации перед форсированным разложением	Через 4 недели, 40 °C, ОВ 75%	Через 4 недели, 60 °C, неконтролируемая ОВ
6	100,0	100,0	99,5	100,0	98,9
7	100,0	100,0	99,2	99,5	81,9
8	100,0	100,0	99,3	99,5	98,3
9	99,6	99,7	96,7	95,7	95,9
10	100,0	100,0	98,5	99,4	93,7
11	100,0	100,0	99,3	99,9	98,8
12	100,0	100,0	98,8	99,2	80,7
13	100,0	99,9	99,2	99,5	98,0
14	100,0	99,9	97,1	96,6	96,0
15	100,0	100,0	99,5	99,4	87,2
16	100,0	100,0	99,7	99,9	98,7
19	99,9	99,8	97,8	97,5	97,6
20	100,0	100,0	99,6	99,4	87,1

Во время приготовления, фильтрации и лиофилизации СОЕДИНЕНИЕ было достаточно стабильным во всех матрицах составов: Не наблюдали никакого значимого снижения содержания и чистоты. Процесс лиофилизации не оказывает заметного влияния на содержание и чистоту. Пробы, которые хранили при 40 °C, демонстрировали незначительное снижение или отсутствие снижения по содержанию и чистоте. Воздействие на лиофилизаты повышенных температур во время исследования форсированного разложения при 60 °C показало низкую стабильность для содержащих маннитол лиофилизатов (№ 7, № 12) и наилучшую химическую стабильность вариантов, содержащих глицин (№ 6, № 11, № 16) и трегалозу (№ 8, № 13).

Пример 6. Исследование адсорбции

Эталонный образец 6a

Лиофилизаты, содержащие 0,1 мг/г СОЕДИНЕНИЯ, получали с использованием следующей композиции, имеющей целевой pH 7,5.

Компонент	**Количество**
КОМПОЗИЦИЯ	0,1 г/кг
Водн. гидроксид натрия 1 М	1,04 г/кг
Водн. соляная кислота 1 М	0,6 мг/кг
Трометамол (2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диол), доведение pH до 7,5	2,5 мМ
Глицин	25 мг/кг
WFI	973 г/кг

Эталонный образец 6b

Лиофилизаты, содержащие 0,5 мг СОЕДИНЕНИЯ в коричневых флаконах объемом 20 мл, получали с использованием следующей композиции, имеющей целевой pH 7,5.

Компонент	**Кол-во на флакон**
КОМПОЗИЦИЯ	0,5 мг
Водн. гидроксид натрия 1 М	5,2 мг
Водн. соляная кислота 1 М	3,0 мг
Трометамол (2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диол)	1,5 мг
Глицин	125,0 мг

Композиции разводили во флаконе с 20 мл несущей среды и необязательно дополнительно разбавляли до ½ концентрации СОЕДИНЕНИЯ путем прямого разбавления дополнительным количеством несущей среды в шприце.

Адсорбцию тестируют путем создания в инфузионной системе скорости потока 0,3 мл/мин. Концентрации СОЕДИНЕНИЯ измеряют во флаконе для лиофилизации (эталонное значение), (необязательно: в шприце после стадии разбавления (T_s)), при T_0 (первые капли, вытекающие из инфузионной системы), через 5 мин (T_5) и через 10 мин (T_{10}) потока через инфузионную систему.

a) Разведенная композиция в 0,9% солевом растворе в качестве несущей среды (без дополнительного разведения) демонстрирует адсорбцию на инфузионной системе, как показано ниже.

Время	Извлечение	Время	Извлечение	Время	Извлечение	Время	Извлечение
T_s	Не измеряли	T_0	59%	T_5	100%	T_{10}	100%

Добавление в несущую среду 2% масс. ПЭГ 400, 10% масс. этанола или 6% пропиленгликоля приводит к извлечению при T_0 70%, 76%, 67%, соответственно.

b) Разведенная композиция с использованием i) 0,9% солевого раствора + 40% масс. гидроксипропил-бета-циклодекстрина, ii) 0,9% солевого раствора + 3% масс. Kolliphor® или iii) 0,9% солевого раствор + 2% масс. Tween® 80 в качестве несущей среды (без дополнительного разведения) демонстрирует адсорбцию на инфузионном системе, как показано ниже.

№	Время	Извлечение	Время	Извлечение	Время	Извлечение	Время	Извлечение
i)	T_s	Не измеряли	T_0	97%	T_5	102%	T_{10}	100%
ii)	T_s	Не измеряли	T_0	100%	T_5	105%	T_{10}	107%
iii)	T_s	Не	T_0	101%	T_5	106%	T_{10}	104%

№	Время	Извлечение	Время	Извлечение	Время	Извлечение	Время	Извлечение
		измеряли						

c) Исследование разведенной композиции с использованием i) 0,9% солевого раствора + 0,1% масс. Kolliphor® или ii) 0,9% солевого раствора + 0,1% масс. Tween® 80 в качестве несущей среды с дополнительным разведением до ½ концентрации СОЕДИНЕНИЯ подтверждает, что адсорбцию при T_0 можно предотвращать.

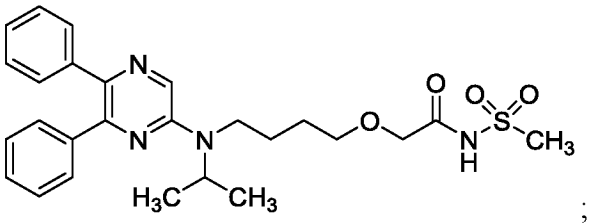
№	Время	Извлечение	Время	Извлечение	Время	Извлечение	Время	Извлечение
i)	T_s	92%	T_0	93%	T_5	96%	T_{10}	96%
ii)	T_s	95%	T_0	95%	T_5	96%	T_{10}	96%
0,9% солевой раствор	T_s	95%	T_0	36%	T_5	96%	T_{10}	95%

В исследовании абсолютной биодоступности использовали композицию из эталонного примера 6a, разведенную с использованием солевого раствора; и адсорбцию устраняли путем использования концентраций выше 8 мкг/мл, промывая всю инфузионную систему разведенной композицией эталонного примера 6a и используя низкие скорости инфузии, такие как 0,1–0,3 мл/мин.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- от около 0,1 г/кг до 1 г/кг соединения 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида:



;

- от около 2,5% масс. до 10% масс. наполнителя, который представляет собой глицин;
- от около 0,05% масс. до 0,4% масс. детергента, который представляет собой полисорбат 20; и
- водный фосфатный буфер, причем общее количество указанного фосфатного буфера составляет от около 5 ммоль/кг до 20 ммоль/кг;

при этом значение pH указанной водной фармацевтической композиции составляет от около 7 до 8.

2. Водная фармацевтическая композиция по п. 1, содержащая:

- около 0,5 г/кг соединения: 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида;
- от около 3% масс. до 6% масс. глицина;
- от около 0,1% масс. до 0,3% масс. полисорбата 20; и
- водный фосфатно-натриевый буфер, причем концентрация указанного фосфатно-натриевого буфера составляет от около 5 ммоль/кг до 20 ммоль/кг;

при этом значение pH указанной водной фармацевтической композиции составляет 7,5 ± 0,2.

3. Водная фармацевтическая композиция по п. 1, содержащая

- около 0,5 г/кг соединения: 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида;
- 5 ± 0,5% масс. глицина;
- около 0,3% масс. полисорбата 20; и

- водный фосфатно-натриевый буфер, причем концентрация указанного фосфатно-натриевого буфера составляет от около 5 ммоль/кг до 20 ммоль/кг;

при этом значение pH указанной водной фармацевтической композиции составляет 7,5 ± 0,2.

4. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–3, в которой соединение 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамид в кристаллической форме используют для получения указанной композиции.

5. Способ получения лиофилизированной фармацевтической композиции; причем указанный способ включает стадии, на которых:

a) получают водную фармацевтическую композицию по любому из пп. 1–4; и
b) сушат сублимацией указанную водную фармацевтическую композицию с образованием сухой массы с использованием способа, включающего стадии, на которых:
   (i) замораживают водную фармацевтическую композицию при первой температуре в течение периода, достаточного для преобразования жидкого состава в твердое состояние, причем указанная первая температура находится в диапазоне от около -55 °C до -25 °C;
   (ii) нормализуют замороженную композицию при второй температуре; причем указанная вторая температура находится в диапазоне от около -20 °C до -1 °C;
   (iii) воздействуют на замороженную композицию вакуумом при третьей температуре, причем указанная третья температура находится в диапазоне от около -55 °C до -25 °C; и
   (iv) сушат композицию в указанном вакууме при четвертой температуре, причем указанная четвертая температура находится в диапазоне от около 20 °C до 40 °C.

6. Лиофилизированная фармацевтическая композиция, полученная путем лиофилизации водной фармацевтической композиции по любому из пп. 1–4.

7. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 6, причем указанная лиофилизированная фармацевтическая композиция находится в контейнере.

8. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 6 или 7, причем указанная лиофилизированная фармацевтическая композиция имеет остаточное содержание воды менее около 2% масс.

9. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по любому из пп. 6–8, причем указанная лиофилизированная фармацевтическая композиция является химически стабильной и физически стабильной при комнатной температуре и относительной влажности около 75% или ниже в течение по меньшей мере 6 месяцев.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–4 или 6–9 для применения в качестве лекарственного средства.

11. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–4 или 6–9 для применения при профилактике или лечении язвы, язвы пальцев, диабетической гангрены, диабетической язвы стопы, легочной гипертензии, легочной артериальной гипертензии, болезни Фонтена и легочной гипертензии, ассоциированной с болезнью Фонтена, саркоидоза и легочной гипертензии, ассоциированной с саркоидозом, нарушения периферического кровообращения, заболевания соединительной ткани, хронических заболеваниях почек, включая гломерулонефрит и диабетическую нейропатию на любой стадии, заболеваний, при которых наблюдается фиброз органов или тканей, или респираторных заболеваний.

12. Способ получения разведенной фармацевтической композиции, причем указанный способ включает стадию разведения лиофилизированной фармацевтической композиции по любому из пп. 6–9 путем добавления по меньшей мере одного разбавителя к указанной лиофилизированной композиции.

13. Разведенная фармацевтическая композиция, полученная из лиофилизированной фармацевтической композиции по любому из пп. 6–8.

14. Разведенная фармацевтическая композиция по п. 13, причем указанная разведенная фармацевтическая композиция находится в контейнере.

15. Разведенная фармацевтическая композиция по п. 13 или 14, причем указанную разведенную фармацевтическую композицию разводят в течение периода разведения менее около 2 минут.

16. Разведенная фармацевтическая композиция по п. 13 или 14, причем указанную разведенную фармацевтическую композицию разводят с использованием в качестве разбавителя воды для инъекций или солевого раствора; при этом общий объем указанной разведенной фармацевтической композиции составляет от около 2 до 10 мл.

17. Разведенная фармацевтическая композиция по любому из пп. 13–16, причем указанную разведенную фармацевтическую композицию или часть указанной разведенной фармацевтической композиции дополнительно разбавляют; при этом указанная разведенная и дополнительно разбавленная фармацевтическая композиция содержит от около 4,5 мкг/мл, 9 мкг/мл, 13,5 мкг/мл, 18 мкг/мл, 22,5 мкг/мл, 27 мкг/мл, 31,5 мкг/мл или 36 мкг/мл соединения 2-{4-[N-(5,6-дифенилпиразин-2-ил)-N-изопропиламино]бутилокси}-N-(метилсульфонил)ацетамида.

18. Разведенная и дополнительно разбавленная фармацевтическая композиция по п. 17, причем указанная разведенная и дополнительно разбавленная фармацевтическая композиция имеет осмоляльность менее около 1000 мОсм/кг.