

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **041894**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2022.12.13**

(21) Номер заявки  
**201991025**

(22) Дата подачи заявки  
**2017.10.27**

(51) Int. Cl. *A61K 31/519* (2006.01)  
*A61K 9/127* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

---

(54) **ЛИПОСОМАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ  
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО НОВООБРАЗОВАНИЯ**

---

(31) **16306415.7**

(32) **2016.10.28**

(33) **EP**

(43) **2019.11.29**

(86) **PCT/EP2017/077538**

(87) **WO 2018/078064 2018.05.03**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ЛЕ ЛАБОРАТУАР СЕРВЬЕ (FR);  
НОВАРТИС АГ (CH)**

(72) Изобретатель:  
**Вессельс Петер, Тимессен Хенрикус,  
Де Марко Паоло, Лараби Малика,  
Шидель Кристиана, Гурина Марина  
(CH)**

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

(56) **WO-A1-2015097123**

SHABBITS J A ET AL.: "Development of an in vitro drug release assay that accurately predicts in vivo drug retention for liposome-based delivery systems", JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 84, no. 3, 5 December 2002 (2002-12-05), pages 161-170, XP004395987, ISSN: 0168-3659, DOI: 10.1016/S0168-3659(02)00294-8, cited in the application, the whole document

JING LI ET AL.: "A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems", ASIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, vol. 10, no. 2, 28 September 2014 (2014-09-28), pages 81-98, XP055329343, ISSN: 1818-0876, DOI: 10.1016/j.ajps.2014.09.004, the whole document

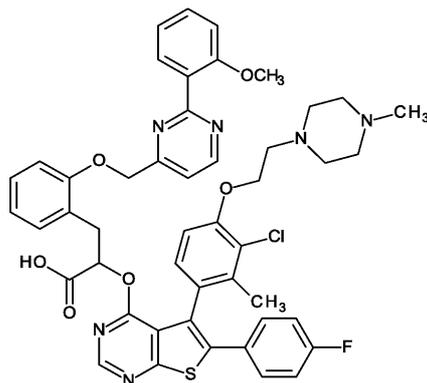
(57) Настоящее изобретение относится к липосомальной фармацевтической композиции, содержащей соединение А, которое представляет собой 2-{{5-{{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил}окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил}метокси}фенил)пропановую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль, и к применению такой композиции для лечения злокачественного новообразования. Более конкретно настоящее изобретение относится к композиции органического концентрата, предназначенной для изготовления фармацевтической композиции, содержащей соединение А, отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор и стабилизатор от гелеобразования, а также к фармацевтической композиции, полученной в результате смешивания этой композиции органического концентрата и липосомального носителя, или фармацевтической композиции, содержащей липосому и дополнительно соединение А вместе со стабилизатором от гелеобразования, которые успешно могут использоваться для солюбилизации и парентеральной доставки соединения А.

**B1****041894****041894 B1**

### Предпосылки создания изобретения

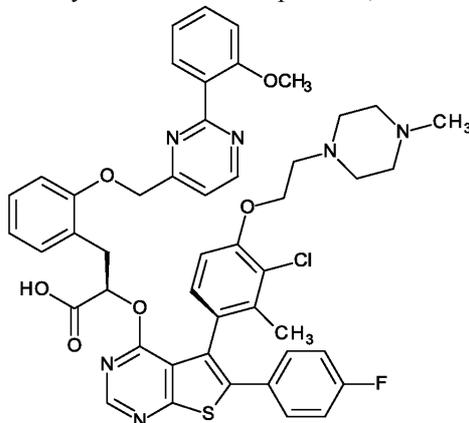
Изобретение относится к фармацевтической липосомальной композиции, содержащей 2-{{5-{{3-хлор-2-метил-4-[[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту, обозначаемую в настоящем изобретении как "соединение А", или ее фармацевтически приемлемую соль. Более конкретно, изобретение относится к липосомальному носителю, композиции органического концентрата, предназначенной для изготовления фармацевтической композиции, содержащей соединение А, и фармацевтической композиции для парентерального введения, содержащей липосому и соединение А. Кроме того, изобретение относится к применению таких композиций для лечения злокачественного новообразования. "соединение А" в контексте настоящего изобретения включает все его энантиомеры, диастереоизомеры и атропизомеры, или их смеси, а также необязательно включает его фармацевтически приемлемые соли.

Структура соединения А представляет собой



2-{{5-{{3-хлор-2-метил-4-[[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, соединение А представляет собой



(2R)-2-{{(5S<sub>a</sub>)-5-{{3-хлор-2-метил-4-[[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)-пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту. В другом варианте осуществления изобретения, соединение А, используемое в композиции, описанной в настоящем изобретении, представляет собой свободную молекулу (не его соль).

Приготовление соединения А, его применение в качестве ингибитора Mcl-1 для лечения злокачественного новообразования и его фармацевтические препараты описаны в WO 2015/097123, содержание которого включено в качестве ссылки. Приготовление, в частности, описано в примере 30 в WO 2015/097123.

Соединение А является оптически активным, имеет один хиральный центр и хиральную ось. Оно имеет ограниченную водную растворимость для всех значений pH, включая физиологически релевантные значения pH. Для обеспечения безопасного и эффективного введения соединения А, и для получения необходимых терапевтических эффектов, соединение А необходимо солиubilизировать.

Существуют различные пути солиubilизации плохо растворимых соединений для парентерального введения. Типичными подходами являются оптимизация pH или применение со-растворителя (например, PEG300, PEG400, пропиленгликоля или этанола). Если эти подходы, по какой-либо причине, не осуществимы, то можно рассматривать применение поверхностно-активных веществ (например, Tween® 80 или Cremophor EL®). Тем не менее, эти виды поверхностно-активных веществ часто связаны с побочными эффектами. Циклодекстрины проявили себя в качестве безопасных солиubilизирующих агентов, но с

ограничениями, что они не являются эффективными солюбилизаторами для всех соединений. Кроме того, соединения с высокой растворимостью в природных маслах (например, Propofol), могут солюбилизоваться в парентеральных жировых эмульсиях.

Другой возможностью солюбилизации плохо растворимых соединений является применение фосфолипидов (van Hoogevest P., Xiangli L., и Alfred F. "Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs: the industrial perspective" Expert Opinion on Drug Delivery 2011, 8(11), 1481-1500). Таким образом, фосфолипиды сами представляют собой одно из дополнительных средств для солюбилизации плохо растворимых соединений, вдобавок к обычным подходам. Тем не менее, солюбилизация определенного плохо растворимого соединения с помощью фосфолипидов не может быть предсказана.

Задачей настоящего изобретения является обеспечение композиции, которая успешно может использоваться для солюбилизации и парентеральной доставки соединения А. В особенности, существует необходимость обеспечения безопасной и эффективной фармацевтической композиции для соединения А. Другими задачами является обеспечение композиции, которая является стабильной в релевантных условиях и контейнерах, и которая позволяет осуществить возможность введения подходящей дозы соединения А в течение целесообразных временных сроков. В соответствии с другой задачей, композиция должна иметь возможность приготавливаться с помощью надежного и функционального способа.

### **Сущность изобретения**

Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую липосомальную композицию, содержащую соединение А, подходящую для парентерального введения пациентам. В особенности, такое введение осуществляют путем внутривенной инъекции или инфузии. Изобретение дополнительно обеспечивает две отдельные композиции, которые могут быть смешаны совместно незадолго до введения пациенту, для обеспечения композиции, подходящей для введения. Одна из композиций для смешивания представляет собой композицию органического концентрата, содержащую соединение А, а вторая композиция для смешивания представляет собой липосомальный носитель. Если две отдельные композиции смешаны совместно, то соединение А является загруженным на липосомы в липосомальном носителе, предоставляющем возможность солюбилизации соединения А, что приводит к получению фармацевтической липосомальной композиции, подходящей для применения в клинике.

Предпочтительно, изобретение обеспечивает композицию, содержащую соединение А, которая поддерживает химическую стабильность соединения А. Например, ограничено образование нежелательного атропизомера и/или продуктов окисления и/или продуктов разложения.

Предпочтительно, изобретение обеспечивает композицию, содержащую соединение А, которая имеет оптимальную химическую стабильность, например, удается избежать образования геля и/или удается избежать осаждения компонентов. Неожиданно было обнаружено, что композиции, содержащие соединение А, устойчивые к гелеобразованию, при котором композиция образует гель. Такое гелеобразование может быть обратимым или необратимым. Гелеобразование осложняет или препятствует манипуляциям с композицией, содержащей соединение А, для ее предложенного применения, и его следует избегать.

Композиция органического концентрата, предназначенная для изготовления фармацевтической композиции, содержащая соединение А, должна предоставлять возможность эффективной и оптимальной загрузки соединения А в липосомы в липосомальном носителе путем простого смешивания 2 композиций совместно, незадолго до введения пациенту.

Предпочтительно, изобретение обеспечивает фармацевтическую липосомальную композицию, которая позволяет осуществить быстрое высвобождение соединения А из липосом после внутривенного введения.

Таким образом, изобретение, раскрытое в настоящем изобретении, позволяет осуществить эффективное введение соединения А пациентам, несмотря на сложные химические характеристики соединения А и сложные физические характеристики препаратов, содержащих соединение А.

### **Краткое описание фигур**

На фиг. 1 представлены эффективность и переносимость липосомально приготовленного соединения А после введения раз в неделю в дозе 10 мг/кг самкам бестимусных крыс, несущим MV4;11 AML ксенотрансплантаты.

На фиг. 2 представлены эффективность и переносимость липосомально приготовленного соединения А после введения раз в неделю в дозе 30 мг/кг самкам бестимусных крыс, несущим MV4;11 AML ксенотрансплантаты.

На фиг. 3 представлено схематическое изображение принципов анализа высвобождения на основании MLV, которое предоставляет возможность мониторинга высвобождения соединения А из липосом в MLV.

На фиг. 4 представлены профиль высвобождения соединения А из SUV в 100% ePL (яичные фосфолипиды) при разнообразных различных SUV:MLV соотношениях (об./об.).

### **Подробное описание изобретения**

Липосома представляет собой сферический пузырек, имеющий по меньшей мере один липидный бислой. Липосома может использоваться в качестве носителя для доставки питательных веществ и ле-

карственных средств. Липосомы наиболее часто состоят из фосфолипидов, в частности фосфатидилхолина, но также могут включать другие липиды, такие как яичный фосфатидилэтаноламин, при условии, что они совместимы с липидной бислоистой структурой.

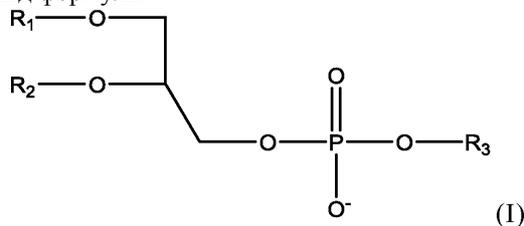
'Липосомальный носитель' в контексте настоящего изобретения обозначает жидкость, содержащую липосомы, указанные липосомы содержат фосфолипиды. Указанный липосомальный носитель является подходящим для солюбилизации соединения А в водной окружающей среде после смешивания с соединением А, в особенности, если соединение А обеспечивается в виде органического концентрата, описанного в настоящем изобретении. Указанный липосомальный носитель является подходящим для загрузки с соединением А перед введением пациенту.

Липосомальный размер, как раскрыто в настоящем изобретении, относится к размеру, как определено с помощью фотонно-корреляционной спектроскопии (PCS). Средний размер, выраженный в виде среднего диаметра  $Z$  и коэффициента полидисперсности, определяют с использованием фотонно-корреляционной спектроскопии в соответствии ISO 13321.

Фармацевтическая композиция, описанная в настоящем изобретении, в особенности, представляет собой фармацевтическую липосомальную композицию. "Фармацевтическая липосомальная композиция" обозначает композицию, содержащую липосомы, которые пригодны для фармацевтического введения.

"Гелеобразование", в контексте настоящего изобретения, обозначает образование геля. При образовании геля, композиция становится более вязкой, менее свободно текучей. Это значительно усложняет или делает невозможным обработку композиции для предназначенной цели.

Фосфолипид, используемый в липосомальном носителе в настоящем изобретении, содержит по меньшей мере один фосфолипид формулы



где

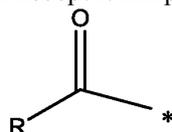
$\text{R}_1$  представляет собой  $\text{C}_{10}$ - $\text{C}_{24}$ ацил;

$\text{R}_2$  представляет собой  $\text{C}_{10}$ - $\text{C}_{24}$ ацил, или альтернативно  $\text{R}_2$  представляет собой водород или  $\text{C}_{10}$ - $\text{C}_{20}$ ацил;

$\text{R}_3$  представляет собой водород, 2-триметиламино-1-этил, 2-амино-1-этил,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ алкил,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_5$ алкил, замещенный карбокси,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_5$ алкил, замещенный карбокси и гидроксильный,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_5$ алкил, замещенный карбокси и амино, инозитоловую группу или глицероловую группу;

или соль такого соединения.

Термин ацил, используемый в настоящем изобретении ранее, представляет собой следующую группу:



где \* представляет собой точку присоединения  $\text{R}_1$  или  $\text{R}_2$  к остальной молекуле, и, например, R представляет собой неразветвленную алкильную цепь, которая может быть насыщенной или частично насыщенной.

Фосфолипид может быть нейтральным или может быть заряженным. Он может быть двухцепочечным или одноцепочечным амфифильным. Примерами нейтральных фосфолипидов с двойными цепями являются фосфатидилхолин (PC), фосфатидилэтаноламин (PE) и сфингомиелин. Примерами заряженных фосфолипидов являются фосфатидная кислота (PA), фосфатидинозитол (PI), и фосфатидилсерин (PS) и фосфатидилглицерин (PG). Углеводородная цепь может быть либо ненасыщенной или насыщенной. В одном варианте осуществления, она имеет от 14 до 18 атомов углерода.

Для парентеральных препаратов, фосфолипид может быть двухцепочечным и может содержать фракцию менее чем 20% одноцепочечного амфифильного. Для парентеральных препаратов, фосфолипид может представлять собой фосфатидилхолин (PC) и может содержать фракцию менее чем 40% заряженного фосфолипида.

Одноцепочечный липид может представлять собой моноацильное производное нейтрального или заряженного фосфолипида, но он также может представлять собой моноацильное (ые) производное (ые) гликолипидов и сфинголипидов. Тем не менее, для парентерального применения, моноацильное производное не является предпочтительным. Деацилирование можно осуществлять путем ферментативного гидролиза с помощью фосфолипазы A2 или химическими средствами. Углеводородная цепь может быть либо ненасыщенной или насыщенной и может иметь, в особенности, от 14 до 18, или от 14 до 24 атомов углерода. Липиды могут иметь происхождение из природных растений или животных или микробиоло-

гических источников, синтезированных или частично синтезированных, включая производные полиэтиленгликоля (PEG) моноацильные фосфолипиды, например, пэгилированный моноацил фосфатидил этаноламин.

В предпочтительном варианте осуществления,  $R_2$  не представляет собой водород.

В особенности, фосфолипид, используемый в липосомальном носителе, описанном в настоящем изобретении, выбирают из яичного лецитина, соевого лецитина или синтетических фосфолипидов. Примерами синтетических фосфолипидов для применения в настоящем изобретении являются POPC (пальмитоил олеил фосфатидилхолин), DOPC (1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфохолин), DMPC (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин) и DPPC (1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин), в частности синтетические фосфолипиды POPC (пальмитоил олеил фосфатидилхолин), DOPC (1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфохолин), и DMPC (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин), в особенности POPC. Более предпочтительно, фосфолипид, используемый в липосомальном носителе, выбирают из яичного лецитина или соевого лецитина, содержащего по меньшей мере 75% фосфатидилхолина или по меньшей мере 70% фосфатидилхолина. В другом варианте осуществления, можно использовать яичный лецитин с 71,5% мас./мас. ( $\pm 7,5\%$  мас./мас.) яичного PC (фосфатидилхолина) и 15% мас./мас. ( $\pm 3\%$  w/w) яичного PE (фосфатидилэтаноламина). В предпочтительном варианте осуществления изобретения, указанный фосфолипид выбирают из Lipoid E 80 S и Lipoid E 80. В предпочтительном варианте осуществления, указанный фосфолипид представляет собой Lipoid E 80 S. Если используют E 80, то олеат натрия необязательно включают в препарат в качестве стабилизатора коллоидной стабильности.

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения, фосфолипиды выбирают таким образом, чтобы способствовать более быстрому высвобождению соединения А в кровообращение.

"Органический концентрат" в контексте настоящего изобретения обозначает композицию, которая представляет собой раствор, содержащий органический, смешивающийся с водой растворитель, содержащий соединение А, который является пригодным для смешивания с липосомальным носителем для обеспечения возможности загрузки в липосомы. В особенности, указанный органический концентрат является пригодным для смешивания с и загрузкой липосомальным носителем, как описано в настоящем изобретении. Полученная смесь является подходящей для введения пациенту.

"Загрузка" обозначает инкорпорирование или перенос соединения А в липосомы из органического концентрата.

"Отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор" обозначает фосфолипид, содержащие по меньшей мере некоторые отрицательно заряженные липиды или полярный липид. В особенности, отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор выбирают из натриевой или аммониевой соли DMPG (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин или димиристоил фосфатидилглицерин), натриевой соли POPG (1-пальмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой соли DOPS (1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфосерин), натриевой соли DOPG (1,2-диолеил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой или аммониевой соли DPPG (1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой или аммониевой соли DSPG (1,2-дистеароил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой соли соевой фосфатидной кислоты (PA), натриевой соли яичной фосфатидной кислоты (PA), натриевой соли соевого фосфатидилсерина (PS), натриевой соли яичного фосфатидилглицерина (PG), натриевой соли соевого фосфатидилглицерина (PG), натриевой соли фосфатидилинозитола (PI), Lipoid S 75, Lipoid E 80 S и олеата натрия. В особенности, отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор представляет собой 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин, натриевую или аммониевую соль, или Lipoid E 80 S, предпочтительно 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин, натриевую соль. Указанный "отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор" облегчает загрузку соединения А в липосомы.

"Отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор" может представлять собой яичный лецитин или соевый лецитин.

"Агент, корригирующий тоничность" обозначает фармацевтически приемлемое соединение, которое можно добавлять к препарату для придания ему изотоничности с плазмой крови человека. Агенты, корригирующие тоничность, включают, например, декстрозу, глюкозу, маннит, сахарозу, лактозу, трегалозу, глицерин и NaCl, в особенности сахарозу или глицерин, более предпочтительно сахарозу. Тоничность представляет собой "эффективную осмоляльность" и равна сумме концентраций растворенных веществ, которые имеют способность проявлять осмотический потенциал в пределах мембраны. Парентеральные препараты должны быть изотоничными с плазмой крови. Агенты, корригирующие тоничность, хорошо известны квалифицированному специалисту в данной области техники.

Подходящий растворитель может быть выбран квалифицированным специалистом, занимающимся составлением рецептуры препаратов. В органическом концентрате в настоящем изобретении, растворитель или растворители могут быть выбраны из пропиленгликоля, этанола, PEG300, Super-Refined® PEG300, PEG400 и Super-Refined® PEG400, в особенности пропиленгликоля и этанола.

Super-Refined® относится к сверхчистым PEG300 или PEG400.

"Буфер" используется для предотвращения изменений pH раствора и подходящие примеры хорошо известны квалифицированному специалисту, занимающемуся составлением рецептуры препаратов.

"Контейнер" обозначает ампулу или флакон с резиновой пробкой и крышечкой, одно- или двухкамерный шприц, инфузионный мешок или сосуд, изготовленный из полимерных материалов или стекла, подходящий для содержания композиций для парентерального введения. Он также включает любой сосуд для удерживания жидкостей.

"Свободная молекула" в контексте настоящего изобретения обозначает соединение, которое не используется в форме соли, образованное наружными противоионами. Соединение А может присутствовать в цвиттер-ионной форме, и термин 'свободная молекула' в контексте настоящего изобретения включает цвиттер-ионную форму.

В контексте настоящего изобретения, термин "содержащий" обозначает "включающий" и не предназначен для исключения присутствия любого дополнительного компонента, если из контекста не следует другое, например, когда компоненты вместе составляют сумму до 100%.

В контексте настоящего изобретения, термин "лечить", "лечение" или "терапия" любого заболевания или нарушения относится в одном варианте осуществления, к облегчению заболевания или нарушения (то есть, замедлению или остановке или уменьшению развития заболевания или по меньшей мере одного из его клинических симптомов). В другом варианте осуществления, "лечить", "лечение" или "терапия" относится к облегчению или улучшению по меньшей мере одного физического параметра, включая те, которые еще могут не ощущаться пациентом. В еще другом варианте осуществления, "лечить", "лечение" или "терапия" относится к модуляции заболевания или нарушения, либо физически, (например, стабилизация распознаваемого симптома), физиологически, (например, стабилизация физического параметра), или в обоих аспектах.

"Стабилизатор от гелеобразования" в контексте настоящего изобретения обозначает стабилизатор от гелеобразования композиции, содержащей соединение А. Это определение стабилизаторов включает, например, электролиты или полимеры. Примерами подходящих электролитов являются хлорид натрия, хлорид калия, фосфат натрия двух- и одноосновный, сульфат аммония и аргинин, предпочтительно хлорид натрия. При необходимости, к препарату можно добавлять воду с электролитом. Примерами подходящих полимеров являются PEG300 и PEG400, в особенности PEG300. Стабильность от гелеобразования можно исследовать с помощью методик, хорошо известных квалифицированному специалисту в данной области техники, и, в особенности, можно использовать методики, описанные в настоящем изобретении. Пример 12 в настоящем изобретении обеспечивает методики, которые можно применять для тестирования гелеобразования. Когда понимают склонность к гелеобразованию для выбранной композиции, то квалифицированный специалист, занимающийся составлением рецептуры препаратов, может применить информацию для выбора оптимальных условий хранения для композиций, содержащих соединение А.

В одном необязательном варианте осуществления, PEG300 представляет собой Super-Refined® PEG300, который представляет собой сверхчистый PEG300.

В одном предпочтительном варианте осуществления, выбирают стабилизатор, который предотвращает гелеобразование композиции, содержащей соединение А, и который также уменьшает или предотвращает осаждение компонентов композиции, содержащей соединение А. Например, PEG300 представляет собой особый интерес в этом отношении. В одном необязательном варианте осуществления, PEG300 представляет собой Super-Refined® PEG300, и который также может поддержать химическую стабильность соединения А.

Смешивание "незадолго до введения пациенту" обозначает вплоть до трех дней до введения, в особенности вплоть до 24 ч до введения, и, например, вплоть до 6 ч перед введением пациенту.

"Тистидин", в контексте настоящего изобретения, обозначает, в особенности, "L-гистидин".

Благоприятно, в определенных вариантах осуществления изобретения, благодаря очень небольшому размеру частиц липосом, препарат является прозрачным, что предоставляет возможность визуального контроля завершения растворения соединения А перед введением. В предпочтительном варианте осуществления изобретения, композицию вводят пациентам внутривенно.

#### **Варианты осуществления изобретения**

Ниже описаны различные варианты осуществления изобретения E1-E61.

E1. Композиция органического концентрата, предназначенная для изготовления фармацевтической композиции, содержащая:

а) соединение А, которое представляет собой 2-{{5-{{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил}окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил}метокси}фенил)-пропановую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль,

б) отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор, где этот отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор выбирают из натриевой или аммониевой соли DMPG (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин или димиристоил фосфатидилглицерин), натриевой соли POPG (1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой соли DOPS (1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфосерин), натриевой соли DOPG (1,2-диолеоил-sn-глицеро-

3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой или аммониевой соли DPPG (1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой или аммониевой соли DSPG (1,2-дистеароил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой соли соевой фосфатидной кислоты (PA), натриевой соли яичной фосфатидной кислоты (PA), натриевой соли соевого фосфатидилсерина (PS), натриевой соли яичного фосфатидилглицерина (PG), натриевой соли соевого фосфатидилглицерина (PG), натриевой соли фосфатидилинозитола (PI), Lipoid E 80 S и олеата натрия, и

в) стабилизатор от гелеобразования, где этот стабилизатор от гелеобразования представляет собой полимер, выбранный из PEG300 и PEG400, или электролит, выбранный из хлорида натрия.

E2. Композиция органического концентрата в соответствии с вариантом осуществления E1, содержащая соединение А, которое представляет собой (2R)-2-[[[(5S<sub>a</sub>)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси]-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)-пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль и отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор.

E3. Композиция органического концентрата в соответствии с вариантами осуществления E1 или E2, где соединение А представляет собой свободную молекулу.

E4. Композиция органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E3, где отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор представляет собой 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин, натриевую или аммониевую соль, яичный лецитин, такой как Lipoid E 80 S, соевый лецитин, такой как Lipoid S 75, предпочтительно 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин, натриевую соль.

E5. Композиция органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E4, где стабилизатор от гелеобразования представляет собой хлорид натрия.

E6. Композиция органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E5, где стабилизатор от гелеобразования представляет собой PEG300.

E7. Композиция органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E6, дополнительно содержащая один или несколько растворителей.

E8. Композиция органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E7, дополнительно содержащая растворитель, выбранный из пропиленгликоля и этанола.

E9. Композиция органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E8, содержащая оба компонента, пропиленгликоль и этанол.

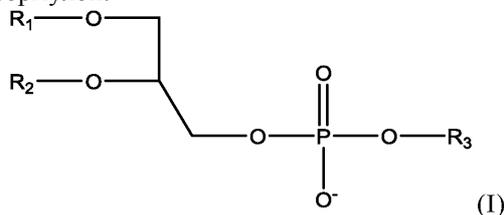
E10. Композиция органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E9, дополнительно содержащая воду.

E11. Фармацевтическая композиция, полученная в результате смешивания композиции органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E10 и липосомального носителя, где указанный липосомальный носитель содержит фосфолипид и агент корригирующий тоничность, выбранный из декстрозы, глюкозы, маннита, сахарозы, лактозы, трегалозы, глицерина и NaCl.

E12. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления E11, содержащая от 5% мас./мас. до 20% мас./мас. фосфолипида, в особенности от 7% мас./мас. до 13% мас./мас. фосфолипида.

E13. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантами осуществления E11 или E12, где фосфолипид выбирают из яичного лецитина, соевого лецитина или синтетических фосфолипидов.

E14. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E11-E13, где фосфолипид представлен формулой:



где

R<sub>1</sub> представляет собой C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub>ацил;

R<sub>2</sub> представляет собой C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub>ацил, или альтернативно R<sub>2</sub> представляет собой водород или C<sub>10</sub>-C<sub>20</sub>ацил;

R<sub>3</sub> представляет собой водород, 2-триметиламино-1-этил, 2-амино-1-этил, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкил,

C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси и гидроксильный, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси и амино, инозитоловую группу или глицериловую группу;

или соль такого соединения.

E15. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E11-E14, где фосфолипид выбирают из яичного лецитина, соевого лецитина, POPC (пальмитоил олеил фосфатидилхолин), DOPC (1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфохолин) и DMPC (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин), предпочтительно POPC (пальмитоил олеил фосфатидилхолин), DOPC (1,2-диолеил-sn-

глицеро-3-фосфохолин) и DMPC (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин), особенно предпочтительно POPC.

E16. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E11, E13 или E15, где фосфолипид выбирают из яичного лецитина или соевого лецитина, содержащего по меньшей мере 75% фосфатидилхолина, или по меньшей мере 70% фосфатидилхолина.

E17. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E11, E13, E15 или E16, где фосфолипид представляет собой Lipoid E 80 S.

E18. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E11-E17, где агент корректирующий тоничность представляет собой сахарозу или глицерин, в особенности сахарозу.

E19. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E11-E18, дополнительно содержащая буфер.

E20. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления E19, где буфер представляет собой гистидин.

E21. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E11-E20, дополнительно содержащая воду.

E22. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E11-E21, где липосомы, присутствующие в липосомальном носителе, имеют средний размер от 20 нм до 300 нм, предпочтительно от 20 нм до 100 нм.

E23. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления E22, где липосомы имеют средний размер от 20 нм до 80 нм, предпочтительно от 40 нм до 70 нм.

E24. Фармацевтическая композиция, содержащая липосомы и дополнительно:

а) соединение А, которое представляет собой 2-[[5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси]-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль; и

б) стабилизатор от гелеобразования, который представляет собой полимер, выбранный из PEG300 и PEG400, или электролит, выбранный из хлорида натрия.

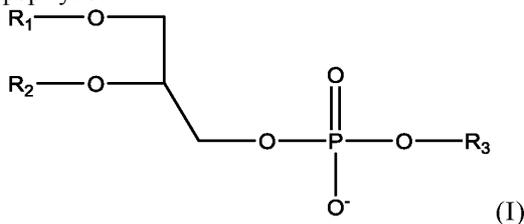
E25. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления E24, где соединение А представляет собой (2R)-2-[[5-(5S<sub>a</sub>)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси]-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}-фенил)пропановую кислоту или ее соль, предпочтительно свободную молекулу.

E26. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления E24 или E25, предназначенная для инфузии или внутривенной инъекции.

E27. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E26, содержащая от 5% мас./мас. до 20% мас./мас. фосфолипида, в особенности от 7% мас./мас. до 13% мас./мас. фосфолипида.

E28. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E27, содержащая фосфолипид, выбранный из яичного лецитина, соевого лецитина или синтетических фосфолипидов.

E29. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E28, где фосфолипид представлен формулой



где

R<sub>1</sub> представляет собой C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub>ацил;

R<sub>2</sub> представляет собой C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub>ацил;

R<sub>3</sub> представляет собой водород, 2-триметиламино-1-этил, 2-амино-1-этил, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси и гидроксильный, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси и амино, инозитоловую группу или глицероловую группу; или соль такого соединения.

E30. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E29, дополнительно содержащая отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор.

E31. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления E30, где отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор выбирают из натриевой или аммониевой соли DMPG (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин или димиристоил фосфатидилглицерин), натриевой соли POPG (1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой соли DOPS (1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфосерин), натриевой соли DOPG (1,2-диолеоил-sn-

глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)], натриевой или аммониевой соли DPPG (1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)], натриевой или аммониевой соли DSPG (1,2-дистеароил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)], натриевой соли соевой фосфатидной кислоты (PA), натриевой соли яичной фосфатидной кислоты (PA), натриевой соли соевого фосфатидилсерина (PS), натриевой соли яичного фосфатидилглицерина (PG), натриевой соли соевого фосфатидилглицерина (PG), натриевой соли фосфатидинозитола (PI), Lipoid E 80 S и олеата натрия, в особенности натриевой соли димиристоил фосфатидилглицерина (DMPG), натриевой соли 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерина и Lipoid E80 S.

E32. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E32, дополнительно содержащая один или несколько растворителей.

E33. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления E32, где указанный растворитель выбирают из пропиленгликоля и этанола, или предпочтительно содержащая оба компонента, пропиленгликоль и этанол.

E34. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E33, где стабилизатор от гелеобразования представляет собой хлорид натрия.

E35. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E33, где стабилизатор от гелеобразования представляет собой PEG300.

E36. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E36, дополнительно содержащая агент корригирующий тоничность.

E37. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления E36, где агент корригирующий тоничность, выбирают из декстрозы, глюкозы, маннита, сахарозы, лактозы, трегалозы, глицерина и NaCl, в особенности сахарозы и/или глицерина, более предпочтительно сахарозы.

E38. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E38, дополнительно содержащая буфер, в особенности гистидин.

E39. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E39, где соотношение фосфолипида из липосомального носителя к соединению А в виде свободной молекулы составляет от 100:1 до 4,5:1 частей по весу.

E40. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления E39, где соотношение фосфолипида из липосомального носителя к соединению А в виде свободной молекулы составляет от 50:1 до 6:1 частей по весу, в особенности от 20:1 до 9:1 частей по весу.

E41. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления E24-E40, где загруженные липосомы имеют средний размер от 20 нм до 100 нм, в особенности от 50 нм до 90 нм, более предпочтительно от 50 нм до 80 нм.

E42. Фармацевтическая композиция для инфузии или внутривенной инъекции содержащая смесь липосомального носителя и композиции органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E10.

E43. Фармацевтическая композиция для инфузии в соответствии с вариантом осуществления E42, дополнительно содержащая глюкозу для инфузии.

E44. Набор для лечения злокачественного новообразования, содержащий:

а) липосомальный носитель,

б) композицию органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E10.

E45. Набор в соответствии с вариантом осуществления E44, где а) и б) предназначены для смешивания друг с другом непосредственно перед введением пациенту.

E46. Способ солиubilизации соединения А, как описано в любом из вариантов осуществления E1, E2 или E3, в водной окружающей среде, включающий смешивание:

а) липосомального носителя,

б) композиции органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E10.

E47. Способ получения фармацевтической композиции соединения А, пригодной для парентерального введения, включающий смешивание:

а) липосомального носителя,

б) композиция органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E10.

E48. Способ в соответствии с вариантом осуществления E46 или E47, где смешивание осуществляют непосредственно перед введением пациенту.

E49. Способ в соответствии с любым из вариантов осуществления E46, E47 или E48, где смешивание и липосомную загрузку осуществляют путем повторной инверсии, в особенности встряхивая контейнер интенсивно путем инверсии.

E50. Способ в соответствии с любым из вариантов осуществления E47-E49, где смешивание и липосомную загрузку осуществляют путем инверсии контейнера, содержащего оба компонента а) и б), в особенности многократно, или встряхивая интенсивно путем инверсии, до тех пор, пока в смеси не будет

видимых частиц.

E51. Способ модуляции активности Mcl-1 рецептора у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления E11-E23 или E24-E41 или E42-E43.

E52. Способ лечения злокачественного новообразования, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления E11-E23 или E24-E41 или E42-E43.

E53. Способ в соответствии с вариантом осуществления E52, где злокачественное новообразование выбирают из злокачественных новообразований мочевого пузыря, головного мозга, молочной железы и матки, хронических лимфоидных лейкозов, злокачественного новообразования толстой кишки, пищевода и печени, лимфобластных лейкозов, острого миелоидного лейкоза, лимфом, например, неходжкинской В-клеточной лимфомы и диффузной В-крупноклеточной лимфомы, меланом, злокачественных болезней крови, например, миелодиспластического синдрома, миелом, например, множественной миеломы, рака яичников, немелкоклеточного рака легкого, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы и мелкоклеточного рака легкого.

E54. Способ в соответствии с вариантом осуществления E53, где злокачественное новообразование выбирают из неходжкинской В-клеточной лимфомы, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, множественной миеломы, миелодиспластического синдрома, хронических лимфоидных лейкозов и острого миелоидного лейкоза.

E55. Применение фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления E11-E23 или E24-E41 или E42-E43 в качестве лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования.

E56. Применение фармацевтической композиции в соответствии с вариантом осуществления E55, где злокачественное новообразование выбирают из злокачественных новообразований мочевого пузыря, головного мозга, молочной железы и матки, хронических лимфоидных лейкозов, злокачественного новообразования толстой кишки, пищевода и печени, лимфобластных лейкозов, острого миелоидного лейкоза, лимфом, например, неходжкинской В-клеточной лимфомы и диффузной В-крупноклеточной лимфомы, меланом, злокачественных болезней крови, например, миелодиспластического синдрома, миелом, например, множественной миеломы, рака яичников, немелкоклеточного рака легкого, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы и мелкоклеточного рака легкого.

E57. Применение фармацевтической композиции в соответствии с вариантом осуществления E56, где указанное злокачественное новообразование выбирают из неходжкинской В-клеточной лимфомы, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, множественной миеломы, миелодиспластического синдрома, хронических лимфоидных лейкозов и острого миелоидного лейкоза.

E58. Применение композиции органического концентрата в соответствии с любым из вариантов осуществления E1-E10 для приготовления лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования.

E59. Применение в соответствии с вариантом осуществления E58 для приготовления липосомального лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования.

E60. Применение в соответствии с вариантом осуществления E58 или E59, где злокачественное новообразование выбирают из злокачественных новообразований мочевого пузыря, головного мозга, молочной железы и матки, хронических лимфоидных лейкозов, злокачественного новообразования толстой кишки, пищевода и печени, лимфобластных лейкозов, острого миелоидного лейкоза, лимфом, например, неходжкинской В-клеточной лимфомы и диффузной В-крупноклеточной лимфомы, меланом, злокачественных болезней крови, например, миелодиспластического синдрома, миелом, например, множественной миеломы, рака яичников, немелкоклеточного рака легкого, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы и мелкоклеточного рака легкого, в особенности неходжкинской В-клеточной лимфомы, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, множественной миеломы, миелодиспластического синдрома, хронических лимфоидных лейкозов и острого миелоидного лейкоза.

E61. Комбинация, содержащая фармацевтическую композицию в соответствии с любым из вариантов осуществления E11-E23 или E24-E41 или E42-E43,

один или несколько терапевтически активных средств, для одновременного, последовательного или раздельного применения.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, пациентов выбирали, например, в соответствии со следующими критериями.

Основные критерии включения:

возраст  $\geq 18$  лет.

Для пациентов с множественной миеломой:

гистологически подтвержденная лимфома или подтвержденная множественная миелома, в предпочтительном варианте осуществления изобретения для пациентов с множественной миеломой, множественная миелома является рецидивирующей и/или трудно поддающейся стандартному лечению.

Характеризуется хромосомной абберацией.

Измеряемые проявления болезни:

М-белок в сыворотке  $\geq 0,5$  г/дл,

М-белок в моче  $\geq 200$  мг/24 ч, или

уровень свободной легкой цепи (FLC) в сыворотке  $\geq 100$  мг/л вовлеченного FLC.

Для пациентов с гистологически подтвержденной DLBCL:

документально подтвержденная положительная MYC, определенная с помощью флуоресцентной гибридизаций in situ (FISH) или иммуногистохимии (ИНС).

Измеряемые проявления болезни (в соответствии с Рекомендациями относительно первичной оценки, определения стадий и оценки ответной реакции ходжкинской и неходжкинской лимфомы).

Основные критерии исключения.

1. Данные в анамнезе относительно хронического заболевания почек, включая активную инфекцию гепатита В или С, первичный билиарный цирроз, цирроз печени, или портальную гипертензию.
2. Хронический панкреатит в анамнезе.
3. Пациенты с высоким риском синдрома лизиса опухоли (TLS).
4. Наличие в анамнезе или диагностированные пневмония, интерстициальное заболевание легких или воспалительное заболевание кишечника.
5. Нарушение сердечной деятельности или клинически значимые сердечные заболевания, включая любые из следующих параметров.

Фракция выброса левого желудочка (LVEF)  $< 50\%$ , как определено с помощью многопроекционного радиоизотопного сканирования (MUGA) или эхокардиограммы (ECHO).

QT, скорректированные с поправкой Фредеричиа (QTcF)  $> 450$  мс (пациенты мужского пола),  $> 460$  мс (пациенты женского пола).

6. Тяжелые и/или неконтролируемые медицинские состояния, которые, по мнению исследователя, могут оказывать влияние на безопасность индивидуума или нарушать оценку результатов исследования.
7. Предшествующее лечение с применением ингибитора Mcl-1.
8. Предшествующее лечение с применением ингибитора Bcl-2 (для пациентов, включенных в исследование с применением максимально переносимой дозы, определенной в ходе этапа повышения доз).
9. Пациенты с первичной опухолью ЦНС или вовлеченной опухолью ЦНС.

Липосомальный носитель, описанный в настоящем изобретении, может быть получен с помощью любого метода получения, который приводит к получению липосом со средним размером частиц вплоть до 1000 нм, предпочтительно вплоть до 300 нм, в особенности вплоть до 100 нм. Размер липосомы, как описано в настоящем изобретении, относится к среднему диаметру  $Z$  с использованием фотонно-корреляционной спектроскопии в соответствии с ISO 13321, который описывает полученный средний размер частиц и коэффициент полидисперсности. Типичный способ получения включает диспергирование, смешивание с высокой скоростью сдвига и последующую гомогенизацию под высоким давлением, и такие способы хорошо известны квалифицированному специалисту в данной области техники.

Органический концентрат образовывается путем смешивания компонентов до тех пор, пока не образуется гомогенный раствор, в котором растворено соединение А.

Для образования композиции для введения, концентрат добавляют к липосомальному носителю, после этого сразу смешивают, например, путем повторной инверсии, или интенсивного встряхивания. Альтернативно, концентрат можно добавлять к носителю во время вращения.

Благоприятно, в предпочтительном варианте осуществления изобретения, обеспечивается липосомальный носитель, который может быть смешан с соединением А незадолго до введения для получения прозрачной композиции. В особенности, это достигается путем смешивания липосомального носителя с органическим концентратом, содержащим соединение А, как описано в настоящем изобретении. Прозрачность является желательной для проверки того, что соединение А солюбилизировалось перед введением. Это может быть оценено с помощью визуального осмотра или прозрачность определяют при наиболее подходящей длине волны, в зависимости от концентрации липидов, например, 660 нм или используя трансмиссионную ячейку или кювету 1 см. В аспекте изобретения, фармацевтическая композиция для введения (липосомы, загруженные соединением А) не должна снижать трансмиссию по сравнению с липосомальным носителем не более, чем на 30%, предпочтительно не более, чем на 20%, наиболее предпочтительно не более, чем на 10%.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, липосомный носитель, при смешивании с соединением А, предоставляет возможность максимальной загрузки соединения А на липосомы, в особенности, если соединение А представлено в виде органического концентрата, как описано в настоящем изобретении.

В примерах в настоящем изобретении, "соединение А" обозначает (2R)-2-{{[(5S<sub>a</sub>)-5-{3-хлор-2-

метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)-тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту (без соли).

Пример 1. Органический концентрат, содержащий соединение А и хлорид натрия.

Состав	Состав на мл [мг]	Функция наполнителя
Соединение А	61,75	
DMPG-Na (1,2-Димиристоил- <i>sn</i> -глицеро-3-фосфо- <i>rac</i> -глицерин, натриевая соль)	3,83	стабилизатор
Этанол, безводный	94,39	растворитель
Хлорид натрия	4,00	стабилизатор
Вода для инъекций	9,58	растворитель
Пропиленгликоль	851,41	растворитель

Приготовление нерасфасованного растворителя.

Воду для инъекций, затем безводный этанол, после этого DMPG-Na загружали в сосуд и перемешивали до увлажнения DMPG-Na порошка. После этого добавляли приблизительно четверть пропиленгликоля и смесь перемешивали и нагревали. Продолжали перемешивать и температуру поддерживали в течение 90 мин или до полного растворения DMPG-Na. После завершения растворения, смесь впоследствии охлаждали до комнатной температуры, добавляли оставшийся пропиленгликоль и смесь перемешивали до тех пор, пока она не становилась гомогенной. После этого добавляли хлорид натрия и смесь нагревали в течение 90 мин или до полного растворения хлорида натрия. Полученный раствор охлаждали до комнатной температуры.

Приготовление органического концентрата лекарственного средства.

Нерасфасованный растворитель, приготовленный, как описано выше, загружали в сосуд, добавляли соединение А и смесь перемешивали до увлажнения порошка соединения А. Продолжали перемешивать в течение 60 мин или до полного растворения соединения А. Концентрат фильтровали через стерильную 0,2 мкм Pall Fluorodyne® II DFL мембрану в Kleenpak™ капсулах KAZDFLP1G или KAZDFLP1. После фильтрации, полученный органический концентрат лекарственного продукта (61,75 мг/мл) переносили в стерильные, апиrogenные флаконы.

Пример 2. Липосомальный носитель для разведения.

Наполнитель	Состав на мл [мг]	Функция наполнителя
Сахароза	90	агент, корректирующий тоничность
ePL, Lipoid E 80 S (Яичный фосфолипиды)	100	солубилизатор
L-Гистидин	1,5	буфер
Соляная кислота	При необходимости, до pH 6,5	агент, регулирующий pH
Гидроксид натрия	При необходимости, до pH 6,5	агент, регулирующий pH
Вода для инъекций	Qs до 1 мл	растворитель

Приготовление липосомального носителя для разведения.

Поскольку лецитин (ePL) подвержен окислению, то кислород удаляли во всех технически возможных случаях и материалы предпочтительно защищали путем подачи слоя азота.

Воду для инъекций, после этого L-гистидин, загружали в сосуд и перемешивали до тех пор, пока L-гистидин полностью не растворялся. Загружали сахарозу и смесь перемешивали до тех пор, пока сахароза полностью не растворялась. Проверяли значение pH и доводили до  $6,5 \pm 0,2$  путем добавления раствора 1 н. соляной кислоты или 1 н. гидроксида натрия, после этого раствор перемешивали до тех пор, пока он не становился гомогенным. Затем в сосуд добавляли Lipoid E 80 S. Смесь перемешивали до тех пор, пока не получали гомогенную дисперсию.

Линейное смешивание.

Дисперсию, полученные выше, перемешивали и переносили в другой сосуд с помощью линейного гомогенизатора (Kinematica MEGATRON MT-SV 1-45 M), регулируемого при потоке 2-5 л/мин. Линейное смешивание продолжали до тех пор, пока сосуд с источником не ставился пустым. Гомогенизация под высоким давлением

Сосуд, содержащий дисперсию лецитина, как описано выше, соединяли с гомогенизатором высокого давления (Avestin Emulsiflex C160) в рециркуляционной петле, и дисперсию охлаждали до 2-8°C, перемешивая при этом при 300 об/мин. После повышения давления в сосуде до 0,5 бар, насос устанавливали на максимальную скорость и гомогенизатор высокого давления накачивали с помощью открытого

клапана для удаления воздуха в системе. После этого гомогенизатор высокого давления устанавливали на 60 Гц, поток на 130-140 л/ч и давление на 950-1050 бар, и осуществляли гомогенизацию под высоким давлением в течение 19 проходов (около 7,5-8 ч), затем на 20-м проходе, содержимое сосуда переносили в другой сосуд с помощью гомогенизатора высокого давления.

Предварительную фильтрацию осуществляли с помощью PVDF (поливинилидендифторидная мембрана) фильтра 0,2 мкм, и отфильтрованный раствор хранили при комнатной температуре. После этого раствор стерильно фильтровали через PVDF стерилизующий фильтр и затем переносили в стерильные флаконы, депирогенизированные путем обработки сухим жаром.

Этот водный препарат можно инъектировать или инфузировать как таковой или разводить с помощью инфузионных растворов (например, 5% глюкоза) перед инфузией.

Пример 3А. Препарат для инфузии.

Органический концентрат из примера 1 смешивали с липосомальным носителем из примера 2 следующим образом. Липосомальному носителю из примера 2 предоставляли возможность нагреться до комнатной температуры (то есть, до 20 - 25°C) путем вынимания из холодильника по меньшей мере за 30 мин до смешивания. Общий объем активного липосомального носителя, который будут вводить пациенту, можно определить, как указано в табл. 3А.1 ниже. Липосомальный носитель содержит небольшие липосомы и используется в качестве солюбилизующего носителя, способного растворять соединение А в водной окружающей среде после смешивания с органическим концентратом, содержащим соединение А.

Таблица 3А.1

Необходимая доза соединения А	Количество флаконов, необходимых для лекарственного продукта (Соединение А концентрат для инфузии) и липосомальный носитель для разведения (LV)	Общий объем активного липосомального носителя (концентрация Соединения А 7,5 мг/мл) для переноса в глюкозный мешок	Размер шприца / шкала	Концентрация Соединения А в мешке 250 мл, готовом для инфузии (Примечания: перенаполнение мешка не принимают во внимание)
мг	№	мл		мг/мл
30	1	4,0	5 мл / 0,2 мл	0,12
45	1	6,0	10 мл / 0,5 мл	0,18
180	1	24,0	30 мл / 0,5 мл	0,72
360	2	48,0	30 мл / 0,5 мл	1,44
540	3	72,0	30 мл / 0,5 мл	2,16
720	4	96,0	30 мл / 0,5 мл	2,88
900	5	120,0	30 мл / 0,5 мл	3,60
1080	6	144,0	30 мл / 0,5 мл	4,32
1260	7	168,0	30 мл / 0,5 мл	5,04
1400	8	186,7	30 мл / 0,5 мл	5,60
X [мг]	Определяют на основании вводимой дозы и номинального содержания Соединения А 180 мг/флакон лекарственного продукта (концентрат Соединения А для инфузии)	= X [мг] / 7,5 мг/мл	См. выше. Выбрали размер шприца / шкалу, наиболее близкую к значению общего объема активного липосомального носителя, представленного в таблице	= X [мг] / 250 мл

Одни флакон органического концентрата соединения А (185,25 мг (включая излишек) соединения А в 3 мл) комбинируют с одним флаконом липосомального носителя (2,1 г Lipoid E 80 S в 21 мл), для получения извлекаемого объема 24 мл активного липосомального носителя, содержащего соединение А, содержащего в целом 180 мг соединения А). Для одного пациента может быть необходимым приготовить больше флаконов. Необходимо приготовить достаточное количество флаконов активного липосомального носителя, достаточного для введения дозы пациенту.

Органический концентрат соединения А (3 мл) асептически и точно отбирали быстро в один флакон липосомального носителя и сразу смешивали путем инвертирования флакона  $\geq 40$  раз. Начальная мутность исчезает. Полученный препарат активного липосомального носителя будет немного более мутным по сравнению с липосомальным носителем для разведения. Он не должен содержать видимых частиц после смешивания. Если пациенту необходимо вводить более, чем 180 мг соединения А, то стадии добавления и смешивания повторяют, при необходимости.

После этого рассчитывают общий объем раствора глюкозы, которые необходимо удалить из инфузионного мешка (например, используя Esobag глюкоза 5%, или Esoclas глюкоза 5%). Это объем является идентичным объему активного липосомального носителя, как представлено в табл. 3А.1. Рассчитанный объем раствора глюкозы асептически и точно отбирают из инфузионного мешка (и отбрасывают).

Рассчитанный объем активного липосомального носителя (содержащего соединение А) асептически и точно отбирают из одного или нескольких флаконов и инъецируют в глюкозный мешок, приготовленный выше, и смешивают хорошо путем переворачивания мешка по меньшей мере 10 раз. Если необходимо меньше, чемкратно 180 мг соединения А, то остаток из флаконов необходимо выбрасывать.

Приготовленный инфузионный мешок, готовый для инфузии, следует анализировать визуально относительно наличия частиц. Содержимое мешка может проявлять незначительно опалесценцию или незначительную мутность в зависимости от концентрации соединения А. Если видны частицы, то мешок отбраковывают и готовят свежий инфузионный мешок.

Соединение А немного чувствительно к свету, поэтому инфузионный мешок помещают под светонепроницаемое покрывало.

Один из примеров процедуры представлен ниже. Свежеприготовленные инфузионные мешки хранили в течение вплоть до 5 ч при комнатной температуре (то есть, при 20-25°C) плюс вплоть до 8 ч в условиях холодильника (2-8°C), которое включало фактическое время инфузии. Если выдерживали при комнатной температуре 20-25°C, то можно приготовить разведенный раствор для инфузии в инфузионном мешке и инфузию начинать в течение 2 ч после приготовления и вводить при контролируемой комнатной температуре. Если внутривенный раствор не вводят сразу же, то раствор необходимо поместить в холодильник при 2-8°C только не более 8 ч. Если приготовленный раствор охлаждают в холодильнике перед введением, то мешок можно довести до комнатной температуры перед введением. Инфузионный препарат, содержащий необходимую концентрацию лекарственного продукта соединения А, можно инфузировать с помощью инфузионной системы и встроенного фильтра 1,2 мкм после инфузионного мешка, расположенного максимально близко, насколько это возможно, к катетеру.

Пример 3В. Препарат для инфузии.

Используя такую же процедуру, как описано в примере 3А, липосомальный носитель из примера 2 смешивали с органическим раствором следующего состава.

Описание	Состав на мл [мг]	Функция наполнителя
Соединение А	100	
Lipoid E 80 S	18,54	стабилизатор
Пропиленгликоль	410,73	растворитель
Этанол	410,73	растворитель

Можно использовать следующие соотношения компонентов для смешивания.

Необходимая концентрация Соединения А (мг/мл)	Необходимый объем активного липосомального препарата (мл)	Объем органического раствора (мл)	Объем липосомального носителя (мл)
0,00	80	0,00	80,00
0,30	65	0,20	64,80
0,60	83,5	0,50	83,00
0,75	80	0,60	79,40
1,50	80	1,20	78,80
2,50	80	2,00	78,00
3,00	80	2,40	77,60
3,75	80	3,00	77,00
5,00	80	4,00	76,00
7,50	80	6,00	74,00

Пример 4. Эффективность липосомального препарата соединения А на модели ксенотрансплантат MV4;11 острого миелоидного лейкоза у бестимусных крыс, используя схему внутривенного введения раз в неделю.

Методы.

Таблица 4.1

Композиция органического растворителя, используемая для приготовления дозированного раствора для группы с носителем

Компонент	Состав на мл [мг]
Яичный лецитин Lipoid E 80 S	20
Пропиленгликоль	443,0
Этанол	443,0

Таблица 4.2

Композиция липосомального носителя, используемая для приготовления дозированного раствора для группы с носителем

Компонент	Состав на мл [мг]
Яичный лецитин Lipoid E 80 S	100
Сахароза	90
L-Гистидин	1,552
Вода для инъекций	q. s до 1,00 мл

Липосомальный носитель получали, используя компоненты, указанные в табл. 4.2, и методы, описанные в настоящем изобретении в пример 2. Органический раствор (табл. 4.1) смешивали с липосомальным носителем в соотношении 1:32,33 (об./об.) и использовали для дозирования группе с носителем в дозе 10 мл/кг.

В этом исследовании оценивали противоопухолевую активность и переносимость соединения А в препарате на основе липосом после в/в инфузии бестимусным крысам, несущим MV4;11 опухоль. Эксперименты осуществляли на самках бестимусных крыс Crl:NIH-Foxnlrn (Charles River).

Клеточную линию MV4;11 luc острого миелоидного лейкоза (AML) человека получали от родительских MV4;11 клеток, которые имели происхождение от пациента. Родительские клетки MV4;11 получали из DSMZ банка клеток. MV4;11 luc клетки использовали для всех исследований *in vivo* и культивировали в RPMI-1640 среде (BioConcept Ltd. Amimed, № 1-41F01-I), дополненной 10% FCS (GE health care life sciences, № H30071,03) 4 mM L-глутамином (BioConcept Ltd. Amimed, № 5-10K00-H), 0,6 мг/мл генетицина (Life Technologies, № 10131-027) при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> на воздухе. Клетки поддерживали в диапазоне от 0,2 до 1,1×10<sup>6</sup> клеток/мл. Для получения MV4;11 luc ксенотрансплантатов, клетки собирали и ресупендировали в HBSS (Gibco, № 14175) и смешивали с Matrigel (BD Bioscience, № 354234) (1:1 об./об.) перед инъекцией 200 мкл, содержащих 1×10<sup>7</sup> клеток, подкожно в правую заднюю лапу животным, которых анестезировали с помощью изофлурана. За 24 ч перед инокуляцией клеток, всех животных облучали с применением 5 Гр в течение 2 мин, используя γ-излучатель.

За ростом опухоли наблюдали регулярно после инокуляции клеток и животных рандомизировали на леченные группы, когда их опухоли достигали подходящего объема. Размер опухоли, в мм, рассчитывали с помощью формулы:  $(L \times W^2 \times \pi / 6)$ , где W = ширина и L = длина опухоли.

Животных, несущих опухоли, разделяли на леченные группы (n = 5), со средним объемом опухоли приблизительно 450 мм<sup>3</sup>. После этого животных лечили с применением носителя или препарата соединения А в дозе 10 и 30 мг/кг.

Соединение А приготавливали в виде препарат на основе липосом, используя органический концентрат лекарственного средства (описанный в примере 1) и носитель (описанный в примере 2 в настоящем изобретении). Дозированные растворы приготавливали путем смешивания продукта из примеров 1 и 2 при соотношении 1:7,236 (об./об.), затем разведения этой смеси путем добавления 5% глюкозы при соотношении 1:6,50 (об./об.) для дозы 10 мг/кг и 1:1,50 (об./об.) для дозы 30 мг/кг.

Носитель и соединение А вводили один раз в неделю (QW) путем в/в инфузии 15 мин в латеральную хвостовую вену в дозе 10 мл/кг. Животных анестезировали с помощью изофлурана/O<sub>2</sub> приблизительно в течение 20 мин для осуществления инфузии. Объемы опухолей измеряли, используя штангенциркули 2-3 раза в неделю. Животных взвешивали 2-3 раза в неделю и часто исследовали для выявления признаков любых побочных эффектов.

Данные изменения опухоли и веса тела анализировали статистически, используя GraphPad Prism 7.00 (программное обеспечение GraphPad). Если колебания в данных были нормально распределены, то данные анализировали, используя однофакторный ANOVA с ретроспективным критерием Даннетта для сравнения леченной группы относительно контрольной группы. Апостериорный критерий Тьюки использовали для внутригруппового сравнения. В других случаях, использовали тест Краскела-Уоллиса с ретроспективным критерием Даннетта. Где применимо, результаты представляли в виде среднего значения ±СПС. В качестве критерия определения эффективности, рассчитывали значение %Т/С после окончания эксперимента в соответствии со следующей формулой:

$$(\text{Добъема опухоли}^{\text{леченные}} / \text{Добъема опухоли}^{\text{контроль}}) * 100$$

Регрессию опухоли рассчитывали в соответствии со следующей формулой:

$$(\text{Добъема опухоли}^{\text{леченные}} / \text{объема опухоли}^{\text{леченные в начале}}) * 100,$$

где Δ объема опухоли представляют собой средний объем опухоли в день оценки минус средний объем опухоли в начале эксперимента.

Результаты: эффективность и переносимость.

Препарат соединения А на основе липосом проявляет существенную дозозависимую эффективность после инфузионного введения. В инфузионной дозе 10 мг/кг QW, индуцировалась максимальная противоопухолевая ответная реакция после первой дозы (61% регрессия в день 3 после начала лечения) и ответ ослаблялся при каждой последующей дозе, что приводило к постепенному увеличению объема

опухоли в динамике. В день 24 (последний день измерения объема опухоли в группе с носителем) регрессия составила 6% после введения дозы 10 мг/кг QW ( $p < 0,05$  по сравнению с группой с носителем). После инфузии липосомального препарата Соединения А в дозе 30 мг/кг QW в течение 2 недель, достигли полной регрессии (CR) во всех MV4;11 ксенотрансплантатах в день 13 после начала лечения. Полная регрессия поддерживалась у всех животных вплоть до дня 21, после чего наблюдали повторный рост опухоли у 3 животные и 2 животные проявило отсутствие роста опухоли в течение дальнейших 60 дней после достижения CR. В день 25 после начала лечения с применением 30 мг/кг, средний объем опухоли проявил 92 % регрессию ( $p < 0,05$  по сравнению с группой с носителем). На основании изменений веса тела обе схемы дозирования липосомального препарата хорошо переносились. Результаты представлены на фиг. 1 и 2.

Пример 5. Данные стабильности для композиции из примера 1.

Исследовали стабильность композиции из примера 1, соединение А 185,25 мг в 3,0 мл, путем тестирования продолжительностей хранения вплоть до 3 месяцев, и светостабильности.

5.1. Тестирование при 5°C/ОВ окружающей среды (относительная влажность).

В течение 3 месяцев хранения во флаконах в условиях 5°C/ОВ окружающей среды, наблюдали за композицией из примера 1 соединения А 185,25 мг/3,0 мл, и она была физически и химически стабильной. Не наблюдали существенных изменений в химических или физических свойствах.

5.2. Тестирование при 25°C/60% ОВ.

В течение 3 месяцев хранения во флаконах в условиях 25°C/60% ОВ, наблюдали за композицией из примера 1 соединения А 185,25 мг/3,0 мл, и она была физически стабильной. Не наблюдали существенных изменений в течение 3 месяцев. Наблюдали повышенные уровни нежелательного атропизомера. Все результаты оставались в допустимых пределах.

5.3. Тестирование при 40°C/75% ОВ.

В течение 3 месяцев хранения во флаконах в условиях 40°C/75% ОВ наблюдали за композицией из примера 1 соединения А 185,25 мг/3,0 мл, и она была физически стабильной. Не наблюдали существенных изменений в течение 3 месяцев, за исключением повышенных уровней нежелательного атропизомера в динамике. Все результаты находились в допустимых пределах через 1,5 месяца.

5.4. Светостабильность.

Во время тестирования светостабильности во флаконах наблюдали, что композиция из примера 1 соединения А 185,25 мг/ 3,0 мл не была ни химически, ни физически стабильной. Наблюдали, что все результаты для образца, защищенного от воздействия света, находились в допустимых пределах.

Выводы.

Данные удовлетворительной стабильности получали в течение 3 месяцев при 5°C/ОВ окружающей среды и 25°C/60% ОВ и 1,5 месяца при 40°C/75% ОВ. Доступные данные стабильности указывают на удовлетворительную стабильность композиции из примера 1 соединения А 185,25 мг/3,0 мл. Необходима защита от воздействия света.

Пример 6. Данные стабильности для композиции из примера 2.

Исследовали стабильность композиции носителя из примера 2 (21,7 мл) путем тестирования продолжительности хранения вплоть до 3 месяцев и светостабильности.

6.1. Тестирование при 5°C/ОВ окружающей среды.

Не наблюдали изменений внешнего вида контейнера, внешнего вида содержимого и количественных показателей фосфолипидов вплоть до 3 месяцев хранения при 5°C, по сравнению с исходными результатами. Не наблюдали существенных изменений ни для значения pH, ни для размера частиц.

6.2. Тестирование при 25°C/60% ОВ.

Не наблюдали изменений внешнего вида контейнера и внешнего вида содержимого вплоть до 3 месяцев хранения при 25°C, по сравнению с исходными результатами. Исходное pH 6,6 снижалось до pH 6,3 в течение 3 месяцев соответственно. Не наблюдали существенных изменений для размера частиц согласно фотонно-корреляционной спектроскопии и количественных показателей фосфолипидов вплоть до 3 месяцев. Невидимые невооруженным глазом твердые частицы повышались, однако значения оставались в диапазоне приемлемых значений.

6.3. Тестирование при 40°C/75% ОВ.

Не наблюдали изменений внешнего вида контейнера и внешнего вида содержимого вплоть до 3 месяцев хранения при 40°C, по сравнению с исходными результатами. Наблюдали незначительное изменение значения pH, которое незначительно снижалось от pH 6,6 изначально, до 6,3 после хранения в течение 3 месяцев при 40°C.

Не наблюдали существенных изменений в течение размер частиц согласно фотонно-корреляционной спектроскопии и количественных показателей фосфолипидов вплоть до 3 месяцев хранения до 40°C. Достоверные отличия наблюдали при тестировании невидимых невооруженным глазом твердых частиц. Тем не менее, эти условия рассматриваются как стрессовые условия по сравнению с долгосрочным хранением при 5°C.

6.4. Светостабильность.

Тестирование светостабильности осуществляли в продуктом в стеклянном флаконе и сравнивали с

флаконом, защищенном от действия света в картонной коробке. В исследовании светостабильности не наблюдали существенных изменений для параметров внешнего вида контейнера, внешнего вида содержимого, pH раствора, видимых твердых частиц и количественных показателей фосфолипидов после хранения.

Выводы.

Удовлетворительные данные стабильности были продемонстрированы для условий долгосрочного хранения при 5°C и условий "ускоренного старения" при 25°C/60% ОВ вплоть до 3 месяцев. Удовлетворительные данные стабильности были продемонстрированы для условий "ускоренного старения" при 40°C/75% ОВ вплоть до 1,5 месяцев, ограниченные результатами невидимых невооруженным взглядом твердых частиц. Для внешнего вида контейнера, внешнего вида содержимого и размера частиц не наблюдали изменений для всех условий хранения вплоть до 3 месяцев. Значения pH были стабильными и в нормативных пределах для всех условий хранения. Удовлетворительные данные стабильности были показаны для долгосрочного хранения при 5°C/ОВ окружающей среды. Носитель рассматривается как светостабильный.

Пример 7. Исследование высвобождения *in vitro*. Соединение А: высвобождение соединения А из небольших липосом на акцептор, содержащий избыток липидов, присутствующих в виде больших многослойных везикул (MLV).

Задачей этого эксперимента являлось исследование скорости высвобождения соединения А из небольших однослойных везикул (SUV; используемых в настоящем изобретении в качестве системы носителя лекарственного средства, см. пример 3А) в большие многослойные везикулы (MLV), состоящие из яичных фосфолипидов, и используемые в качестве липофильного акцептора для высвобожденного лекарственного средства (см. Shabbits J. A., Chiu G. N. and Mayer L. D. "Development of an *in vitro* drug release assay that accurately predicts *in vivo* drug retention for liposome-based delivery systems" Journal of Controlled Release 2002, 84(3), 161-170).

Приготовление и осуществление исследования высвобождения, используя многослойные везикулы в качестве акцептора.

Приготовление и характеристики MLV.

Многослойные везикулы приготавливали с помощью метода пленочной гидратации. Вкратце, яичные фосфолипиды (Lipoid E 80 S) взвешивали и полностью растворяли в органическом растворителе (EtOH/DCM при 4:1 об./об.) для обеспечения гомогенной смеси всех компонентов.

После этого органический растворитель удаляли, используя ротационное выпаривание (первая стадия: 200 мбар, 50°C, 2 ч; вторая стадия: 30 мбар, 50°C, 45 мин) для получения гомогенной липидной пленки. Для обеспечения полного удаления органического растворителя, колбу продували азотом. После этого, пленку регидратировали, используя забуференный фосфатом солевой раствор (PBS, pH 7,4), получая MLV и, после завершения регидратирования, MLV подвергали воздействию ультразвука в течение 15 мин.

Для того, чтобы MLV были ресуспендированы в той же самой системе буферов, что и SUV, суспензию центрифугировали в течение 10 мин при 14000 g, супернатант (PBS) удаляли, и заменяли на сахарозно-гистидиновый буфер. В завершение, смесь тщательно перемешивали вихревым способом для обеспечения полного повторного диспергирования MLV в новой среде перед началом эксперимента высвобождения.

MLV препараты характеризовали на основании их размера с помощью лазерной дифракции, используя систему HELOS KR (SympaTec) после разведения 1:5000, используя PBS, получая  $x_{10}$ ,  $x_{50}$ , и  $x_{90}$  значения.

$x_{10}$  = величина частиц, соответствующая 10% кумулятивному распределению меньше номинального размера,  $x_{50}$  = средняя величина частиц (то есть, 50% частиц являются меньшими и 50% частиц являются большими), и  $x_{90}$  = величина частиц, соответствующая 90% кумулятивному распределению меньше номинального размера.

Таблица 7.1

Препарат	Распределение размеров MLV		
	Размер (мкм)		
	$x_{10}$	$x_{50}$	$x_{90}$
PBS-загруженный MLV (100 % ePL) в PBS	2,98	5,79	11,56

Исследование высвобождения, используя MLV.

Для исследования высвобождения, используя MLV, использовали следующую установку для всех экспериментов.

SUV (донор) смешивали с MLV (акцептор) в колбе Эрленмейера объемом 25 мл с пробкой при перемешивании (500 об./мин.) при различных соотношениях (1:40, 1:100, 1:200, 1:500; SUV:MLV об./об.). 1 мл образцов отбирали в различные временные точки и сразу же центрифугировали (14000 об./мин., 10 мин) для отделения MLV от SUV для дальнейшей обработки. На фиг. 3 в настоящем изобретении представлено схематическое изображение принципов анализа высвобождения на основании MLV.

После этого, MLV порцию удаляли путем отсасывания и 50 мкл SUV порции смешивали с 450 мкл

ACN:H<sub>2</sub>O для приготовления образца ВЭЖХ. После этого образец центрифугировали (14000 об/мин, 10 мин), супернатант фильтровали, используя фильтр 0,22 мкм и вводили в ВЭЖХ для анализа.

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для соединения А.

Применяли систему высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с УФ-обнаружением, включая следующие настройки оборудования и системы растворителей.

<i>Прибор</i>	Shimadzu LC2010C HT
<i>Колонка</i>	Waters Symmetry Shield, RP18, 3,5 мкм, 3 x 150 мм
<i>Условия колонки</i>	45 °С
<i>Подвижная фаза</i>	А) ACN:H <sub>2</sub> O:FA:NH <sub>4</sub> OH (20:80:1:0,4) В) ACN:H <sub>2</sub> O:FA:NH <sub>4</sub> OH (80:20:1:0,4)
<i>Градиент растворителя</i>	Многостадийный градиент
<i>Поток растворителя</i>	1,0 мл/мин
<i>Давление</i>	Максимально 270 бар
<i>Автомат. отбор проб</i>	Образцы инъецировали, используя автоматический пробоотборник
<i>УФ-обнаружение</i>	ВЭЖХ-УФ детектор, установленный на 210 нм и 245 нм

Градиент растворителя для ВЭЖХ.

Удерживание (мин)	Поток (мл/мин)	% А	% В
0	1	40	60
0	1	40	60
1	1	40	60
4	1	100	0
4,1	1	40	60
5	1	40	60

Исследование высвобождения соединения А, используя MLV.

Высвобождение соединения А определяли, используя MLV в качестве акцепторного компартамента. В данном случае, соединение А-загруженные SUV (7,5 мг/мл) добавляли к этим MLV при различных соотношениях (об./об.). На фиг. 4 представлен профиль высвобождения соединения А из SUV к 100% ePL при разнообразных различных SUV:MLV соотношениях (об./об.).

Примечание. Для всех экспериментов MLV высвобождения, максимальную концентрацию (maxC=100%) получали путем разведения 7,5 мг/мл загруженных SUV 1 к 40, 1 к 100, 1 к 200, или 1 к 500 (об./об.) в сахарозно-гистициновом буфере вместо MLV.

Используя этот тип экспериментальной модели, наблюдали очень быстрое высвобождение соединения А из SUV в акцептор MLV. В данном случае, для разведения 1 к 40 только приблизительно 44% используемого исходного количества соединения А было обнаружено в SUV порции в образце только через 2 мин. Таким образом, ~60% было высвобождено или уже перенесено на акцепторную MLV порцию в эту временную точку. Более того, увеличение коэффициента разведения (1:100, 1:200, 1:500 SUV:MLV об./об.) только ускоряет и увеличивает высвобождение лекарственного средства, так как при t=2 мин разведение 1 к 100 демонстрирует высвобождение ~70%, разведение 1 к 200 ~80%, и для разведения 1 к 500 почти 90% всего количества лекарственного средства не было обнаружено нигде в SUV при t=2 мин и, следовательно, было высвобождено в акцепторный компартамент.

Вывод.

Был продемонстрирован быстрый профиль высвобождения соединения А с высвобождением вплоть до 90% лекарственного вещества только через 2 мин. Данные показывают, что липосомы физически не удерживают соединение А, инкапсулированное в присутствии избытка липидов, но существует быстрое перераспределение соединения А между всеми липидами, присутствующими во время инкубации. В условиях *in vivo* предполагают сопоставимое поведение. Препарат обеспечивает чрезвычайно благоприятный баланс эффективной солюбилизации соединения А, с желательным быстрым профилем высвобождения соединения А.

Пример 8. Композиция органического концентрата, содержащая соединение А и PEG300, вариант 1.

Состав	Состав на мл [мг]	Функция наполнителя
Соединение А	60	
DMPG-Na (1,2-Димиристоил- <i>sn</i> -глицеро-3-фосфо- <i>рац</i> -глицерин, натриевая соль)	4	стабилизатор
Этанол	94	растворитель
PEG300	224	растворитель, стабилизатор
пропиленгликоль	728	растворитель

Композиция может быть приготовлена, используя способ, аналогичный описанному в примере 1, или используя способы, хорошо известные квалифицированному специалисту в данной области техники.

Пример 9. Композиция органического концентрата, содержащая соединение А и PEG300, вариант 2.

Состав	Состав на мл [мг]	Функция наполнителя
Соединение А	60	
DMPG-Na (1,2-Димиристоил- <i>sn</i> -глицеро-3-фосфо- <i>рац</i> -глицерин, натриевая соль)	4	стабилизатор
Этанол	79	растворитель
PEG300	224	растворитель, стабилизатор
пропиленгликоль	792	растворитель

Композиция может быть приготовлена, используя способ, аналогичный описанному в примере 1, или используя способы, хорошо известные квалифицированному специалисту в данной области техники.

Пример 10. Композиция органического концентрата, содержащая соединение А и PEG300, вариант 3.

Состав	Состав на мл [мг]	Функция наполнителя
Соединение А	60	
DMPG-Na (1,2-Димиристоил- <i>sn</i> -глицеро-3-фосфо- <i>рац</i> -глицерин, натриевая соль)	2	стабилизатор
Этанол	94	растворитель
PEG300	224	растворитель, стабилизатор
пропиленгликоль	851	растворитель

Композиция может быть приготовлена, используя способ, аналогичный описанному в примере 1, или используя способы, хорошо известные квалифицированному специалисту в данной области техники.

Сравнительный пример 11. Органический концентрат, содержащий соединение А, без стабилизатора от гелеобразования.

Состав	Состав на мл [мг]	Функция наполнителя
Соединение А	60	
DMPG-Na (1,2-Димиристоил- <i>sn</i> -глицеро-3-фосфо- <i>рац</i> -глицерин, натриевая соль)	4	стабилизатор
Этанол	94	растворитель
пропиленгликоль	851	растворитель

Композиция может быть приготовлена, используя способ, аналогичный описанному в примере 1, или используя способы, хорошо известные квалифицированному специалисту в данной области техники.

Пример 12. Исследование физической стабильности органических концентратов из примеров 1, 8-10.

Исследование физической стабильности осуществляли с помощью двух отдельных методов: а) устойчивость к затравливанию и б) диагностическая стабильность при интенсивном перемешивании при 250 об/мин при 2°C.

а) Эксперимент затравливания осуществляли путем добавления ~1 мкл желированного препарата (соединение А: 60 мг/мл, DMPG: 4,0 мг/мл, пропиленгликоль 851 мг/мл, этанол: 94 мг/мл: этот раствор

застывал при хранении при перемешивании при 2°C) в прозрачные концентраты из примеров 1, 8 и 9. Образцы перемешивали вихревым способом в течение 10 с и хранили в холодильнике в течение ночи при 2-8°C. Примеры 1, 8 и 9 не проявляли гелеобразования соединения А при затравливании.

б) Исследования диагностической стабильности в условиях перемешивания осуществляли путем помещения 2 мл каждого органического концентрата в стеклянную пробирку и гомогенного перемешивания при 250 об/мин при 2°C. Как показано в табл. ниже, гелеобразования не происходило для препаратов, описанных в примерах 1, 8-10, в течение 10 дней. Через 13 дней композиция из примера 1 затвердела, тогда как препараты, описанные в примерах 8-10, оставались стабильными, то есть прозрачными растворами.

	Пример 1	Пример 8	Пример 9	Пример 10	Сравнительный Пример 11
48 часов	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	Необратимый белый гель
1 неделя	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	Необратимый белый гель
10 дней	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	-
13 дней	Обратимый белый гель	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	Прозрачный раствор	-

Благоприятно, препараты, содержащие PEG300, устойчивые к гелеобразованию в эксперименте перемешивания, описанном выше, в сочетании с резистентностью к затравливанию. Гелеобразованием примера 1 можно управлять путем выбора подходящей температуры хранения, например путем хранения при комнатной температуре.

Пример 13. Липосомальная загрузка, используя концентрат композиции из примеров 1, 8-10.

Загрузку липосом тестировали при шкале 23,7 мл, используя такой же самый подход, как и описанный в примере 3А.

Органический концентрат из примеров 8-10 проявлял сопоставимые характеристики загрузки липосом по сравнению с примером 1. Примеры 8-10 приводили к получению липосомальных препаратов с сопоставимой мутностью по сравнению с препаратами, полученными из примера 1.

	Липосомальный препарат из Примера 1 концентрат	Липосомальный препарат из Примера 8 концентрат	Липосомальный препарат из Примера 9 концентрат	Липосомальный препарат из Примера 10 концентрат
Размер, нм	54,3	58,3	54	62,6
PDI	0,287	0,298	0,283	0,282
Свето-прозрачность, %	71,2	72,9	72,2	70,7

Размер, нм, рассчитанный, как описано в настоящем изобретении;

PDI: коэффициент полидисперсности

Для облегчения липосомальной загрузки примера 8 и примера 9, исследовали загрузку с применением 19 G игл и сравнивали с иглой 21 G. Применение 19 G иглы приводило к незначительно меньшему размеру частиц и незначительно меньшей мутности по сравнению с инъекцией с применением 21 G иглы.

Пример 14. Физическая стабильность препаратов органических концентратов плацебо.

Препараты плацебо (без соединения А) тестировали при -20°C; экстремальное условие, которое может ускорять возможное осаждение компонентов препарата. Физическую стабильность органических концентратов плацебо, описанных ниже, исследовали вплоть до 17 дней.

Состав мг/мл	Плацебо из Примера 1	Плацебо из Примера 8	Плацебо из Примера 10
Пропиленгликоль	851	728	728
Этанол	94	94	94
DMPG-Na (1,2-Димиристоил- <i>sn</i> -глицеро-3-фосфо- <i>rac</i> -глицерин, натриевая соль)	4	4	2
PEG300	0	224	224
NaCl	4	0	0
Вода	10	0	0
Наблюдения	Плацебо из Примера 1	Плацебо из Примера 8	Плацебо из Примера 10
48 часов	мутный	прозрачный	прозрачный
6 дней	осаждение	прозрачный	прозрачный
10 дней	осаждение	прозрачный	прозрачный
17 Дней	осаждение	прозрачный	прозрачный

Осаждение наблюдали в композиции плацебо из примера 1. Композиция плацебо из примеров 8 и 10 оставалась прозрачной и не наблюдали осаждение во время осуществления эксперимента.

Пример 15. Химическая стабильность активных органических концентратов из примеров 1, 8 и 9.

Тестировали химическую стабильность активного соединения в препаратах из примеров 1, 8 и 9, в особенности для исследования уровней примесей, возникающих вследствие окислительного разложения, и образования нежелательного атропизомера.

Идентификация, исследование и продукты разложения с помощью ВЭЖХ.

**Принцип** Метод ВЭЖХ с обращенной фазой с образованием ионных пар и УФ-обнаружением

**Реагенты**

*Ацетонитрил* градиентная чистота, например, Merck LiChrosolv № 100030

*Этанол* степень чистоты для ЖХ, например, Merck 1.00983

*Муравьиная кислота* степень чистоты для ЖХ, например, Prolabo № 84865.260

*Гидроксид аммония 25 %* Аналитическая степень чистоты, например, Sigma № 09860

*H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 %* Аналитическая степень чистоты, например, Sigma № 95313

*Вода* MilliQ или ВЭЖХ степень чистоты

*Разведенный гидроксид аммония* В мерную колбу объемом 50,0 мл, вносили 2,5 мл гидроксида аммония 25 % и доводили объем с помощью очищенной воды.

*Разбавитель* Этанол

**Материалы**

*Лабораторная посуда* Можно использовать янтарную стеклянную лабораторную посуду

**Оборудование**

*Прибор* ВЭЖХ система с градиентным элюированием и УФ-детектором, например, Agilent 1290 с УФ-детектором или эквивалентом

*Колонка* Acquity VEN C18  
Длина: 100 мм, внутренний диаметр: 2,1 мм  
Размер частиц: 1,7 мкм

*Дополнительное оборудование* Ультразвуковая баня, аналитические весы,  
микровесы

### **Хроматографические условия**

<i>Режим разделения</i>	Градиент
<i>Подвижная Фаза А</i>	Вода + ацетонитрил + муравьиная кислота, 95 + 5 + 0,02 (об./об./об.) Значение рН водной фракции = 4,9, доведенное с помощью гидроксида аммония. Добавляли 200 мкл муравьиной кислоты к 950 мл воды. Доводили значение рН до 4,9, используя разведенный гидроксид аммония. Добавляли 50 мл ацетонитрила.
<i>Подвижная Фаза В</i>	Вода + ацетонитрил + муравьиная кислота, 5 + 95 + 0,02 (об./об./об.), значение рН водной фракции = 4,9, доведенное с помощью гидроксида аммония. Добавляли 200 мкл муравьиной кислоты к 50 мл воды. Доводили значение рН до 4,9, используя разведенный гидроксид аммония. Добавляли 950 мл ацетонитрила. Можно использовать различные объемы, при условии, что объемное соотношение останется таким же.

Таблица градиентов.

<b>Время [мин]</b>	<b>Фаза А [%]</b>	<b>Фаза В [%]</b>
0,0	100	0
2,0	100	0
3,0	60	40
11,0	52	48
14,0	10	90
14,3	100	0
16,0	100	0

<i>Скорость потока</i>	0,6 мл/мин
<i>Обнаружение</i>	УФ 210 нм
<i>Температура колонки</i>	40 °С
<i>Температура автоматического пробоотборника</i>	2-8 °С
<i>Введение промывочного растворителя</i>	Этанол, используя порт для промывания минимум с 10 секундами
<i>Вводимый объем</i>	5 мкл тестируемых и сравнительных растворов, эквивалентно приблизительно 1,0 мкг лекарственного вещества, указанного в сравнительном растворе

Состав	Временная точка (недели)	Темп °С	Нежелательный атропоизомер, %	Ox1 %	Ox2 %	SUM DP
Пример 8	6	5	<0,1	<0,1	<0,1 (0,06*)	<0,1
		40	3,78	<0,1 (0,04*)	0,13	0,13
Пример 8	8	5	<0,1	<0,1	<0,1 (0,05*)	<0,1
		40	4,86	<0,1	0,18	0,28
Пример 9	6	5	<0,1	<0,1	<0,1 (0,07*)	<0,1
		40	3,53	<0,1 (0,02*)	0,11	0,11
Пример 9	8	5	<0,1	<0,1	<0,1 (0,04*)	<0,1
		40	4,42	<0,1	0,14	0,14
Пример 1	6	5	1,54	<0,1	<0,1 (0,05*)	<0,1
		40	4,63	<0,1	<0,1 (0,04*)	<0,1
Пример 1	8	5	1,62	<0,1	<0,1 (0,04*)	<0,1
		40	6,06	<0,1	<0,1 (0,05*)	<0,1
Пример 1, свежеприготовленный	5	5	<0,1	<0,1	<0,1 (0,04*)	<0,1
		40	2,82	<0,1	<0,1 (0,06*)	<0,1
Пример 1, свежеприготовленный	7	5	<0,1	<0,1	<0,1 (0,03*)	<0,1
		40	3,58	<0,1	<0,1 (0,05*)	<0,1

\*ниже определяемого уровня;  
% выражали в виде % площади пика;

Ox1 и Ox2 представляют собой два продукта окислительного разложения

Сумма DP представляет собой сумму продуктов разложения, за исключением атропоизомеров, выше определяемого уровня. Композицию из "примера 1" приготавливали за 8 месяцев до исследования, хранили при 25°C вплоть до начала исследования. Композицию из "примера 1, свежеприготовленная" приготавливали непосредственно перед началом исследования и сразу помещали при 5°C и 40°C соответственно.

Продукты окислительного разложения были низкими для всех вариантов препаратов, указанных выше. Обнаруженное повышение нежелательного атропоизомера было связано с температурой и временем, но не изменялось для тестируемых вариантов препаратов.

При визуальном контроле не обнаруживали изменения цвета концентрата в любых тестируемых препаратах, указанных выше.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция органического концентрата, предназначенная для изготовления фармацевтической композиции, содержащая:

а) соединение А, которое представляет собой 2-[[5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси]-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль,

б) отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор, где этот отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор выбирают из натриевой или аммониевой соли DMPG (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин или димиристоил фосфатидилглицерин), натриевой соли POPG (1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой соли DOPS (1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфосерин), натриевой соли DOPG (1,2-диолеоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой или аммониевой соли DPPG (1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой или аммониевой соли DSPG (1,2-дистеароил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой соли соевой фосфатидной кислоты (PA), натриевой соли яичной фосфатидной кислоты (PA), натриевой соли соевого фосфатидилсерина (PS), натриевой соли яичного фосфатидилглицерина (PG), натриевой соли соевого фосфатидилглицерина (PG), натриевой соли фосфатидилинозитола (PI), яичного лецитина, соевого лецитина и олеата натрия, и

в) стабилизатор от гелеобразования, где этот стабилизатор от гелеобразования представляет собой полимер, выбранный из PEG300 и PEG400, или электролит, выбранный из хлорида натрия.

2. Композиция органического концентрата по п.1, содержащая соединение А, которое представляет собой (2R)-2-[[[(5S<sub>a</sub>)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этоксифенил]-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль.

3. Композиция органического концентрата по п.1 или 2, где соединение А представляет собой свободную молекулу.

4. Композиция органического концентрата по любому из пп.1-3, где отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор представляет собой 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин, натриевую или аммониевую соль, яичный лецитин, такой как Lipoïd E 80 S, соевый лецитин, такой как Lipoïd S 75, предпочтительно 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин, натриевую соль.

5. Композиция органического концентрата по любому из пп.1-4, где стабилизатор от гелеобразования представляет собой хлорид натрия.

6. Композиция органического концентрата по любому из пп.1-4, где стабилизатор от гелеобразования представляет собой PEG300.

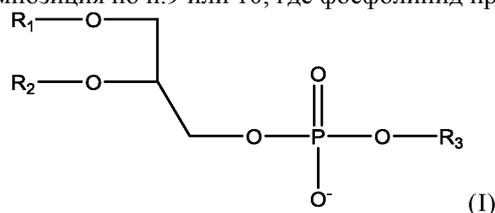
7. Композиция органического концентрата по любому из пп.1-6, дополнительно содержащая растворитель.

8. Композиция органического концентрата по любому из пп.1-7, дополнительно содержащая растворитель, выбранный из пропиленгликоля и этанола, или предпочтительно содержащая оба компонента, пропиленгликоль и этанол.

9. Фармацевтическая композиция, полученная в результате смешивания композиции органического концентрата по любому из пп.1-8 и липосомального носителя, где указанный липосомальный носитель содержит фосфолипид и агент, корректирующий тоничность, выбранный из декстрозы, глюкозы, маннита, сахарозы, лактозы, трегалозы, глицерина и NaCl.

10. Фармацевтическая композиция по п.9, где фосфолипид выбирают из яичного лецитина, соевого лецитина или синтетических фосфолипидов.

11. Фармацевтическая композиция по п.9 или 10, где фосфолипид представлен формулой



где

R<sub>1</sub> представляет собой C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub>ацил;

R<sub>2</sub> представляет собой C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub>ацил;

R<sub>3</sub> представляет собой водород, 2-триметиламино-1-этил, 2-амино-1-этил, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси и гидроксильный, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси и амино, инозитоловую группу или глицерильную группу; или соль такого соединения.

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп.9-11, где фосфолипид выбирают из яичного лецитина, соевого лецитина, POPC (пальмитоил олеил фосфатидилхолин), DOPC (1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфохолин) и DMPC (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин), предпочтительно POPC (пальмитоил олеил фосфатидилхолин), DOPC (1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфохолин) и DMPC (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин), предпочтительно POPC.

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп.9, 10 или 12, где фосфолипид выбирают из яичного лецитина или соевого лецитина, содержащего по меньшей мере 70% фосфатидилхолина, предпочтительно из Lipoïd E 80 S.

14. Фармацевтическая композиция по любому из пп.9-13, где агент, корректирующий тоничность, выбирают из сахарозы или глицерина.

15. Фармацевтическая композиция, содержащая липосомы и дополнительно:

а) соединение А, которое представляет собой 2-[[[(5S<sub>a</sub>)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этоксифенил]-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль; и

б) стабилизатор от гелеобразования, который представляет собой полимер, выбранный из PEG300 и PEG400, или электролит, выбранный из хлорида натрия.

16. Фармацевтическая композиция по п.15, где соединение А представляет собой свободную молекулу.

17. Фармацевтическая композиция по п.15 или 16, где стабилизатор от гелеобразования представляет собой хлорид натрия.

18. Фармацевтическая композиция по п.15 или 16, где стабилизатор от гелеобразования представля-

ет собой PEG300.

19. Фармацевтическая композиция по любому из пп.15-18, дополнительно содержащая отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор, где указанный отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор выбирают из натриевой или аммониевой соли DMPG (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин или димиристоил фосфатидилглицерин), натриевой соли POPG (1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой соли DOPS (1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфосерин), натриевой соли DOPG (1,2-диолеоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой или аммониевой соли DPPG (1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой или аммониевой соли DSPG (1,2-дистеароил-sn-глицеро-3[фосфо-рац-(1-глицерин)]), натриевой соли соевой фосфатидной кислоты (PA), натриевой соли яичной фосфатидной кислоты (PA), натриевой соли соевого фосфатидилсерина (PS), натриевой соли яичного фосфатидилглицерина (PG), натриевой соли соевого фосфатидилглицерина (PG), натриевой соли фосфатидилинозитола (PI), яичного лецитина, такого как Lipoid E 80 S, соевого лецитина, такого как Lipoid S 75, и олеата натрия.

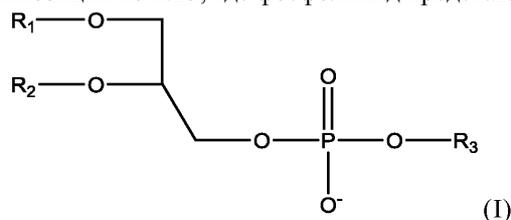
20. Фармацевтическая композиция по п.19, где отрицательно заряженный или полярный фосфолипидный стабилизатор представляет собой 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин, натриевую или аммониевую соль, яичный лецитин, такой как Lipoid E 80 S, соевый лецитин, такой как Lipoid S 75, предпочтительно 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-рац-глицерин, натриевую соль.

21. Фармацевтическая композиция по любому из пп.15-20, дополнительно содержащая растворитель.

22. Фармацевтическая композиция по п.21, где указанный растворитель выбирают из пропиленгликоля и этанола, или предпочтительно содержащая оба компонента, пропиленгликоль и этанол.

23. Фармацевтическая композиция по любому из пп.15-22, содержащая фосфолипид, выбранный из яичного лецитина, соевого лецитина или синтетических фосфолипидов.

24. Фармацевтическая композиция по п.23, где фосфолипид представлен формулой



где

R<sub>1</sub> представляет собой C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub>ацил;

R<sub>2</sub> представляет собой C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub>ацил;

R<sub>3</sub> представляет собой водород, 2-триметиламино-1-этил, 2-амино-1-этил, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси и гидрокси, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>алкил, замещенный карбокси и amino, инозитоловую группу или глицериловую группу;

или соль такого соединения.

25. Фармацевтическая композиция по п.23 или 24, где фосфолипид выбирают из яичного лецитина, соевого лецитина, POPC (пальмитоил олеоил фосфатидилхолин), DOPC (1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин) и DMPC (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин), предпочтительно POPC (пальмитоил олеоил фосфатидилхолин), DOPC (1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин) и DMPC (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин), предпочтительно POPC.

26. Фармацевтическая композиция по п.23 или 25, где фосфолипид выбирают из яичного лецитина или соевого лецитина, содержащего по меньшей мере 70% фосфатидилхолина, предпочтительно из Lipoid E 80 S.

27. Фармацевтическая композиция по любому из пп.15-26, дополнительно содержащая агент, корригирующий тоничность, который предпочтительно выбирают из декстрозы, глюкозы, маннита, сахарозы, лактозы, трегалозы, глицерина и NaCl.

28. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.9-14 или пп.15-27 в качестве лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования.

29. Применение фармацевтической композиции по п.28, где злокачественное новообразование предпочтительно выбирают из злокачественных новообразований мочевого пузыря, головного мозга, молочной железы и матки, хронических лимфоидных лейкозов, злокачественного новообразования толстой кишки, пищевода и печени, лимфобластных лейкозов, острого миелоидного лейкоза, лимфом, например неходжкинской В-клеточной лимфомы и диффузной В-крупноклеточной лимфомы, меланом, злокачественных болезней крови, например миелодиспластического синдрома, миелом, например множественной миеломы, рака яичников, немелкоклеточного рака легкого, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы и мелкоклеточного рака легкого.

30. Применение композиции органического концентрата по любому из пп.1-8 для приготовления

лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования.

31. Комбинация для лечения злокачественного новообразования, содержащая:

а) фармацевтическую композицию по любому из пп.9-14 или пп.15-27, и

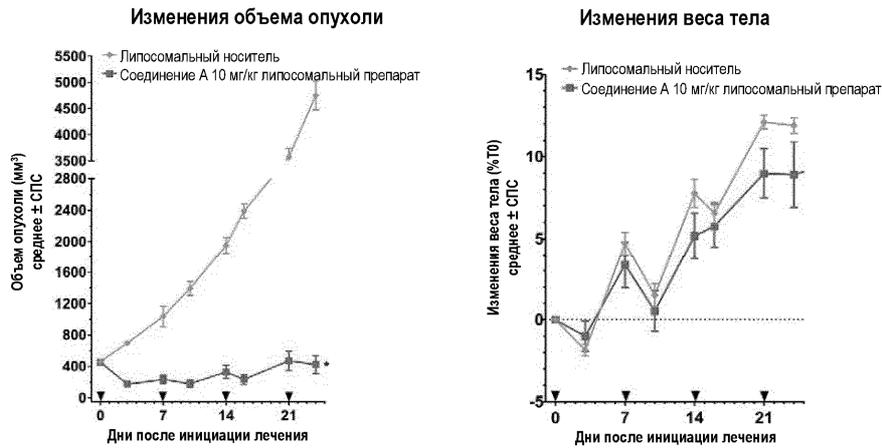
б) одно или несколько терапевтически активных средств для одновременного, последовательного или раздельного применения.

32. Набор для лечения злокачественного новообразования, содержащий:

а) липосомальный носитель,

б) композицию органического концентрата по любому из пп.1-8.

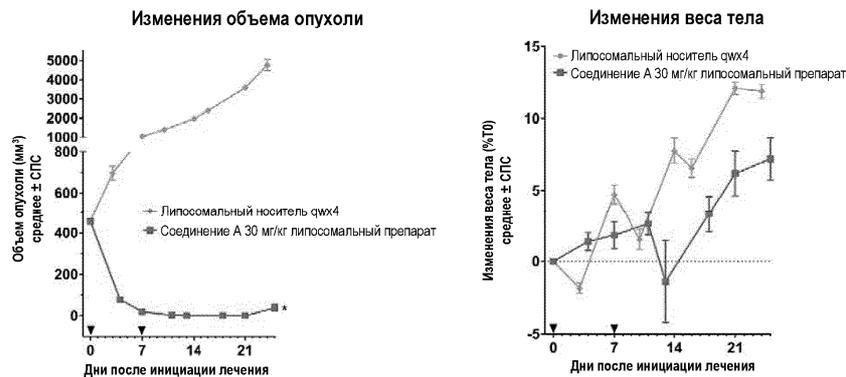
**Эффективность и переносимость липосомально приготовленного Соединения А после введения раз в неделю в дозе 10 мг/кг самкам бестимусных крыс, несущим MV4;11 AML ксенотрансплантаты**



\*  $p < 0,5$  по сравнению с группой с носителем (однофакторный дисперсионный анализ с ретроспективным критерием Дуннетта)

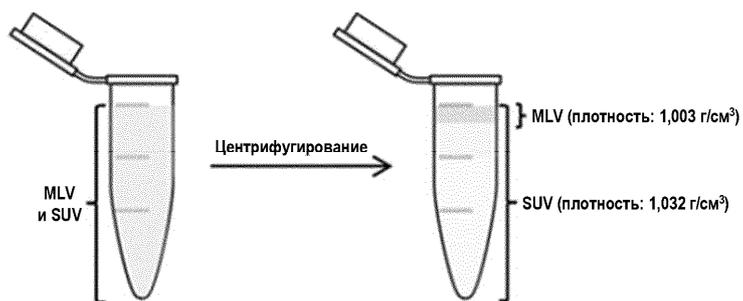
Фиг. 1

**Эффективность и переносимость липосомально приготовленного Соединения А после введения раз в неделю в дозе 30 мг/кг самкам бестимусных крыс, несущим MV4;11 AML ксенотрансплантаты**



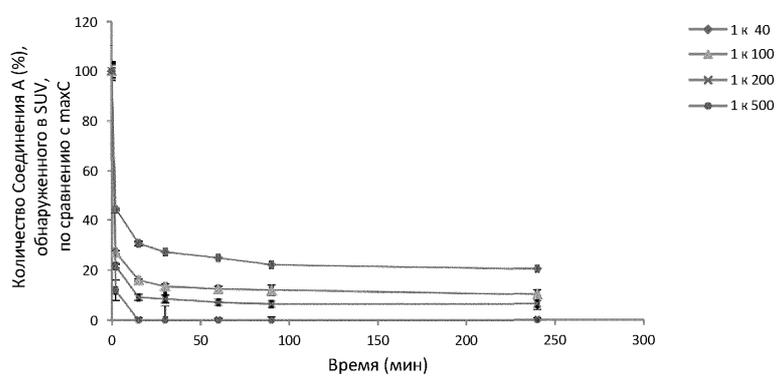
\*  $p < 0,5$  по сравнению с группой с носителем (однофакторный дисперсионный анализ с ретроспективным критерием Дуннетта)

Фиг. 2



Фиг. 3

**Профиль высвобождения Соединения из A SUV в 100 % ePC MLV при различных соотношениях SUV:MLV (об./об.)**



Фиг. 4

