

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040381**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.05.26

(21) Номер заявки
201170337

(22) Дата подачи заявки
2009.08.14

(51) Int. Cl. **A61K 38/00** (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)

(54) СТАБИЛЬНАЯ ТВЕРДАЯ КОМПОЗИЦИЯ ПОЛИПЕПТИДНОГО АГОНИСТА GC-C РЕЦЕПТОРА, ПРИЕМЛЕМАЯ ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

(31) 61/089,422; 61/273,332; 61/231,725

(32) 2008.08.15; 2009.08.03; 2009.08.06

(33) US

(43) 2012.01.30

(86) PCT/US2009/004675

(87) WO 2010/019266 2010.02.18

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АЙРОНВУД ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Фретцен Ангелика, Витовски Стивен,
Гросси Альфредо, Чжао Хун, Дедия
Махендра, Мо Юнь (US)**

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

(56) ANDRESEN ET AL.: "Effect of 5 Days Linaclotide on Transit and Bowel Function in Females With Constipation-Predominant Irritable Bowel Syndrome" GASTROENTEROLOGY, ELSEVIER, PHILADELPHIA, PA LNKD- DOI: 10.1053/J.GASTRO.2007.06.067, vol. 133, no. 3, 1 September 2007 (2007-09-01), pages 761-768, XP022246622 ISSN: 0016-5085 page 761 - page 762

VIOLA ANDRESEN, MICHAEL CAMILLERI: "Linaclotide Acetate" DRUGS OF THE FUTURE, vol. 33, no. 7, 1 July 2008 (2008-07-01), pages 570-576, XP002576431 ISSN: 0377-8282 the whole document

MICROBIA, FOREST: "Microbia and Forst Laboratories Announce Preliminary Results of Linaclotide Phase 2B Studies" COMMUNICATIONS OF MICROBIA, 4 March 2008 (2008-03-04), pages 1-4, XP002576432 Cambridge the whole document & CAMILLERI M. ET AL.: "Challenges to the Therapeutic Pipeline for Irritable Bowel Syndrome: End Points and Regulatory Hurdles" GASTROENTEROLOGY, ELSEVIER, PHILADELPHIA, PA LNKD- DOI: 10.1053/J.GASTRO.2008.09.005, vol. 135, no. 6, 1 December 2008 (2008-12-01), pages 1877-1891, XP025779383 ISSN: 0016-5085 [retrieved on 2008-10-09] page 1888, right-hand column, line 55 - lines 60, citation 75

(57) В патенте описаны твердые стабильные композиции линаклотида, приемлемые для перорального введения, а также способы получения таких композиций. Композиции, описанные в изобретении, содержат полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr ("линаклотид") или ее фармацевтически приемлемой соли. Композиции линаклотида, описанные в данном патенте, являются стабильными и имеют время полужизни, достаточное для производства, хранения и распространения лекарственного средства.

040381 B1

040381 B1

Область техники

Данная заявка относится к твердым композициям полипептидного агониста гуанилатциклазного С рецептора, приемлемым для перорального введения и к способам получения таких композиций.

Приоритетная заявка

В данной заявке заявлен приоритет патентной заявки США регистрационный номер 61/089422, поданной 15 августа 2008 г., и предварительной патентной заявки США, поданной 03 августа 2009 г. под названием "Стабильная твердая композиция полипептидного агониста GC-C рецептора, приемлемая для перорального введения". Все содержание вышеуказанных заявок включено в данную заявку путем ссылки.

Уровень техники

Многие терапевтически-активные полипептиды включают в композицию в водном растворе, поскольку они проявляют наибольшую активность в такой форме. Однако большая часть полипептидов не является особо стабильными в водном растворе, таким образом, композиции часто имеют короткий период полужизни и требуют охлаждения. Хотя водные растворы полипептидов могут быть высушены лиофильной сушкой, сушкой распылением или другими способами, такие высушенные композиции могут быть также нестабильными и иметь сниженную активность по сравнению с водным раствором полипептида. Типичные механизмы разрушения, которое происходит как в водном растворе, так и в высушенных композициях, включают агрегацию и окислительный или гидролитический распад. Таким образом, большую часть терапевтически-активных полипептидов, в водном растворе или высушенных, хранят в охлажденных, ввиду их ограниченной стабильности.

Линаклотид представляет собой пептид, имеющий аминокислотную последовательность Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn

Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr, которая активизирует гуанилатциклазный-С (GC-C) рецептор. Линаклотид, который может быть введен перорально, можно использовать для лечения желудочно-кишечных расстройств и состояний, включая синдром раздраженного кишечника (СРК) и хронический запор (ХЗ). Композиции, содержащие линаклотид, необходимо было охлаждать во избежание временного распада. Однако охлаждение является неудобным как для коммерческого распространения лекарственного средства, так и для хранения пациентами. Таким образом, существует потребность в твердой композиции линаклотида, которая является стабильной при комнатной температуре в течение как минимум 12 месяцев.

Сущность изобретения

В данной заявке описаны твердые стабильные композиции линаклотида, приемлемые для перорального введения и способы получения таких композиций. Композиции, описанные в данной заявке, содержат полипептид, имеющий аминокислотную последовательность Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr ("линаклотид") или его фармацевтически приемлемую соль.

Композиции линаклотида, описанные в данной заявке, являются стабильными и имеют время полужизни, достаточное для производства, хранения и распространения лекарственного средства. Например, предполагается, что композиции, описанные в данной заявке, имеют срок полужизни, составляющий как минимум 12 месяцев при условиях хранения при комнатной температуре (например, 25°C/60% относительной влажности (ОВ)). В дополнительных вариантах осуществления предполагается, что композиции, описанные в данной заявке, имеют срок полужизни, составляющий как минимум 18 месяцев или как минимум 24 месяцев при условиях хранения при комнатной температуре (например, 25°C/60% ОВ).

В некоторых вариантах осуществления описаны композиции, где $\geq 95\%$ исходного количества линаклотида в композиции остается через три месяца, если упакованные пробы хранят в условиях ускоренного распада (40°C/75% ОВ) при оценке в анализе на мас./мас. основе, как определено при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) по сравнению с линаклотидом стандартного образца. В дополнительных вариантах осуществления, $\geq 90\%$ исходного количества линаклотида в композиции остается через как минимум 6 месяцев, если упакованные пробы хранят в условиях ускоренного распада (40°C/75% ОВ). В других вариантах осуществления, описаны композиции, в которых хроматографическая чистота линаклотида, определенная как процент площади при помощи ВЭЖХ, остается на уровне $\geq 95\%$ в течение как минимум трех месяцев, если упакованные пробы хранят в условиях ускоренного распада (40°C/75% ОВ). В дополнительных вариантах осуществления, хроматографическая чистота линаклотида, определенная как процент площади при помощи ВЭЖХ, остается на уровне $\geq 90\%$ в течение как минимум 6 месяцев, если упакованные пробы хранят в условиях ускоренного распада (40°C/75% ОВ). Таким образом, например, не более чем приблизительно 10% линаклотида претерпевает распад на другие продукты, такие как продукт окисления линаклотида, продукт гидролиза линаклотида или формальдегид-опосредованный иминный продукт линаклотида ("формальдегидиминный продукт").

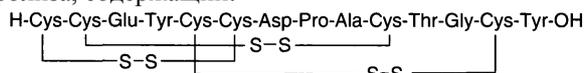
В одном варианте осуществления данное изобретение включает фармацевтическую композицию, содержащую линаклотид, где хроматографическая чистота линаклотида уменьшается менее чем на 10% через 18 месяцев или 24 месяца хранения фармацевтической композиции в герметичном контейнере, со-

контейнере, содержащем десикант, при 25°C и при 60% относительной влажности.

В другом варианте осуществления, данное изобретение включает стандартную лекарственную форму фармацевтической композиции, содержащую линаклотид, где оценочное значение для линаклотида определенное на масс./масс. основе уменьшается менее чем на 10% через 3 месяца или 6 месяцев хранения стандартной лекарственной формы в герметичном контейнере, содержащем десикант, при 40°C и при 75% относительной влажности. В дополнительном варианте осуществления, оценочное значение для линаклотида определенное на масс./масс. основе уменьшается менее чем на 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% через 3 месяца или 6 месяцев хранения стандартной лекарственной формы в герметичном контейнере, содержащем десикант при 40°C и при 75% относительной влажности.

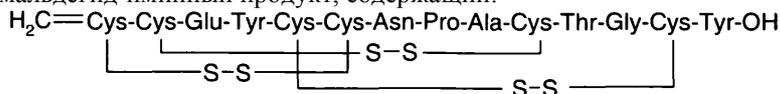
В одном варианте осуществления, данное изобретение включает герметичный контейнер, содержащий множество стандартных лекарственных форм фармацевтической композиции, содержащую линаклотид, где оценочное значение для линаклотида определенное на масс./масс. основе уменьшается менее чем на 10% через 18 месяцев или 24 месяца хранения герметичного контейнера при 25°C и при 60% относительной влажности в герметичном контейнере, содержащем десикант. В дополнительном варианте осуществления, оценочное значение для линаклотида определенное на масс./масс. основе уменьшается менее чем на 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% через 18 месяцев или 24 месяца хранения герметичного контейнера, содержащего десикант при 25°C и при 60% относительной влажности. В другом варианте осуществления, данное изобретение включает герметичный контейнер, содержащий множество стандартных лекарственных форм фармацевтической композиции, содержащей линаклотид, где оценочное значение для линаклотида определенное на масс./масс. основе уменьшается менее чем на 10% через 3 месяца или 6 месяцев хранения герметичного контейнера, содержащего десикант при 40°C и при 75% относительной влажности. В дополнительном варианте осуществления, оценочное значение для линаклотида определенное на масс./масс. основе уменьшается менее чем на 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% через 3 месяца или 6 месяцев хранения герметичного контейнера, содержащего десикант при 40°C и при 75% относительной влажности.

В некоторых вариантах осуществления, представлена фармацевтическая композиция, содержащая линаклотид и продукт гидролиза, содержащий:



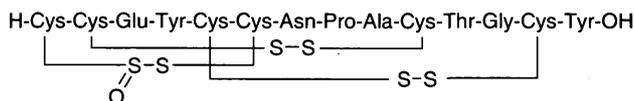
В некоторых вариантах осуществления и продукт гидролиза содержит менее чем приблизительно 15% по массе композиции, менее чем приблизительно 10% по массе композиции, менее чем приблизительно 7% по массе композиции или менее чем приблизительно 5% по массе композиции. В других вариантах осуществления, и продукт гидролиза содержит от приблизительно 0,01% до приблизительно 15% по массе композиции, от приблизительно 0,05% до приблизительно 10% по массе композиции, от приблизительно 0,05% до приблизительно 7% по массе композиции или от приблизительно 0,05% до приблизительно 5% по массе композиции. В дополнительных вариантах осуществления, обеспечен способ лечения желудочно-кишечного расстройства у пациента, который нуждается в таком лечении, включающий введение фармацевтической композиции, содержащей линаклотид и продукт гидролиза.

В некоторых вариантах осуществления, предложена фармацевтическая композиция, содержащая линаклотид и формальдегид-иминный продукт, содержащий:



В некоторых вариантах осуществления, формальдегид-иминный продукт содержит менее чем приблизительно 15% по массе композиции, менее чем приблизительно 10% по массе композиции, менее чем приблизительно 7% по массе композиции или менее чем приблизительно 5% по массе композиции. В других иллюстративных вариантах осуществления, формальдегидиминный продукт содержит от приблизительно 0,01% до приблизительно 15% по массе композиции, приблизительно 0,05% до приблизительно 10% по массе композиции, приблизительно 0,05% до приблизительно 7% по массе композиции или приблизительно 0,05% до приблизительно 5% по массе композиции. В дополнительных вариантах осуществления предложен способ лечения желудочно-кишечного расстройства у пациента, который нуждается в таком лечении, включающий введение фармацевтической композиции, содержащей линаклотид и формальдегид-иминный продукт.

В некоторых вариантах осуществления, представлена фармацевтическая композиция, содержащая линаклотид и продукт его окисления. В одном варианте осуществления, продукт окисления линаклотида имеет молекулярную массу, составляющую 1542,8, и наиболее вероятно формируется при добавлении одного атома кислорода к одному из шести атомов серы цистеинила в линаклотиде. Одна из возможных структур продукта показана ниже, хотя специалист в данной области признает, что атом кислорода может быть присоединен к любому из остальных пяти атомов серы:



В другом варианте осуществления может быть осуществлено добавление более чем одного атома кислорода к линаклотиду, что повышает его молекулярную массу на 16 АЕ на один добавленный атом кислорода.

В некоторых вариантах осуществления продукт окисления линаклотида содержит менее чем приблизительно 15% по массе композиции, менее чем приблизительно 10% по массе композиции, менее чем приблизительно 7% по массе композиции или менее чем приблизительно 5% по массе композиции. В других иллюстративных вариантах осуществления, продукт окисления линаклотида содержит приблизительно от 0,01% до 15% по массе композиции, приблизительно от 0,05% до 10% по массе композиции, приблизительно от 0,05% до 7% по массе композиции или приблизительно от 0,05% до 5% по массе композиции. В дополнительных вариантах осуществления предложен способ лечения желудочно-кишечного расстройства у пациента, который нуждается в таком лечении, включающий введение фармацевтической композиции, содержащей линаклотид и продукт окисления линаклотида.

Оценочное значение на мас./мас. основе ("мас./мас. анализ") может быть определено путем сравнения, например, при помощи ВЭЖХ, количества линаклотида в пробе, со стандартным образцом линаклотида. Как было использовано в данной заявке, массу линаклотида в композиции после хранения при комнатной температуре или условиях ускоренного распада в конкретный период времени (например, от трех до шести месяцев хранения в условиях ускоренного распада [40°C/75% ОВ] или 12, 18 или 24 месяца хранения в условиях комнатной температуры [25°C/60% ОВ]) сравнивают с массой линаклотида в композиции в исходное время (например, время, когда фармацевтическая композиция высвобождается для клинического использования или использования пациентом ("дата высвобождения")) с обеспечением аналитического мас./мас. значения. Например, массу линаклотида в композиции измеряют после хранения в течение указанного времени в условиях ускоренного распада (40°C/75% ОВ) и сравнивают с массой линаклотида, который присутствовал в пробе на дату высвобождения. В другом примере, массу линаклотида в композиции измеряют после хранения в течение указанного времени в условиях комнатной температуры (25°C/60% ОВ) и сравнивают с массой линаклотида, который присутствовал в пробе на дату высвобождения. Таким образом, выражение "≥90% исходного количества линаклотида в композиции остается как минимум 6 месяцев, если упакованные пробы хранят в условиях ускоренного распада (40°C/75% ОВ)", означает, что масса линаклотида в композиции, измеренная в анализе на мас./мас. основе, которую определяют при помощи ВЭЖХ, как минимум через 6 месяцев хранения в условиях ускоренного распада составляет ≥90% от количества линаклотида в композиции, который присутствовал в исходное время (например, дата высвобождения композиции линаклотида).

Хроматографическая чистота линаклотида может быть определена при помощи выполнения ВЭЖХ в условиях, описанных в данной заявке. Площадь под пиком линаклотида измеряют и сравнивают с общей площадью под всеми пиками, за исключением пика растворителя и всех пиков, которые не относятся к полипептиду (т.е., пиков, связанных с эксципиентами, которые могут наблюдаться в плацебо). Как использовано в данной заявке, хроматографическую чистоту линаклотида в композиции после хранения при комнатной температуре или условиях ускоренного распада в конкретный период времени (например, от трех до шести месяцев хранения в условиях ускоренного распада [40°C/75% ОВ] или 12, 18 или 24 месяца хранения в условиях комнатной температуры [25°C/60% ОВ]) сравнивают с хроматографической чистотой линаклотида в композиции в исходное время (например, время, когда фармацевтическая композиция выделяется для клинического использования или использования клиентом ("дата высвобождения")) с обеспечением значения хроматографической чистоты. Например, хроматографическую чистоту линаклотида в композиции измеряют после хранения в течение указанного времени в условиях ускоренного распада (40°C/75% ОВ) и сравнивают с хроматографической чистотой линаклотида в композиции на дату высвобождения. В другом примере, хроматографическую чистоту линаклотида в композиции измеряют после хранения в течение указанного времени в условиях комнатной температуры (25°C/60% ОВ) и сравнивают с хроматографической чистотой линаклотида в композиции на дату высвобождения.

В данной заявке описан способ получения фармацевтической композиции, содержащей линаклотид или его фармацевтически приемлемую соль, где способ включает: (а) получение раствора, например, водного раствора ("покровный раствор"), содержащего: (i) линаклотид или его фармацевтически приемлемую соль; (ii) катион, выбранный из Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} или стерически затрудненный первичный амин (например, лейцин) и, по необходимости, (iii) фармацевтически приемлемое связующее вещество; и (б) нанесение покровного раствора на фармацевтически приемлемый наполнитель с получением покрытого полипептидом наполнителя (например, путем распыления, сушки или покрытия фармацевтически приемлемого наполнителя покровным раствором). Способ может необязательно включать одну или более стадий: (i) смешивания покрытого полипептидом наполнителя с фармацевтически приемлемым глидантом, фармацевтически приемлемым смазочным материалом или фармацевтически приемлемой добавкой, которая действует и как глидант, и как смазывающее вещество; (ii) смешивание

покрытого полипептидом наполнителя с наполнителем, который не покрыт полипептидом, (iii) смешивания покрытого полипептидом наполнителя с другими добавками; (iii) нанесения фармацевтически приемлемой покрывающей добавки на наполнитель, который покрыт полипептидом. Полученная в результате фармацевтическая композиция может быть помещена в капсулы (например, желатиновую капсулу) или использована для формирования таблеток.

Было открыто, что катион, выбранный из Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} , можно использовать для подавления образования продукта окисления линаклотида во время хранения.

Также было открыто, что стерически затрудненный первичный амин, например лейцин, можно использовать для подавления образования формальдегидиминного аддукта линаклотида ("формальдегидиминного продукта") во время хранения. Таким образом, композиция линаклотида, содержащая катион, выбранный из Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} (например, двухвалентный катион, выбранный из Zn^{2+} , Mg^{2+} или Ca^{2+}) или стерически затрудненный первичный амин, такой, как аминокислота, имеет время полужизни, достаточное (согласно измерениям хроматографической чистота или при помощи масс./масс. анализа) для производства, хранения или распространения лекарственного средства. Дополнительно, в то время как присутствие стерически затрудненного амина само по себе может повышать образование продукта гидролиза линаклотида во время хранения, комбинация стерически затрудненного первичного амина и катиона, например, комбинация лейцина и Ca^{2+} , подавляет образование продукта гидролиза линаклотида, а также продукта окисления линаклотида во время хранения, приводя к даже большей общей стабильности, согласно измерениям при помощи масс./масс. анализа или при помощи измерений хроматографической чистоты.

В некоторых вариантах осуществления обеспечена фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель, линаклотид и один или более агентов, выбранных из Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} и стерически затрудненный первичный амин, где агент улучшает как минимум одно свойство композиции, по сравнению с фармацевтической композицией, не содержащей указанный агент. В дополнительных вариантах осуществления, агент представляет собой Mg^{2+} , Ca^{2+} или Zn^{2+} . В дополнительном варианте осуществления, агент представляет собой Ca^{2+} . В некоторых вариантах осуществления, катион без ограничений представлен как ацетат магния, хлорид магния, фосфат магния, сульфат магния, ацетат кальция, хлорид кальция, фосфат кальция, сульфат кальция, ацетат цинка, хлорид цинка, фосфат цинка, сульфат цинка, ацетат марганца, хлорид марганца, фосфат марганца, сульфат марганца, ацетат калия, хлорид калия, фосфат калия, сульфат калия, ацетат натрия, хлорид натрия, фосфат натрия, сульфат натрия, ацетат алюминия, хлорид алюминия, фосфат алюминия или сульфат алюминия. В дополнительных вариантах осуществления, катион представлен как хлорид магния, хлорид кальция, фосфат кальция, сульфат кальция, ацетат цинка, хлорид магния, хлорид калия, хлорид натрия или хлорид алюминия. В других вариантах осуществления, катион представлен как хлорид кальция, хлорид магния или ацетат цинка.

В другом варианте осуществления агент представляет собой стерически затрудненный первичный амин. В дополнительном варианте осуществления, стерически затрудненный первичный амин представляет собой аминокислоту. В еще одном дополнительном варианте осуществления, аминокислота представляет собой встречающуюся в природе аминокислоту. В еще одном дополнительном варианте осуществления, встречающуюся в природе аминокислоту выбирают из группы, состоящей из: гистидина, фенилаланина, аланина, глутамовой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутамина, лейцина, метионина, аспарагина, тирозина, треонина, изолейцина, триптофана, метионина и валина; еще дополнительно, встречающаяся в природе аминокислота представляет собой лейцин, изолейцин, аланин или метионин; в другом варианте осуществления, встречающаяся в природе аминокислота представляет собой лейцин или метионин; еще дополнительно, встречающаяся в природе аминокислота представляет собой лейцин. В другом варианте осуществления, стерически затрудненный первичный амин представляет собой не встречающуюся в природе аминокислоту или производное аминокислоты (например, 1-аминоциклогексанкарбоновую кислоту, лантионин или теанин). В дополнительном варианте осуществления, стерически затрудненный первичный амин представляет собой циклогексиламин, 2-метилбутиламин или хитозан.

В других вариантах осуществления обеспечена фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель, линаклотид, катион, выбранный из Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} (например, дивалентный катион, выбранный из Zn^{2+} , Mg^{2+} и Ca^{2+}) и стерически затрудненный первичный амин. В одном варианте осуществления, катион представляет собой Ca^{2+} . В другом варианте осуществления, катион представляет собой смесь двух или трех Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} (например, смесь двух или трех Zn^{2+} , Mg^{2+} или Ca^{2+}). В дополнительном варианте осуществления, фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемое связующее вещество или фармацевтически приемлемый глидант, смазывающее вещество или добавку, которая действует и как глидант, и как смазывающее вещество, или антиоксидант. В дополнительном варианте осуществления стерически затрудненный первичный амин является аминокислотой. В еще одном дополнительном варианте осуществления аминокислота является встречающейся в природе аминокислотой. В еще одном дополнительном варианте осуществления встречающуюся в природе аминокислоту выбирают из группы,

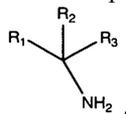
состоящей из: гистидина, фенилаланина, аланина, глутамовой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутамина, лейцина, метионина, аспарагина, тирозина, треонина, изолейцина, триптофана, метионина и валина; еще дополнительно, встречающаяся в природе аминокислота представляет собой лейцин, изолейцин, аланин или метионин; в другом варианте осуществления, встречающаяся в природе аминокислота представляет собой лейцин или метионин; еще дополнительно, встречающаяся в природе аминокислота представляет собой лейцин. В другом варианте осуществления стерически затрудненный первичный амин может быть смесью более чем одного стерически затрудненного первичного амина. Например, стерически затрудненный первичный амин может быть смесью более чем двух или более стерически затрудненных первичных аминов, например, смесью двух или более аминокислот.

В некоторых случаях молярное соотношение катион:стерически затрудненный первичный амин:линаклотид (например, Ca^{2+} :лейцин:линаклотид) в водном растворе, наносимом на носитель, составляет 5-100:5-50:1. Может быть желательным, чтобы молярное соотношение катион:стерически затрудненный первичный амин (например, Ca^{2+} :лейцин) было равным или превышало 2:1 (например, от 5:1 до 2:1). Таким образом, в некоторых случаях молярное соотношение катион:стерически затрудненный первичный амин:линаклотид (например, Ca^{2+} :лейцин:линаклотид), наносимое на носитель, составляет 100:50:1, 100:30:1, 80:40:1, 80:30:1, 80:20:1, 60:30:1, 60:20:1, 50:30:1, 50:20:1, 40:20:1, 20:20:1, 10:10:1, 10:5:1 или 5:10:1. Если связывающее вещество, например, метилцеллюлоза, присутствует в растворе линаклотид, наносят на носитель, то оно может присутствовать в количестве 0,5-2,5% по массе (например, 0,7-1,7% или 0,7-1% или 1,5 или 0,7%).

Масса линаклотид, которую наносят на данную массу наполнителя (например, микрокристаллическую целлюлозу) может варьироваться от приблизительно 0,02:100 до приблизительно 2,67:100. Таким образом, приблизительно от 0,05 до 6,0 мг линаклотид может быть нанесено на 225 мг наполнителя. В дополнительном варианте осуществления, масса линаклотид, которую наносят на данную массу наполнителя, составляет приблизительно от 0,05 мг до приблизительно 2,0 мг линаклотид (например, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7 мг пептида на 225 мг наполнителя).

В различных вариантах осуществления: стерически затрудненный первичный амин представляет собой аминокислоту (например, встречающуюся в природе аминокислоту или встречающуюся в природе аминокислоту, выбранную из гистидина, фенилаланина, аланина, глутамовой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутамина, метионина, аспарагина, тирозина, треонина, лейцин, изолейцина, триптофана или валина). В других случаях стерически затрудненный первичный амин представляет собой не встречающуюся в природе аминокислоту или производное аминокислоты (например, лантионин, теанин или 1-амино циклогексан). В других случаях стерически затрудненный первичный амин представляет собой аминокислоту (например, хитозан или глюкозамин).

В некоторых случаях, стерически затрудненный первичный амин имеет формулу:



где R_1 , R_2 и R_3 независимо выбирают из H ; $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$; C_1 - C_6 -алкила, необязательно замещенного $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CONH}_2$, или 5-10-членного арила или гетероарила; C_1 - C_6 -алкоксиалкила; или C_1 - C_6 -тиоалкоксиалкила, где любая из указанных выше алкильных или арильных групп может быть однократно или многократно замещена галогеном или $-\text{NH}_2$, и при условии, что не более чем два из R_1 , R_2 и R_3 представляют собой H . В дополнительном варианте осуществления, не более чем один из R_1 , R_2 и R_3 представляет собой H .

Термин "алкил", как используют в данной заявке, относится к насыщенному линейному или разветвленному моновалентному углеводородному радикалу. Если не указано иное, то алкильная группа содержит 1-20 атомов углерода (например, 1-20 атомов углерода, 1-10 атомов углерода, 1-8 атомов углерода, 1-6 атомов углерода, 1-4 атомов углерода или 1-3 атомов углерода). Примеры алкильных групп включают, не ограничиваясь приведенным, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, s-бутил, т-бутил, пентил, гексил, гептил, октил и т.п.

Термины C_{n-m} "алкоксиалкил" и C_{n-m} "тиоалкоксиалкил" означают алкил, замещенный одной или более алкокси или тиоалкокси группами, в зависимости от обстоятельств, где соединенное общее количество атомов углерода алкильной и алкоксигрупп, или алкильной и тиоалкоксигрупп, соединенных, в зависимости от обстоятельств, находятся между значениями n и m . Например, C_{4-6} алкоксиалкил имеет всего 4-6 атомов углерода, разделенных между алкильной и алкокси-частями; например они могут быть $\sim\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $\sim\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ или $\sim\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$.

Как используют в данной заявке, термин "арил" (как в выражениях "арильный цикл" или "арильная группа"), который используют по отдельности или как часть большего фрагмента, относится к карбоциклической системе, в которой как минимум один цикл в системе является ароматическим и имеет одно место присоединения к оставшейся части молекулы. Если не указано иное, то арильная группа может быть моноциклической, бициклической или трициклической и содержать 6-18 членов цикла. Примеры арильных циклов включают, не ограничиваясь приведенным, фенил, нафтил, инданил, инденил, тетра-

лин, флуоренил или антраценил.

Термин "гетероарил" (или "гетероароматическая" или "гетероарильная группа" или "ароматический гетероцикл"), который используют по отдельности или как часть большего фрагмента, такого, как "гетероаралкил" или "гетероарилалкокси", относится к циклической системе, в которой как минимум один цикл в системе является ароматическим и содержит один или более гетероатомов, где каждый цикл в системе содержит от 3 до 7 членов цикла и который имеет одно место присоединения к оставшейся части молекулы. Если не указано иное, то гетероарильная циклическая система может быть моноциклической, бициклической или трициклической и иметь всего от пяти до четырнадцати членов цикла. В одном варианте осуществления, все циклы в гетероарильной системе являются ароматическими. Также под данное определение подпадают гетероарильные радикалы, в которых гетероарильный цикл сконденсирован с одним или более ароматическим или неароматическим карбоциклическими или гетероциклическими циклами, или их комбинациями, поскольку радикал или место присоединения находятся в гетероарильном цикле. Бициклическая 6,5 гетероароматическая система, как было использовано в данной заявке, например, является шестичленным гетероароматическим циклом, сконденсированным со вторым пятичленным циклом, где радикал или место присоединения находятся в шестичленном цикле.

Гетероарильные циклы включают, не ограничиваясь приведенным, следующие моноциклы: 2-фуранил, 3-фуранил, N-имидозолил, 2-имидозолил, 4-имидозолил, 5-имидозолил, 3-изоксазолил, 4-изоксазолил, 5-изоксазолил, 2-оксазолил, 4-оксазолил, 5-оксазолил, N-пирролил, 2-пирролил, 3-пирролил, 2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил, 2-пиримидинил, 4-пиримидинил, 5-пиримидинил, пиридазинил (например, 3-пиридазинил), 2-тиазолил, 4-тиазолил, 5-тиазолил, тетразолил (например, 5-тетразолил), триазолил (например, 2-триазолил и 5-триазолил), 2-тиенил, 3-тиенил, пиразолил (например, 2-пиразолил), изотиазолил, 1,2,3-оксадиазолил, 1,2,5-оксадиазолил, 1,2,4-оксадиазолил, 1,2,3-триазолил, 1,2,3-тиадиазолил, 1,3,4-тиадиазолил, 1,2,5-тиадиазолил, пиразинил, 1,3,5-триазинил, и следующие бициклы: бензимидазолил, бензофурил, бензотиофенил, бензопиразинил, бензопиранонил, индолил (например, 2-индолил), пуринил, хинолинил (например, 2-хинолинил, 3-хинолинил, 4-хинолинил), и изохинолинил (например, 1-изохинолинил, 3-изохинолинил, или 4-изохинолинил).

В различных случаях: антиоксидант выбирают из БГА (бутилированного гидроксианизола), БГТ (бутилированного гидрокситолуола), витамина Е, пропилгаллата, аскорбиновой кислоты и ее солей или эфиров, токоферола и его эфиров, альфа-липовой кислоты, бета-каротина; фармацевтически приемлемое связующее вещество является поливиниловым спиртом или поливинилпирролидоном; фармацевтически приемлемое связующее вещество выбирают из: крахмала (например, кукурузного крахмала, предварительно желатинизированного картофельного крахмала, рисового крахмала, пшеничного крахмала, и натрий крахмал гликолята), мальтодекстрина или эфира целлюлозы (например, метилцеллюлозы, этилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, гидроксиэтилметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы и гидроксипропилметилцеллюлозы); фармацевтически приемлемый наполнитель представляет собой целлюлозу (например, микронизованную целлюлозу или микрокристаллическую целлюлозу, такую, как Celphere CP-305 или Avicel); фармацевтически приемлемый наполнитель представляет собой сахар или сахарный спирт (например, маннитол, изомальт, сорбитол, декстрозу, ксилит, сукрозу и лактозу); наполнитель содержит частицы, имеющие средний диаметр от 50 до 1000 мкм; смазывающее вещество или глидант выбирают из: талька, лейцина, стеарата магния, стеариновой кислоты и поливинилового спирта; и смазывающее вещество или глидант выбирают из: стеарата кальция, минерального масла, растительного масла, полиэтиленгликоля (ПЭГ; например, ПЭГ, который является жидким или твердым при комнатной температуре), бензоата натрия и натрия лаурилсульфата.

В некоторых случаях раствор линаклотида, который применяют в способе получения композиции, имеет рН ниже 7 (например, рН от 1 до 3 или рН от приблизительно 1,5 до приблизительно 2,5). Значение рН может быть отрегулировано, например, фосфорной кислотой. В некоторых случаях, раствор буферизируют. Могут быть использованы различные фармацевтически приемлемые буферы (например, фосфатный буфер).

В некоторых случаях раствор линаклотида, который используют в способе получения композиции, содержит как катион (например, CaCl_2), так и стерически затрудненный первичный амин (например, лейцин).

В некоторых случаях раствор линаклотида содержит CaCl_2 и лейцин; связывающим веществом является метилцеллюлоза; наполнителем является микрокристаллическая целлюлоза; глидант или смазывающее вещество содержит тальк или лейцин.

Также предложена фармацевтическая композиция, полученная любым из способов, описанных в данной заявке.

В другом аспекте описана фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель, линаклотид и один или более агентов, выбранных из (i) катиона, выбранного из Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} , или (ii) стерически затрудненного первичного амина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит как минимум один катион и как минимум один стерически затрудненный первичный амин.

Также описаны способы применения фармацевтических композиций для лечения различных желу-

дночно-кишечных расстройств.

Краткое описание чертежа

На чертеже демонстрируется пример анализа линаклотида при помощи ВЭЖХ, где "Окисление" относится к продукту окисления линаклотида, "формальдегидимин" относится к формальдегидиминному продукту линаклотида, а "Гидролиз" относится к продукту гидролиза линаклотида.

Данная фигура представлена для примера и не предназначена для ограничения объема данного изобретения.

Подробное описание изобретения

Пероральные композиции, содержащие линаклотид, могут применяться для лечения различных желудочно-кишечных расстройств. В различных вариантах осуществления, пациент страдает от желудочно-кишечного расстройства; пациент страдает от расстройства, выбранного из группы, состоящей из расстройства моторики пищеварительного тракта, хронической кишечной псевдообструкции, псевдообструкции толстой кишки, болезни Крона, дуоденогастрального рефлюкса, диспепсии, функциональной диспепсии, неязвенной диспепсии, функционального желудочно-кишечного расстройства, функциональной изжоги, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ), гастропареза, синдрома раздраженного кишечника, постоперационной кишечной непроходимости, язвенного колита, хронической констипации, констипации, боли, связанной с констипацией, и расстройств и состояний, связанных с констипацией (например, констипацией, связанной с применением опиатных болеутоляющих средств, послеоперационной констипацией, и констипацией, связанной с нейропатическими расстройствами, а также других состояний и расстройств, описанных в данной заявке); пациент страдает от расстройства моторики пищеварительного тракта, хронической кишечной псевдообструкции, псевдообструкции толстой кишки, болезни Крона, дуоденогастрального рефлюкса, диспепсии, функциональной диспепсии, неязвенной диспепсии, функционального желудочно-кишечного расстройства, функциональной изжоги, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ), гастропареза, воспалительного заболевания кишечника, синдрома раздраженного кишечника (например, синдром раздраженного кишечника с преобладанием диареи (д-СРК), синдром раздраженного кишечника с преобладанием констипации (к-СРК) или перемежающийся синдром раздраженного кишечника (п-СРК)), постоперационной кишечной непроходимости, язвенного колита, хронической констипации, констипации, боли, связанной с констипацией, и расстройств и состояний, связанных с констипацией, (например констипацией, связанной с применением опиатных болеутоляющих средств, послеоперационной констипации, и констипации, связанной с нейропатическими расстройствами, а также другими состояниями и расстройствами, описанными в данной заявке); пациенту было продиагностировано функциональное желудочно-кишечное расстройство в соответствии с римскими критериями (например, римскими критериями II), пациенту был продиагностирован синдром раздраженного кишечника (например, СРК с преобладанием диареи, СРК с преобладанием констипации, или перемежающийся СРК), в соответствии с римскими критериями (например, римскими критериями II).

Диапазон дозировок линаклотида для взрослых людей в общем составляет от 25 мкг до 6 мг в день перорально. В дополнительном варианте осуществления диапазон дозировок составляет от 25 мкг до 2 мг в день перорально. В некоторых вариантах осуществления, диапазон дозировок для взрослых людей составляет от 50 мкг до 1 мг в день перорально (например, 50 мкг, 67,5 мкг, 100 мкг, 133 мкг, 150 мкг, 200 мкг, 250 мкг, 266 мкг, 300 мкг, 350 мкг, 400 мкг, 450 мкг, 500 мкг, 550 мкг, 600 мкг, 650 мкг, 700 мкг, 750 мкг, 800 мкг, 850 мкг, 900 мкг, 950 мкг или 1 мг). В дополнительных вариантах осуществления, диапазон дозировок составляет от 100 мкг до 600 мкг в день перорально. В других вариантах осуществления, доза составляет 50 мкг, 67,5 мкг, 100 мкг, 133 мкг, 150 мкг, 200 мкг, 266 мкг, 300 мкг, 400 мкг, 500 мкг или 600 мкг линаклотида в день перорально. В одном варианте осуществления, представлена композиция линаклотида в дискретной единице, стандартной лекарственной форме, (например, таблетке, капсуле, саше) которая является эффективной при такой дозировке или в такой множественной дозировке. В определенных вариантах осуществления, стандартная лекарственная форма и ежедневная доза эквивалентны. В различных вариантах осуществления, стандартную лекарственную форму вводят с едой в любое время дня, без еды в любое время дня, с едой после ночного голодания (например, с завтраком). В различных вариантах осуществления, стандартную лекарственную форму вводят раз в день, два раза в день или три раза в день. Стандартная лекарственная форма может необязательно содержать другие добавки. В некоторых вариантах осуществления, одна, две или три стандартных лекарственных форм будут содержать дневную пероральную дозу линаклотида. За точное количество соединения, которое вводят пациенту, будет нести ответственность сопровождающий врач. Однако применяемая доза будет зависеть от ряда факторов, включая возраст и пол пациента, точное расстройство, от которого лечат, и его тяжесть.

В одном варианте осуществления предложен способ лечения синдрома раздраженного кишечника с констипацией (СРК-к) у взрослого пациента, который нуждается в таком лечении, включающий введение пациенту раз в день эффективного количества фармацевтической композиции, описанной в данной заявке. В различных вариантах осуществления, фармацевтическая композиция содержит 133 мкг или 266 мкг линаклотид на стандартную дозу в день. В других вариантах осуществления фармацевтическую

композицию вводят в течение периода, составляющего как минимум один день, два дня, три дня, четыре дня, пять дней, шесть дней, одну неделю, две недели, три недели, четыре недели или более. В некоторых вариантах осуществления лечение композицией линаклотида улучшает как минимум один симптом, выбранный из облегченной абдоминальной боли, увеличения количества полных самопроизвольных опорожнений кишечника (СПОК) в неделю, увеличения количества самопроизвольных опорожнений кишечника (СПОК) в неделю, улучшенной консистенции стула, уменьшенных натуживаний, уменьшенного абдоминального дискомфорта, уменьшенного метеоризма или уменьшенной тяжести симптома СРК-к.

В одном варианте осуществления предложен способ лечения хронического запора у взрослого пациента, который нуждается в таком лечении, включающий введение пациенту раз в день эффективного количества фармацевтической композиции, описанной в данной заявке. В различных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит 133 мкг или 266 мкг линаклотида на стандартную дозу в день. В других вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят в течение периода, составляющего как минимум один день, два дня, три дня, четыре дня, пять дней, шесть дней, одну неделю, две недели, три недели, четыре недели или более. В некоторых вариантах осуществления лечение композицией линаклотида улучшает как минимум один симптом, выбранный из увеличения количества полных самопроизвольных опорожнений кишечника (СПОК) в неделю, увеличения количества самопроизвольных опорожнений кишечника (СПОК) в неделю, улучшенной консистенции стула, уменьшенных натуживаний, уменьшенного абдоминального дискомфорта, уменьшенного метеоризма или уменьшенной тяжести констипации.

Консистенция стула каждого ОК может быть проконтролирована при помощи 7-балльной Бристольской шкалы форм стула (БШФС) (1 = твердые комки, 2 = комковатые колбаски, 3 = колбаски с ребристой поверхностью, 4 = гладкие колбаски, 5 = мягкие комки, 6 = кашицеобразный, 7 = водянистый). Натуживания могут быть проконтролированы при помощи 7-балльной шкалы легкости прохождений (1 = ручное высвобождение/необходимость клизмы, 2 = сильные натуживания, 3 = умеренные натуживания, 4 = незначительные натуживания, 5 = отсутствие, 6 = неотложные позывы, 7 = недержание). СПОК может быть измерен при помощи ощущения полного опорожнения после СОК (да/нет). Абдоминальный дискомфорт, метеоризм или тяжесть констипации могут быть измерены при помощи, например, 5-балльной порядковой шкалы (1 = отсутствует, 2 = незначительные, 3 = умеренные, 4 = тяжелые, 5 = очень тяжелые).

Катион в соответствии с данным изобретением может быть представлен как фармацевтически приемлемая соль, т.е. катион с соответствующим противоионом. Примеры фармацевтически приемлемых солей, которые могут быть применены в данном изобретении, включают, без ограничений, ацетат магния, хлорид магния, фосфат магния, сульфат магния, ацетат кальция, хлорид кальция, фосфат кальция, сульфат кальция, ацетат цинка, хлорид цинка, фосфат цинка, сульфат цинка, ацетат марганца, хлорид марганца, фосфат марганца, сульфат марганца, ацетат калия, хлорид калия, фосфат калия, сульфат калия, ацетат натрия, хлорид натрия, фосфат натрия, сульфат натрия, ацетат алюминия, хлорид алюминия, фосфат алюминия или сульфат алюминия. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически приемлемые соли включают хлорид кальция, карбонат кальция, ацетат кальция, хлорид магния, ацетат магния, ацетат цинка и хлорид цинка. В дополнительных вариантах осуществления, фармацевтически приемлемая соль, которая может быть использована, представляет собой хлорид кальция, хлорид магния и ацетат цинка.

Как используют в данной заявке, термин "связующее вещество" относится к любому фармацевтически приемлемому связующему веществу, которое может быть применено при реализации изобретения. Примеры фармацевтически приемлемых связующих веществ включают, без ограничений, крахмал (например, кукурузный крахмал, картофельный крахмал и предварительно желатинизированный крахмал (например, STARCH 1500® и STARCH 1500 LM®, продает Cologon, Ltd.) и другие крахмалы), мальтодекстрин, желатин, природные и синтетические камеди, такие, как гуммиарабик, порошкообразный трагакант, гуаровую камедь, целлюлозу и ее производные (например, метилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу и гидроксипропилметилцеллюлозу (гипромеллозу), этилцеллюлозу, ацетатцеллюлозу, кальций карбоксиметилцеллюлозу, натрий карбоксиметилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу, микрокристаллическую целлюлозу (например AVICEL™, например, AVICEL-PH-101™, -103™ и -105™, продает FMC Corporation, Marcus Hook, PA, USA)), поливиниловый спирт, поливинилпирролидон (например, поливинилпирролидон К30), и их смеси.

Как использовано в данной заявке, термин "наполнитель" относится к любому фармацевтически приемлемому наполнителю, который может быть использован при реализации изобретения. Примеры фармацевтически приемлемых наполнителей включают, без ограничений, тальк, карбонат кальция (например, гранулы или порошок), двухосновной фосфат кальция, трехосновной фосфат кальция, сульфат кальция (например, гранулы или порошок), микрокристаллическую целлюлозу (например, Avicel PH101 или Celphere CP-305), порошкообразную целлюлозу, декстраны, каолин, маннитол, кремниевую кислоту, сорбитол, крахмал (например, STARCH 1500), предварительно желатинизированный крахмал, лактозу, глюкозу, фруктозу, галактозу, трегалозу, сукрозу, мальтозу, изомальт, раффинозу, мальтитол, мелезито-

зу, стахиозу, лактитол, палатинит, ксилитол, миоинозитол и их смеси.

Примеры фармацевтически приемлемых наполнителей, которые могут быть особо полезными для покрытия линаклотидом, включают, без ограничений, тальк, микрокристаллическую целлюлозу (например, Avicel PH101 или Celphere CP-305), порошкообразную целлюлозу, декстраны, каолин, маннитол, кремниевую кислоту, сорбитол, крахмал, предварительно желатинизированный крахмал, лактозу, глюкозу, фруктозу, галактозу, трегалозу, сукрозу, мальтозу, изомальт, двухосновной фосфат кальция, раффинозу, мальтитол, мелезитозу, стахиозу, лактитол, палатинит, ксилитол, маннитол, миоинозитол и их смеси.

Как использовано в данной заявке, термин "добавки" относится к любой фармацевтически приемлемой добавке. Фармацевтически приемлемые добавки включают, без ограничений, агенты распада, диспергирующие добавки, смазывающие вещества, глиданты, антиоксиданты, покрывающие добавки, разжижители, поверхностно-активные вещества, ароматизирующие добавки, увлажнители, добавки, способствующие поглощению, добавки контролируемого высвобождения, антиспекатели, противомикробные агенты (например, консерванты), пигменты, десиканты, пластификаторы и красители.

Как использовано в данной заявке, "наполнитель" представляет собой любую фармацевтически приемлемую добавку, наполнитель, связующее вещество или агент.

Как использовано в данной заявке, "очищенный линаклотид" представляет собой линаклотид или его фармацевтически приемлемую соль, который имеет не менее 90 процентов чистоты или не менее 95 процентов чистоты. В некоторых вариантах осуществления, линаклотид, который используют в способах и композициях, описанных в данной заявке, очищают. Чистота линаклотида может быть измерена, например, при помощи хроматографической чистоты линаклотида с использованием противофазной ВЭЖХ, как описано в примере 21. Анализ линаклотида [мас./мас.] может быть определен, например, путем использования противофазной ВЭЖХ с количественным определением посредством внешней калибровки при помощи стандартного образца, как описано в примере 21.

В одном аспекте фармацевтическая композиция может быть получена путем распыления раствора, содержащего линаклотид или его фармацевтически приемлемую соль, на фармацевтически приемлемый наполнитель с получением покрытого линаклотидом наполнителя. В одном варианте осуществления способ включает: (а) изготовление раствора, например, водного раствора ("покровный раствор"), содержащего: (i) линаклотид или его фармацевтически приемлемую соль; (ii) катион, выбранный из Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} или стерически затрудненный первичный амин (например, лейцин) и, необязательно, (iii) фармацевтически приемлемое связующее вещество; и (б) нанесение покровного раствора на фармацевтически приемлемый наполнитель с получением покрытого полипептидом наполнителя (например, путем распыления, сушки или покрытия фармацевтически приемлемого наполнителя покровным раствором). Способ может по необходимости включать одну или более стадий: (i) смешивания покрытого олипептидом наполнителя с фармацевтически приемлемым глидантом, фармацевтически приемлемым смазочным материалом или фармацевтически приемлемой добавкой, которая действует и как глидант, и как смазывающее вещество; (ii) смешивания покрытого полипептидом наполнителя с другими добавками; и (iv) нанесения фармацевтически приемлемой покрывающей добавки на наполнитель, который покрыт полипептидом. Полученная в результате фармацевтическая композиция может быть помещена в капсулы (например, желатиновую капсулу) или использована для формирования таблеток.

В другом варианте осуществления фармацевтическую композицию получают при помощи высушивания распылением, которое представляет собой метод, используемый для получения микрочастиц (например, микрокапсул или микросфер) лекарственных средств. Высушенные распылением пептиды в общем сохраняют свою биологическую активность при растворении и могут иметь полезные физические характеристики, включая одинаковый размер частиц и сферическую форму. Дополнительно, микрочастицы, полученные путем высушивания распылением часто являются свободно текучими, что способствует проведению процессов фармацевтического производства, таких, как формирование таблеток и наполнение капсул. Процессы высушивания распылением также являются полезными, поскольку они могут быть легко масштабированы для клинического и коммерческого производства.

Таким образом, в данной заявке описан способ получения фармацевтической композиции, содержащей линаклотид или его фармацевтически приемлемую соль, где способ включает: (а) изготовление раствора, например, водного или органического раствора, содержащего: (i) линаклотид или его фармацевтически приемлемую соль; и (ii) катион, выбранный из Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} или стерически затрудненный первичный амин (например, лейцин) и (б) высушивание распылением линаклотидсодержащего раствора с получением микрочастиц. Линаклотидсодержащий раствор может необязательно содержать полимер, например, одно или более связующих веществ, описанных в данной заявке, липид или фосфолипид, или наполнитель, например, маннитол. Способ может необязательно включать одну или более дополнительных стадий: (i) смешивания микрочастиц линаклотида с фармацевтически приемлемым глидантом, фармацевтически приемлемым смазочным материалом или фармацевтически приемлемой добавкой, которая действует и как глидант, и как смазывающее вещество; (ii) смешивания

микрочастиц с наполнителем, или (iii) смешивания микрочастиц с другими добавками. Полученная в результате фармацевтическая композиция может быть помещена в капсулы (например, желатиновую капсулу) или использована для формирования таблеток.

В других вариантах осуществления фармацевтическую композицию получают при помощи лиофильной сушки, обработки надкритической жидкости или лиофилизации раствора, например, водного или органического раствора, содержащего: (i) линаклотид или его фармацевтически приемлемую соль; и (ii) катион, выбранный из Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} или стерически затрудненный первичный амин (например, лейцин).

В некоторых вариантах осуществления представлена композиция линаклотида в твердой форме для перорального введения. Примеры таких форм включают, без ограничений, таблетку, саше, пилюлю, капсулу или порошок. В некоторых вариантах осуществления, композиции могут применяться для создания стандартных лекарственных форм, например, таблеток, капсул, саше или пилюль. Композиции для перорального введения могут включать, например, связующие вещества, смазывающие вещества, инертные разжижители, смазывающие, поверхностно-активные или диспергирующие добавки, ароматизирующие добавки и увлажнители. Композиции для перорального введения, такие как таблетки, могут необязательно быть покрыты или иметь насечки и могут быть составлены в композицию таким образом, чтобы обеспечить непрерывное, замедленное и контролируемое высвобождение линаклотида из них. Линаклотид может быть введен совместно или включен в композицию вместе с другими лекарственными средствами. В одном варианте осуществления, композиция линаклотида может быть введена совместно с другими лекарственными средствами, которые применяют для лечения желудочно-кишечных расстройств. Композиция линаклотида может применяться также для лечения других заболеваний, таких, как сердечная недостаточность с застойными явлениями и доброкачественная гипертрофия предстательной железы.

Композиции могут содержать, например, различные дополнительные растворители, диспергаторы, покрытия, добавки, способствующие поглощению, добавки контролируемого высвобождения, и одну или более инертных добавок (включающих, например, крахмалы, полиолы, гранулирующие добавки, микрокристаллическую целлюлозу, разжижители, смазывающие вещества, связующие вещества, добавки для распада, и т.п.), и т.д. При желании, дозировки таблеток, описанных в данной заявке, композиций могут быть покрыты при помощи стандартных водных и неводных методов. Композиции могут также содержать, например, антиспекатели, консерванты, подсластители, пигменты, ароматизаторы, десиканты, пластификаторы, красители и т.п.

Приемлемые агенты распада включают, например, агар-агар, карбонат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, натрий кроскармеллозу, кросповидон, повидон, полакрилин калий, натрий крахмал гликолят, картофельный крахмал или крахмал тапиоки, другие крахмалы, предварительно желатинизированный крахмал, глины, другие альгины, другие целлюлозы, камеди и их смеси.

Приемлемые смазывающие вещества включают, например, стеарат кальция, стеарат магния, минеральное масло, легкое минеральное масло, глицерин, сорбитол, маннитол, полиэтиленгликоль, другие гликоли, стеариновую кислоту, натрий лаурилсульфат, тальк, гидрогенизированное растительное масло (например, арахисовое масло, хлопковое масло, подсолнечное масло, сезамовое масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло), стеарат цинка, этилолеат, этиллаурат, агар, силоидсиликагель (AEROSIL 200, W.R. Grace Co., Baltimore, MD USA), коагулированный аэрозоль синтетического кремнезема (Evonik Degussa Co., Piano, TX USA), пирогенный диоксид кремния (CAB-O-SIL, Cabot Co., Boston, MA USA), и их смеси.

Приемлемые глиданты включают, например, лейцин, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, порошкообразную целлюлозу, крахмал, тальк и трехосновной фосфат кальция.

Приемлемые антиспекатели включают, например, силикат кальция, силикат магния, диоксид кремния, коллоидный диоксид кремния, тальк и их смеси.

Приемлемые противомикробные добавки, которые могут быть использованы, например, в качестве консерванта для композиций линаклотида, включают, например, бензалконий хлорид, бензотоний хлорид, бензойную кислоту, бензиловый спирт, бутилпарабен, цетилпиридиний хлорид, крезол, хлорбутанол, дегидроуксусную кислоту, этилпарабен, метилпарабен, фенол, фенилэтиловый спирт, феноксиэтанол, фенилртуть ацетат, фенилртуть нитрат, сорбат натрия, пропилпарабен, бензоат натрия, дегидроацетат натрия, пропионат натрия, сорбиновую кислоту, тимерозал, тимол и их смеси.

Приемлемые покровные добавки включают, например, натрий карбоксиметилцеллюлозу, ацетатфталатцеллюлозу, этилцеллюлозу, желатин, фармацевтическую глазурь, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, метилцеллюлозу, полиэтиленгликоль, поливинилацетатфталат, шеллак, сахарозу, диоксид титана, карнаубский воск, микрокристаллический воск и их смеси. Приемлемые защитные покрытия включают Aquacoat (например, водную дисперсию этилцеллюлозы Aquacoat, 15% мас./мас, FMC Biopolymer, ECD-30), Eudragit (например Eudragit E PO PE-EL, Roehm Pharma Polymers) и Opadry (например, Opadry AMB дисперсию, 20% мас./мас., Colorcon).

В определенных вариантах осуществления, приемлемые добавки для композиции линаклотида включают одно или больше из сахарозы, талька, стеарата магния, кросповидона или БГА.

В определенных вариантах осуществления, термин "95%" может быть 95,0%, термин "90%" может быть 90,0%, термин "10%" может быть 10,0%, термин "9%" может быть 9,0%, термин "8%" может быть 8,0%, термин "7%" может быть 7,0%, термин "6%" может быть 6,0%, термин "5%" может быть 5,0%, термин "4%" может быть 4,0%, термин "3%" может быть 3,0%, термин "2%" может быть 2,0%, и термин "1%" может быть 1,0%.

В определенных вариантах осуществления представлена композиция линаклотида в стандартной лекарственной форме. В некоторых вариантах осуществления стандартная лекарственная форма представляет собой капсулу, таблетку, саше, пилюлю или порошок. В одном таком варианте осуществления стандартная лекарственная форма представляет собой капсулу или таблетку. Такие стандартные формы дозировок могут находиться в контейнере, например, без ограничений, бумажном или картонном ящике, стеклянной или пластиковой бутылке или сосуде, пакете с возможностью повторной герметизации (например, для хранения "повторного наполнения" таблеток для размещения в другой контейнер), или блистерной упаковки с индивидуальными дозами для спрессовывания упаковки в соответствии с графиком лечения. Вероятно, более одного контейнера может быть использовано вместе в одной упаковке для обеспечения стандартной лекарственной формы. Например, таблетки или капсулы могут находиться в бутылке, которая, в свою очередь, находится в коробке. В некоторых вариантах осуществления представлены стандартные формы дозировок в контейнере, дополнительно содержащем десикант. В дополнительном варианте осуществления стандартные формы дозировок, например, количество таблеток или капсул, представлены в контейнере, например, бутылке, сосуде или упаковке с возможностью повторной герметизации, содержащей десикант. В дополнительном варианте осуществления контейнер, содержащий стандартные формы дозировок упакован вместе с инструкциями по введению или дозировкам. В определенных вариантах осуществления композиция линаклотида представлена в наборе. Композиция линаклотида, описанная в данной заявке, и агенты комбинационной терапии могут быть упакованы как набор, содержащий одинарные или множественные дозы двух или более агентов, каждая из которых упакована или составлена в композицию индивидуально, или как единичная или множественные дозы двух или более агентов, упакованных или составленных в композицию в комбинации. Таким образом, композиция линаклотида может присутствовать в первом контейнере, и набор может необязательно содержать один или более агентов во втором контейнере. Контейнер или контейнеры помещают в упаковку, а упаковка может необязательно содержать инструкции по введению или дозировкам.

Примеры

Следующие примеры приведены только в целях иллюстрации данного изобретения и не должны быть истолкованы как каким-либо образом ограничивающие объем данного изобретения, поскольку многие вариации и эквиваленты, которые охвачены данным изобретением, будут очевидными специалистам в данной области после прочтения данной заявки.

Линаклотид или его фармацевтически приемлемая соль могут быть получены и очищены стандартными методами, известными из уровня техники, при помощи химического синтеза или с последующей рекомбинантной экспрессией и очисткой при помощи стандартных методов.

Схема составления в композицию А.

Подготовка покровного раствора. Приблизительно 32 г - 42 г очищенной воды смешивали с соляной кислотой с получением раствора с рН 1,5-2,0. В случае использования катиона его добавляли к раствору в количестве, обеспечивающем желаемую концентрацию, и раствор смешивали в течение достаточного времени с получением прозрачного раствора. В случае использования стерически затрудненного первичного амина его добавляли к раствору в количестве, обеспечивающем желаемую концентрацию, и раствор смешивали в течение достаточного времени с получением прозрачного раствора. Затем добавляли другие добавки, например, антиоксиданты, при желании. Значение рН раствора анализировали, и при необходимости добавляли соляную кислоту с получением раствора, имеющего значение рН от 1,5 до 2,0. Связующее вещество добавляли к раствору и смесь затем перемешивали в течение достаточного времени с получением прозрачного раствора. Желаемое количество линаклотида добавляли к раствору и перемешивали в течение 30-100 мин с обеспечением покровного раствора.

Подготовка активных гранул. Приблизительно 30-36 г гранул высушенной микрокристаллической целлюлозы добавляли в мини-колонку с покрытием кипящего слоя. Гранулы микрокристаллической целлюлозы псевдооживали и нагревали перед послойным нанесением. Затем, покровный раствор слоями наносили на гранулы. Температуру распыления контролировали от 24 до 55°C путем контроля входной температуры, скорости распыления, давления распыления и объема воздуха. После нанесения послойно всего покровного раствора на гранулы, последние высушивали. Продукт, полученный данным способом, назвали активными гранулами.

Подготовка активных гранул с защитным покрытием. Приблизительно 35 г активных гранул добавляли в мини-колонку с покрытием кипящего слоя. Активные гранулы псевдооживали и нагревали перед покрытием Aquascoat (например водная дисперсия этилцеллюлозы Aquascoat, 15% масс./масс., FMC Biopolymer, ECD-30), Eudragit (например дисперсия этилцеллюлозы Eudragit E PO PE-EL, Roehm Pharma Polymers) или Opadry (например, дисперсия Opadry AMB, 20% масс./масс., Colorcon). Затем, покровный раствор наносили слоями на гранулы. Температуру распыления регулировали от 24 до 55°C путем контроля входной темпе-

ратуры, скорости распыления, давления распыления и объема воздуха. После нанесения послойно всего покровного раствора на гранулы, последние высушивали.

Схема составления композиции В.

Получение покровного раствора. Приблизительно 8,3 кг очищенной воды смешивали с соляной кислотой с получением раствора с рН от 1,5 до 2,0. В случае использования катиона его добавляли к раствору в количестве для обеспечения желаемой концентрации, и раствор смешивали в течение достаточного времени с получением прозрачного раствора. В случае использования стерически затрудненного первичного амина его добавляли к раствору в количестве для обеспечения желаемой концентрации, и раствор смешивали в течение достаточного времени с получением прозрачного раствора. Другие добавки, такие, как антиоксиданты, затем добавляли, при необходимости. Связующее вещество затем добавляли к раствору и раствор смешивали в течение достаточного времени с получением прозрачного раствора. Значение рН раствора анализировали, и при необходимости добавляли соляную кислоту с получением раствора, имеющего значение рН от 1,5 до 2,0. Это является раствором 1. Приблизительно 8,3 кг очищенной воды смешивали с соляной кислотой с получением раствора с рН от 1,5 до 2,0. Желаемое количество линаклотида добавляли к раствору и смешивали в течение от 10 до 30 минут. Значение рН раствора анализировали, и при необходимости добавляли соляную кислоту с получением раствора, имеющего значение рН от 1,5 до 2,0. Это является раствором 2. Раствор 1 и раствор 2 затем смешивали вместе. Значение рН раствора анализировали, и при необходимости добавляли соляную кислоту с получением раствора, имеющего значение рН от 1,5 до 2,0. Это являлось покровным раствором.

Подготовка активных гранул. Приблизительно 24,19 кг гранул микрокристаллической целлюлозы добавляли в колонку Wurster Column от Glatt GPCG-30 Fluid Bed. Гранулы микрокристаллической целлюлозы псевдоожижали и нагревали до температуры продукта, составляющей 45-47°C. Затем, покровный раствор послойно наносили на гранулы. Температуру распыления контролировали от 37°C до 47°C путем контролирования входной температуры, скорости распыления, давления распыления и объема воздуха. После нанесения послойно всего покровного раствора на гранулы, гранулы высушивали при температуре высушивания продуктов, составляющей 37°C-47°C. Продукт, полученный данным способом, назвали активными гранулами.

Примеры 1-15. Получение композиций линаклотида. Композиции линаклотида, полученные в примерах 1-15, получали, в существенной степени, как описано на схеме получения композиций А, где табл. 1 обеспечивает количества катиона, стерически затрудненного первичного амина, связующего вещества, линаклотида и гранул, в то время как табл. 2 обеспечивает условия, при которых проводят покрытие гранул:

Таблица 1

Пример	Количество катиона []*	Количество амина []	Количество связующего вещества	Количество линаклотида **	Количество гранул
1	CaCl ₂ ·2H ₂ O 0,6740 г [60]	Лейцин 0,2005 г [20]	Гипромел-лоза 1,019 г	0,1282 г	Celphere CP-305 33,38 г
2	CaCl ₂ ·2H ₂ O 0,6740 г [60]	Лейцин 0,3007 г [30]	Гипромел-лоза 0,3063 г	0,1329 г	Celphere CP-305 33,87 г
3	CaCl ₂ ·2H ₂ O 0,2247 г [20]	Лейцин 1,002 г [100]	Гипромел-лоза 0,0656 г	0,1282 г	Celphere CP-305 33,86 г
4	CaCl ₂ ·2H ₂ O 1,123 г [100]	Лейцин 0,2005 г [20]	Гипромел-лоза 1,969 г	0,1282 г	Celphere CP-305 32,36 г
5	CaCl ₂ ·2H ₂ O 0,4493 г [40]	Лейцин 0,4009 г [40]	Гипромел-лоза 0,5425 г	0,1282 г	Celphere CP-305 33,78 г
6	MgCl ₂ ·6H ₂ O 0,2590 г [10]	Лейцин 0,3341 г [20]	Гипромел-лоза 0,6636 г	0,2100 г	Celphere CP-305 33,83 г

7	ZnAs·2H ₂ O 0,2796 г [10]	Лейцин 0,3341 г [20]	Гипромел- лоза 0,6636 г	0,2100 г	Celphere CP- 305 33,82 г
8	Нет данных	Лейцин 0,8944 г [27]	Гипромел- лоза 0,6636 г	0,4387 г	Celphere CP- 305 33,40 г
9	CaCl ₂ ·2H ₂ O 0,3745 г [10]	Нет данных	Гипромел- лоза 0,6636 г	0,4227 г	Celphere CP- 305 33,83 г
10	Нет данных	Нет данных	Гипромел- лоза 0,6811 г	0,2114 г	Celphere CP- 305 34,28 г
11	Нет данных	Нет данных	Гипромел- лоза 0,6636 г	0,4227 г	Celphere CP- 305 34,13 г
12	CuCl ₂ ·2H ₂ O 0,4342 г [10]	Нет данных	Гипромел- лоза 0,6636 г	0,4227 г	Celphere CP- 305 33,79 г
13	ZnAs·2H ₂ O 0,5590 г [10]	Нет данных	Гипромел- лоза 0,6636 г	0,4227 г	Celphere CP- 305 33,68 г
14	MgCl ₂ ·6H ₂ O 0,5178 г [10]	Нет данных	Гипромел- лоза 0,6636 г	0,4227 г	Celphere CP- 305 33,72 г
15	Нет данных	Метионин 0,0380 г [1]	Гипромел- лоза 0,6636 г	0,4387 г	Celphere CP- 305 34,08 г

* "Катион" относится к двухвалентному катиону, который содержится в соли, которую использовали в примере, "амин" относится к стерически затрудненному первичному амину, значение в [] относится к молярному соотношению катиона или амина и линаклотида.

** Количество линаклотида в данном и последующем примерах определяли, исходя из содержания пептида и хроматографической чистоты, как перечислено в Свидетельстве о проведении анализа, обеспеченном для каждой произведенной партии активного фармацевтического ингредиента (АФИ) линаклотида.

Таблица 2

Пример	Темпе- ратура распы- ления продук- та (°C)	Входная темпе- ратура (°C)	Ско- рость распы- ления (мл/мин)	Давление распыления (psig)	Воздушный поток
1	34,0- 37,0	55,7- 57,7	0,33- 0,40	20	Низкий
2	27,4- 32,3	37,01- 42,1	0,40	22	Низкий
3	32,6- 34,7	60,0- 60,1	0,33- 0,40	20	Низкий
4	35,3- 39,3	58,9- 59,2	0,40	18	Низкий
5	27,8- 27,9	58,7- 59,8	0,35- 0,33	20	Низкий
6	32,1- 38,3	42,0- 53,4	0,39- 0,75	22	Низкий
7	31,7- 39,3	50,0- 52,5	0,27- 0,57	22	Низкий
8	33,3- 41,3	50,5- 57,0	0,57- 0,65	22	Низкий
9	33,2- 40,0	49,5- 58,7	0,82- 1,00	20	Низкий
10	42,5	59,5	0,49	22	Низкий
11	39,7	52,0	0,66	22	Низкий
12	36,6- 40,0	47,2- 54,8	0,65- 0,75	20-22	Низкий
13	32,4	57,4	0,65	22	Низкий
14	34,0	49,0	0,75	20	Низкий
15	24,1- 39,9	48,5- 55,9	0,39- 0,65	22-23	Низкий

Пример 16. Получение композиции линаклотида.

Композицию линаклотида, полученную в примере 16, получали, в основном, как описано на схеме получения композиций В, где в табл. 3 указаны количества катиона, стерически затрудненного первичного амина, связующего вещества, линаклотида и гранул, в то время как в табл. 4 представлены условия, при которых проводят покрытие гранул.

Таблица 3

Пример	Количество катиона []	Количество амина []	Количество связующего вещества	Количество Линаклотида	Количество гранул
16	CaCl ₂ ·2H ₂ O 385,1 г [60]	Лейцин 171,8 г [30]	Гипромеллоза 175,0 г	73,5 г	Celphere CP-305 24,19 кг

Таблица 4

Пример	Температура распыления продукта (°C)	Входная температура (°C)	Скорость распыления (г/мин)	Давление распыления (бар)	Объем технологического воздуха (куб. фт./мин)	Температура высушивания продукта (°C)
16	64,9–65,1	80	150	2,0	515–564	54,9–55,0

Пример 17. Получение композиции линаклотида.

Композицию линаклотида, полученную в примере 17, получали, в основном как описано на схеме получения композиций А, за исключением того, что композиция содержала 22,96 мг бутилированного гидроксизанола (БГА), где в табл. 5 указаны количества катиона, стерически затрудненного первичного амина, связующего вещества, линаклотида и гранул, в то время как табл. 6 обеспечивает условия, при которых проводят покрытие гранул.

Таблица 5

Пример	Количество катиона []	Количество амина []	Количество связующего вещества	Количество Линаклотида	Количество гранул
17	CaCl ₂ ·2H ₂ O 0,3745 г [20]	Нет данных	Гипромеллоза 0,6636 г	0,2100 г	Celphere CP-305 33,99 г

Таблица 6

Пример	Температура распыления продукта (°C)	Входная температура (°C)	Скорость распыления (мл/мин)	Давление распыления (psig)	Воздушный поток
17	33,5–34,8	47,7–48,6	0,56–0,74	26	Низкий

Пример 18. Получение капсул, содержащих композицию линаклотида.

Содержание линаклотида на активных гранулах может быть измерено, как описано в примере 21 или при помощи других эквивалентных способов.

Для формирования капсул, приемлемых для перорального введения, соответствующее количество активных гранул используют для наполнения желатиновых капсул (например, желатиновых капсул Размера 2). Соответствующее количество активных гранул может содержать от 50 мкг до 2 мг линаклотида на капсулу в диапазоне, составляющем ±5%. В некоторых вариантах осуществления, соответствующее количество линаклотида в активных гранулах может составлять 50 мкг, 67,5 мкг, 100 мкг, 133 мкг, 150 мкг, 200 мкг, 266 мкг, 300 мкг, 400 мкг, 500 мкг, 600 мкг, 700 мкг, 800 мкг, 900 мкг, 1 мг, 2 мг, 4 мг или 6 мг. В конкретном варианте осуществления, соответствующее количество линаклотида в активных гранулах составляет 67,5 мкг, 100 мкг, 133 мкг, 150 мкг, 200 мкг, 266 мкг, 300 мкг, 400 мкг, 500 мкг, 600 мкг. В более конкретном варианте осуществления, соответствующее количество линаклотида в активных гранулах составляет 67,5 мкг, 133 мкг, 150 мкг, 266 мкг или 300 мкг на капсулу.

В другом варианте осуществления, соответствующее количество активных гранул для наполнения желаемого количества желатиновых капсул помещают в контейнер. Один или более фармацевтически приемлемых наполнителей или других фармацевтически приемлемых добавок могут быть добавлены, при желании, в контейнер. В некоторых вариантах осуществления наполнитель или добавка представляют собой тальк, лейцин, микрокристаллическую целлюлозу или маннитол. Содержимое контейнера перемешивают и смесь используют для наполнения желатиновых капсул соответствующим количеством активных гранул, содержащих линаклотид (например, от 50 мкг до 2 мг линаклотида на капсулу в диапазоне, составляющем $\pm 5\%$).

В альтернативном варианте осуществления соответствующее количество активных гранул используют для наполнения желатиновых капсул и один или более фармацевтически приемлемых наполнителей или других фармацевтически приемлемых добавок добавляют в желатиновые капсулы.

Пример 19. Получение капсул, содержащих композицию линаклотида.

Подготовка покровного раствора: Сначала, 41,98 г очищенной воды смешивали с 1,13 г соляной кислоты с получением раствора, в котором значение pH составляло от 1,5 до 2,0. Затем, 7,49 г хлорида кальция дигидрата и 6,68 г лейцина добавляли к раствору, который затем перемешивали в течение 30 минут с получением прозрачного раствора. Значение pH анализировали, и добавляли 1,70 г соляной кислоты для получения раствора, в котором значение pH составляло от 1,5 до 2,0. Затем, 13,27 г гипромеллозы (гидроксипропилметилцеллюлозы; Dow Chemical Company; Midland, MI) добавляли к раствору и смесь перемешивали в течение 60 мин с получением прозрачного раствора. Затем, 4,39 г линаклотида добавляли к раствору и смешивали в течение 90 мин. Значение pH раствора составляло 1,73. Это был покровный раствор.

Получение активных гранул: 674,5 г гранул микрокристаллической целлюлозы (Cephelone CP-305; Ashai Kasei Corporation (Tokyo; Japan) добавляли в колонку Wurster Column от Glatt GPCG-2 Fluid Bed. Гранулы микрокристаллической целлюлозы псевдооживляли и нагревали в течение 30 минут при температуре продукта 60°C. Затем, покровный раствор послойно наносили на гранулы. Температуру продукта контролировали от 45 до 49°C входной температурой, составляющей 80°C, скорость распыления составляла 5,0-11 г/мин, давление распыления составляло 2,0 бар, и объем воздуха составлял 40-50 м³/г. После того, как весь покровный раствор был послойно нанесен на гранулы, гранулы высушивали в течение 10 минут при температуре продукта, составляющей 46,9-50,9°C. Продукт, полученный таким способом, называли активными гранулами.

Жидкостная противофазная хроматография линаклотида, экстрагированного из композиции, полученной, как описано выше, показала, что экстрагированный линаклотид и линаклотид стандартного образца проявляли одинаковые периоды удерживания, и что значительное изменение чистоты в результате процесса составления в композицию не наблюдалось.

Для формирования капсул 49,50 г активных гранул добавляли в пустой пакет. Затем, 0,25 г лейцина, просеянного через сита 60 меш, добавляли в пакет. Пакет завязывали и перемешивали при 125 оборотах для перемешивания всего материала. Затем, 0,25 г талька, просеянного через сита 60 меш, добавляли в пакет. Пакет завязывали и перемешивали при 125 оборотах для перемешивания всего материала. После перемешивания всего материала, смесь использовали для наполнения желатиновых капсул Размера 2 при целевой массе 227 мг/капсул в диапазоне, составляющем $\pm 5\%$.

Пример 20. Получение капсул, содержащих композицию линаклотида.

Активные гранулы получали в соответствии с примером 16. Активные гранулы анализировали на содержание линаклотида. Исходя из результатов анализа активных гранул, соответствующее количество активных гранул (96-123 мг) заполняли в твердые желатиновые капсулы размера 2 при помощи устройства изготовления капсул MG2 Futura, с получением концентрации линаклотида, составляющей 300 мкг.

Активные гранулы получали в соответствии с примером 15. Активные гранулы анализировали на содержание линаклотида. Исходя из результатов анализа активных гранул, соответствующее количество активных гранул (48-62 мг) заполняли в твердые желатиновые капсулы размера 2 при помощи устройства формирования капсул MG2 Futura, с получением концентрации линаклотида, составляющей 150 мкг.

Пример 21. Измерение содержания и чистоты линаклотида.

Содержание и чистоту линаклотида, а также измерение родственных линаклотиду веществ может быть определено при помощи противофазной градиентной жидкостной хроматографии при помощи системы Agilent Series 1100 LC с программным обеспечением Chemstation Rev A.09.03 или эквивалентного. Использовали колонку YMC Pro™ C18 (размеры: 3,0×150 мм, 3,5 мкм 120 Å; Waters Corp., Milford, MA) или эквивалентную, температуру которой поддерживали при 40°C. Подвижная фаза А (ПФА) состояла из воды с 0,1% трифторуксусной кислотой, в то время, как подвижная фаза В (ПФВ) состояла из 95% ацетонитрила:5% воды с 0,1% трифторуксусной кислотой. Элюцию линаклотида и родственных линаклотиду веществ выполняли при градиенте от 0 до 47% ПФВ за 28 мин с последующим выбросом до 100% ПФВ за 4 мин с 5-минутным удерживанием при 100% ПФВ для промывания колонки. Повторное уравновешивание колонки выполняли путем возврата - 0% ПФВ за 1 мин с последующим 10-минутным удерживанием при 100% ПФА. Скорость потока составляла 0,6 мл/мин, а детекцию проводили при по-

мощи УФ при 220 нм.

Пробы для анализа готовили путем добавления содержимого капсул линаклотида до 0,1н. HCl с получением целевой концентрации 20 мкг линаклотида/мл 100 мкл данного раствора впрыскивали в колонку.

Содержимое линаклотида измеряли путем определения концентрации линаклотида в полученной пробе по сравнению с аналогично подготовленным внешним стандартным линаклотидом.

Пример анализа линаклотида при помощи ВЭЖХ показан на фиг. 1, где "Окисление" относится к продукту окисления линаклотида, "Формальдегид-имин" относится к формальдегидиминному продукту линаклотида, а "Гидролиз" относится к продукту гидролиза линаклотида.

Пример 22. Анализ стабильности композиции линаклотида.

Для композиций, представленных в примерах 1-15 и 17, желатиновые капсулы наполняли приблизительно 225 мг активных гранул. Четыре наполненные капсулы помещали в пластиковые бутылки. Бутылки содержали 1-2 г десиканта и были индукционно герметизированы. Бутылки хранили при 40°C/75% ОБ в течение шести месяцев.

Содержание и чистоту линаклотида, а также количество родственных линаклотиду веществ измеряли, в общем, как описано в примере 21 или при помощи эквивалентного способа. Результаты представлены в табл. 7.

Таблица 7

Пример	Анализ [масс./ масс.] % первоначального	Площадь % при помощи ВЭЖХ			
		Линакло- тид (% первоначального)	Окисле- ние	Гидролиз	Формальде- гид-имин
1	107,56	96,88 (99,13)	0,11	0,24	0,19
3	98,87	97,36 (99,42)	0,07	0,52	0,15
4	95,67	95,61 (97,83)	0,10	0,16	0,24
5	103,41	95,87 (98,68)	0,07	0,25	0,24
6	99,46	93,64 (95,51)	0,14	0,70	0,55
7	98,64	93,44 (95,36)	0,45	1,45	0,63
8	92,81	88,20 (94,90)	0,37	1,85	0,49
9	93,53	93,81 (96,55)	0,2	0,41	1,06
10	77,12	84,85 (87,77)	0,37	0,29	4,45
11	85,73	89,09 (91,63)	1,18	0,49	1,38
12	33,60	41,98 (43,15)	Нет данных	Нет данных	Нет данных
13	87,69	91,91 (94,01)	1,98	0,74	0,86
14	86,94	90,59 (92,70)	0,25	0,54	1,23
15	87,71	87,54 (93,24)	0,24	0,66	1,67
17	98,94	93,65 (95,16)	ND	0,32	0,73

Для композиции, представленной в примере 16, желатиновые капсулы наполняли приблизительно 113 мг общего количества гранул. 35 наполненных гранул помещали в пластиковые бутылки. Бутылки содержали 2 г десиканта и были индукционно герметизированы. Бутылки хранили при 40°C/75% ОБ в течение одного месяца.

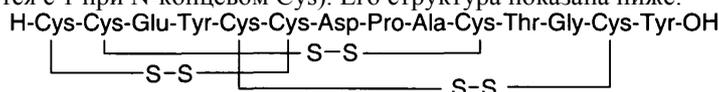
Содержание и чистоту линаклотида, а также количество родственных линаклотиду веществ измеряли, в основном, как описано в примере 21 или при помощи эквивалентного способа. Результаты представлены в табл. 8.

Таблица 8

Пример	Анализ [масс./ масс.] % первоначального	Площадь % при помощи ВЭЖХ			
		Линаклотид (% первоначального)	Окисление	Гидролиз	Формальдегид-имин
16	97,01	97,12 (99,79)	<0,1	<0,1	0,34

Пример 23. Выделение и получение продукта гидролиза линаклотид.

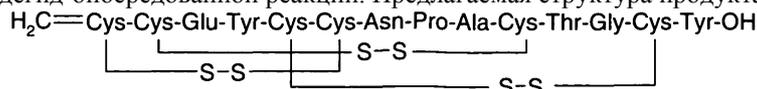
Продукт гидролиза линаклотид получается при превращении Asn в 7 положении в Asp (нумерация линаклотид начинается с 1 при N-концевом Cys). Его структура показана ниже:



Продукт гидролиза линаклотид был независимо синтезирован для подтверждения идентичности с использованием стандартных твердофазных методов синтеза пептидов. Продукт гидролиза линаклотид может быть также получен другими способами, известными из уровня техники, например, путем выделения из препаратов линаклотид при помощи хроматографических способов или рекомбинантной экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей продукт гидролиза линаклотид (Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asp Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr), необязательно с последующим окислением цистеиновых остатков с образованием дисульфидных связей.

Пример 24. Выделение и получение формальдегидиминного продукта линаклотид.

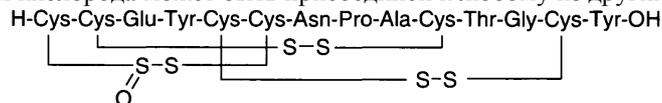
Формальдегидиминный продукт получается при добавлении имина к N-концевому Cys (Cys1) посредством формальдегид-опосредованной реакции. Предлагаемая структура продукта приведена ниже:



Формальдегидиминный продукт линаклотид был независимо синтезирован для подтверждения идентичности путем реакции линаклотид с формальдегидом (1:5 молярное соотношение) в абсолютном этаноле при комнатной температуре в течение 4 дней. Формальдегидиминный продукт может быть также получен другими способами, известными из уровня техники, например, путем выделения из препаратов линаклотид с использованием хроматографических методов или химическим пептидным синтезом или рекомбинантной экспрессией нуклеиновой кислоты, кодирующей линаклотид, с последующим формилированием, как описано в данной заявке, или другими способами, известными из уровня техники, необязательно с последующим окислением цистеиновых остатков с образованием дисульфидных мостиков.

Пример 25. Выделение и получение продукта окисления линаклотид.

Продукт окисления линаклотид имеет молекулярную массу 1542,8. Продукт окисления, наиболее вероятно, образуется при добавлении одного атома кислорода к одному из шести атомов серы цистеинила в линаклотиде. Одна из возможных структур продукта показана ниже, хотя специалист в данной области осознает, что атом кислорода может быть присоединен к любому из других пяти атомов серы:



Для поддержки такой идентификации, продукт окисления линаклотид был получен путем реакции линаклотид с пероксидом водорода (3% водным) при комнатной температуре или при 40°C в течение до 24 ч. Полученный в результате продукт обогащали в продукт окисления на 1-10%. Продукт окисления линаклотид может быть также получен другими способами, известными из уровня техники, например, путем выделения из препаратов линаклотид с использованием хроматографических методов или химическим пептидным синтезом или рекомбинантной экспрессией нуклеиновой кислоты, кодирующей линаклотид, с последующим окислением цистеиновых остатков с образованием дисульфидных мостиков с последующей реакцией линаклотид с пероксидом водорода или аналогичным агентом окисления с образованием продукта окисления линаклотид.

Пример 26. Формирование таблетки линаклотид.

Грануляция в псевдооживленном слое.

Линаклотид, CaCl₂, лейцин и поливинилпирролидон (ПВП) K30 растворяли в 0,0001N HCl с образованием покровного раствора (см. табл. 9). Изомальт загружали в сосуд псевдооживленного слоя. При псевдооживлении порошка изомальта, раствор лекарственного вещества распыляли сверху при скорости, составляющей ~10г/мин, при температуре продукта, составляющей ~40°C для покрытия порошкообразным покровным раствором. После окончания распыления, гранулы линаклотид высушивали в течение 30 мин и продукт выгружали.

Таблица 9

Пример	Количество катиона []	Количество амина []	Количество связующего вещества	Количество линаклотида	Количество наполнителя
26А	CaCl ₂ ·2H ₂ O 15,4 г [60]	Лейцин 6,9 г [30]	PVP K30 40 г	3,08 г	Изомальт 935 г

Дифосфат кальция или Avicel также использовали в качестве наполнителя для грануляции в псевдооживленном слое.

Влажная грануляция.

Линаклогид взвешивали и растворяли при перемешивании в 250 г 0,1 N HCl (pH 1,7) с образованием раствора 1 (см. табл. 10). CaCl₂ и лейцин взвешивали и растворяли при перемешивании в 100 г 0,1 N HCl образованием раствора 2. Раствор 1 и раствор 2 смешивали вместе и при перемешивании с образовывали покровной раствор. Avicel добавляли в сосуд гранулятора с большим усилением сдвига. При высушивании при 500 об./мин, покровный раствор добавляли в Avicel. После окончания добавления раствора, гранулы смешивали и дробили в течение 1 мин. Полученные влажные гранулы загружали в сосуд псевдооживленного слоя и высушивали в течение 15 мин, а затем гранулы линаклотида выгружали.

Таблица 10

Пример	Количество катиона []	Количество амина []	Количество связующего вещества	Количество линаклотида	Количество наполнителя
26В	CaCl ₂ ·2H ₂ O 7,68 г [60]	Лейцин 3,42 г [30]	Нет данных	1,54 г	Изомальт 488 г

В формуле влажной грануляции, молярное соотношение CaCl₂ и лейцин и линаклотида устанавливали в диапазоне 60-100 и 30-50, соответственно. Также, в одном из примеров добавляли сахарозу (см. табл. 11).

Таблица 11

Пример	Стабильность (Линаклотида/ Наполнителя)	Наполнитель	CaCl ₂ :Leu: Линаклотид	Сахароза	HCl
26С	600 мкг/225 мг	Avicel	60:30:1	Отсутствует	0,1 N
26D	600 мкг/225 мг	Avicel	80:40:1	Отсутствует	0,1 N
26E	600 мкг/225 мг	Avicel	100:50:1	Отсутствует	0,1 N
26F	600 мкг/225 мг	Avicel	60:30:1	5%	0,1 N

Составление таблеток.

Гранулы линаклотида смешивали со следующими наполнителями (см. табл. 12) и спрессовывали в таблетки твердостью ~4 кп.

Таблица 12

Функция ингредиента	Масса в 200 мг таблетке со 150 мкг линаклотида	Масса в 400 мг таблетке со 300 мкг линаклотида	Масса в 800 мг таблетке со 600 мкг линаклотида	Масса в 1600 мг таблетке со 1200 мкг линаклотида
Гранулы линаклотида АФИ	53,4 мг	106,8 мг	213,6 мг	427,2 мг
Изомальт	134,1 мг	268,2 мг	536,4 мг	1072,8 мг
Наполнитель таблеток				
Кросповидон	10 мг	20 мг	40 мг	80 мг
Агент распада				
Стеарат магния Смазывающее вещество	1,5 мг	3 мг	6 мг	12 мг
Тальк	1 мг	2 мг	4 мг	8 мг
Глидант				
Всего сухого вещества	200 мг	400 мг	800 мг	1600 мг

Изомальт, крахмал 1500 или дифосфат кальция также использовали в качестве наполнителя таблеток, исходя из приведенной выше формулы (см. табл. 13).

Таблица 13

Грануляция	Наполнитель	CaCl ₂ : лейцин: Линаклотид	Наполнитель таблеток
Псевдооживленный слой	изомальт	60:30:1	изомальт
			крахмал 1500
			дифосфат кальция
Псевдооживленный слой	Avicel	60:30:1	крахмал 1500
Влажное гранулирование	Avicel	100:50:1	крахмал 1500
Влажное гранулирование	Avicel	60:30:1 +5% сукрозы	крахмал 1500

Через две недели хранения при 40°C и 75% относительной влажности, все таблетки, описанные в табл. 13, проявляли аналитические значения линаклотида, превышающие 90%.

Примеры 27-53. Получение композиций линаклотида.

Композиции линаклотида, приведенные в примерах 27-53, были получены, в основном, как описано в схеме составления композиции А и примерах 1-15. Покровный раствор линаклотида содержал 0,7% связующего веществ (масс./об.), и покровный раствор распыляли на гранулы Celphere CP-305, как описано в примерах 1-15. В табл. 14 представлены тип катиона, амина или наполнителя наряду с их молярными соотношениями относительно линаклотида, а также тип используемого связующего вещества, в то время как в табл. 15 представлены условия, при которых гранулы были покрыты:

Таблица 14

При- мер	Катион	Амин	Молярное соотноше- ние	Связующее вещество	Добав- ка
27	CaCl ₂ •2H ₂ O	--	20:0:1	Гипромел- лоза	--
28	MnCl ₂ •4H ₂ O	--	20:0:1	Гипромел- лоза	--
29	KCl	--	20:0:1	Гипромел- лоза	--
30	AlCl ₃ •6H ₂ O	--	20:0:1	Гипромел- лоза	--
31	CaCl ₂ •2H ₂ O	Лейцин	60:30:1	Гипромел- лоза	--
32	Ca альгинат	Лейцин	60:30:1	Гипромел- лоза	--
33	CaHPO ₄	Лейцин	60:30:1	Гипромел- лоза	--
34	Ca стеарат	Лейцин	60:30:1	Гипромел- лоза	--
35	CaSO ₄ •2H ₂ O	Лейцин	60:30:1	Гипромел- лоза	--
36	Zn (OAc) ₂	Лейцин	60:30:1	Гипромел- лоза	--
37	CaCl ₂ •2H ₂ O	Изолейцин	60:30:1	Гипромел- лоза	--
38	CaCl ₂ •2H ₂ O	Валин	60:30:1	Гипромел- лоза	--
39	CaCl ₂ •2H ₂ O	Метионин	60:30:1	Гипромел- лоза	--
40	CaCl ₂ •2H ₂ O	Фенилала- нин	60:30:1	Гипромел- лоза	--
41	--	Гистидин	0:20:1	Гипромел- лоза	--
42	--	Триптофан	0:20:1	Гипромел- лоза	--
43	CaCl ₂ •2H ₂ O	--	0:20:1:20 (вит. E)	Гипромел- лоза	Витами н E
44	--	1- Аминоцик- логексан карбоновая кислота	0:20:1	Гипромел- лоза	--
45	--	Циклогек- силамин	0:20:1	Гипромел- лоза	--
46	--	2-Метилбу- тиламин	0:20:1	Гипромел- лоза	--
47	--	хитозан	0:20:1	Гипромел- лоза	--
48	CaCl ₂ •2H ₂ O	Лейцин	60:30:1	Поливинил- пирролидон	--
49	CaCl ₂ •2H ₂ O	Лейцин	60:30:1	Метил целлюлоза (Methocel A15)	--
50	CaCl ₂ •2H ₂ O	Лейцин	60:30:1	Гидрокси- пропил целлюлозы	--
51	NaCl	--	20:0:1	Гипромел- лоза	--
52	CaCl ₂ •2H ₂ O	Лейцин	60:30:1	Желатин	--
53	CaCl ₂ •2H ₂ O	Глицин	60:30:1	Гипромел- лоза	--

* "Катион" относится к катиону, который содержится в соли, которую применяли в примере, "Амин" относится к стерически затрудненному первичному амину, "Молярное соотношение" относится к молярному соотношению катион:амин:линаклотид:добавка (если применимо).

Таблица 15

Пример	Температура распыления продукта (°C)	Входная температура (°C)	Скорость распыления (г/мин)	Давление распыления (psig)	Воздушный поток
27	25,1-35,1	37,0-50,1	0,44-0,62	20	Низкий
28	24,1-35,8	37,3-50,9	0,30-0,61	18-20	Низкий
29	28,1-34,7	37,6-47,8	0,50-0,63	18	Низкий
30	29,8-35,0	33,9-50,2	0,32-0,47	20	Низкий
31	25,5-35,1	34,6-50,4	0,40-0,61	20	Низкий
33	30,4-35,2	38,7-51,0	0,48-0,52	20	Низкий
35	29,9-34,9	37,8-50,4	0,37-0,76	20	Низкий
36	29,9-35,4	38,0-50,1	0,38-0,50	21	Низкий
37	27,3-34,9	36,2-50,1	0,45-0,54	20	Низкий
38	27,6-36,2	36,9-47,3	0,43-0,66	20	Низкий
39	30,1-35,8	40,6-47,1	0,30-0,48	20	Низкий
40	31,7-37,5	41,3-51,0	0,40-0,67	18	Низкий
41	29,4-36,2	41,7-49,5	0,48-0,53	20	Низкий
42	31,0-38,6	42,4-51,2	0,52-0,64	20	Низкий
44	31,0-37,6	39,5-48,8	0,40-0,46	18	Низкий
45	28,7-36,5	37,1-49,2	0,49-0,61	18	Низкий
46	28,6-35,2	37,1-47,2	0,39-0,53	18	Низкий
47	33,4-38,7	40,6-48,5	0,48-0,47	18-26	Низкий
48	31,6-36,1	41,6-46,7	0,36-0,72	18	Низкий
49	28,5-36,5	36,8-48,1	0,45-0,51	18	Низкий
50	27,9-36,4	37,1-48,6	0,35-0,60	18	Низкий
51	29,3-37,9	36,7-49,2	0,42-0,55	18	Низкий
52	29,8-36,3	36,1-49,1	0,44-0,54	18	Низкий
53	28,9-35,8	36,5-47,7	0,45-0,52	18	Низкий

Обрабатываемые элементы испытывали во время распыления на гранулы, например, 32 (альгинат кальция), 34 (стеарат кальция) и 43 (CaCl₂ витамин E). Таким образом, покровный раствор смешивали с гранулами Celphere и высушивали гранулы на лотке.

Пример 54. Анализ стабильности композиций линаклотида.

Для композиций, представленных в примерах 27-53, желатиновые капсулы наполняли приблизительно 225 мг общего количества гранул (600 мкг линаклотида/капсула). Пять наполненных гранул помещали в пластиковые бутылки. Бутылки содержали 1 г десиканта и были индукционно герметизированы. Бутылки хранили при 40°C/75% ОВ в течение трех месяцев или шести месяцев.

Содержимое линаклотида (мкг/мг) и процент хроматографической чистоты (% СР) измеряли, в основном, как описано в примере 21 или при помощи эквивалентного способа. Результаты представлены в табл. 16А (три месяца стабильности) или табл. 16В (шесть месяцев стабильности).

Таблица 16А

Пример	Анализ [масс./масс.] % первоначаль- ного *	% СР	% СР [% первоначального]
27	96,30	93,98%	98,07
28	96,82	93,59%	96,07
29	101,56	92,71%	95,40
30	109,06	93,07%	95,76
31	103,59	95,98%	99,12
32	66,53	82,66%	85,27
33	96,81	91,94%	93,55
34	30,75	55,47%	56,88
35	101,37	93,07%	95,02
36	105,27	91,49%	93,45
37	109,22	95,73%	97,99
38	99,24	95,79%	97,59
39	95,22	95,76%	97,82
40	102,98	95,68%	97,60
41	110,92	94,03%	96,30
42	120,05	88,57%	91,65
43	58,51	70,99%	74,06
44	98,83	93,84%	96,88
45	91,72	90,07%	93,71
46	90,17	89,45%	91,67
47	105,70	88,59%	91,31
48	106,92	95,11%	97,62
49	96,48	94,62%	96,60
50	112,30	95,86%	98,98
51	102,92	91,80%	99,79
52	108,12	83,10%	86,80
53	104,22	95,25%	97,95

* Вариабельность значений для анализа [мас./мас.% первоначального] отражает неполный контроль однозначности содержимого таких партий капсул, которые производят в малых масштабах.

Предполагается, что более низкую стабильность, которую наблюдали для таких проб, можно объяснить сложностями, с которыми встречались во время обработки и при процедуре результирующей модифицирующей обработки, например, 32, 34 и 43 (см. выше).

Таблица 16В

Пример	Анализ [масс. / масс.] % первоначального	Площадь % при помощи ВЭЖХ			
		Линакло- тид (% первоначального)	Окисле- ние	Гидролиз	Формальде- гид-имин
27	91,58	89,68 (93,58)	0,09	0,60	1,59
28	93,36	88,44 (90,78)	0,24	0,41	1,55
29	93,73	87,79 (90,34)	0,18	0,53	1,82
30	108,63	93,93 (96,65)	0,39	1,11	0,44
31	94,53	86,83 (89,67)	-	0,41	0,98
32	69,28	73,15 (75,46)	0,97	1,93	1,69
33	88,91	85,96 (87,46)	0,97	3,86	0,17
34	77,37	70,42 (72,21)	0,67	0,99	1,78
35	95,34	88,85 (90,71)	0,39	1,80	0,33
36	102,83	87,27 (89,14)	3,31	1,86	0,21
37	99,33	87,23 (89,29)	-	0,59	0,25
38	93,97	86,27 (87,89)	-	0,42	0,45
39	87,78	85,23 (87,07)	-	0,40	0,31
40	94,36	86,28 (88,01)	-	0,46	0,41
41	104,28	90,04 (92,22)	0,33	1,61	0,52
42	117,92	76,85 (79,52)	0,14	1,21	0,10
43	54,21	59,54 (62,12)	5,92	4,44	1,83
44	92,56	90,24 (93,17)	0,16	1,47	0,54
45	76,23	79,57 (82,78)	0,17	0,87	1,22
46	73,07	78,92 (80,88)	0,51	0,66	0,65
47	97,65	82,73 (85,27)	0,92	0,60	2,68
48	93,94	85,24 (87,49)	0,05	0,69	0,20
49	51,65	63,46 (64,79)	0,96	0,58	2,24
50	104,75	92,61 (95,62)	-	0,38	0,48
51	94,15	88,19 (92,01)	-	0,58	1,35
52	100,06	72,81 (75,62)	0,06	0,49	0,41
53	95,74	89,80 (92,35)	0,06	0,36	1,40

Значения хроматографической чистоты, например, 27-53 через шесть месяцев казались нетипично низкими, в особенности в том, что касалось трехмесячного периода времени для таких проб. Относительные тенденции эффектов стабилизации или дестабилизации могут быть установлены путем сравнения с примером 27 и примером 31 как экспериментами внутренних стандартов, для которых значения хроматографической чистоты приблизительно на 6-8% ниже тех, которые последовательно наблюдали в других исследованиях, которые проводились (см., например, примеры 2 и 9). Данные за три месяца представлены в табл. 16А, где те же самые композиции проявляют более типичные значения хроматографической чистоты. Таким образом, низкие значения хроматографической чистоты через шесть месяцев, вероятно, вызваны недостаточной емкостью десиканта через шесть месяцев для данных конкретных условий хранения. Данную гипотезу поддерживают пики примесей, которые наблюдали и которые являются показателями воздействия влаги.

Пример 55. Анализ стабильности композиций линаклотида при 25°C/60% ОВ в течение 24 месяцев.

Для композиций, представленных в примерах 8-15 и 17, желатиновые капсулы наполняли приблизительно 225 мг активных гранул. Пять наполненных гранул помещали в пластиковые бутылки. Бутылки содержали 1 г десиканта и были индукционно герметизированы. Бутылки хранили при 25°C/60% ОВ в течение 24 месяцев.

Содержание и чистоту линаклотида, а также количество родственных линаклотиду веществ измеряли, в основном, как описано в примере 21 или при помощи эквивалентного способа. Результаты представлены в табл. 17.

Таблица 17

Пример	Анализ (масс. / масс.) % первоначального	Площадь % при помощи ВЭЖХ			
		Линаклотид (% первоначального)	Окисление	Гидролиз	Формальдегид-имин
8	94,36	94,58 (101,7)	0,21	1,26	0,53
9	94,08	95,09 (97,86)	0,14	0,36	0,93
10	80,80	87,82 (90,84)	0,38	0,26	3,77
10a ¹⁾	89,29	91,55 (94,95)	0,50	0,39	1,60
10b ²⁾	88,41	91,19 (95,02)	0,44	0,34	1,61
10c ³⁾	72,35	72,36 (75,76)	0,30	0,26	19,13
11	87,50	90,25 (92,82)	1,03	0,42	1,94
12	62,82	66,77 (68,62)	2,20	1,24	2,11
13	90,59	93,79 (95,93)	1,21	0,65	0,77
14	91,41	94,88 (97,09)	0,18	0,47	0,65
15	90,91	90,31 (96,18)	0,17	0,56	1,64
17	91,45	92,92 (96,81)	0,71	0,56	0,73

¹⁾ Как в примере 10 с дополнительным защитным покрытием Aquacoat (водная дисперсия этилцеллюлозы Aquacoat, 15% мас./мас. FMC Biopolymer, ECD-30).

²⁾ Как в примере 10 с дополнительным защитным покрытием Opadry (дисперсия Opadry AMB, 20% мас./мас., Cologon). ³⁾ Как в примере 10 с дополнительным защитным покрытием Eudragit (Eudragit E PO, Degussa, Roehm Pharma Polymers; SLS, стеариновая кислота).

Пример 56. Составление таблеток линаклотида и анализ стабильности.

Активные гранулы линаклотида были получены при помощи грануляции в псевдооживленном слое, в существенной степени так, как описано в примере 26 с использованием реактивов, описанных в табл. 18. Гранулы линаклотида смешивали с наполнителями, описанными в табл. 19, и прессовали в таблетки с твердостью ~4 кп.

35 таблеток упаковывали в бутылку на 60 куб.см с 5 г десиканта и хранили при 40°C/75% ОВ в течение до 3 месяцев или при 30°C/65% ОВ в течение до 3 месяцев.

Содержание и чистоту линаклотида, а также количество родственных линаклотиду веществ измеря-

ли, в основном, как описано в примере 21 или при помощи эквивалентного способа. Результаты представлены в табл. 20.

Таблица 18

Ингредиенты	Функция	Гранула, 150 мкг линаклотида/53,7 мг гранул
Линаклотид	АФИ	0,15 мг
Маннитол, Фармакопея США (USP)	Наполнитель гранул	50 мг
Лейцин, Фармакопея США (USP)	Стабилизатор	0,64 мг
CaCl ₂ •2H ₂ O, Фармакопея США (USP)	Стабилизатор	0,72 мг
ПВП К30, Фармакопея США (USP)	Связующее вещество	2,2 мг
HCl раствор (рН 2,5)	--	--

Таблица 19

Ингредиенты	Функция	Таблетка (200 мг общей массы)
Гранулы линаклотида	Действующее вещество	53,4
Изомальт, Фармакопея США (USP)	Наполнитель таблеток	134,1
Натрий кроскармеллоза, Фармакопея США (USP)	Агент распада	10
Стеарат магния, Фармакопея США (USP)	Смазывающее вещество	1,5
Тальк, Фармакопея США (USP)	Глидant	1,0

Таблица 20

Условие	Время	Изменения в анализе %	Общий распад
40°C/75% ОВ	Первоначальное	100	2,27
40°C/75% ОВ	1 месяц	96,2	2,09
40°C/75% ОВ	2 месяцев	102	2,15
40°C/75% ОВ	3 месяца	99,5	1,52
30°C/65% ОВ	3 месяца	100,1	1,19

Пример 57. Формирование капсулы линаклотида.

Композиция линаклотида, представленная в примере 57, была получена, в основном, как описано в примере 16. В табл. 21 представлены ингредиенты покровного раствора и их теоретические массы (мг/г) и (кг/партия) для полного раствора гранул линаклотида покрытых слоем лекарственных средств. В табл. 22 представлены ингредиенты и теоретические массы (мг/г) и (кг/партия) для получения активных гранул линаклотида. Композицию линаклотида инкапсулировали в твердые желатиновые капсулы, размер 2 (масса 61 мг), в основном, как описано в примере 20. 150 мкг капсул линаклотида содержали 56 мг гранул линаклотида (600 мкг линаклотида /225 мг гранул), в то время как 300 мкг капсул линаклотида содержали 113 мг гранул линаклотида (600 мкг линаклотида /225 мг гранул).

Таблица 21

Ингредиенты	Функция	Теоретическая масса (мг/г)	Теоретическая масса (кг/партия)
Линаклотид	АФИ	2,67	0,067
CaCl ₂ •2H ₂ O, Фармакопея США (USP), EP, BP, JP	Стабилизатор	15,41	0,385
L-Лейцин, Фармакопея США (USP)	Стабилизатор	6,87	0,172
Гидроксипропил Метилцеллюлоза, Фармакопея США (USP) (Methocel E5 Premium LV)	Связующее вещество	7,00	0,175
Очищенная вода, Фармакопея США (USP)	--	--	16,666
HCl (36,5-38,0), без жидкости	--	--	0,114

Таблица 22

Ингредиенты	Функция	Теоретическая масса (мг/г)	Теоретическая масса (кг/партия)
Раствор гранул линаклотида, покрытых слоем лекарственных средств	Покровной раствор	31,95	0,799
Сферы микрористаллической целлюлозы без жидкости (Celphere CP-305)	Гранулы	968,05	24,201
Общее количество, полученное в результате: Гранулы линаклотида, 600 мкг/225 мг)	Активные гранулы	1000	25,000

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая твердая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый наполнитель, линаклотид, соль, содержащую катион выбранный из Mg²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, K⁺, Na⁺ или Al³⁺ и аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из гистидина, фенилаланина, аланина, глутамовой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутамина, лейцина, метионина, аспарагина, тирозина, треонина, изолейцина, триптофана или валина.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, где указанный Mg²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, K⁺, Na⁺ или Al³⁺ представлен в составе соли хлорида магния, хлорида кальция, фосфата кальция, сульфата кальция, ацетата цинка, хлорида марганца, хлорида калия, хлорида натрия или хлорида алюминия.

3. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, где указанный катион является Ca²⁺ и в составе соли хлорида кальция.

4. Фармацевтическая композиция по п.1, где аминокислота представляет собой лейцин.

5. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-4, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый глидант, смазывающее вещество или добавку, которая действует и как глидант, и как смазывающее вещество.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-5, дополнительно содержащая антиоксидант, фармацевтически приемлемое связующее вещество или фармацевтически приемлемый наполнитель.

7. Фармацевтическая композиция по п.6, где фармацевтически приемлемое связующее вещество выбирают из поливинилового спирта, поливинилпирролидона (повидона), крахмала, мальтодекстрина или простого эфира целлюлозы.

8. Фармацевтическая композиция по п.7, где фармацевтически приемлемое связующее вещество представляет собой простой эфир целлюлозы, выбранный из метилцеллюлозы, этилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозы и гидроксипропилметилцеллюлозы.

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп.6-8, где фармацевтически приемлемый наполнитель представляет собой целлюлозу, изомальт, маннитол или двухосновной фосфат кальция.

10. Фармацевтическая композиция по п.9, где целлюлоза выбрана из сверхчистой целлюлозы и микрокристаллической целлюлозы.

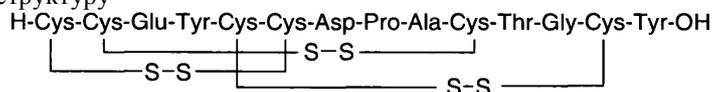
11. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-10, где аминокислота представляет собой лейцин и молярное соотношение лейцина и линаклотида составляет как минимум 10:1.

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-11, где катион представляет собой Ca^{2+} , аминокислота представляет собой лейцин и молярное соотношение Ca^{2+} и лейцина составляет как минимум 1:1.

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-12, где молярное соотношение катион:аминокислота:линаклотид составляет 40-100:20-50:1.

14. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-13, где катион представляет собой Ca^{2+} , аминокислота представляет собой лейцин и молярное соотношение Ca^{2+} :лейцин:линаклотид составляет 60:30:1.

15. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-14, дополнительно включающая i) продукт гидролиза имеющий структуру



составляющую менее 2% по массе по сравнению с массой линаклотида.

16. Способ получения фармацевтической композиции по п.1, где способ включает:

(a) изготовление водного раствора, содержащего:

(i) линаклотид;

(ii) одну или более солей, содержащих катион, выбранный из Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ или Al^{3+} и встречающуюся в природе аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из гистидина, фенилаланина, аланина, глутамовой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутамина, лейцина, метионина, аспарагина, тирозина, треонина, изолейцина, триптофана или валина; и

(iii) по необходимости, фармацевтически приемлемое связующее вещество; и

(б) нанесение водного раствора на фармацевтически приемлемый наполнитель с получением открытого линаклотида.

17. Способ по п.16, где водный раствор дополнительно содержит фармацевтически приемлемое связующее вещество.

18. Способ по п.17, где водный раствор наносят на наполнитель путем распыления.

19. Фармацевтическая твердая композиция по любому из пп.1-15 для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, выбранных из ухудшенной моторики пищеварительного тракта, синдрома раздраженного кишечника, констипации, боли, связанной с констипацией, диспепсии, гастропареза, хронической кишечной псевдообструкции, болезни Крона, язвенного колита или воспалительного заболевания кишечника.

20. Фармацевтическая композиция по п.19, где указанный синдром раздраженного кишечника представляет собой синдром раздраженного кишечника с преобладанием констипации или перемежающийся синдром раздраженного кишечника.

21. Фармацевтическая композиция по п.19, где указанный синдром раздраженного кишечника представляет собой синдром раздраженного кишечника с преобладанием констипации.

22. Фармацевтическая композиция по п.19, где указанная констипация представляет собой хроническую констипацию, идиопатическую констипацию, постоперационную кишечную непроходимость или констипацию, вызванную употреблением опиатов.

23. Фармацевтическая композиция по п.22, где указанная констипация представляет собой хроническую констипацию.

24. Фармацевтическая композиция по любому из пп.19-23, где фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 50 мкг до приблизительно 1 мг линаклотида.

25. Фармацевтическая композиция по п.24, где фармацевтическая композиция содержит приблизительно 67,5 мкг, приблизительно 145 мкг, приблизительно 150 мкг, приблизительно 290 мкг или приблизительно 300 мкг линаклотида.

26. Фармацевтическая композиция по любому из пп.19-25, где фармацевтическая композиция содержит приблизительно 290 мкг линаклотида.

27. Фармацевтическая композиция по любому из пп.19-26, где фармацевтическая композиция содержит приблизительно 145 мкг линаклотида.

28. Фармацевтическая композиция по любому из пп.19-27 для уменьшения абдоминальной боли,

увеличения количества полных самопроизвольных опорожнений кишечника (СПОК) в неделю, увеличения количества самопроизвольных опорожнений кишечника (СПОК) в неделю, улучшения консистенции стула, уменьшения натуживаний, уменьшения абдоминального дискомфорта, уменьшения метеоризма или уменьшения тяжести симптома СРК-к.

29. Фармацевтическая твердая композиция, содержащая линаклотид; соль, содержащую Ca^{2+} ; лейцин; и гидроксипропилметилцеллюлозу, где молярное соотношение Ca^{2+} :лейцин:линаклотид составляет от 5-100:5-50:1.

30. Фармацевтическая композиция по п.29, где Ca^{2+} представлен в составе соли CaCl_2 .

31. Фармацевтическая твердая композиция по любому из пп.1-15, 29 или 30, содержащая покрытые гранулы, где гранулы покрыты покровным раствором, содержащим линаклотид.

32. Фармацевтическая твердая композиция по п.31, где покровный раствор содержит линаклотид; соль, содержащую Ca^{2+} ; лейцин; и гидроксипропилметилцеллюлозу, где молярное соотношение Ca^{2+} :лейцин:линаклотид составляет от 5-100:5-50:1.

33. Фармацевтическая твердая композиция по п.32, где гранулы содержат микрокристаллическую целлюлозу.

34. Стандартная лекарственная форма содержащая фармацевтическую композицию по любому из пп.1-15 или 29-30.

35. Герметичный контейнер, содержащий множество стандартных лекарственных форм по п.34.

