

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040073**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.04.18

(21) Номер заявки
201791336

(22) Дата подачи заявки
2015.12.17

(51) Int. Cl. *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01)

(54) **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ СОСТАВЫ НА ОСНОВЕ ИНГИБИТОРОВ ТРОПОМИОЗИН-РОДСТВЕННЫХ КИНАЗ (TRK)**

(31) **62/093,801**

(32) **2014.12.18**

(33) **US**

(43) **2017.10.31**

(86) **PCT/US2015/066396**

(87) **WO 2016/100677 2016.06.23**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЖЕНЗИМ КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:
**Либерман Харви, Ян Дунлай,
Филбрук К. Майкл, Сантос Майкл, Хо
Крис (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) **US-A1-2010204246
WO-A1-2013176970
WO-A1-2015089139**

(57) Изобретение относится к моногидратной форме 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, а также к кристаллической форме I указанного выше соединения, которая демонстрирует улучшенные характеристики по сравнению с ангидратной формой. Кроме того, раскрываются фармацевтические составы, содержащие моногидратную форму 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин или ее кристаллическую форму I.

B1**040073****040073****B1**

Предпосылки изобретения

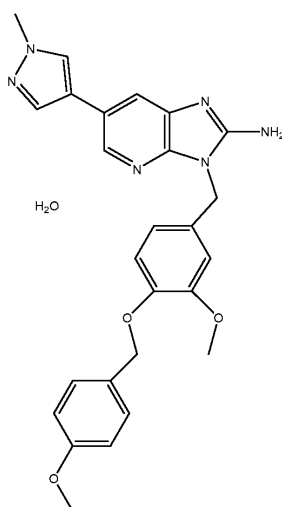
Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к моногидратной форме 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин и фармацевтическим составам на ее основе. 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин является ингибитором тропомиозин-родственных киназ ("Trk-ингибитор"). Моногидратная форма обладает требуемыми свойствами, которые облегчают получение 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин в фармацевтических составах.

Trk-ингибитор, 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин и способы получения Trk-ингибитора раскрыты в Международной заявке на патент PCT/US14/69469 и заявке на патент США № 14/564773, каждая из которых называется ингибиторами тропомиозин-родственных киназ (TRK), которые включены в данный документ с помощью ссылки.

Краткое описание изобретения

Первый аспект настоящего изобретения относится к соединению, представленному следующей структурной формулой:



Второй аспект настоящего изобретения относится к кристаллической форме I указанного выше соединения, порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) которой содержит следующие пики при 2 θ , измеренные с использованием CuK α -излучения: 3,6, 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 и 14,3.

Третий аспект настоящего изобретения относится к фармацевтическому составу, обладающему ингибирующим действием в отношении тропомиозин-родственных киназ (Trk) или клеточного рецептора для колониестимулирующего фактора-1 (с-FMS), содержащему указанную выше кристаллическую форму I и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Четвертый аспект настоящего изобретения относится к фармацевтическому составу, обладающему Trk или с-FMS ингибирующим действием, содержащему указанное выше соединение и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Краткое описание изображений графических материалов

Фиг. 1 - порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин, 4-40 при °2 θ . XRPD моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин демонстрирует уникальные пики при 7,14, 8,89, 10,22, 12,42, 12,73 и 14,31 при 2 θ , измеренные с использованием CuK α -излучения.

Фиг. 2 - термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) и термического гравиметрического анализа (TGA) моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин, нагретого при 10°C/мин. Термограмма DSC свидетельствует о трех термических явлениях при 76,72, 160,13 и 195,78°C, термограмма TGA свидетельствует о потере веса на уровне 3,7% от 25 до 100°C.

Фиг. 3 - кристаллическая структура моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин. Показана кристаллическая структура моногидратной формы Trk-ингибитора.

Фиг. 4 - перекрытие дифрактограммы XRPD, полученной в результате экспериментов, и рентгенограммы XRPD, рассчитанной по монокристаллической структуре. На данной фигуре показано перекрытие порошковой рентгенограммы, полученной в результате экспериментов, с рассчитанной по монокристаллической структуре. Высокая степень совпадения свидетельствует о том, что монокристаллическая

структура является характерной для сыпучего материала.

Фиг. 5 - влияние нагрузки API на профиль IVR - микросферы 12% API/9:1 R202H:752H, 16% API/9:1 R202H:752H и 20% API/9:1 R202H:752H. На данной фигуре показано сравнение влияния нагрузки 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амином на профиль высвобождения *in vitro* микросфер с различным составом.

Фиг. 6 - термограммы DSC микросфер 16% API/9:1 R202H:752H и 20% API/9:1 R202H:752H. Термограмма DSC свидетельствует о том, что 20% микросфер характеризуются эндотермическим плавлением между 130-150°C, что подтверждает присутствие на поверхности кристаллов лекарственного средства.

Фиг. 7 - изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер 16% API/9:1 R202H:752H (1500X). Микросферы, нагруженные лекарственным средством на 16%, демонстрируют отсутствие кристаллов лекарственного средства, указывая на то, что лекарственное средство является аморфным.

Фиг. 8 - изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер 20% API/9:1 R202H:752H (1500X). Микросферы, нагруженные лекарственным средством на 20%, характеризуются наличием на поверхности кристаллов лекарственного средства.

Фиг. 9 - влияние нагрузки API на профиль IVR - микросферы 15% API/R202H, 17% API/R202H и 19% API/R202H. На данной фигуре показано сравнение влияния нагрузки 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амином на профиль высвобождения *in vitro* микросфер с различным составом.

Фиг. 10 - влияние нагрузки API на профиль IVR - микросферы 16% API/9,5:0,5 R202H:752H, 18% API/9,5:0,5 R202H:752H и 20% API/9,5:0,5 R202H:752H. На данной фигуре показано сравнение влияния нагрузки 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амином на профиль высвобождения *in vitro* микросфер с различным составом.

Фиг. 11 - влияние полимерной смеси на профиль IVR микросферы 16% API/R202H, 16% API/9,0:0,5 R202H:RG752H и 16% API/9:1 R202H:RG752H. На данной фигуре показано влияние полимерной смеси на профиль высвобождения *in vitro* микросфер с различным составом.

Фиг. 12 - влияние полимерной смеси на профиль IVR микросферы 16% API/R202H, 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H и 16% API/9:1 R202H:RG502H. На данной фигуре показано влияние полимерной смеси на профиль высвобождения *in vitro* микросфер с различным составом.

Фиг. 13 - составы, демонстрирующие профиль IVR нулевого порядка в течение 180 дней - микросферы 15% API/9:1 R203H:RG752H и 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H. Микросферы, полученные с использованием 15% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин в полимерах R203H:752H при соотношении 9:1 и 16% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин в полимерах R202H:RG502H при соотношении 9,5:0,5, демонстрируют профиль высвобождения псевдонулевого порядка в течение 6 месяцев.

Фиг. 14 - влияние систем вспомогательных растворителей, используемых при получении, на профиль IVR - микросферы 16% API/9:1 R203H:RG752H - 9:1 DCM:MeOH, 9,0:5:0,5 DCM:MeOH:BA, 9,5:0,5 DCM:BA, 9:1 DCM:BA. На данной фигуре показано сравнение системы вспомогательных растворителей, используемой при получении микросфер, на профиль высвобождения *in vitro* микросфер с 16% нагрузкой лекарственным средством и полимерной смеси 9:1 R203H:RG752H.

Фиг. 15 - влияние системы вспомогательных растворителей DCM:BA для повышения нагрузки API на профиль IVR - микросферы 16% API/9:1 R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40% API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H. На данной фигуре показано сравнение влияния системы вспомогательных наполнителей, используемых при получении микросфер для увеличения нагрузки лекарственным средством, на профиль высвобождения *in vitro* микросфер с различными полимерными смесями.

Фиг. 16 - изображения со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер, полученных с применением процесса микроинкапсуляции тонкодисперсной суспензии (1500X). Микросферы, полученные с помощью инкапсуляции суспензии 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, были сферической формы с шероховатой структурой поверхности вследствие присутствия кристаллов лекарственного средства, внедренных в поверхность.

Фиг. 17 - влияние процесса микроинкапсуляции тонкодисперсной суспензии на профиль IVR - микросферы 25% API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA+2,6 мл EA, 25% API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA+3,25 мл EA, 25% API/R203H 39 мл 5% PVA+2,0 мл EA, 30% микрофлюидизированного API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA+2,0 мл EA, 40% микрофлюидизированного API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA+2,0 мл EA, 30% микрофлюидизированного API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA+2,0 мл EA, 30% микрофлюидизированного API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA+2,3 мл EA, 30% микрофлюидизированного API/R202S 39 мл 5% PVA+2,0 мл EA, 30% микрофлюидизированного API/R203S 39 мл 5% PVA+2,0 мл. На данной фигуре показано сравнение влияния процесса микроинкапсуляции тонкодисперсной суспензии, используемого при получении микросфер, на профиль высвобождения *in vitro* мик-

росфер с различной нагрузкой лекарственным средством.

Фиг. 18 - изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер 16% API/9:1 R202H:RG752H, экстрагирование растворителем (1000X). Микросферы, полученные с помощью экстрагирования растворителем, были сферической формы с гладкой структурой поверхности.

Фиг. 19 - изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер 16% API/9:1 R202H:RG752H, высушивание распылением (1000X). Микросферы, полученные с помощью сушки распылением, были сферической формы со своеобразной структурой поверхности.

Фиг. 20 - влияние процесса микроинкапсуляции на профиль IVR микросферы 16% API/9:1 R202H:RG752H, полученные с помощью экстракции растворителем (OW), микросферы 16% API/9:1 R202H:RG752H, полученные с помощью высушивания распылением (20 и 22,5% полимера), и микросферы 16% API/9:1 R203H:RG752H, полученные с помощью высушивания распылением (22,5% полимера). На данной фигуре показано сравнение профиля высвобождения *in vitro* микросфер 9:1 R202H:RG752H, нагруженных лекарственным средством на 16%, полученным с помощью экстрагирования растворителем и высушивания распылением, и влияние процесса микроинкапсуляции на профиль высвобождения *in vitro* микросфер с различным составом.

Фиг. 21 - изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер 16% API/1:1 R202H:R203H/без добавок, сушка распылением (1000X). Присутствуют микросферы 16% API/1:1 R202H:R203H/без добавок, полученные с помощью сушки распылением.

Фиг. 22 - изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг PEG, сушка распылением (1000X). Присутствуют микросферы 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг PEG, полученные с помощью сушки распылением.

Фиг. 23 - изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг полксамера 407, сушка распылением (1000X). Присутствуют микросферы 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг полксамера 407, полученные с помощью сушки распылением.

Фиг. 24 - влияние содержания в % 10 кДа PEG или 1% полксамера 407 на профиль IVR - 16% API/1:1 R202H:R203H/без добавок, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг PEG, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг полксамера 407. На данной фигуре показано сравнение профиля высвобождения *in vitro* микросфер 16% API/1:1 R202H:R203H/без добавок, микросфер 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг PEG и микросфер 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг полксамера 407, полученных с помощью высушивания распылением.

Фиг. 25 - профиль IVR (крысы) *in vivo* - микросферы 16% API/9:1 R202H:RG502H и 15% API/9:1 R203H:RG752H. На данной фигуре показано профиль высвобождения практически нулевого порядка *in vivo* в течение примерно 3-4 месяцев и 5-6 месяцев для микросфер 16% API/9:1 R202H:RG502H и 15% API/9:1 R203H:RG752H.

Фиг. 26 - сохранение с течением времени [^{14}C] 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (коленный сустав крысы) - микросферы 16% API/9:1 R202H:RG502H и 15% API/9:1 R203H:RG752H. После внутрисуставного введения в коленные суставы крысы для микросфер 16% API/9:1 R202H:RG502H и 15% API/9:1 R203H:RG752H показано высвобождение лекарственного средства в течение 5-6 месяцев; для 16% API/9:1 R202H:RG502H показан 12% остаток в суставе после 5 месяцев и для 15% API/9:1 R203H:RG752H показан остаток 30% лекарственного средства после 6 месяцев.

Фиг. 27 - профили зависимости концентрация - время для 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (кровь крысы) микросферы 16% API/9:1 R202H:RG502H и 15% API/9:1 R203H:RG752H. На данной фигуре показан профиль зависимости концентрация лекарственного средства в крови-время после внутрисуставного введения микросфер, нагруженных 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амином.

Фиг. 28 - профиль IVR - микросферы 16% API/9:1 R202H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H и 40% API/203H.

Фиг. 29 - профили зависимости концентрация - время для 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин - микросферы 16% API/9:1 R202H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H и 40% API/203H.

Фиг. 30 - измеренная или смоделированная XRPD форм 1-4 (безводные и гидратированные формы). Представлена XRPD безводных и гидратированных форм 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин.

Фиг. 31 - XRPD формы 5 (этанол). Показана XRPD формы 5 (этанол) 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин.

Фиг. 32 - XRPD формы 9 (ацетон). Показана XRPD формы 9 (ацетон) 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин.

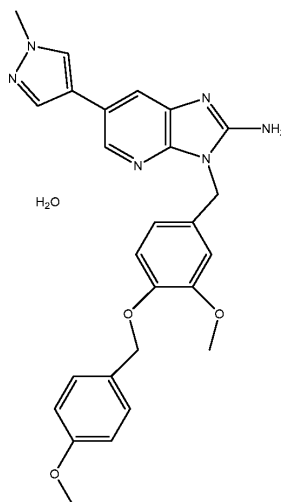
Фиг. 33 - сравнение XRPD формы 10 (ацетон) и формы 9 (ацетон). На данной фигуре показано сравнение двух форм 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, полученных в ацетоне.

Фиг. 34 - XRPD формы 11 (ацетонитрил). Показана XRPD формы 11 (ацетонитрил) 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Фиг. 35 - твердые кристаллические фазы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин. На данной фигуре показано сравнение десяти кристаллических форм 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, полученных в результате экспериментов.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к соединению, представленному следующей структурной формулой:



Кроме того, настоящее изобретение также относится к кристаллической форме I указанного выше соединения, порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) которой содержит следующие пики при 2θ , измеренные с использованием $\text{CuK}\alpha$ -излучения: 3,6, 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 и 14,3.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическому составу, обладающему ингибирующим действием в отношении тропомиозин-родственных киназ (Trk) или клеточного рецептора для колониестимулирующего фактора-1 (с-FMS), содержащему указанную выше кристаллическую форму I и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Указанный фармацевтический состав предназначен для лечения остеоартрита, боли, а также боли, связанной с остеоартритом.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения предложенный фармацевтический состав содержит фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, которое включает разбавитель, суспендирующий агент и буферный агент.

В предпочтительном варианте разбавитель представляет собой сорбит, суспендирующий агент представляет собой повидон и буферный агент представляет собой фосфорную кислоту.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическому составу, обладающему Trk или с-FMS ингибирующим действием, содержащему (а.) указанное выше соединение и (б.) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В предпочтительном варианте фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество включает разбавитель.

В предпочтительном варианте разбавитель выбран из: мальтита, подсолнечного масла, альгината аммония, карбоната кальция, лактата кальция, безводного двухосновного фосфата кальция, двухосновного дигидрата, трехосновного, силиката кальция, сульфата кальция, целлюлозы, ацетата целлюлозы, пресуемого сахара, кондитерского сахара, кукурузного крахмала и прежелатинизированного крахмала, декстратов, декстрина, декстрозы, эритрита, этилцеллюлозы, фруктозы, фумаровой кислоты, глицерилпальмитостеарата, лактозы для ингаляционных препаратов, изомальта, каолина, лактита, лактозы, карбоната магния, оксида магния, мальтодекстрина, мальтозы, маннита, среднецепочечных триглицеридов, микрокристаллической целлюлозы, полидекстрозы, полиметакрилатов, симетикона, альгината натрия, хлорида натрия, сорбита, крахмала, сахарозы, сахарных сфер, сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, талька, трагаканта, трегалозы, ксилита.

В предпочтительном варианте фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество включает суспендирующее средство.

В предпочтительном варианте суспендирующее средство выбрано из: аравийской камеди, агара, альгиновой кислоты, бентонита, стеарата кальция, карбомера, карбоксиметилцеллюлозы, каррагенана, целлюлозы, коллоидного диоксида кремния, декстрина, желатина, гуаровой камеди, гекторита, гидрофобного коллоидного диоксида кремния, гидроксиэтилцеллюлозы, гидроксиметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, гипромеллозы, каолина, алюмосиликата магния, растворов мальтита, среднецепочеч-

ных триглицеридов, метилцеллюлозы, фенилмеркурбората, фосфолипидов, поликарбофила, полиэтиленгликоля, полиоксиэтиленовых сложных эфиров сорбита и жирных кислот, повидона (поливинилпирролидона), пропиленгликольальгината, сапонита, кунжутного масла, альгината натрия, сложных эфиров сорбита, сахарозы, трагаканта, полиэтиленгликольсукцината витамина Е и ксантановой камеди.

В предпочтительном варианте фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество включает буферное средство.

В предпочтительном варианте буферное средство выбрано из: адипиновой кислоты, аммиачного раствора, борной кислоты, карбоната кальция, гидроксида кальция, лактата кальция, фосфата кальция, трехосновного, моногидрата лимонной кислоты, двухосновного фосфата натрия, диэтаноламина, глицина, малеиновой кислоты, яблочной кислоты, метионина, одноосновного фосфата натрия, моноэтаноламина, моноглутамата натрия, фосфорной кислоты, цитрата калия, ацетата натрия, бикарбоната натрия, бората натрия, карбоната натрия, дигидрата цитрата натрия, гидроксида натрия, лактата натрия или триэтаноламина.

Указанный выше фармацевтический состав предназначен для лечения остеоартрита, боли и боли, связанной с остеоартритом.

В предпочтительном варианте фармацевтический состав содержит фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, которое включает разбавитель, суспендирующий агент и буферный агент.

В предпочтительном варианте разбавитель представляет собой сорбит, суспендирующий агент представляет собой повидон и буферный агент представляет собой фосфорную кислоту.

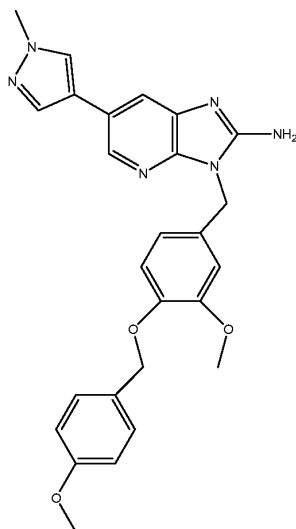
Фармацевтические составы, содержащие Trk-ингибитор по настоящему изобретению, ингибируют тропомиозин-родственную киназу А (TrkA), тропомиозин-родственную киназу В (TrkB), тропомиозин-родственную киназу С (TrkC) или c-FMS (клеточный рецептор для колониестимулирующего фактора-1 (CSF-1)). Тропомиозин-родственные киназы (Trk) являются высокоаффинными рецепторами, активированными с помощью растворимых факторов роста, называемых нейтрофинами (NT). TrkA, также известный как рецептор нейротрофной тирозинкиназы типа 1, активируется с помощью фактора роста нервов (NGF). TrkB активируется с помощью мозгового фактора роста и NT-4/5. TrkC активируется с помощью NT3. Активация Trk приводит к активации последующих киназ, которые вовлечены в сигнальную систему клетки, в том числе пролиферацию, выживание, ангиогенез и метастаз. Trk вовлечен в ряд заболеваний, в том числе ОА.

Фармацевтические составы, содержащие Trk-ингибитор по настоящему изобретению, могут также ингибировать c-FMS (клеточный рецептор для колониестимулирующего фактора-1 (CSF-1)). C-FMS выполняет роль в регуляции функционирования макрофагов и, как полагают, выполняет роль в развитии воспалительных заболеваний, аутоиммунного заболевания, нарушений метаболизма в костной ткани и рака (Burns and Wilks, 2011, Informa Healthcare).

ОА представляет собой широко распространенное и тяжело протекающее заболевание суставов, характеризующееся хронической болью и разрушением суставного хряща. Недавние клинические испытания подтвердили значение блокирования NGF при боли в колене при ОА, демонстрируя значительное облегчение боли и высоких показателей частоты положительного ответа на лечение у пациентов, которых лечили с помощью внутривенной инфузии блокирующих антител к NGF (Lane, 2010, N Engl J Med). Однако такая методика может приводить к повышенной опасности возникновения побочных эффектов вследствие системного ингибирования сигнального пути NGF (FDA Arthritis Advisory Committee Meeting to Discuss Safety Issues Related to the Anti-Nerve Growth Factor Agents; <http://www.fda.gov/AdvisoryCommittees/Calendar/ucm286556.htm>). Соответственно были приняты новые подходы в отношении целенаправленного воздействия на боль при ОА, опосредованном NGF, посредством разработки Trk-ингибиторов, а именно TrkA-ингибиторов, высокоаффинного рецептора для NGF (Nicol, 2007, Molecular Interv). Trk-ингибиторы по настоящему изобретению доставляют локально, и таким образом избегают системного распределения, наблюдаемого при внутривенном введении антител к NGF. Данная стратегия лечения предусматривает преимущество повышенных доз, а также большую безопасность за счет обеспечения возможности сохранения физиологически необходимого сигнального пути NGF (т.е. сохранения чувствительных/симпатических нервов, ангиогенеза) в участках, отличных от участков локального применения.

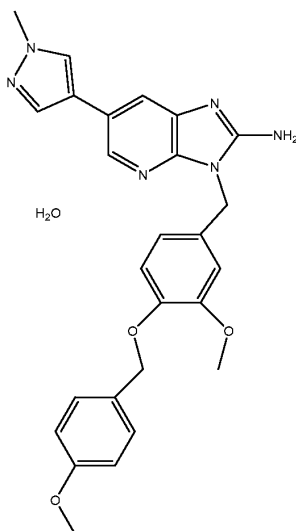
Фармацевтические композиции, содержащие Trk-ингибиторы, можно вводить в виде многократных дозированных форм, в том числе инъекции для локальной доставки как микрокристаллической суспензии, так и составов с пролонгированным высвобождением. В фармацевтических композициях, содержащих Trk-ингибитор, Trk-ингибитор представляет собой активный фармацевтический ингредиент. Trk-ингибитор можно также вводить совместно и/или составлять с другими активными ингредиентами для лечения заболевания, в том числе лечения боли, ОА и боли, связанной с ОА.

3-(3-Метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин также известен как GZ389988.



Формула (I): 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин (GZ389988).

Проблема, решаемая в настоящем изобретении, заключается в сложности составления композиций, содержащих 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин. Решение данной проблемы заключается в выявлении того, что моногидратная форма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин характеризуется улучшенными по сравнению с ангидридной формой физико-химическими свойствами, в том числе улучшенной физической стабильностью и более медленным растворением в воде. Ангидратная форма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин относительно не стабильна в растворе, что приводит к проблемам при ее составлении в фармацевтическую композицию. Ангидратная форма демонстрирует различные изменения в твердой форме под действием определенных условий, в том числе преобразование в гидрат. Моногидратная форма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин обеспечивает дополнительную стабильность и является существенным фактором для избежания полиморфного преобразования при длительном хранении и обработке, а также способствует достижению улучшенной физической стабильности. Кроме того, при использовании моногидратной формы наблюдалось более медленное растворение в водном растворе. Моногидратная форма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, также известная как GZ389988A, представлена нижеприведенной формулой (II).



Формула (II): моногидратная форма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин (GZ389988A).

Молекулярный вес 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин составляет 470,54 г/моль, а его химическая формула представляет собой $C_{26}H_{26}N_6O_3$. Моногидратная форма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин имеет вид белого с оттенком порошка, который под микроскопом под поляризованным светом выглядит как тонкие иголки или волокнистые частицы.

Моногидратную форму 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин получают в соответствии с примером 1.

Фармацевтические составы, содержащие Тгк-ингибитор, могут содержать один или несколько фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ. Пути введения фармацевтических составов, содержащих Тгк-ингибитор, включают пероральный, сублингвальный, внутривенный, подкожный, внутримышечный, внутрисуставный, трансдермальный, ректальный, ингаляционный, интратекальный/интравентрикулярный и локального применения. Соответственно фармацевтические составы, содержащие Тгк-ингибитор, могут быть составлены, например, в виде капсул, таблеток, порошка, раствора, суспензии, эмульсии, лиофилизированного порошка или состава с пролонгированным высвобождением, содержащего инъекционные микрокапсулы.

Вспомогательные вещества, используемые в фармацевтических составах, содержащих Тгк-ингибитор, будут зависеть от пути введения, для которого предусмотрен данный фармацевтический состав, содержащий Тгк-ингибитор.

Пригодные вспомогательные вещества включают без ограничения неорганические или органические материалы, такие как разбавители, растворители, желатин, альбумин, лактозу, крахмал, стабилизаторы, средства для растворения, эмульгирующие средства, суспендирующие средства, соли и буферные растворы. Подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества для внутрисуставных составов, таких как растворы или суспензии, включают без ограничения коммерчески доступные инертные гели или жидкости.

С учетом низкой растворимости Тгк-ингибитора, 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, и моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин для получения состава в форме микрокристаллической суспензии для внутрисуставной инъекции, содержащего Тгк-ингибитор как активный фармацевтический ингредиент, необходимо суспендирующее средство. Широко используемые фармацевтически приемлемые суспендирующие средства включают: аравийскую камедь, агар, альгиновую кислоту, бентонит, стеарат кальция, карбомер, карбоксиметилцеллюлозу (кальциевую и натриевую), каррагенан, целлюлозу (микрокристаллическую, микрокристаллическую и натрий-карбоксиметилцеллюлозу, порошкообразную), коллоидный диоксид кремния, декстрин, желатин, гуаровую камедь, гекторит, гидрофобный коллоидный диоксид кремния, гидроксиэтилцеллюлозу, гидроксиметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гипромеллозу, каолин, алюмосиликат магния, растворы мальтита, среднецепочечные триглицериды, метилцеллюлозу, фенилмеркуроборат, фосфолипиды, поликарбофил, полиэтиленгликоль, полиоксиэтиленовые сложные эфиры сорбита и жирных кислот, повидон (поливинилпирролидон), пропиленгликольальгинат, сапонит, кунжутное масло, альгинат натрия, сложные эфиры сорбита, сахарозу, трагакант, полиэтиленгликольсукцинат витамина Е и ксантановую камедь (Handbook of Pharmaceutical Excipients, издание 6-е).

В составе раствора для внутрисуставного введения, активным ингредиентом в которых выступает моногидратная форма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, Тгк-ингибитор, также используются буферные средства. Фармацевтически приемлемые буферные средства включают в себя: адипиновую кислоту, аммиачный раствор, борную кислоту, карбонат кальция, гидроксид кальция, лактат кальция, фосфат кальция, трехосновный, моногидрат лимонной кислоты, двухосновный фосфат натрия, диэтаноламин, глицин, малеиновую кислоту, яблочную кислоту, метионин, одноосновный фосфат натрия, моноэтаноламин, моноглутамат натрия, фосфорную кислоту, цитрат калия, ацетат натрия, бикарбонат натрия, борат натрия, карбонат натрия, дигидрат цитрата натрия, гидроксид натрия, лактат натрия и триэтаноламин (Handbook of Pharmaceutical Excipients, издание 6-е).

Поскольку фармацевтические составы, содержащие Тгк-ингибитор по настоящему изобретению, представляют собой составы для внутрисуставного введения, то они также могут содержать растворители. Пригодные разбавители для вариантов применения, как в настоящем изобретении, включают в себя: мальтит, подсолнечное масло, альгинат аммония, карбонат кальция, лактат кальция, безводный двухосновный фосфат кальция, двухосновный дигидрат, трехосновный, силикат кальция, сульфат кальция, целлюлозу (порошкообразную, силицированную микрокристаллическую), ацетат целлюлозы, прессуемый сахар, кондитерский сахар, кукурузный крахмал и прежелатинизированный крахмал, декстраты, декстрин, декстозу, эритрит, этилцеллюлозу, фруктозу, фумаровую кислоту, глицерилпальмитостеарат, лактозу для ингаляционных препаратов, изомальт, каолин, лактит, лактозу (безводную, моногидратную и кукурузный крахмал, моногидратную и микрокристаллическую целлюлозы, высушенную распылением), карбонат магния, оксид магния, мальтодекстрин, мальтозу, манит, среднецепочечные триглицериды, микрокристаллическую целлюлозу, полидекстозу, полиметакрилаты, симетикон, альгинат натрия, хлорид натрия, сорбит, крахмал (прежелатинизированный, стабилизированный маисовый), сахарозу, сахарные сферы, сульфобутиловый эфир бета-циклодекстрина, тальк, трагакант, трегалозу, ксилит (Handbook of Pharmaceutical Excipients, издание 6-е).

Фармацевтические составы в форме микрокристаллической суспензии, содержащие в качестве активного ингредиента Тгк-ингибитор с моногидратной формой 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)

окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, описаны в примере 2.

Способ изготовления моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин предусматривает:

- a. смешивание 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин с растворителем с образованием суспензии;
- b. перемешивание суспензии;
- c. осуществление сбора твердых веществ из суспензии с помощью фильтрования; и
- d. высушивание твердых веществ.

В данном способе используемый для получения суспензии растворитель может представлять собой смесь ацетона и воды. Кроме того, суспензию можно перемешивать в течение ночи, а собранные твердые частицы можно подвергать высушиванию на воздухе.

Следующие неограничивающие примеры иллюстрируют различные варианты осуществления настоящего изобретения, в том числе способы получения моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, фармацевтические составы, содержащие моногидратную форму 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, фармацевтические составы с пролонгированным высвобождением, содержащие 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, и способы получения таких составов с пролонгированным высвобождением.

Примеры

Пример 1. Моногидратная форма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Пример 1-1. Синтез моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

К перемешиваемому раствору 3-метокси-4-((4-метоксибензилокси)фенил)метанамина (2,00 г, 7,32 ммоль) и 5-бром-2-хлор-3-нитропиридина (1,66 г, 6,97 ммоль) в ацетонитриле (50 мл) добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (1,13 г, 8,71 ммоль). Полученную в результате смесь нагревали до температуры возврата флегмы и обеспечивали ей перемешивание. Через 64 ч реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры и разбавляли ее водой. Смесь дважды экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические фазы высушивали над сульфатом магния, фильтровали и концентрировали с получением 3,34 г (>100%) 5-бром-*N*-(3-метокси-4-((4-метоксибензилокси)бензил)-3-нитропиридин-2-амин) в виде желто-коричневого твердого вещества.

К перемешиваемому раствору 5-бром-*N*-(3-метокси-4-((4-метоксибензилокси)бензил)-3-нитропиридин-2-амин) в тетрагидрофуране (40 мл), этаноле (40 мл) и воде (40 мл) добавляли гидросульфит натрия (6,09 г, 34,99 ммоль). Полученную в результате смесь нагревали до температуры возврата флегмы и обеспечивали ей перемешивание. Через 4 ч реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры и разбавляли ее водой. Желтую смесь три раза экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали (сульфатом магния), фильтровали и концентрировали с получением 3,10 г желто-коричневого твердого вещества. С помощью хроматографической очистки (Combi-Flash 40 г SiO₂, золотая колонка, 1-2,5% метанола/дихлорметана) получали 1,28 г (51%) 5-бром-*N*²-(3-метокси-4-((4-метоксибензилокси)бензил)пиридин-2,3-диамина) в виде желтого твердого вещества.

К перемешиваемому раствору 5-бром-*N*²-(3-метокси-4-((4-метоксибензилокси)бензил)пиридин-2,3-диамина) (0,850 г, 1,91 ммоль) в дихлорметане (30 мл) и метаноле (30 мл) добавляли бромистый циан (5,0 М в ацетонитриле, 573 мкл, 2,87 ммоль). Полученному в результате раствору обеспечивали перемешивание при комнатной температуре. Через 24 ч добавляли вторую аликвоту раствора бромистого циана (600 мкл) и перемешивание продолжали. Через 48 ч добавляли третью аликвоту раствора бромистого циана (600 мкл) и перемешивание продолжали. В целом через 72 ч реакционную смесь концентрировали и остаток растворяли в дихлорметане. Раствор промывали 1 н. раствором гидроксида натрия, высушивали над сульфатом магния, фильтровали и концентрировали с получением 1,17 г коричневого твердого вещества. С помощью хроматографической очистки (Combi-Flash, 40 г SiO₂, золотая колонка, 1-10% 2 М аминака в смеси метанола/дихлорметана) получали 0,28 г (32%) 6-бром-3-(3-метокси-4-((4-метоксибензилокси)бензил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин) в виде коричневого твердого вещества.

К перемешиваемому раствору 6-бром-3-(3-метокси-4-((4-метоксибензилокси)бензил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин) (0,25 г, 0,53 ммоль) в 1,4-диоксане (10 мл) и воде (4 мл) добавляли 1-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол (0,14 г, 0,66 ммоль), трехосновный фосфат калия (0,39 г, 1,84 ммоль), трициклогексилфосфин (0,015 г, 0,052 ммоль), ацетат палладия(II) (0,005 г, 0,026 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 125°C в микроволновом реакторе. Через 15 мин реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры и разбавляли ее водой. Смесь дважды экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом магния, фильтровали и концентрировали с получением 0,36 г зеленовато-коричневого твердого вещества. С помощью хроматографической очистки (Combi-Flash, 12 г SiO₂, золо-

тая колонка, 1-10% 2 М аммиака в смеси метанола/дихлорметана) получали 0,10 г (41%) продукта в виде светло-зеленого твердого вещества.

3-(3-Метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин добавляли к раствору ацетонитрила (2 мл) и воды (0,1 мл). Данную суспензию перемешивали с использованием магнитного перемешивания при комнатной температуре в течение ночи. Твердые вещества собирали с помощью фильтрования и сушили на воздухе. Структуру подтверждали с помощью протонного ЯМР. Термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) демонстрировала три термических явления при 76,72, 160,13 и 195,78°C, термограмма термического гравиметрического анализа (TGA) демонстрировала потерю веса 3,7% от 25 до 100°C, и анализ с использованием рентгеновской порошковой дифрактометрии (XRPD) демонстрировал уникальные пики при 3,6, 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 и 14,3 при 2 θ , измеренные с использованием $\text{CuK}\alpha$ -излучения (точность $\pm 0,2^\circ$).

Пример 1-2. Идентификация кристаллической структуры моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Также была раскрыта кристаллическая структура моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин. Кристалл моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин перекристаллизовывали из смеси ацетона/воды. Кристалл размером 0,20×0,08×0,03 мм получали таким, чтобы он подходил для дифракционных решеток, когда его размещали наверху держателя MiTeGen MicroMount. Данные о рентгеновской дифракции собирали с использованием трехкружного дифрактометра Bruker/AXS, оснащенного площадным детектором SMART APEX, устройством для поддержания низкой температуры (модель LT 2) и медно-К микрофокусного генератора, работающего при 45 кВ/650 мкА, и многослойной оптикой Montel для фокусировки луча с диаметром пятна фокусировки во втором фокусе ~250 мкм (Wiesmann et al., 2007). Данные собирали с использованием пакета программ SMART верс. 5.628 (Bruker AXS, 2001) и обрабатывали с использованием программы SAINT+окончательная версия 6.45 (Bruker AXS, 2003). Этот анализ показал 2459 отражений ($\theta_{\text{мин}}=1,78$, $\theta_{\text{макс}}=50,21$; $0 < h < 24$, $4 < k < 0$, $-19 < l < 19$), из которых все 2459 отражений были уникальны ($R_{\text{int}}=0,0158$, $R_{\sigma}=0,01583$). Уточнение параметров ячеек осуществляли с использованием 1405 отражений. Применяли эмпирическую поправку на поглощение и фазовую проблему решали с использованием модуля "структура-раствор" набора APEX2.

Структуру уточняли с использованием способов наименьших квадратов (минимизация $(F_o^2 - F_c^2)^2$) с использованием модуля XL набора APEX2 (Bruker AXS, 2011). Рассчитывали положения всех атомов водорода $S_{\text{критерий соответствия}}=1,085$, $R_{\text{всех данных}}=0,1329$ ($R_{\text{набл. данных}}=0,0920$ для 1614 отражений с $|F_{\text{набл.}}| > 4\sigma$, $wR2_{\text{всех данных}}=0,2710$, $wR2_{\text{набл. данных}}=0,2377$). Наибольшие неопознанные пики на карте разностей соответствовали -0,348 против +0,386 электронов на Å³. Среднее полученное стандартное отклонение (e.s.d.) для связи C-C составляло 0,009 Å, связи O-C составляло 0,009 Å и связи N-C составляло 0,009 Å. Среднее e.s.d. углов связи C-C-C составляло 0,7 и углов закручивания C-C-C-C - 1,004°.

Кристаллическая структура моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин показана на фиг. 3. На фиг. 4 показано перекрытие порошковой рентгенограммы, полученной в результате экспериментов, с рассчитанной по монокристаллической структуре. Высокая степень совпадения свидетельствует о том, что монокристаллическая структура является характерной для сыпучего материала.

Пример 2. Составы в форме микрокристаллической суспензии моногидрата 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Были разработаны фармацевтические составы в форме микрокристаллической суспензии Тгk-ингибитора, в которых в качестве активного ингредиента использована моногидратная форма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин. Эти составы были разработаны в виде суспензии частиц нерастворимого 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин для длительной доставки Тгk-ингибитора в организм с течением времени. Такой подход основан на низкой растворимости активного ингредиента и величине дозы для контроля продолжительности высвобождения; он также демонстрировал длительную доставку *in vivo* 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в течение примерно 1 месяца.

Пример 2-1. Микрокристаллическая суспензия для инъекции, содержащая 20 мг/мл моногидрата 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Получали фармацевтический состав, содержащий 20 мг моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин на мл раствора. Состав микрокристаллической суспензии 20 мг/мл приведен в табл. 1 ниже.

Таблица 1. Состав в форме микрокристаллической суспензии 20 мг/мл

Компонент	Состав на дозу	Функция
Моногидратная форма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5- <i>b</i>]пиридин-2-амин	72 мг	Активный ингредиент
Сорбит	162 мг	Разбавитель
Повидон K17, не содержащий пирогенов	72 мг	Суспендирующее средство
Фосфатный буфер (10 мМ, pH 7,4)	3,6 мл†	Буферное средство

† - применяли переполнение на 10%.

Пример 2-2. Способ изготовления состава в форме микрокристаллической суспензии, содержащей 20 мг/мл моногидрата 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Раствор 20 мг/мл моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин получали в соответствии со следующими стадиями.

1) Фосфатный буфер 10 мМ, pH 7,4, получали с помощью объединения соответствующих количеств воды для инъекций (WFI) и дигидрогенофосфата натрия, перемешивания для завершения растворения, а затем регулирования значения pH до уровня 7,4 ($\pm 0,2$) с использованием 1 н. раствора гидроксида натрия.

2) Носитель получали с помощью объединения соответствующих количеств сорбита и пирогенного повидона K17, добавления 10 мМ фосфатного буфера с pH 7,4 и перемешивания до полного растворения.

3) После этого полученный носитель фильтровали через 0,22 мкм гидрофильный фильтр из PVDF [поливинилиденфторид].

4) Концентрированную суспензию получали с помощью смешивания моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин с подходящим носителем с получением 30 мг/мл концентрированной суспензии.

5) Концентрированную суспензию при взбалтывании фильтровали через 75 мкм сито из нержавеющей стали.

6) Продолжая взбалтывание, предварительно профильтрованную суспензию фильтровали через 40 мкм сито из нержавеющей стали с получением концентрированной суспензии.

7) Концентрацию концентрированной суспензии регулировали с использованием фильтрованного носителя с получением суспензии 20 мг/мл.

8) Готовую суспензию наполняли в стерильные и апирогенные бесцветные стеклянные флаконы типа I до наполнения объема 3,6 мл. Флаконы закупоривали стерильными апирогенными бромбутиловыми пробками, покрытыми ETFE. Пробки обжимали стерильными алюминиевыми крышками и на флаконы надевали стерильные белые пластиковые защитные колпачки.

9) Наполненные флаконы стерилизовали на оборудовании для автоклавирования.

Пример 2-3. Клинические дозы состава в форме микрокристаллической суспензии, содержащей 20 мг/мл моногидрата 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Микрокристаллическую суспензию 20 мг/мл моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин дополнительно модифицировали до достижения дозы и объема, достаточных для введения пациенту в окончательных конфигурациях лекарственного средства. При необходимости, микрокристаллическую суспензию 20 мг/мл перерабатывали в целевые дозы. Итоговые характеристики различных форматов дозировки и объемов приведены в табл. 2.

Таблица 2. Клинические представления микрокристаллической суспензии, содержащей 20 мг/мл моногидрата 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин

Целевая доза (мг)	Общий объем флакона для повторного растворения (мл)	Конечная концентрация во флаконе (мг/мл)	Объем, вводимый пациенту (мл)
3	3,47	0,98	3,2
10	3,95	3,29	3,2
30	6,60	10	3,2
60	Не применимо†	20	3,2
100	Не применимо†	20	5,4‡

† - для достижения требуемой конечной концентрации необходимости в повторном растворении нет,

‡ - 2 флакона по 2,7 мл.

Пример 3. Составы с пролонгированным высвобождением, содержащие 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

В некоторых случаях требуется продлить продолжительность высвобождения лекарственного средства, например до времени воздействия более 3 месяцев. Соответственно составы с пролонгированным высвобождением, содержащие в качестве активного ингредиента Trk-ингибитор, 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, получают и составляют с использованием либо ангидридной, либо моногидратной формы соединения. Подход к получению состава с пролонгированным высвобождением предполагает использование полимеров поли(D,L-лактида) (PLA), сополимера D,L-лактида и гликолида (PLGA) или комбинации полимеров PLA-PLGA для инкапсуляции 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин (активного фармацевтического ингредиента [API] или лекарственного средства [DS]) с получением раствора лекарственного средства [DP] инъектируемых микрокапсул. Такие составы способны обеспечить длительное, или в течение более 3 месяцев, высвобождение лекарственного средства в организм. Краткая характеристика различных полимеров, используемых при получении составов с пролонгированным высвобождением по данному примеру, приведена в табл. 3.

Таблица 3. Полимеры, используемые в составах с пролонгированным высвобождением, содержащих моногидрат 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин

Справочный код по каталогу фирмы Evonik	Название полимера	Общая структура	Характеристическая вязкость* (г/моль)	Концевая группа
R202H	Поли (D, L-лактид) [PLA]		0,16-0,24	Кислота
R202S	Поли (D, L-лактид) [PLA]		0,16-0,24	Сложный эфир
R203H	Поли (D, L-лактид) [PLA]		0,25-0,35	Кислота
R203S	Поли (D, L-лактид) [PLA]		0,25-0,35	Сложный эфир
RG502H	Сополимер D, L-лактида и гликолида 50:50 [PLGA]		0,16-0,24	Кислота
RG752H	Сополимер D, L-лактида и гликолида 75:25 [PLGA]		0,14-0,22	Кислота

* - характеристическую вязкость раствора измеряли при концентрации 0,1% вес/об. в CHCl₃ при 25°C, с использованием стеклянного капиллярного вискозиметра Уббелоде с размером 0с.

Источник: <http://www.resomer.com/product/biodegradable-polymers/en/pharmapolymers/products/pages/bioresorbable-polymer.aspx>.

В фармацевтических составах с пролонгированным высвобождением, содержащих Trk-ингибитор, в которых в качестве активного ингредиента используется 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, используют биоразлагаемые полимеры, поли(D,L-лактид) и/или сополимер D,L-лактида и гликолида для изменения контроля высвобождения активного ингредиента в результате растворения частиц лекарственного средства в отношении гидролиза полимеров. При использовании соответствующей комбинации полимеров и нагрузки активного ингредиента можно контролировать скорость высвобождения лекарственного средства так, чтобы обеспечить воздействие в течение 3 или более месяцев. Конкретные комбинации полимеров PLGA/PLA и 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-

амин получают таким образом, чтобы продлить продолжительность высвобождения лекарственного средства до более чем 3 месяца; такие составы дополнительно описаны в данном примере.

Пример 3-1. Влияние нагрузки 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амином на профиль высвобождения *in vitro*.

Фармацевтические композиции, содержащие микросферы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, получали экстрагированием растворителем. Количества 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин и массы полимеров PLA/PGLA, используемые для получения каждой партии, приведены в табл. 4. Исследовали кинетику высвобождения *in vitro* (IVR) этих различных составов.

Таблица 4. Композиции микросфер[‡] - 12% API/9:1 R202H:752H,
16% API/9:1 R202H:752H и 20% API/9:1 R202H:752H

Номер партии	Нагрузка GZ389988†	Вес GZ389988 (мг)	Соотношение полимеров	Количество полимеров (мг) *
1	12%	36	9:1 R202H:752H	234:26
2	16%	50	9:1 R202H:752H	234:26
3	20%	65	9:1 R202H:752H	234:26

[‡] - получено с помощью экстрагирования растворителем,

[†] - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-[1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин,

* - общее количество полимеров=260 мг.

3-(3-Метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин растворяли в 2 мл раствора дихлорметана (DCM): метанола (MeOH) 9:1 при слабом нагреве (~30 мин). Добавляли полимер и растворяли в течение 30 мин. Отдельно 39 мл холодного про-фильтрованного через стерильный фильтр раствора поливиниламина (PVA) (5% вес/об. в воде) помещали в химический стакан объемом 250 мл, оснащенный тефлоновой магнитной мешалкой с размером 7,9×38,1 мм. Стакан ставили на ледяной бане на платформу магнитной мешалки IKA RCT, настроенную на 500 об/мин. Раствор полимера/лекарственного средства фильтровали в раствор PVA с использованием 0,2 мкм шприцевого фильтра Pall Acrodisc из PTFE, прикрепленного к стеклянному шприцу Hamilton на 5 куб.см. После добавления из раствора полимера/лекарственного средства получали эмульсию. Через 1 мин добавляли 160 мл холодной деионизированной воды. Через 5 мин скорость перемешивания снижали до 300 об/мин. Микросферы получали с помощью экстрагирования растворителем в течение 3 ч. Микросферы просеивали через 75 и 38 мкм структурированные сита с использованием холодного 0,1% раствора Kolliphor P 407 в деионизированной воде; собирали фракцию 38-75 мкм и избыток раствора для промывки удаляли. Микросферы замораживали при -80°C и лиофилизировали.

Кинетику IVR для высвобождения 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин из составов микросфер определяли с помощью получения 2% (вес/об.) водного раствора микросфер в 0,2% растворе гиалуроновой кислоты+0,2% растворе Kolliphor P 407 с целью имитации внутрисуставного пространства колена. В трех повторах объемы суспензий с теоретической нагрузкой 500 мкг 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин пипетировали в отдельные стеклянные центрифужные пробирки объемом 50 мл, содержащие среду для высвобождения, содержащую 0,5% раствор додецилсульфата натрия в PBS, pH 7,4. Пробирки размещали на боку в инкубатор возвратно-поступательного шюттлаппарата при 37°C. В каждой временной точке микросферам давали осесть, образцы среды для высвобождения объемом 1 мл отбирали и заменяли. Для определения действительной общей массы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в образцах IVR, отбирали те же объемы суспензий, которые использовали для изучения высвобождения (тремякратно), и добавляли 10 мл диметилсульфоксида. Образцы обрабатывали ультразвуком, слабо нагревали и размещали на шейкер для растворения при комнатной температуре. Эти образцы анализировали на общее содержание 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин с помощью HPLC-UV. Совокупный профиль IVR строили в виде зависимости процента действительной нагрузки 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амином от времени.

Эффективность инкапсуляции 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин определяли с помощью деления действительной нагрузки лекарственным средством на теоретическую нагрузку. Для определения действительной нагрузки, массы точно взвешенных микросфер, нагруженных 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амином, растворяли в диметилсульфоксиде и измеряли концентрацию 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-

пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин с помощью HPLC-UV.

Профили IVR демонстрировали уровни нагрузки лекарственным средством выше 16% (вес/вес), продемонстрировав "взрывное" высвобождение (фиг. 5). Причину такого "взрывного" поведения определяли с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) и сканирующей электронной микроскопии (SEM). Анализ с помощью DSC показал, что при уровнях нагрузки лекарственными средствами выше 16% (вес/вес) в микросферах происходила кристаллизация, что подтверждалось эндотермой плавления при ISO-150°C (фиг. 6). Кристаллизацию лекарственного средства выявляли также с помощью SEM, где при уровнях нагрузки лекарственными средствами выше 16% продемонстрированы кристаллы лекарственного средства на поверхностях микросфер (фиг. 7).

Фиг. 6 демонстрирует, что 20% микросфер демонстрировали, что эндотерма плавления между 130-150°C подтверждала присутствие кристаллов лекарственного средства. На фиг. 7 и 8 показаны изображения SEM микросфер, нагруженных 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амином, при увеличении 1500X. На фиг. 7 микросферы, нагруженные лекарственным средством на 16%, не демонстрировали наличия кристаллов лекарственного средства (лекарственное средство являлось аморфным); на фиг. 8 микросферы, нагруженные лекарственным средством на 20%, демонстрировали наличие кристаллов лекарственного средства на поверхности.

Влияние кристаллизации лекарственного средства на IVR также продемонстрировано с использованием соответствующих композиций микросфер. На фиг. 9 показан IVR 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин из микросфер, полученных с использованием полимера R202H. На фиг. 10 показан IVR 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин из микросфер, полученных с использованием соотношения полимеров R202H и RG752H 9,5:0,5. В этих примерах при уровнях нагрузки лекарственным средством выше 16% (вес/вес) продемонстрировано "взрывное" высвобождение; при этом продолжительность "взрывного" высвобождения лекарственного средства непосредственно связана с уровнем нагрузки лекарственным средством.

Пример 3-2. Влияние полимерных смесей полилактида и сополимера лактида и гликолида на профиль высвобождения *in vitro* 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин.

Пример 3-2-1. Микросферы 16% API/R202H, 16% API/9,0:0,5 R202H:RG752H и 16% API/9:1 R202H:752H.

Получали фармацевтические композиции, содержащие 16% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин в R202H, 9,0:0,5 R202H:RG752H и 9:1 R202H:752H, 16% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин в R202H, 9,0:0,5 R202H:RG502H и 9:1 R202H:RG502H, с целью оценки влияния различных полимерных смесей на кинетику высвобождения *in vitro* 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин. В табл. 5 приводятся массы лекарственного средства и полимера, используемые для получения каждой партии. Способ, используемый для получения этих составов, описан в примере 3-1.

Таблица 5. Составы микросфер[‡], содержащие 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо [4,5-б]пиридин-2-амин, и полимерные смеси полилактида и сополимера лактида и гликолида (16% API/R202H, 16% API/9,0:0,5 R202H:RG752H и 16% API/9:1 R202H:RG752H).

Номер партии	Нагрузка GZ389988†	Вес GZ389988 (мг)	Соотношение полимеров	Количество полимеров (мг) *
4	16%	50 мг	R202H	260
5	16%	50 мг	9,5:0,5 R202H:RG752H	247:13
6	16%	50 мг	9:1 R202H:RG752H	234:26

[‡] - получено с помощью экстрагирования растворителем,

[†] - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин,

* - общее количество полимеров=260 мг.

Анализы эффективности инкапсуляции и IVR осуществляли, как описано в примере 3-1. Эффективность инкапсуляции для составов 4, 5 и 6 составляла 96,1±2,6, 87,8±6,3 и 77,7±8,6% соответственно.

Микросферы, полученные с использованием 16% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-2-амин, в полимере R202H демонстрировали двухфазную скорость высвобождения с медленной начальной скоростью высвобождения, составляющей 0-70 дней, с последующей ускоренной скоростью вторичного высвобождения, составляющей 70-110 дней (фиг. 11). Смешивание в составы микросфер с PLA более гидрофильного полимера RG752H (75:25 PLGA) повышало начальную скорость высвобождения. Этот PLGA-полимер допускал ускоренное поглощение воды микросферами, что приводило к повышению скорости. При соотношении

R202H:RG752H 9:1 начальное высвобождение совпадало со скоростью вторичного высвобождения, обеспечивая на протяжении 3 месяцев профиль высвобождения псевдонулевой степени (фиг. 11).

Пример 3-2-2. Микросферы 16% API/R202H, 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H и 16% API/9:1 R202H:RG502H.

Получали фармацевтические композиции, содержащие 16% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин в R202H, 9,0:0,5 R202H:RG502H и 9:1 R202H:RG502H, с целью оценки влияния различных полимерных смесей на кинетику высвобождения *in vitro* 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин. В табл. 6 приведены массы лекарственного средства и полимера, используемые для получения каждой партии. Способ, используемый для получения таких составов, описан в примере 3-1.

Таблица 6. Композиции микросфер[‡] - 16% API/R202H,
16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H и 16% API/9:1 R202H:RG502H

Номер партии	Нагрузка GZ389988†	Вес GZ389988 (мг)	Соотношение полимеров	Количество полимеров (мг) *
7	16%	50 мг	R202H	260
8	16%	50 мг	9,5:0,5 R202H:RG502H	247:13
9	16%	50 мг	9:1 R202H:RG502H	234:26

[‡] - получено с помощью экстрагирования растворителем,

[†] - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин,

* - общее количество полимеров=260 мг.

Анализы эффективности инкапсуляции и IVR осуществляли, как описано в примере 3-1. Эффективность инкапсуляции для составов 7, 8 и 9 составляла 96,1±2,6, 91,7±3,3 и 94,2±2,5% соответственно.

Микросферы, полученные с использованием 16% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, в полимере R202H демонстрировали двухфазную скорость высвобождения с медленной начальной скоростью высвобождения, составляющей 0-70 дней, с последующей ускоренной скоростью вторичного высвобождения, составляющей 70-110 дней (фиг. 12). Смешивание в составы микросфер с PLA более гидрофильного полимера 50:50 PLGA (RG752H) повышало начальную скорость высвобождения. RG752H допускал ускоренное поглощение воды микросферами, что приводило к повышению скорости. При соотношении R202H:RG502H 9,5:0,5 начальное высвобождение совпадало со скоростью вторичного высвобождения, обеспечивая на протяжении 6 месяцев профиль высвобождения псевдонулевой степени (фиг. 12).

Пример 3-3. Получение и определение характеристик составов микросфер, демонстрирующих кинетику высвобождения *in vitro* нулевой степени в течение 180 дней.

Получали фармацевтические композиции, содержащие 15% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин в 9:1 R203H:RG752H и 16% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин в 9,0:0,5 R202H:RG502H, и анализировали на кинетику высвобождения *in vitro*. В табл. 7 приведены массы лекарственного средства и полимера, используемые для получения каждой партии.

Таблица 7. Композиции микросфер[‡] - 15% API/9:1 R203H:RG502H и
16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H

Номер партии	Нагрузка GZ389988†	Вес GZ389988 (мг)	Соотношение полимеров	Количество полимеров (мг) *
10	15%	46 мг	9:1 R203H:RG752H	234:26
11	16%	50 мг	9,5:0,5 R202H:RG502H	247:13

[‡] - получено с помощью экстрагирования растворителем,

[†] - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин,

* - общее количество полимеров=260 мг.

Анализы эффективности инкапсуляции и IVR осуществляли, как описано в примере 3-1. Эффективность инкапсуляции для составов 10 и 11 составляла 89,7±2,1 и 91,7±3,3% соответственно.

Микросферы, полученные с использованием 15% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин в полимерах R203H:752H при соотношении 9:1 и 16% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин в полимерах R202H:RG502H при соотношении 9,5:0,5, демонстрировали профиль высвобождения псевдонулевого порядка в течение 6 месяцев (фиг. 13).

Пример 3-4. Влияние систем вспомогательных растворителей, используемых при получении, на профиль высвобождения *in vitro* 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин.

Пример 3-4-1. 16% API/9:1 R202H:RG752H, как получено для 9:1 DCM:MeOH, 9:0,5:0,5 DCM:MeOH:BA, 9:5 DCM:BA и 9:1 DCM:BA.

Фармацевтические композиции, содержащие 16% микросфер, нагруженных 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амином в 9:1 R202H:RG752H, получали с использованием различных растворов вспомогательных растворителей с различными соотношениями растворителей дихлорметана (DCM), метанола (MeOH) и бензилового спирта (BA). Использовали соотношения 9:1 DCM:MeOH, 9:0,5:0,5 DCM:MeOH:BA, 9,5:0,5 DCM:BA и 9:1 DCM:BA. Сведения о лекарственном средстве, полимерах и вспомогательных растворителях, используемых для получения каждой партии, см. в табл. 8. Способ, используемый для получения таких составов, описан в примере 3-1.

Таблица 8. Композиции микросфер[‡], полученных с использованием систем различных вспомогательных растворителей - 16% API/9:1 R203H:RG752H

Номер партии	Нагрузка GZ389988†	Вес GZ389988 (мг)	Соотношение полимеров	Количество полимеров (мг) *	Система вспомогательных растворителей
12	16%	50 мг	9:1 R202H:RG752H	234:26	9:1 DCM:MeOH
13	16%	50 мг	9:1 R202H:RG752H	234:26	9:0,5:0,5 DCM:MeOH:BA
14	16%	50 мг	9:1 R202H:RG752H	234:26	9,5:0,5 DCM:BA
15	16%	50 мг	9:1 R202H:RG752H	234:26	9:1 DCM:BA

[‡] - получено с помощью экстрагирования растворителем (системы различных вспомогательных растворителей),

[†] - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин,

* - общее количество полимеров=260 мг.

Анализы эффективности инкапсуляции и IVR осуществляли, как описано в примере 3-1. Эффективность инкапсуляции для партий 12, 13, 14 и 15 составляла 77,7±8,6, 94,9±2,0, 90,5±2,6 и 94,4±1,5% соответственно. Для включения в системы вспомогательных растворителей был выбран бензиловый спирт, вследствие его повышенной способности растворять 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин. На фиг. 14 и 15 показано, что бензиловый спирт можно использовать как часть системы вспомогательных растворителей вместе с дихлорметаном или дихлорметаном и метанолом для получения микросфер, не оказывая влияния на скорости высвобождения. Это может быть использовано для снижения возможной рекристаллизации 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин при получении микросфер.

Пример 3-4-2. Использование DCM:BA для повышения нагрузки 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амином.

Получали фармацевтические композиции, содержащие 16 и 25% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин в 9:1 R202H:RG752H, 30% и 40% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин в R202H, и 25, 30, 40 и 50% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин в R203H, с использованием переменных объемов дихлорметана (DCM) и бензилового спирта (BA). Сведения о массах лекарственного средства и полимера, объемах растворителей, используемых для получения каждой партии, см. в табл. 9. Способ, используемый для получения этих составов, описан в примере 3-1.

Таблица 9. Композиции микросфер[‡], полученных с использованием системы вспомогательных растворителей DCM:BA - 16% API/9:1 R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40% API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H

Номер партии	Нагрузка GZ389988 †	Вес GZ389988 (мг)	Соотношение полимеров	Количество полимеров (мг) *	Система вспомогательных растворителей [объем растворителя+объем растворителя (мл)]
16	16%	50 мг	9:1 R202H:RG752H	234:26	0,2 мл BA + 1,8 мл DCM
17	25%	84 мг	9:1 R202H:RG752H	234:26	0,2 мл BA + 1,8 мл DCM
18	30%	112 мг	R202H	260	0,26 мл BA + 1,2 мл DCM
19	40%	174 мг	R202H	260	0,4 мл BA + 1,2 мл DCM
20	40%	174 мг	R202H	260	0,5 мл BA + 1,2 мл DCM
21	25%	84 мг	R203H	260	0,2 мл BA + 1,8 мл DCM
22	30%	112 мг	R203H	260	0,2 мл BA + 1,8 мл DCM
23	40%	174 мг	R203H	260	0,4 мл BA + 1,2 мл DCM
24	40%	174 мг	R203H	260	0,5 мл BA + 1,2 мл DCM
25	50%	260 мг	R203H	260	0,5 мл BA + 1,2 мл DCM
26	50%	26 мг	R203H	260	0,61 мл BA + 1,2 мл DCM

‡ - получено с помощью экстрагирования растворителем,

† - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин,

* - общее количество полимеров=260 мг.

Анализы эффективности инкапсуляции и IVR осуществляли, как описано в примере 3-1. Эффективность инкапсуляции составов, полученных при использовании переменных объемов дихлорметана (DCM) и бензинового спирта (BA), составляла:

Партия	Эффективность инкапсуляции
16	94,4±1,5%
17	96,0±1,8%
18	99,2±3,6%
19	94,0±1,0%
20	100,5±1,0%
21	91,2±0,5%
22	90,2±2,8%
23	95,5±6,8%
24	95,4±3,1%
25	95,0±0,8%
26	94,7±1,7%

Для включения в системы вспомогательных растворителей был выбран бензиловый спирт, вследствие его повышенной способности растворять 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин. На фиг. 10 показано, что бензиловый спирт можно использовать как часть системы вспомогательных растворителей вместе с дихлорметаном для получения микросфер с нагрузкой до 50% (вес/вес). Показаны некоторые профили высвобождения, характеризующиеся минимальным "взрывным" высвобождением и кинетикой, которые позволили достичь продолжительности 3-6 месяцев. Объем бензинового спирта, используемого в ходе получения, влияло на "взрывное" высвобождение 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин. Снижение количества бензинового спирта в системе растворителей при поддержании той же растворимости API, 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, в растворе полимеров снижало "взрывной" эффект. Повышение нагрузки API обеспечивало преимущество за счет снижения количества полимера, введенного пациенту. Ожидается, что это улучшит биосовместимость импланта и снизит возможное накопление

полимера после повторных введений. Кроме того, повышенная нагрузка API должна переходить в снижение производственных расходов на единицу продукции.

Пример 3-5. Влияние процесса микроинкапсуляции тонкодисперсной суспензии на профиль высвобождения *in vitro* 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Фармацевтические композиции, содержащие 25% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин (моногидратная форма) в 9:1 R202H:RG752H, 30% и 40% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в 9:1 R203H:RG752H, 25% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в R202H, 30% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в R202S и 30% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в R203S, получали с использованием моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин. Сведения о массах лекарственного средства и полимера, используемых для получения каждой партии, см. в табл. 10. Партии 27, 28 и 29 получали с использованием 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин из производственных партий, тогда как партии 30, 31, 32, 33, 34 и 35 получали с использованием 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, тонко измельченного с использованием способа микрофлюидизации для обеспечения того, чтобы размер частиц составлял менее 10 мкм в диаметре. В данном примере показано сравнение различий в микросферах, полученных при диспергировании полимера в растворе поливинилового спирта (PVA) с этилацетатом (EA) или без такового, а также нагрузка API, полимерной композицией и растворами полимеров различных концентраций (с помощью варьирования объема EA).

Таблица 10. Композиции микросфер[‡], полученных с использованием процесса микроинкапсуляции тонкодисперсной суспензии - 16% API/9:1 R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40% API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H

Номер партии	Нагрузка GZ389988 †	Вес GZ389988 (мг)	Соотношение полимеров	Количество полимеров (мг) *	Объем и состав раствора дисперсии (мл)	Объем этилацетата (мл)
27	25%	84 мг	9:1 R202H:RG752H	234:26	39 мл 5% PVA	2,6
28	25%	84 мг	9:1 R202H:RG752H	234:26	39 мл 5% PVA	3,25
29	25%	84 мг	R203H	260	39 мл 5% PVA	2,0
30	30%	112 мг	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 мл 5% PVA+2,5% этилацетата	2,0
31	40%	174 мг	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 мл 5% PVA+2,5% этилацетата	2,0
32	30%	112 мг	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 мл 5% PVA+2,5% этилацетата	2,0
33	30%	112 мг	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 мл 5% PVA+2,5% этилацетата	2,3
34	30%	112 мг	R202S	260	39 мл 5% PVA+2,5% этилацетата	2,0
35	30%	112 мг	R203S	260	39 мл 5% PVA+2,5% этилацетата	2,0

[‡] - получено с помощью экстрагирования растворителем,

† - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин,

* - общее количество полимеров=260 мг.

Анализ с помощью SEM показал, что микросферы, полученные с помощью инкапсуляции суспензии 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, были сферической формы с шероховатой структурой поверхности вследствие присутствия кристаллов лекарственного средства, внедренных в поверхность (см. фиг. 16). Анализы эффектив-

ности инкапсуляции и IVR осуществляли, как описано в примере 3-1. Эффективность инкапсуляции для партий с номерами 30, 31, 32, 33, 34 и 35 составляла соответственно 103,3±3,8, 101,6±5,3, 94,7±4,0, 97,1±0,2, 35,6±0,8 и 62,5±3,0%. Эффективность инкапсуляции для партий 27, 28 или 29 не оценивали.

Профили IVR демонстрировали "взрывное" высвобождение в диапазоне от 25 до 47%, после чего следовало недостаточное высвобождение после 4 дней (см. фиг. 17). Оценку партий осуществляли в течение 21 дня.

Пример 3-6. Влияние процесса микроинкапсуляции на профиль высвобождения *in vitro* 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Получали фармацевтические композиции, содержащие 16 и 25% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в 9:1 R202H:RG752H, 25 и 30% 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в R203H, при этом использовали соотношение дихлорметан (DCM): бензиловый спирт 9:1 (BA). Сведения о массах лекарственного средства и полимера, используемых для получения каждой партии, см. в табл. 11. Способ, используемый для получения партии 23, описан в примере 3-1 относительно партии 2. Партию 24 получали с помощью растворения 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в 5,016 г 9:1 DCM/MeOH с мягкой обработкой ультразвуком. Затем добавляли два полимера и растворяли их.

Таблица 11. Композиции микросфер, полученных с помощью экстрагирования растворителем и высушивания распылением - 16% API/9:1 R202H:RG752H и без API/9:1 R202H:RG752H

Номер партии	Нагрузка GZ389988 †	Вес GZ389988 (мг)	Соотношение полимеров	Количество полимеров (мг) *	Процесс микроинкапсуляции
36	16%	50 мг	9:1 R202H:RG752H	234:26	Экстрагирование растворителем
37	16%	238,8 мг	9:1 R202H:RG752H	1140:114	Высушивание распылением
38	16%	238,8 мг	9:1 R202H:RG752H	1140:114	Высушивание распылением
39	16%	238,8 мг	9:1 R203H:RG752H	1140:114	Высушивание распылением
			H		

† - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин,

* - общее количество полимера=260 мг для партии 23 и 1254 мг для партии 24.

Высушивание распылением применяли с использованием блока ProCepT, 4M8, оснащенного соплом для текучих сред с отверстием размером 0,4 мм. Условия и параметры высушивания распылением перечислены ниже:

Номер партии	37	38	39
Нагрузка GZ389988 (% , вес/вес)	16	16	16
Растворитель (метиленхлорид: метанол (об./об.))	90:10	90:10	90:10
Концентрация раствора PLGA (% , вес/об.):	20	22,5	22,5
Скорость распыления (мл/мин.):	0,7	0,7	0,7
Расход азота при мелкодисперсном разбрызгивании (л/мин.):	4	4	4
Количество распыленного вещества (г):	6,4	5,8	5,8
Температура на входе (°C):	50	50	50
Температура в камере (°C):	41-43	40,7	40,0
Температура на выходе (°C):	27,4	22,0	22,1
Поток азота (м³/мин.):	0,35	0,35	0,35
Давление в трубопроводе для перекачки (мбар):	31-32	31-32	32
Выход (% , вес/вес)	72,8	76,7	51,6

Анализ с помощью SEM показал, что микросферы, полученные с помощью экстрагирования растворителем, были сферической формы с гладкой структурой поверхности, а микросферы, полученные с помощью сушки распылением, были сферической формы со своеобразной структурой поверхности (см. фиг. 18 и 19). Анализы эффективности инкапсуляции и IVR осуществляли, как описано в примере 3-1. Эффективность инкапсуляции партии 36, полученной с помощью экстрагирования растворителем, и партий 37 и 38, полученных с помощью высушивания распылением, составляла соответственно 107,4±11,6, 91,4±4,3 и 92,6±3,6%.

Эти два процесса микроинкапсуляции обеспечивали микросферы с профилем высвобождения практически нулевого порядка. На фиг. 18 и 19 показаны изображения SEM микросфер, нагруженных 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амином, при увеличении 1000X. Профили IVR демонстрировали разные скорости высвобождения (фиг. 20); состав, полученный с помощью сушки распылением, достигал требуемой продолжительности доставки 3-6 месяцев.

Пример 3-7. Влияние 1% 10 кДа PEG или 1% полуксамера 407 на профиль высвобождения *in vitro* микросфер, полученных с помощью сушки распылением и содержащих 16% (вес/вес) 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амина.

Данный эксперимент осуществляли для того, чтобы определить, можно ли использовать добавление гидрофильной добавки для повышения скорости высвобождения *in vitro* GZ389988 из микросфер PLA/PGA. В рамках данного эксперимента микросферы (без добавок) сравнивали с микросферами, полученными при использовании либо 1% 10 кДа PEG, либо 1% полуксамера 407. В табл. 12 приведены массы лекарственного средства и полимера, используемые для получения каждой партии.

Таблица 12. Композиции микросфер[‡], полученных с использованием 1% 10 кДа PEG или 1% полуксамера 407-16% API/1:1 R202H:R203H/без добавок, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг PEG, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг полуксамера 407

Номер партии	Нагрузка GZ389988 †	Вес GZ389988 (мг)	Соотношение полимеров	Количество полимеров (мг:мг)	Количество добавки (мг)
40	16%	500 мг	1:1 R202H:R203H	1310:1310	Не применимо
41	16%	500 мг	1:1 R202H:R203H	1297:1297	31,25 10 кДа PEG
42	16%	500 мг	1:1 R202H:R203H	1297:1297	31,25 Полуксамер 407

[‡] - получено с помощью высушивания распылением,

† - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Высушивание распылением применяли с использованием блока ProCepT, 4M8, оснащенного двойным соплом для текучих сред с отверстием размером 0,4 мм. Условия и параметры высушивания распылением перечислены ниже:

Номер партии	40	41	42
Нагрузка GZ389988 (% , вес/вес)	16	16	16
Концентрация раствора PLGA (% , вес/об.) :	22,5	22,5	22,5
Скорость распыления (мл/мин.) :	0,7	0,7	0,7
Расход воздуха (л/мин.) :	0,35	0,35	0,35
Расход азота при мелкодисперсном разбрызгивании (л/мин.) :	4	4	4
Температура в охладителе (°C) :	-4	-4	-4
Температура на входе (°C) :	50	50	50
Температура в камере (°C) :	40	40	40
Температура на выходе (°C) :	29	29	29
Давление перед циклонным уловителем (мбар) :	27-30	27-30	27-30

Анализ с помощью SEM показал, что микросферы, полученные с помощью сушки распылением с гидрофильными добавками или без таковых, демонстрировали одинаковое распределение веществ по размерам и одинаковую структуру поверхности; при этом все микросферы, полученные с помощью сушки распылением, были сферической формы со своеобразной структурой поверхности (см. фиг. 21, 22 и 23). Анализы эффективности инкапсуляции и IVR осуществляли, как описано в примере 3-1. Эффективность инкапсуляции для партий с номерами 40, 41 и 42, полученных с помощью сушки распылением, составляла соответственно 102,0±16,3, 101,7±16,3 и 100,5±16,1%.

Микросферы, полученные без добавок, демонстрировали медленный профиль высвобождения GZ389988, практически нулевого порядка, с примерно 20% высвобождением активного соединения в течение 35 дней (см. фиг. 24). Добавление либо 1% 10 кДа PEG, либо 1% полуксамера 407 повышало скорость высвобождения; при этом за 35 дней высвободилось примерно 42% активного соединения. Данный пример свидетельствует о том, что включение в состав гидрофильного вспомогательного вещества ускоряет высвобождение *in vitro* GZ389988 из микросфер PLA/PGA.

Пример 4. Исследования in vivo.

Пример 4-1. Клинические показатели in vivo микросфер, нагруженных [^{14}C]-3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амином, после внутрисуставной инъекции в коленный сустав крысы.

Для сравнения кинетики высвобождения in vitro с устойчивостью лекарственного средства in vivo на коленном суставе крысы, выбирали два состава. Составы показаны в табл. 13.

Тестирование высвобождения in vitro осуществляли с использованием способа, описанного в примере 3-1. Тестирование устойчивости лекарственного средства in vivo осуществляли с использованием [^{14}C]-3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин и немеченого 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин; причем эти две формы лекарственного средства во время процесса микроинкапсуляции растворяли совместно, с целью обеспечения одинакового распределения лекарственного средства в микросферах. Общее количество радиоактивности, полученное суставом каждой крысы, составляло ~1,2 МБк.

Оценку количества лекарственного средства, оставшегося в коленном суставе крысы, осуществляли с помощью умерщвления 2-3 крыс в каждой временной точке, криогенного измельчения коленного сустава и экстрагирования 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин из измельченных тканей.

Количественную оценку осуществляли с помощью жидкостной сцинтилляционной детекции. Количество радиоактивности, восстановленное в суставе, вычисляли с помощью деления показаний счетчика радиоактивности в каждой временной точке на показания счетчика радиоактивности для крыс, умерщвленных через 0,1 ч после начала лечения. Концентрацию радиоактивного лекарственного средства в крови крысы (выраженную в единицах нэкв/г) наносили на график зависимости от времени и сравнивали с известным значением IC_{50} для данного соединения.

Таблица 13. Композиции тестируемых in vivo микросфер -
16% API/9:1 202H:RG502H и 15% API/9:1 R203H:RG752H

Номер партии	Нагрузка GZ389988†+ [^{14}C] GZ389988	Вес GZ389988 (мг)	Соотношение полимеров	Количество полимеров (мг) *
43	16%	50 мг	9:1 R202H:RG502H	234:26
44	15%	47 мг	9:1 R203H:RG752H	234:26

† - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин,

* - общее количество полимеров=260 мг.

Профили IVR для партий 40 и 41 демонстрировали профиль высвобождения практически нулевого порядка в течение примерно 3-4 месяцев и 5-6 месяцев соответственно (см. фиг. 25). После внутрисуставного введения в коленный сустав крысы, партии 43 и 44 демонстрировали высвобождение лекарственного средства в течение 5-6 месяцев; партия 43 демонстрировала 12% остаточного количества в суставе после 5 месяцев и партия 44 демонстрировала 30% остаточного количества после 6 месяцев (см. фиг. 26). Скорость высвобождения лекарственного средства in vivo была несколько ниже по сравнению со скоростью IVR, предположительно из-за расположения микросфер в синовиальной оболочке.

На фиг. 27 показан профиль концентрация-время лекарственного средства в крови. После внутрисуставного введения микросфер, нагруженных 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амином, концентрация 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в системном отделении несколько превышала значение EC_{50} (на основе клеток) в течение первой недели, однако затем падала ниже значения EC_{50} в течение всей продолжительности эксперимента (5-6 месяцев). Данный эксперимент свидетельствует о том, что микросферы, нагруженные 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амином, обеспечивают длительную локальную доставку лекарственного средства в коленный сустав с низким системным (т.е. субтерапевтическим) воздействием лекарственного средства.

Пример 4-2. Оценка фармакокинетики GZ389988 после единичной внутрисуставной инъекции трех составов микросфер с пролонгированным высвобождением, нагруженных 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амином.

Для сравнения фармакокинетики in vitro и in vivo в системном отделении после внутрисуставной инъекции в коленные суставы крысы, выбирали три состава. Составы показаны в табл. 14.

Тестирование высвобождения in vitro осуществляли с использованием способа, описанного в примере 3-1. Клинические показатели in vivo измеряли с помощью инъекции 3 самцам крыс линии Wistar данного состава микросфер с доставкой либо 0,1 мг, либо 1 мг GZ389988 в коленный сустав. В каждой временной точке с помощью катетера отбирали из яремной вены образцы крови (~0,25 мл) и помещали их в охлажденные пробирки, содержащие K_2EDTA в качестве антикоагулянта, смешивали и держали на

льду до центрифугирования. Образцы центрифугировали в пределах 1 ч после отбора при температуре 4°C, при 3000×g в течение 5-10 мин. После центрифугирования образцов крови, плазму собирали в полипропиленовые пробирки. Образцы плазмы замораживали на сухом льду и хранили замороженными при температуре от -60 до -80°C до выполнения анализа LC-MS/MS. Концентрацию GZ389988 в плазме крови крысы (в единицах нг/мл) наносили на график зависимости от времени (всего 28 дней).

Таблица 14. Композиции и дозы микросфер, тестированных при оценке фармакокинетики GZ389988

Состав	Номер партии	Нагрузка GZ389988†	Соотношение полимеров	Введенная доза (мг)
А	45	16%	9:1 R202H:RG752 H	0,1
	46	16%	9:1 R202H:RG752 H	1
В	47	15%	9:1 R203H:RG752 H	0,1
	48	15%	9:1 R203H:RG752 H	1
С	49	40%	R203H	0,1
	50	40%	R203H	1

† - GZ389988=3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Профили IVR для состава А и состава В демонстрировали медленное высвобождение, с высвобождением примерно 10% активного соединения в течение 28 дней. Состав С демонстрировал немного более высокое начальное высвобождение в течение первых 5 дней, после чего следовало снижение скорости высвобождения в течение остальных 23 дней; в течение 28 дней высвобождалось примерно 22% активного соединения.

После внутрисуставного введения в коленные суставы крысы составы А и В демонстрировали подобные профили воздействия лекарственного средства на плазму крови в течение 28 дней; при этом оба состава демонстрировали значения $T_{\text{макс}}$ на уровне 1-1,5 ч со стабильными уровнями в плазме на протяжении всего эксперимента (соответственно 0,08 и 0,8 нг/мл для доз 0,1 и 1,0 мг). По сравнению с составами А и В состав С демонстрировал более высокое значение $C_{\text{макс}}$ и более высокие стабильные уровни содержания в плазме на протяжении всего эксперимента (соответственно от 1,2 до 12 нг/мл для доз 0,1 и 1,0 мг) (см. фиг. 29). Такие результаты хорошо согласуются с результатами экспериментов IVR.

Пример 4-3. Клиническое исследование для оценки стабильности, переносимости и фармакокинетики 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин у пациентов с болезненным остеоартритом колена.

Безопасность и эффективность моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин для людей тестировали в составе из двух частей двойном слепом плацебо-контролируемом клиническом исследовании для оценки безопасности, переносимости и фармакокинетики с увеличением единичной внутрисуставной дозы с последующей оценкой эффективности, безопасности, переносимости и фармакокинетики единичной внутрисуставной дозы у пациентов с болезненным остеоартритом колена.

В первой части исследования тестировали единичную внутрисуставную инъекцию в колено в разных дозах микрокристаллической суспензии моногидрата 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, полученной в соответствии с вышеописанным примером 2, по сравнению с дозами плацебо, составляющими 3 и 5 мл.

Доза
3 мг/3 мл
10 мг/3 мл
30 мг/3 мл
60 мг/3 мл
100 мг/5 мл

Для участия в исследовании допускались взрослые мужчины и женщины, у которых диагностировали первичный остеоартрит колена. У пациентов присутствовали симптомы в течение более чем 6 месяцев, и они подписывали письменное информированное согласие перед проведением любой процедуры относительно исследования.

Эффективность оценивали на основании безопасности и переносимости (нежелательные явления, медицинский осмотр, вес тела, температура тела, клинические лабораторные тесты, кровяное давление,

частота сердечных сокращений, 12-канальная электрокардиограмма, локальная переносимость) на 12 неделях после выполнения инъекции. Кроме того, оценивали фармакокинетику (в плазме и, если возможно, в синовиальной жидкости) и фармакодинамику.

За пациентами наблюдали в течение 84 ± 7 дней после введения исследуемого лекарственного средства или плацебо, с возможностью продолжения на длительный срок наблюдательного исследования в отношении безопасности без дополнительного введения исследуемого лекарственного средства с целью оценки долгосрочной безопасности и эффективности.

Пример 5. Исследование полиморфизма 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин.

Для идентификации кристаллических форм 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин в чистых растворителях и контролируемых смесях растворителя и воды проводили исследование полиморфизма GZ389988. Техники, используемые в качестве инструмента для определения характеристик полиморфизма, включали рентгеновскую порошковую дифрактометрию (XRPD), рентгеновскую порошковую дифрактометрию высокого разрешения (HR-XRPD) и монокристалльную рентгеновскую дифрактометрию (XRSCD), термогравиметрический анализ (TGA) вместе с инфракрасной спектроскопией (FT-IR) или масс-спектрометрией (MS), динамическую сорбцию паров (DVS) воды и растворителей, а также оптическую микроскопию (OM). Ниже эти техники описаны более подробно.

Рентгеновская порошковая дифрактометрия высокого разрешения (HR-XRPD).

Диаграммы высокого разрешения записывали в условиях окружающей среды на порошковом дифрактометре Panalytical X'Pert Pro MPD с использованием парафокусировки Брэгга-Брентано (вертикальная конфигурация типа 0-20) вместе с детектором X'Celerator. Использовали рентгеновскую трубку с уплотненным медным анодом, работающую при уровнях 45 кВ и 40 мА. Монохроматор с падающим лучом (тип Johansson: симметрично вырезанный изогнутый кристалл германия (111)) испускал чистое $\text{CuK}\alpha_1$ -излучение ($\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$).

Для каждой серии экспериментов тонкий слой продукта осаждали на поверхности держателя образцов, покрытого кремниевой подложкой толщиной в один кристалл. Подложку вырезали в соответствии с кристаллографической ориентацией Si (510) так, чтобы за счет систематической экстинкции затруднялось любое отражение Брэгга от кремния. Доступный диапазон углов охватывал от 2 до 50° при 2θ с шагом $0,017^\circ$ при 2θ . Время по счетчику изменяли от 100 до 2500 с на шаг.

Рентгеновская порошковая дифрактометрия (XRPD).

Другие анализы XRPD осуществляли на порошковом дифрактометре Siemens-Brucker D8 Advance, также с использованием парафокусировки Брэгга-Брентано (вертикальная конфигурация θ - θ) и температурной камеры Anton-Paar TTK450. Тонкий слой продукта осаждали на силиконовую подложку толщиной в один кристалл, вырезали в соответствии с кристаллографической ориентацией Si (510) так, чтобы за счет систематической экстинкции затруднялось любое отражение Брэгга от подложки. Использовали рентгеновскую трубку с уплотненным медным анодом, работающую при уровнях 40 кВ и 35 мА. Как правило, излучались две линии: $\text{CuK}\alpha_1$ ($\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$) и $\text{CuK}\alpha_2$ ($\lambda = 1,5443 \text{ \AA}$). Никелевый β -фильтр, расположенный между детектором и образцом, в целом не влиял на $\text{CuK}\beta$ -излучение ($\lambda = 1,3922 \text{ \AA}$), которое все еще вносило вклад приблизительно 1% дифрагированного луча в детекторе (по данным производителя). Для повышения параллельности луч направляли через щели Соллера. Переменные щели расходимости поддерживали освещение в области образца на постоянном уровне. Коллиматор ограничивал диффузию между трубкой и образцом. Линейный детектор LynxEye завершал установку. Он имел окно обнаружения шириной $3,5^\circ$ при угле 2θ . Диаграммы записывали в следующих условиях: при температуре окружающей среды, сканограммы от 2 до 40° при угле 2θ . Время накопления заряда зависело от условий эксперимента. Исследование развития и большую часть сканограмм получали с использованием счетчика времени с разрешением 0,1 с на шаг при 2θ . Более длительное время накопления сигнала (до 5 с) могло быть использовано для охарактеризования стабильных форм.

Рентгеновская монокристаллическая дифрактометрия (XRSCD, ТАКЖЕ ИЗВЕСТНА КАК SCXRD).

Данные XRSCD собирали на монокристалльном дифрактометре Bruker Smart Apex. Использовали молибденовый микрофокус $\text{I}\mu\text{S}$ рентгеновского источника, работающий при 50 кВ и 0,6 мА, испускающий $\text{Mo-K}\alpha$ -излучение ($\lambda = 0,710731 \text{ \AA}$). Детектор области полупроводникового приемника света (чип CCD: 4K, 62 мм) устанавливали на 6,0 см. Азотный криостат Oxford Cryosystems (Cryostream Plus) допускал проведение экспериментов XRSCD при 100 К.

Оба кристалла устанавливали с каплей масла Paratone NTM на петлю из майлара с низким фоном MiTeGen. Собирали полную сферу Эвальда отражений (3 омега сканограммы 680 кадров с шириной кадра $0,3^\circ$). Время накапливания зависело от кристалла.

Матрицу ориентации и базисную клетку устанавливали с использованием пакета программ Apex2 (верс. 2014.11-0). Трехмерный профиль отражения и встраивания всех отражений получали с использованием программы SAINT (верс. 8.34A). Для корректировки отклонения электронов под действием силы Лоренца и поляризационных эффектов, а также для поглощения образцом, использовали программу SADABS

(верс. 2014/5). Предполагаемую группу симметрии кристаллической решетки определяли с использованием программы XPREP (верс. 2014/2). Для определения структуры с использованием способа внутреннего фазирования и для улучшения полученного решения с использованием методики наименьших квадратов в полноматричном приближении по F^2 использовали пакет программ SHELXTL (верс. 2014/7).

Обнаружение и определение характеристик полиморфизма.

С использованием вышеописанных методик обнаруживали кристаллические формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин. Такие формы, пики XRPD при 2θ , измеренные с использованием $\text{CuK}\alpha$ -излучения, и условия получения указаны в нижеприведенной табл. 15.

Таблица 15. Формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин

Безводный, гидрат или сольват	Номер полиморфа	Номер формы	Пики XRPD при 2θ , измеренные с использованием $\text{CuK}\alpha$ -излучения	Условия получения
Безводный	1	Форма 2	3,8, 7,6, 11,0, 11,5, 13,3, 13,9 и 15,3	Форму получали с помощью дегидратации моногидрата 1
Безводный	1	Форма 3	6,0, 6,9, 10,9, 12,4, 12,7, 13,7 и 15,3	Получали при высокой температуре (160°C для моногидрата 1, ~120°C для сольватов)
Безводный	3	Форма 6/7	5,6, 8,1, 12,1, 14,0, 16,2 и 20,7	Форма получена с помощью десольватации моногидрата 2 и сольватов 2 этанола, ацетонитрила и ацетона
Моногидрат	1	Форма 1	3,6, 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 и 14,3	См. пример 1
Моногидрат	2	Форма 8	5,5, 6,4, 8,2, 12,5, 12,8 и 16,5	Форму получали из сольватов 2 этанола, ацетонитрила и ацетона (в результате цикла "пар $\text{N}_2/\text{H}_2\text{O}$ ")
Безводный, гидрат или сольват	Номер полиморфа	Номер формы	Пики XRPD при 2θ , измеренные с использованием $\text{CuK}\alpha$ -излучения	Условия получения
Полуторагидрат		Форма 4	3,5, 7,1, 9,3, 10,3, 10,6, 12,4, 13,0 и 14,1	Форму получали с помощью кристаллизации из раствора ацетон/вода
Сольват этанола		Форма 5	5,3, 6,3, 7,5, 11,4, 12,6, 12,8 и 15,1	Форму получали с помощью рекристаллизации моногидрата 1 в этаноле или при этанольной сольватации безводной формы 3
Сольват ацетона	1	Форма 9	6,1, 8,9, 12,1, 15,3, 16,4, 18,2 и 21,2	Форму получали с помощью рекристаллизации моногидрата 1 в чистом ацетоне и растворе ацетон/вода 99/1
Сольват ацетона	2	Форма 10	5,4, 6,2, 7,4, 11,4, 12,6 и 14,8	Форму получали с помощью рекристаллизации моногидрата 1 в чистом ацетоне или при ацетонной сольватации безводной формы 3
Сольват ацетонитрила		Форма 11	5,3, 6,4, 7,7, 11,6, 12,8, 13,2 и 15,5	Форму получали с помощью рекристаллизации моногидрата 1 в ацетонитриле или при ацетонитрильной сольватации безводной формы 3

На фиг. 30 совместно нанесены измеренные диаграммы HR-XRPD моногидратной формы 1, безводных форм 2 и 3, а также смоделированная диаграмма XRPD полуторагидратной формы 4.

Суспензию 20 мг/мл моногидратной формы GZ389988A в смеси с растворителем этанол/вода (99/1) нагревали до 80°C в течение 1 ч. Затем суспензию фильтровали. Далее, раствор выдерживали в течение ночи при комнатной температуре. По прошествии ночи кристаллы осматривали и затем идентифицировали как соответствующие форме сольвата этанола (промаркированы как форма 5). Физическое качество кристалла, полученного с помощью медленного выпаривания смеси этанола/воды (99/1), было подходящим для анализа с помощью рентгеновской монокристаллической дифракции. Измерения осуществляли при 100 К на кристаллах размером $5 \times 50 \times 200 \text{ мкм}^3$, со временем накопления 300 с на кадр. Дифрактограммы

подтверждали кристаллическое строение анализируемых веществ. На фиг. 31 показана диаграмма HR-XRPD порошка сольвата этанола (внизу), измеренная при комнатной температуре, по сравнению с диаграммой XRPD, смоделированной по данным, измеренным для XRSCD при 100 К (вверху).

Суспензию 20 мг/мл моногидратной формы 1 GZ389988A (форма 1) получали в смеси растворителей ацетон/вода (99/1) или в чистом ацетоне и нагревали до 80°C в течение 1 ч до достижения полного растворения. Далее суспензию фильтровали. Раствор выдерживали при комнатной температуре или при 5°C. После одной ночи кристаллы осматривали визуально невооруженным взглядом, затем идентифицировали как соответствующие форме сольвата ацетона (промаркированы как форма 9). Физическое качество кристалла, полученного с помощью медленного выпаривания смеси ацетон/вода (99/1), было подходящим для анализа с помощью рентгеновской монокристаллической дифракции. Измерения осуществляли при 100 К на кристаллах размером 100×200×2000 мкм³, со временем накопления 30 с на кадр. На фиг. 32 показана диаграмма XRPD для порошка сольвата ацетона, измеренная при комнатной температуре (внизу) и смоделированная по данным XRSCD при 100 К (вверху).

В другом эксперименте суспензию 20 мг/мл моногидратной формы 1 (форма 1) GZ389988A получали в чистом ацетоне и нагревали при 80°C в течение 1 ч. Далее суспензию фильтровали, затем непосредственно охлаждали до 5°C и хранили при данной температуре. После одной ночи кристаллы осматривали визуально невооруженным взглядом, затем идентифицировали как соответствующие полученным для сольвата 1 ацетона, форма 9. После измельчения в суспензии в ступке, их идентифицировали как соответствующие другому сольвату ацетона, формы 10. На фиг. 33 показано сравнение XRPD двух форм сольвата ацетона, формы 9 (внизу) и формы 10 (вверху).

Суспензию 20 мг/мл моногидратной формы GZ389988A в ацетонитриле (ACN), нагревали при 80°C в течение 4 ч. Затем суспензию фильтровали. Далее раствор выдерживали при 40°C, затем оставляли на 2 ч для охлаждения до комнатной температуры. По прошествии ночи на дне флакона образовывались кластеры кристаллов. Диаграмма HR-XRPD сольватной формы ацетонитрила (ACN) (форма 11) приведена на фиг. 34.

Идентификация твердой кристаллической фазы, образованной в смешанных растворителях ацетон/вода и ацетонитрил/вода.

Дополняли 50 мг моногидрата 1 GZ389988A смесью растворителя в объеме 2 мл (ацетон или ацетонитрил) и деминерализованной воды в трех различных весовых соотношениях: 50/50, 80/20 и 95/5. С помощью ацетона дополнительно исследовали смеси при соотношениях 99/1 и 98/2. После 2 ч при 80°C образцы фильтровали через шприцевый фильтр из PTFE с номинальным размером пор 0,45 мкм, и снова после фильтрования выдерживали при 80°C в течение 15 мин.

Затем образцам давали остыть в течение ночи при 40°C и снова выдерживали при комнатной температуре в течение 24 ч.

Затем образцы анализировали с помощью XRPD в камере, насыщенной соответствующим растворителем. При необходимости, большие кристаллы измельчали во флаконе с помощью шпателя в тонкодисперсный порошок. Затем образец "влажного" порошка располагали на как можно более горизонтально расположенном держателе образца. Результаты этих анализов представлены в табл. 16 ниже.

Таблица 16. Твердая кристаллическая фаза GZ389988A в смесях ацетон/вода и ацетонитрил/вода

Растворитель	Весовое соотношение растворитель/вода	Кристаллическая (-ие) фаза (-ы)
Ацетон	99/1	Сольват ацетона форма 9
	98/2	Моногидрат 1
	97/3	Моногидрат 1
	95/5	Моногидрат 1
	80/20	Моногидрат 1
	50/50	Моногидрат 1
Ацетонитрил	95/5	Моногидрат 1
	80/20	Моногидрат 1
	50/50	Моногидрат 1

Образование сольватов и гидратов при кристаллизации моногидрата 1 в этаноле, ацетоне, ацетонитриле и смесях ацетон/вода и ацетонитрил/вода изучали и оно представлено в данном примере. Идентифицировали десять кристаллических фаз:

- безводная фаза 1 (форма 2),
- безводная фаза 2 (форма 3),
- безводная фаза 3 (форма 6/7),
- моногидрат 1 (форма 1),
- моногидрат 2 (форма 8),
- полугидрат (форма 4),

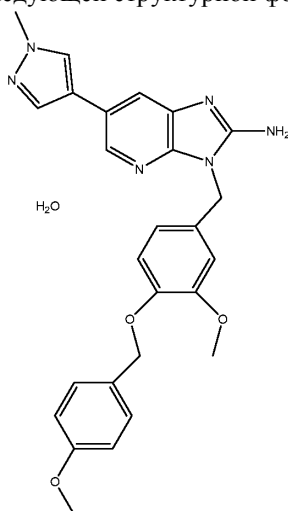
сольват этанола (форма 5),
сольват 1 ацетона (форма 9),
сольват 2 ацетона (форма 10),
сольват ацетонитрила (форма 11).

Соответствующие дифрактограммы нанесены совместно на фиг. 35.

В результате исследования полиморфизма, выполненного на этаноле, ацетоне и ацетонитриле, а также на смесях растворителей (ацетон/вода и ацетонитрил/вода), можно сделать несколько выводов. Все три чистых растворителя приводят к образованию твердых кристаллических фаз сольватов. Рекристаллизация GZ389988A в этаноле и ацетонитриле по отдельности приводят к одной сольватной форме. При рекристаллизации в ацетоне можно получить две сольватные формы. Кристаллы, образованные в смешанных системах растворителей ацетон/вода с весовыми соотношениями 98:2, 97:3 95:5, 80:20 и 50:50, все принадлежали к кристаллической фазе моногидрата 1. Кристаллы, образованные в смешанных системах растворителей ацетонитрил/вода с весовыми соотношениями 95:5, 80:20 и 50:50 также все принадлежали к кристаллической фазе моногидрата 1. Наблюдали, что при растворении сольват 1 ацетона переходит в более аморфное твердое состояние. При увеличении молекулярной подвижности за счет присутствия паров смешанных ацетона и воды оба начальных состояния, -кристаллы сольвата 1 ацетона и аморфные твердые частицы, -перестраиваются в моногидрат 1. Сольват 1 этанола, ацетонитрила и ацетона под воздействием температуры 120°C и азота десольватировали в те же самые безводные кристаллические фазы 2. Для сольватных форм 2 этанола, ацетонитрила и ацетона наблюдали полиморфизм (требовалось подтверждение с помощью монокристалльной рентгеновской дифрактографии). Наблюдали, что они обратимо десольватировали в ту же самую безводную фазу 3. Безводную фазу 3 гидратировали в моногидратную форму, "моногидрат 2", отличную от моногидрата 1.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, представленное следующей структурной формулой:



2. Кристаллическая форма I соединения по п.1, порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) которой содержит следующие пики при 2θ , измеренные с использованием $\text{CuK}\alpha$ -излучения: 3,6, 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 и 14,3.

3. Фармацевтический состав, обладающий ингибирующим действием в отношении тропомиозин-родственных киназ (Trk) или клеточного рецептора для колониестимулирующего фактора-1 (с-FMS), содержащий кристаллическую форму I по п.2 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

4. Фармацевтический состав по п.3, предназначенный для лечения остеоартрита.

5. Фармацевтический состав по п.3, предназначенный для лечения боли.

6. Фармацевтический состав по п.3, предназначенный для лечения боли, связанной с остеоартритом.

7. Фармацевтический состав по любому из пп.3-6, в котором фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество включает разбавитель, суспендирующий агент и буферный агент.

8. Фармацевтический состав по п.7, в котором разбавитель представляет собой сорбит, суспендирующий агент представляет собой повидон и буферный агент представляет собой фосфорную кислоту.

9. Фармацевтический состав, обладающий Trk или с-FMS ингибирующим действием, содержащий а. соединение по п.1; и

б. фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

10. Фармацевтический состав по п.9, где фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество включает разбавитель.

11. Фармацевтический состав по п.10, где разбавитель выбран из: мальтита, подсолнечного масла, альгината аммония, карбоната кальция, лактата кальция, безводного двухосновного фосфата кальция, силиката кальция, сульфата кальция, целлюлозы, ацетата целлюлозы, прессуемого сахара, кондитерского сахара, кукурузного крахмала и прежелатинизированного крахмала, декстратов, декстрина, декстрозы, эритрита, этилцеллюлозы, фруктозы, фумаровой кислоты, глицерилпальмитостеарата, лактозы для ингаляционных препаратов, изомальта, каолина, лактита, лактозы, карбоната магния, оксида магния, мальтодекстрина, мальтозы, маннита, среднепечечных триглицеридов, микрокристаллической целлюлозы, полидекстрозы, полиметакрилатов, симетикона, альгината натрия, хлорида натрия, сорбита, крахмала, сахарозы, сахарных сфер, сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, талька, трагаканта, трегалозы, ксилита.

12. Фармацевтический состав по п.9, где фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество включает суспендирующее средство.

13. Фармацевтический состав по п.12, где суспендирующее средство выбрано из: аравийской камеди, агара, альгиновой кислоты, бентонита, стеарата кальция, карбомера, карбоксиметилцеллюлозы, каррагенана, целлюлозы, коллоидного диоксида кремния, декстрина, желатина, гуаровой камеди, гекторита, гидрофобного коллоидного диоксида кремния, гидроксиэтилцеллюлозы, гидроксиметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, гипромеллозы, каолина, алюмосиликата магния, растворов мальтита, среднепечечных триглицеридов, метилцеллюлозы, фенолмеркуробората, фосфолипидов, поликарбофила, полиэтиленгликоля, полиоксиэтиленовых сложных эфиров сорбита и жирных кислот, повидона (поливинилпирролидона), пропиленгликольальгината, сапонита, кунжутного масла, альгината натрия, сложных эфиров сорбита, сахарозы, трагаканта, полиэтиленгликольсукцината витамина Е и ксантановой камеди.

14. Фармацевтический состав по п.9, где фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество включает буферное средство.

15. Фармацевтический состав по п.14, где буферное средство выбрано из: адипиновой кислоты, аммиачного раствора, борной кислоты, карбоната кальция, гидроксида кальция, лактата кальция, фосфата кальция, моногидрата лимонной кислоты, двухосновного фосфата натрия, диэтаноламина, глицина, малеиновой кислоты, яблочной кислоты, метионина, одноосновного фосфата натрия, моноэтаноламина, моноглутамата натрия, фосфорной кислоты, цитрата калия, ацетата натрия, бикарбоната натрия, бората натрия, карбоната натрия, дигидрата цитрата натрия, гидроксида натрия, лактата натрия или триэтаноламина.

16. Фармацевтический состав по любому из пп.9-15, предназначенный для лечения остеоартрита.

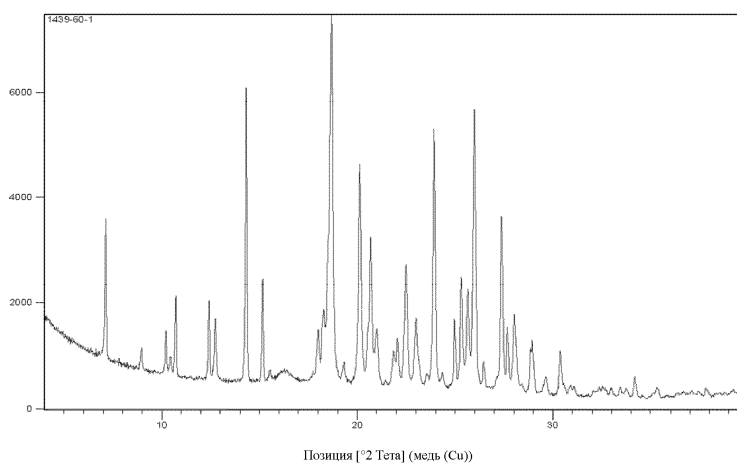
17. Фармацевтический состав по любому из пп.9-15, предназначенный для лечения боли.

18. Фармацевтический состав по любому из пп.9-15, предназначенный для лечения боли, связанной с остеоартритом.

19. Фармацевтический состав по п.9, в котором фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество включает разбавитель, суспендирующий агент и буферный агент.

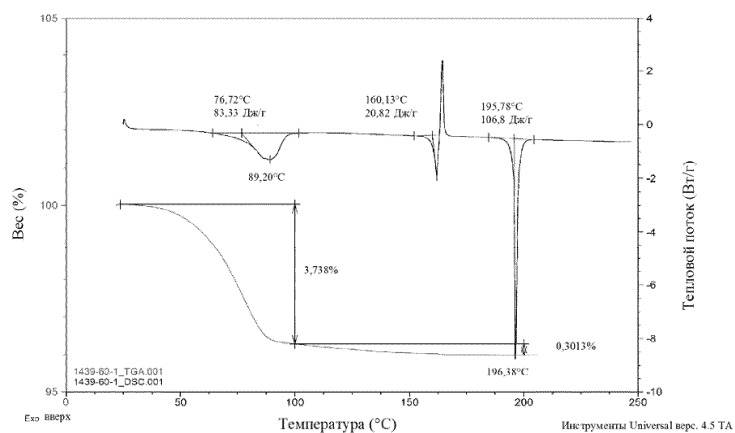
20. Фармацевтический состав по п.19, в котором разбавитель представляет собой сорбит, суспендирующий агент представляет собой повидон, и буферный агент представляет собой фосфорную кислоту.

порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD)
моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин, 4-40 при °2θ



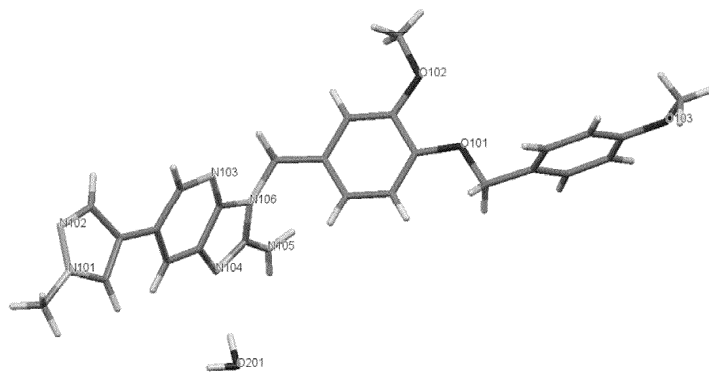
Фиг. 1

термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) и термического гравиметрического анализа (TGA) моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, нагретого при 10°C/мин.



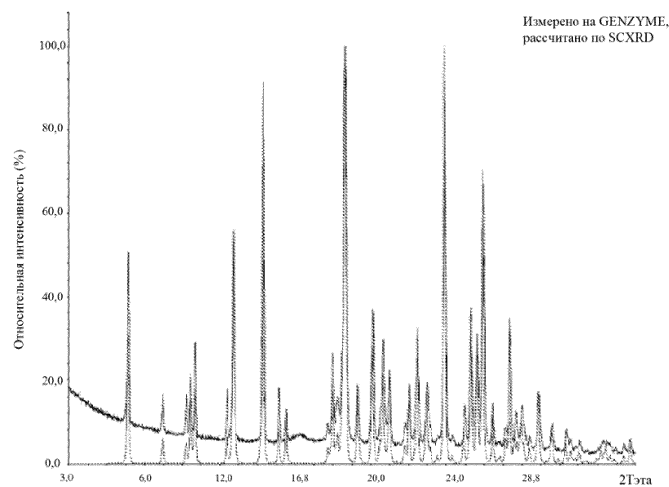
Фиг. 2

кристаллическая структура моногидратной формы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин



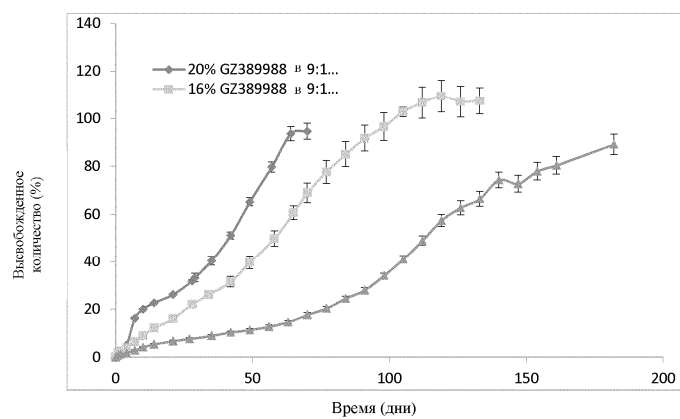
Фиг. 3

перекрытие дифрактограммы XRPD, полученной в результате экспериментов, и рентгенограммы XRPD, рассчитанной по монокристаллической структуре



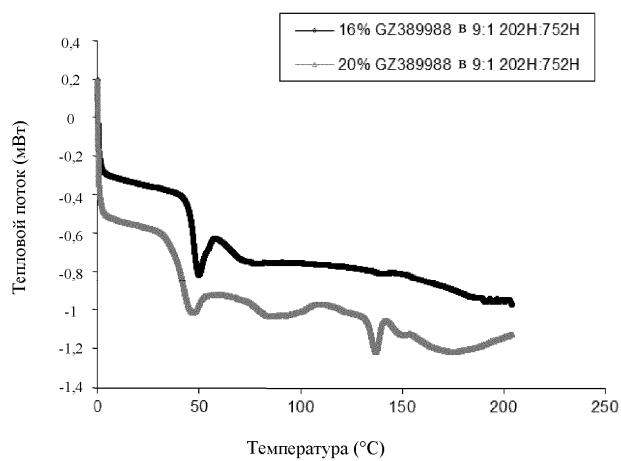
Фиг. 4

влияние нагрузки API на профиль IVR – микросферы 12% API/9:1 R202H:752H, 16% API/9:1 R202H:752H и 20% API/9:1 R202H:752H



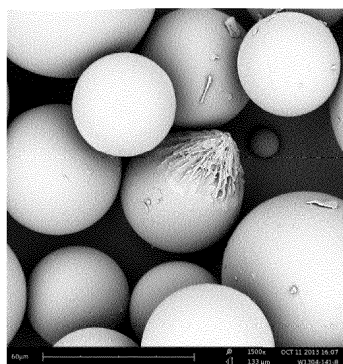
Фиг. 5

термограммы DSC микросфер 16% API/9:1 R202H:752H и 20% API/9:1 R202H:752H



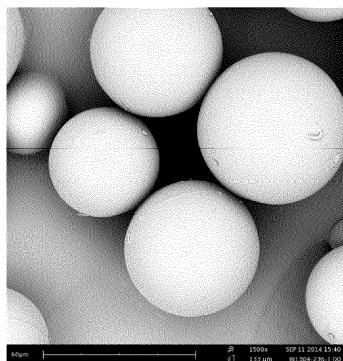
Фиг. 6

изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер 16% API/9:1 R202H:752H (1500X)



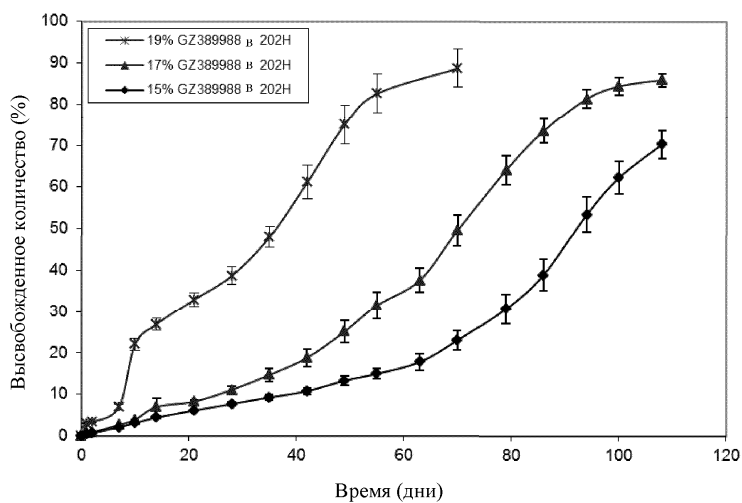
Фиг. 7

изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM)
микрофер 20% API/9:1 R202H:752H (1500X)



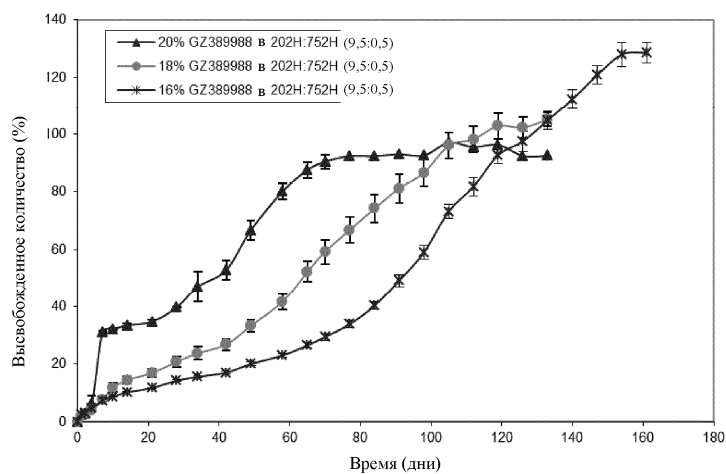
Фиг. 8

влияние нагрузки API на профиль IVR – микрофер 15%
API/R202H, 17% API/R202H и 19% API/R202H



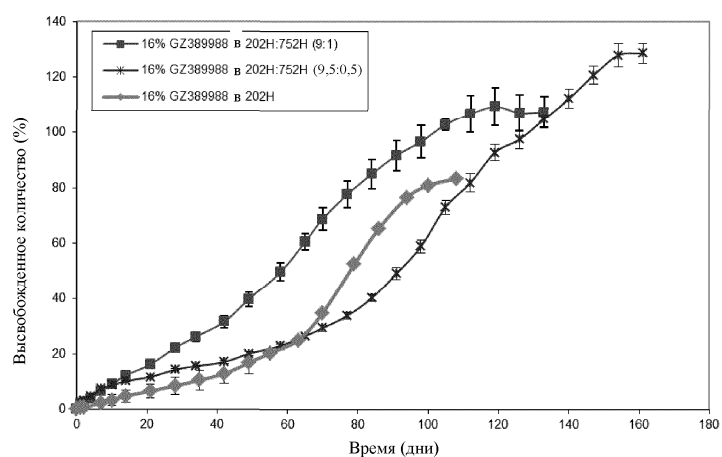
Фиг. 9

влияние нагрузки API на профиль IVR – микрофер 16%
API/9,5:0,5R202H:H752, 18% API/9,5:0,5R202H:H752 и 20%
API/9,5:0,5R202H:H752



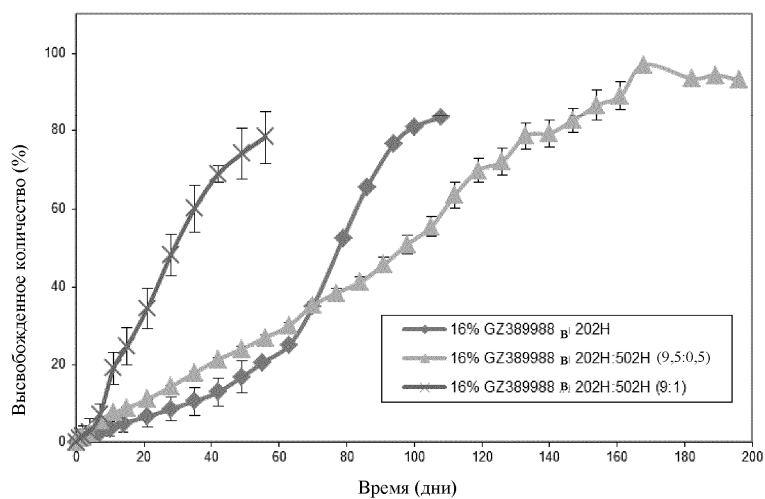
Фиг. 10

влияние полимерной смеси на профиль IVR – микросферы 16%
API/R202H, 16% API/9,0:0,5 R202H:RG752H и 16% API/9:1 R202H:RG752H



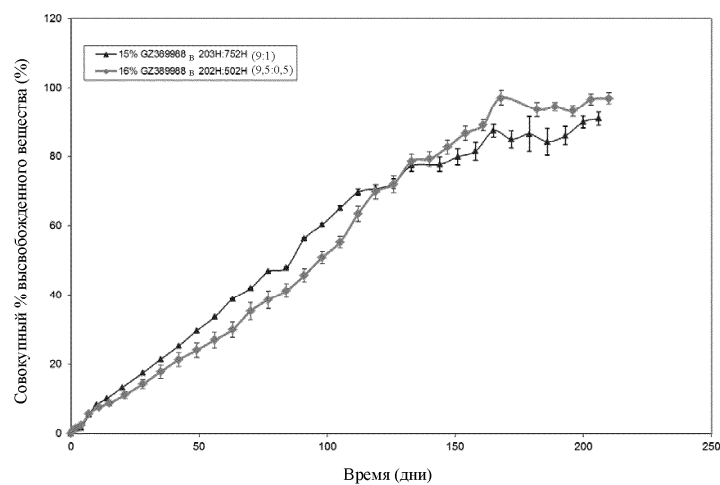
Фиг. 11

влияние полимерной смеси на профиль IVR – микросферы 16%
API/R202H, 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H и 16% API/9:1 R202H:RG502H



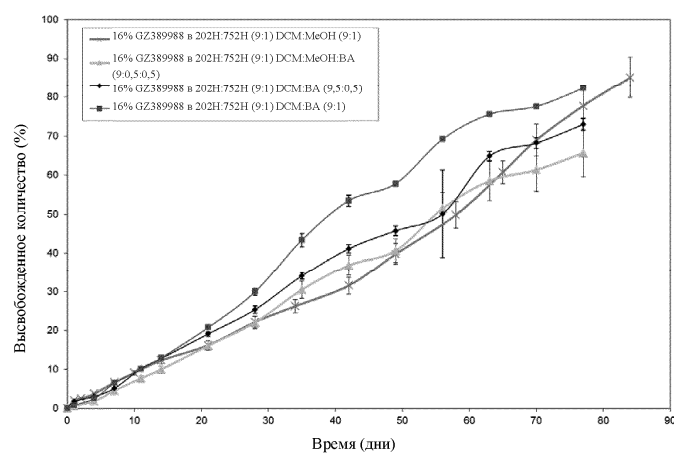
Фиг. 12

составы, демонстрирующие профиль IVR нулевого порядка в течение 180 дней – микросферы 15% API/9:1 R203H:RG752H и 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H



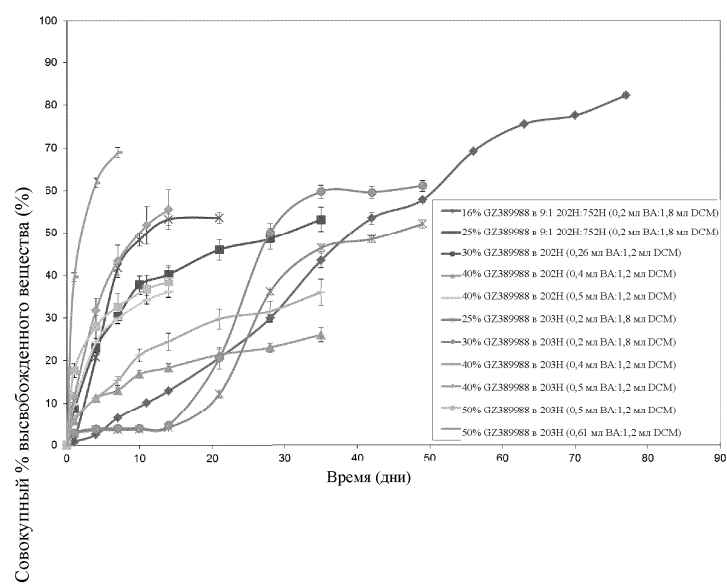
Фиг. 13

**влияние систем вспомогательных растворителей,
используемых при получении, на профиль IVR – микросферы 16% API/9:1
R203H:RG752H – 9:1 DCM:MeOH, 9:0,5:0,5 DCM:MeOH:BA, 9,5:0,05
DCM:BA, 9:1 DCM:BA.**



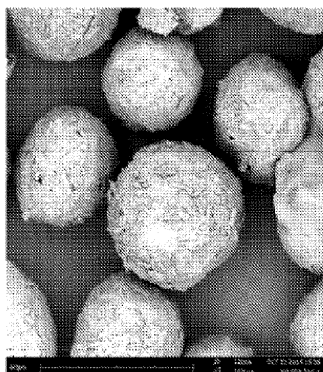
Фиг. 14

**влияние системы вспомогательных растворителей DCM:BA для
повышения наполнения API на профиль IVR – микросферы 16% API/9:1
R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40%
API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50%
API/R203H.**



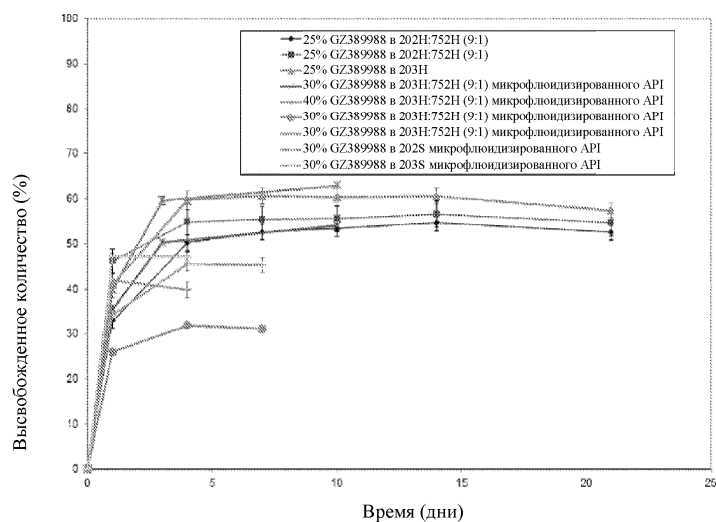
Фиг. 15

**изображения со сканирующего электронного микроскопа (SEM)
микросфер, полученных с применением процесса микроинкапсуляции
тонкодисперсной суспензии (1500X).**

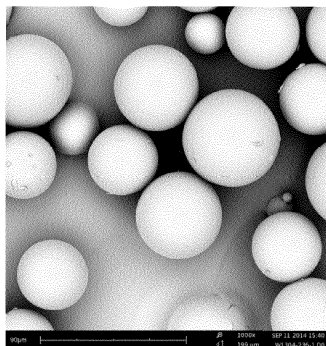


Фиг. 16

влияние процесса микроинкапсуляции тонкодисперсной суспензии на профиль IVR – микросферы 25% API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA + 2,6 мл EA, 25% API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA + 3,25 мл EA, 25% API/R203H 39 мл 5% PVA + 2,0 мл EA, 30% микрофлюидизированного API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA + 2,0 мл EA, 40% микрофлюидизированного API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA + 2,0 мл EA, 30% микрофлюидизированного API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA + 2,0 мл EA, 30% микрофлюидизированного API/9:1 R202H:RG752H 39 мл 5% PVA + 2,3 мл EA, 30% микрофлюидизированного API/R202S 39 мл 5% PVA + 2,0 мл EA, 30% микрофлюидизированного API/R203S 39 мл 5% PVA + 2,0 мл.

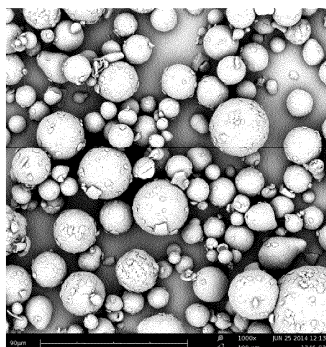


изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM, СЭМ)
микросфер 16% API/9:1 R202H:RG752H, экстрагирование растворителем (1000X)



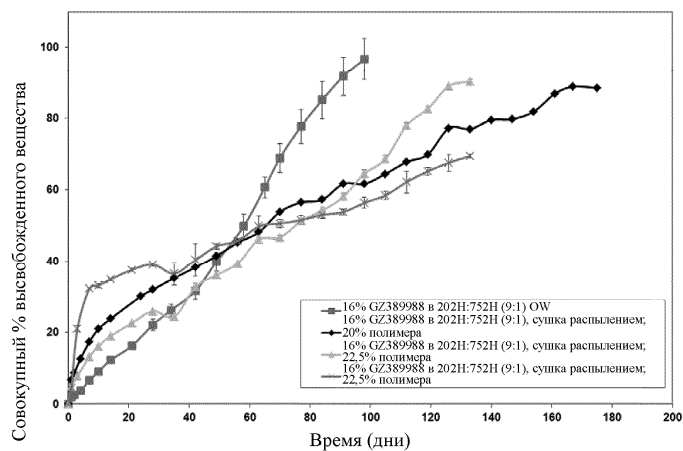
Фиг. 18

изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM, СЭМ)
микросфер 16% API/9:1 R202H:RG752H, сушка распылением (1000X)



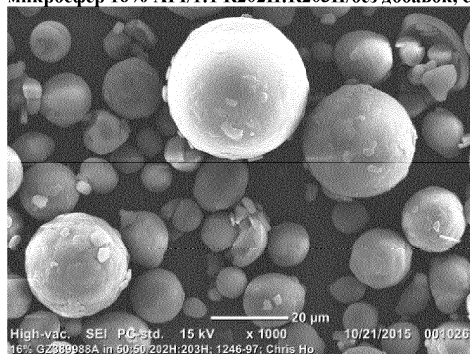
Фиг. 19

влияние процесса микроинкапсуляции на профиль IVR – микрокапсулы 16% API/9:1 R202H:RG752H, полученные путем экстракции растворителем (OW), микросферы 16% API/9:1 R202H:RG752H, полученные путем сушки распылением (20% и 22,5% полимера), и микросферы 16% API/9:1 R203H:RG752H, полученные путем сушки распылением (22,5% полимера)



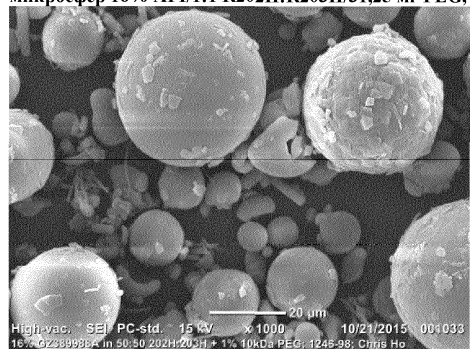
Фиг. 20

изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер 16% API/1:1 R202H:R203H/без добавок, сушка распылением (1000X)



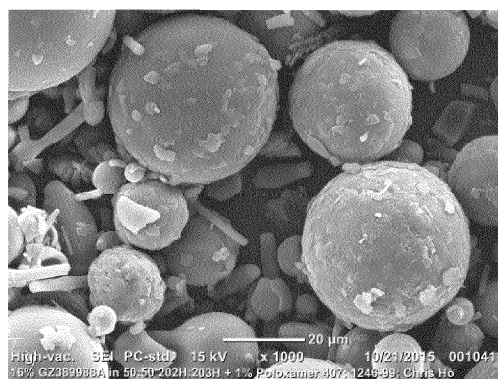
Фиг. 21

изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM) микросфер 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг PEG, сушка распылением (1000X)



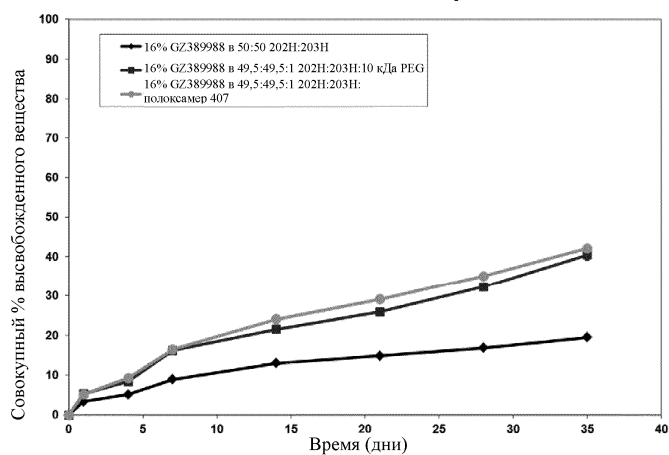
Фиг. 22

изображение со сканирующего электронного микроскопа (SEM)
микрофер 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг полоксамер 407, сушка
распылением (1000X)



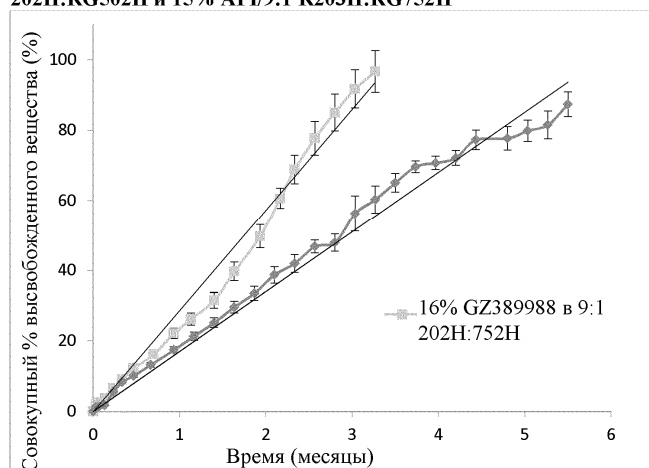
Фиг. 23

Влияние содержания 10 кДа PEG или 1% полоксамера 407 на профиль
IVR – 16% API/1:1 R202H:R203H/без добавок, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг
PEG, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 мг полоксамера 407



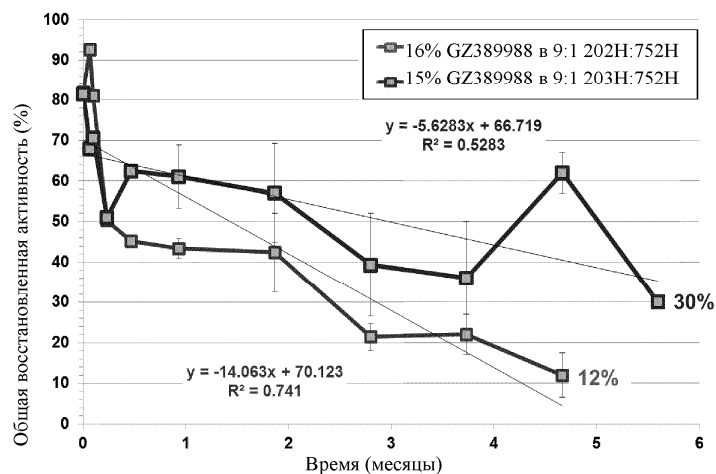
Фиг. 24

Профиль (крысинный) IVR *In vivo* – микроферы 16% API/9:1
202H:RG502H и 15% API/9:1 R203H:RG752H



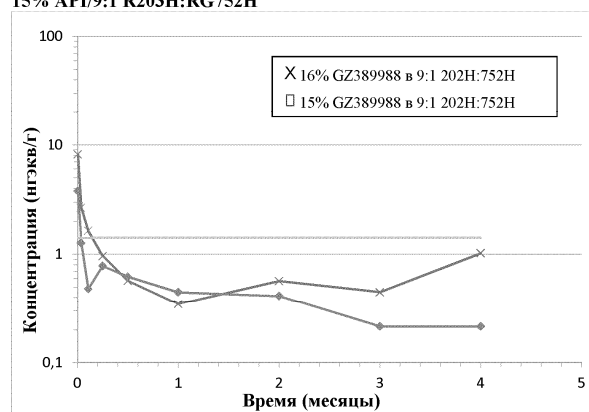
Фиг. 25

сохранение [^{14}C] 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин во времени (коленный сустав крыс) – 16% микросферы API/9:1 202Н:RG502Н и 15% API/9:1 203Н:RG752Н



Фиг. 26

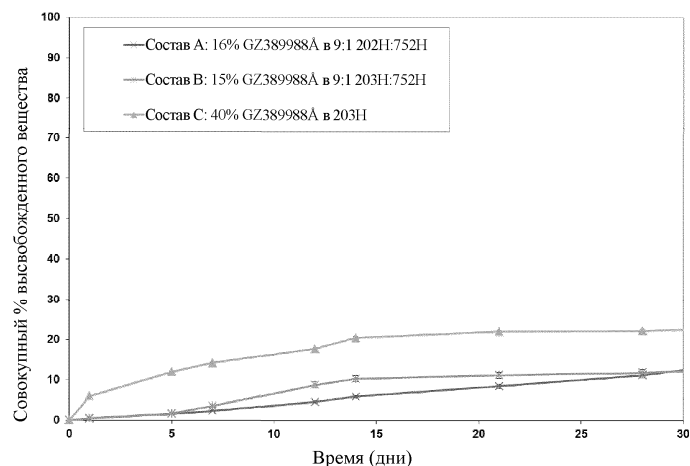
профили зависимости концентрация - время для 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин (крысиня кровь) – микросферы 16% API/9:1 202Н:RG502Н и 15% API/9:1 R203Н:RG752Н



— представляет собой значение EC_{50} (в отношении клеток) для 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-амин при концентрации 1,4 нг/мл

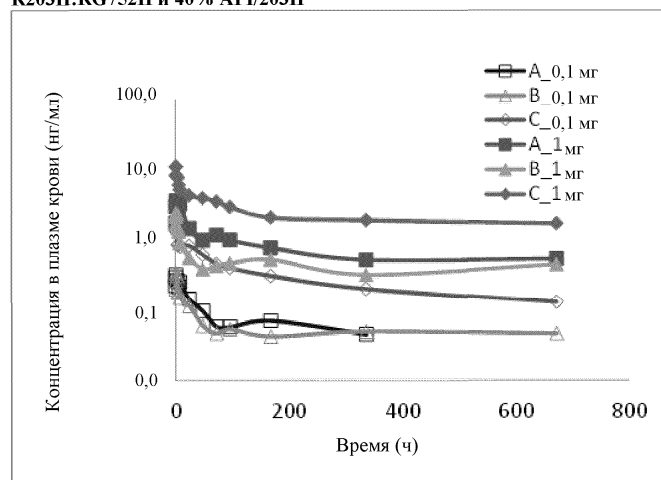
Фиг. 27

профиль IVR – микросферы 16% API/9:1 202Н:RG752Н, 15% API/9:1 R203Н:RG752Н и 40% API/203Н



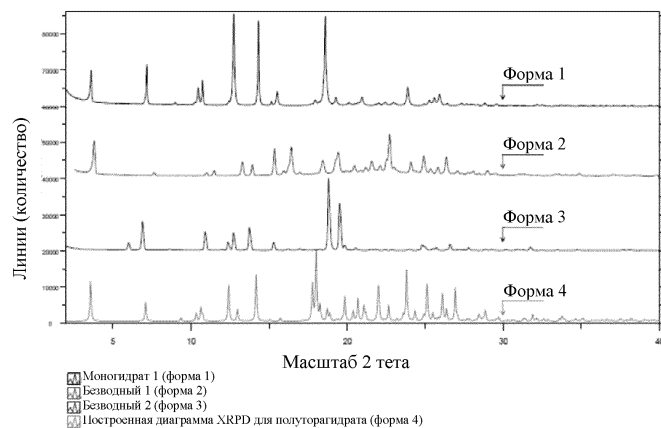
Фиг. 28

профили зависимости концентрация-время для 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин – микросферы 16% API/9:1 202:H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H и 40% API/203H



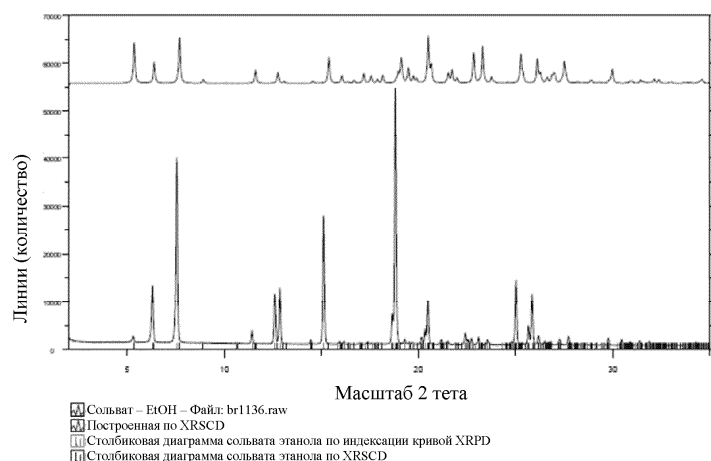
Фиг. 29

измеренные или построенные XRPD форм 1-4 (безводные и гидратированные формы)



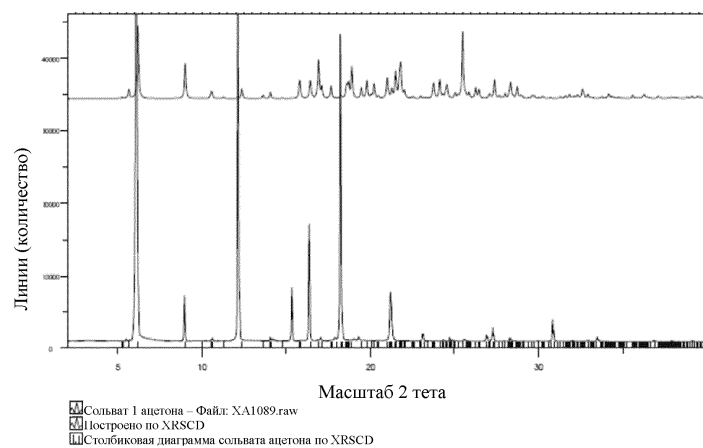
Фиг. 30

XRPD формы 5 (этанол)



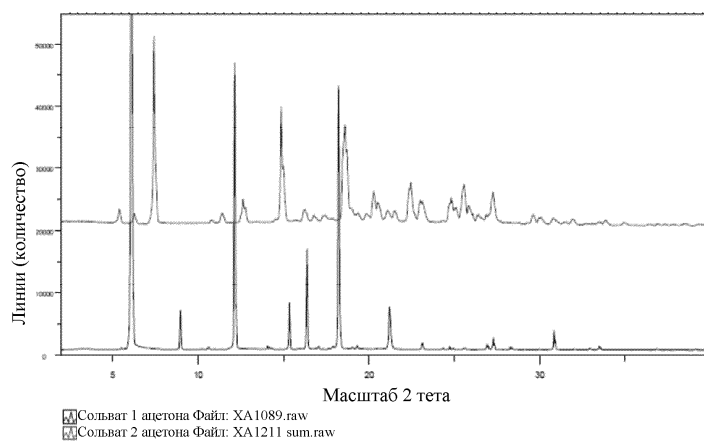
Фиг. 31

XRPD формы 9 (ацетон)



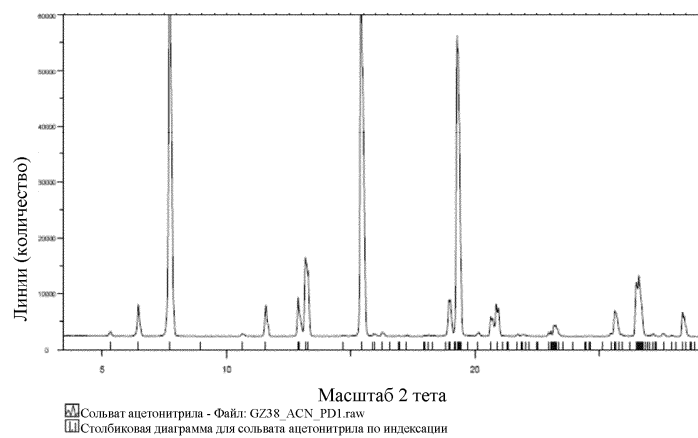
Фиг. 32

сравнение XRPD формы 10 (ацетон) и формы 9 (ацетон)



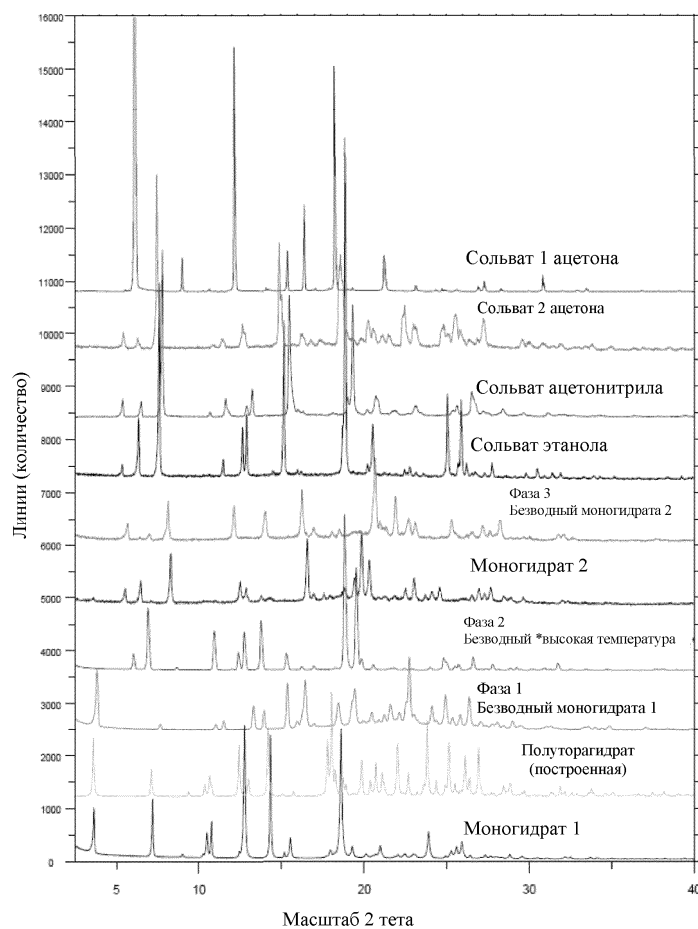
Фиг. 33

XRPD формы 11 (ацетонитрил)



Фиг. 34

твердые кристаллические фазы 3-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)-6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-3Н-имидazo[4,5-*b*]пиридин-2-аминна



Фиг. 35



Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2