



(51) МПК  
*A61K 9/14* (2006.01)  
*A61K 31/439* (2006.01)  
*A61K 47/34* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013145610/15, 13.12.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
13.12.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
13.12.2011 US 13/324.407

(45) Опубликовано: 27.07.2015 Бюл. № 21

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: US 2008275076 A1, 06.11.2008. US  
6387406 B1, 14.05.2002. US 2011033538 A1,  
10.02.2011. US 2003118550 A1, 26.06.2003.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 13.02.2014

(86) Заявка РСТ:  
US 2012/069544 (13.12.2012)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2013/090602 (20.06.2013)

Адрес для переписки:  
127562, Москва, а/я 67, ООО "Асирис-М", для  
Корниенко Е.В.

(72) Автор(ы):

Петржинский Грегорж (СА),  
Алахов Валерий (СА),  
Патель Кишо (СА)

(73) Патентообладатель(и):

Эверон Байосайенсиз, Инк. (US)

RU 2 557 919 C1

(54) СЫПУЧИЙ ПРЕССУЕМЫЙ ПОРОШОК РАПАМИЦИНА И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ  
КОМПОЗИЦИЯ НА ЕГО ОСНОВЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно к фармацевтической композиции в форме сухого, текучего, прессуемого порошка, содержащей (а) рапамицин и смесь (б) гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена и (в) гидрофильного блок-сополимера

полиоксиэтилена и полиоксипропилена с весовыми пропорциями б:в, равными от 1:3 до 1:9. Изобретение обеспечивает увеличение прессуемости порошка и повышение устойчивости и биодоступности рапамицина. 2 н. и 13 з.п. ф-лы, 8 пр., 5 табл.

RU 2 557 919 C1



(51) Int. Cl.  
*A61K 9/14* (2006.01)  
*A61K 31/439* (2006.01)  
*A61K 47/34* (2006.01)

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2013145610/15, 13.12.2012

(24) Effective date for property rights:  
13.12.2012

Priority:

(30) Convention priority:  
13.12.2011 US 13/324.407

(45) Date of publication: 27.07.2015 Bull. № 21

(85) Commencement of national phase: 13.02.2014

(86) PCT application:  
US 2012/069544 (13.12.2012)

(87) PCT publication:  
WO 2013/090602 (20.06.2013)

Mail address:

127562, Moskva, a/ja 67, OOO "Asiris-M", dlja  
Kornienko E.V.

(72) Inventor(s):

Petrzhinskij Gregorzh (CA),  
Alakhov Valerij (CA),  
Patel' Kisho (CA)

(73) Proprietor(s):

Ehveron Bajosajensiz, Ink. (US)

RU 2 557 919 C1

(54) FREE-FLOWING COMPRESSIBLE RAPAMYCIN POWDER AND THEREOF-BASED PHARMACEUTICAL COMPOSITION

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceutics.

SUBSTANCE: invention relates to pharmaceutical industry, namely to pharmaceutical composition in form of dry, free-flowing, compressible powder, which contains (a) rapamycin and mixture of (b) hydrophobic polyoxyethylene and polyoxypropylene block-copolymer and (c) hydrophilic polyoxyethylene and

polyoxypropylene block-copolymer with weight proportions b:c equal from 1:3 to 1:9.

EFFECT: invention provides increase of powder compressibility and increase of rapamycin stability and bioavailability.

15 cl, 8 ex, 5 tbl

RU 2 557 919 C1

Настоящая заявка на патент притязает на приоритет заявки, на патент США №13/324,407, зарегистрированной 13 декабря 2011 года, разглашение которой содержится в данной заявке на патент в виде справочной информации.

Предмет изобретения патента

5 Одним из направлений настоящего изобретения на патент является получение сухой, текучей и прессуемой композиции рапамицина, содержащей рапамицин и смесь гидрофобных и гидрофильных блок-сополимеров полиоксиэтилена и полиоксипропилена. Другим направлением настоящего изобретения на патент является метод производства композиции. Данный метод может быть использован в фармации.

10 Предпосылки создания изобретения

Рапамицин или сиролимус является макролидом, который впервые был открыт в качестве продукта бактерий вида *Streptomyces hygroscopicus* из образца почвы Острова Пасхи. Несмотря на то, что изначально он был представлен на рынке в качестве иммунодепрессанта, в последнее время на этот препарат было зарегистрировано

15 несколько дополнительных показаний к применению. При некоторых показаниях было бы целесообразно увеличить количество рапамицина, который сохраняется в определенных типах клеток. Польза определенных блок-сополимеров полиоксиэтилена и полиоксипропилена, содержащих 50% или более гидрофобной части в качестве фармацевтического эксципиента для повышения поглощения активных веществ в

20 определенных типах клетки, была описана в большом количестве публикаций. Например, в патенте США 5840319 и патенте США 6060518 публикации Алахова - "Гипосенсибилизация клеток карциномы яичников с множественной лекарственной устойчивостью блок-сополимером Плюроник Р85", журнал «Bioconjugate Chemistry» 7, 209-216 (1996); и Батраковой - "Антраклиновые антибиотики, нековалентно

25 соединенные с полимерными мицеллами: оценка противораковой деятельности *in vivo*», Британский журнал раковых исследований 74: 1545-1552 (1996). Существует мнение, что данный эффект был достигнут благодаря торможению механизмов опосредованного АВС оттока в таких клетках. См. патент США 6387406.

К сожалению, было обнаружено, что такие гидрофобные блок-сополимеры (также 30 известные как полоксамеры; продающиеся под торговым названием «Плюроники») имеют свойство соединяться в водной среде при физиологических температурах (см. патент США 6387406, Пример 34). Такое соединение в физиологических условиях может быть устранено путем сочетания гидрофобных полоксамеров и определенных гидрофильных полоксамеров, как описано в патенте США 30 6387406.

35 Использование таких смесей гидрофильных и гидрофобных полимеров было представлено для того, чтобы значительно повысить эффективность определенных препаратов в процессе клинических исследований. Таким образом, Балле, в публикации "Фаза 2 исследования SPI049C, доксорубицин в плюрониках, направленных на Р-гликопротеин, у пациентов с запущенной adenокарциномой пищевода и пищеводно-желудочного соединения" в Журнале «Invest New Drugs»; DOI 10.1007/s 10637-010-9399-1 от 24 февраля 2010 г., описывает Фазу II исследования, в котором SP 1049C (состав, содержащий доксорубицин, гидрофобный Плюроник L61 и гидрофильный Плюроник F127) выявил 47% ответной реакции у оцениваемых пациентов (43% - в составе ITT формуляции). В противопоставление, в своей публикации "Химиотерапия запущенной 40 карциномы пищевода"; Журнал рака 46:2149-2153; 1980, Ezdinli показывает, что Адриамицин (композиция свободного доксорубицина) выявил ответную реакцию только у 5% пациентов при проведении оценки монотерапии во II фазе клинических испытаний у пациентов с запущенным раком пищевода (см. полный абзац на стр.2152, первая

колонка).

К сожалению, состав гидрофобных и гидрофильных блок-сополимеров, используемых в исследованиях Балле, изготовленных путем смешивания Плюроника L61 и Плюроника F127 в водном растворе (вместе с активным материалом) и лиофилизации смеси для 5 формирования восковых гранул, не растворяется быстро в водных растворах. См. публикацию заявки США на патент 2007/0196493. Соответственно, такая композиция требует осторожности при использовании в обычной больнице, так как может 10 понадобиться время для того, чтобы гарантировать полное растворение восковой смеси полимеров в жидкой среде (как правило, в физиологическом растворе) до того, как она попадет к пациентам. Заявка на патент США 2007/0196493 раскрывает, что 15 такая восковая смесь будет быстро растворяться в жидкой среде, если сахар или похожий материал, предпочтительней лактозу, внедрить в матрицу полимеров путем добавления такого материала в жидкую среду, высушеннную с образованием полимерной композиции. Хотя заявка на патент США 2007/0196493 раскрывает информацию о смеси, быстро растворяющейся в жидкой среде, восковая природа такой композиции делает ее непригодной для использования в виде таблеток или других подобных формах назначения.

Поэтому существует необходимость для определения технологии приготовления рапамицина, которая бы использовала подавление опосредованного АВС оттока, 20 представленного гидрофобными полоксамерами (сополимеры которого становятся жидкостями при комнатной температуре), составы которых не соединяются в физиологических условиях и которые являются подходящими для производства их в виде таблеток и других сухих формах применения.

Соответственно, предметом настоящего изобретения на патент является обеспечение 25 такой композиции рапамицина, которая содержала бы гидрофобные полоксамеры в виде сыпучего, прессуемого порошка и могла бы быть использована для получения фармацевтических составов. Дальнейшей целью настоящего изобретения на патент является предоставление метода производства композиции рапамицина.

#### Сущность изобретения на патент

30 Одним из направлений настоящего изобретения на патент является получение сухой, сыпучей и прессуемой композиции, состоящей из:

- гидрофобных блок-сополимеров полиоксиэтилена и полиоксипропилена;
- гидрофильных блок-сополимеров полиоксиэтилена и полиоксипропилена;
- рапамицина.

35 Другим направлением настоящего изобретения на патент является процесс производства сухой, сыпучей и прессуемой композиции рапамицина, состоящий из следующих этапов:

#### а) смешивания:

- гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена;

- гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена;

- рапамицина;

в органическом растворителе с образованием органической композиции

б) высушивания органической композиции.

#### Подробное описание изобретения на патент

45 Одним из направлений настоящего изобретения на патент является получение сухой, сыпучей и прессуемой композиции, состоящей из:

а. гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена;

б. гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена;

в. рапамицина.

Предпочтительней, чтобы композиция содержала рапамицин и смесь ниже представленной группы, в состав которой входит:

5 i. (а) Гидрофобный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу примерно 2000 и весовой процент гидрофобной части равный примерно 90%, и (б) гидрофильный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу примерно 12,600 и весовой процент гидрофобной части, равный примерно 30%; имеющие весовые пропорции а:б - примерно 1:4 или выше;

10 ii. (а) Гидрофобный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу примерно 2750 и весовой процент гидрофобной части примерно 90%, и (б) гидрофильный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу примерно 12,600 и весовой процент гидрофобной части примерно 30%; имеющие весовые пропорции а:б - примерно 15 1:3 или выше;

20 iii. (а) Гидрофобный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу примерно 3650 и весовой процент гидрофобной части 80%, и (б) гидрофильный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу примерно 7,700 и весовой процент гидрофобной 25 части примерно 30%; имеющие весовые пропорции а:б - примерно 1:4 или выше;

iv. (а) Гидрофобный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу примерно 3650 и весовой процент гидрофобной части примерно 80%, и (б) гидрофильный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу примерно 14,600 и весовой 25 процент гидрофобной части примерно 20%; имеющие весовые пропорции а:б - примерно 1:3 или выше;

30 v. (а) Гидрофобный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу примерно 3650 и весовой процент гидрофобной части примерно 80%, и (б) гидрофильный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу примерно 12,600 и весовой процент гидрофобной части примерно 30%; имеющие весовые пропорции а:б - примерно 1:4 или выше.

Наиболее предпочтительно следующее содержание композиции:

35 i. (а) блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена со средней молекулярной массой примерно 3650 и весовым процентом гидрофобной части примерно 80% и (б) блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена со средней молекулярной массой примерно 12,600 и весовым процентом гидрофобной части примерно 30%; имеющие весовые пропорции а:б - примерно 1:4 или выше;

ii. рапамицин.

40 Фраза «или выше» в сочетании с пропорциями блок-сополимеров в данном документе означает, что второе число пропорции может быть выше, чем представленное число. Таким образом, например, фраза «1:4 и выше» означает 1:5, но не означает 1:2.

Термин «рапамицин» в данном документе означает 20 фармацевтически допустимых солей рапамицина.

45 Кроме того, термин «примерно» в данном документе - в сочетании с величинами, такими как молекулярная масса или весовой процент состава, - означает установленную величину или диапазон величин, которые специалист в данной отрасли техники, к которой относится настоящее изобретение, различит как получение состава, имеющего

свойства настоящего изобретения на патент.

Далее, в данном документе термин «весовой процент гидрофобной части» означает весовой процент полиоксипропилена, содержащегося в матрице блок-сополимера. Таким образом, «гидрофобный» блок-сополимер будет содержать более высокий весовой процент полиоксипропилена, чем полиоксиэтилена, а "гидрофильный" блок-сополимер будет содержать более высокий весовой процент полиоксиэтилена, чем полиоксипропилена.

Блок-сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена, используемые в составе настоящего изобретения на патент, доступны на рынке под торговым названием «Плюроники» Корпорации BASF. А именно, следующие описания выше применимы к следующим Плюроникам:

- Плюроник L61 А - блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу 2000 и весовой процент гидрофобной части - 90%.

- Плюроник L81 А - блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу 2750 и весовой процент гидрофобной части - 90%.

- Плюроник L92 А - блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу 3650 и весовой процент гидрофобной части - 80%.

- Плюроник F87 - блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу 7700 и весовой процент гидрофобной части - 30%.

- Плюроник F108 А - блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу 14,600 и весовой процент гидрофобной части - 20%.

- Плюроник F127 - блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющий среднюю молекулярную массу 12,600 и весовой процент гидрофобной части - 30%.

Таким образом, сухая, текучая и прессуемая композиция эксципиона настоящего изобретения на патент может состоять из следующих сочетаний:

i. Плюроник L61 с Плюроником F127, с весовыми пропорциями примерно 1:4 или выше;

ii. Плюроник L81 с Плюроником F127, с весовыми пропорциями примерно 1:3 или выше;

iii. Плюроник L92 с Плюроником F87, с весовыми пропорциями примерно 1:4 или выше;

iv. Плюроник L92 с Плюроником F108, с весовыми пропорциями примерно 1:3 или выше;

или

v. Плюроник L92 с Плюроником F127, с весовыми пропорциями примерно 1:4 или выше; с рапамицином.

Композиция может иметь широкий диапазон соотношений гидрофобных полоксамеров к гидрофильным полоксамерам. В одном варианте, композиция имеет соотношение гидрофобных полоксамеров к гидрофильным полоксамерам, равное от 1:3 до 1:25, включая все целые величины между 1:3 и 1:25 (например, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 и т.д. до 1:25). Подходящий эксципиона будет содержать, по крайней мере, примерно 5%

веса гидрофобного полоксамиера от общего веса гидрофобного и гидрофильного полоксамеров (весовая пропорция - 1:19); и, в целом, будет содержать, по крайней мере, примерно 10% веса гидрофобного полоксамиера от общего веса гидрофобного и гидрофильного полоксамеров (весовая пропорция - 1:9).

Композиции настоящего изобретения на патент могут содержать широкий диапазон соотношений целых полоксамеров (гидрофобного полоксамера и гидрофильного полоксамера) к рапамицину. Как правило, такие соотношения находятся в диапазоне от примерно 100:1 до примерно 1:1; обычно - в диапазоне от примерно 75:1 до примерно 5:1; предпочтительно, чтобы они находились в диапазоне от примерно 60:1 до примерно 20:1; и наиболее предпочтительно - в диапазоне от примерно 50:1 до 40:1; по массе.

Необходимо, чтобы композиции рапамицина настоящего изобретения на патент, являясь сухими сыпучими прессуемыми порошками, имели коэффициент прессуемости меньше чем примерно 20, предпочтительно - меньше чем примерно 10 и наиболее 10, предпочтительно - примерно 5 или меньше. Такая текучесть является неожиданной, так как идентичные смеси произведенных блок-сополимеров, при использовании воды, а не органического растворителя, имеют гораздо более высокий коэффициент прессуемости. В результате, такие составы неожиданно имеют необходимый коэффициент прессуемости.

Далее, такие составы неожиданно являются сыпучими, так как используемый гидрофобный полоксамер является жидкостью, в то время как используемые гидрофильные полоксамеры являются восковыми твердыми веществами.

Композиции рапамицина настоящего изобретения на патент содержат достаточное количество действующего активного вещества, так что терапевтическая доза может быть обеспечена пациенту, количество которого может быть легко определено специалистом в данной отрасли. Следует понимать, что точная дозировка будет разная, в зависимости от возраста, веса, пола и состояния, а также от тяжести заболеваний, подлежащих лечению, и т.д., на усмотрение врача.

В дополнение к смеси эксципиента полоксамеров и рапамицина, фармацевтические композиции настоящего изобретения на патент могут в дальнейшем содержать другие фармацевтически приемлемые эксципиенты, такие как сахара, многоатомные спирты, водорастворимые полимеры, соли и жиры. Подходящие сахара и многоатомные спирты, которые могут применяться, включают в себя, без ограничений, лактозу, сахарозу, маннитол и сорбитол. Примерами водорастворимых полимеров могут выступать

30 полиоксиэтилен, полоксамеры, поливинилпирролидон и декстран. Пригодные соли включают, без ограничений, хлорид соды, хлорид магния и хлорид кальция.

Используемые жиры включают, без ограничений, сложные эфиры жирных кислот, гликолипиды и фосфолипиды. Обычно подобные дополнительные эксципиенты смешивают с сухой композицией полоксамиера / рапамицина.

Характерно, что композиции настоящего изобретения на патент будут в дальнейшем содержать стабилизатор, который предотвращает разложение рапамицина в щелочных средах. Может быть использован любой фармацевтически приемлемый модификатор pH, предотвращающий ощелачивание состава. Примеры таких стабилизаторов - аскорбиновая кислота, молочная кислота и лимонная кислота; лимонная кислота

40 наиболее предпочтительна.

Сухая, сыпучая и прессуемая композиция рапамицина настоящего изобретения на патент может быть изготовлена путем выполнения следующих шагов:

а. смешивания

(i) гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена;

45 (ii) гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена;

(iii) рапамицина

в органическом растворителе с образованием органического соединения;

б. высушивания органического соединения.

Предпочтительно, чтобы композиция была изготовлена путем:

(а) смешивания рапамицина с комбинацией блок-сополимеров полиоксиэтилена и полиоксипропилена, выбранных из ниже представленной группы, состоящей из:

i. (а) блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю

5 молекулярную массу примерно 2000 и весовой процент гидрофобной части примерно 90%, и (б) блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 12,600 и весовой процент гидрофобной части примерно 30%, с весовыми пропорциями а: б примерно 1:4 или выше;

ii. (а) блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю

10 молекулярную массу примерно 2750 и весовой процент гидрофобной части примерно 90%, и (б) блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 12,600 и весовой процент гидрофобной части примерно 30%, с весовыми пропорциями а:б примерно 1:3 или выше;

iii. (а) блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю

15 молекулярную массу примерно 3650 и весовой процент гидрофобной части примерно 80%, и (б) блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 7,700 и весовой процент гидрофобной части примерно 30%, с весовыми пропорциями а:б примерно 1:4 или выше,

iv. (а) блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю

20 молекулярную массу примерно 3650 и весовой процент гидрофобной части примерно 80%, и (б) блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 14,600 и весовой процент гидрофобной части примерно 20%, с весовыми пропорциями а:б примерно 1:3 или выше; и

v. (а) блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю

25 молекулярную массу примерно 3650 и весовой процент гидрофобной части примерно 80%, и (б) блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 12,600 и весовой процент гидрофобной части примерно 30%, с весовыми пропорциями а:б примерно 1:4 или выше;

в органическом растворителе с образованием органического соединения;

30 (б) высушивания данного органического соединения.

Наиболее предпочтительно, чтобы такие композиции были сформированы путем:

а. смешивания рапамицина и одного или нескольких соединений, выбранных из ниже представленной группы Плюроников:

i. Плюроник L61 с Плюроником F127, весовые пропорции примерно 1:4 или выше;

35 ii. Плюроник L81 с Плюроником F127, весовые пропорции примерно 1:3 или выше;

iii. Плюроник L92 с Плюроником F87, весовые пропорции примерно 1:4 или выше;

iv. Плюроник L92 с Плюроником F108, весовые пропорции примерно 1:3 или выше;

и

v. Плюроник L92 с Плюроником F127, весовые пропорции примерно 1:4 или выше;

40 с органическим растворителем с образованием органической композиции;

б. высушивания данной органической композиции.

Предпочтительно, чтобы органические растворители, которые могут быть

использованы, включали спирты, в частности этанол, и галогенированные углеводороды, особенно дихлорметан. Смешивание обычно производится при

45 комнатной температуре и атмосферном давлении, хотя могут быть использованы и более высокие или низкие температуры и/или давление. В определенных вариантах необходимо смешивать меньшее количество воды с органическим растворителем.

Обычно в таких ситуациях вода будет содержать меньше 25%, предпочтительно, чтобы

она содержала меньше 10%, от веса соединения воды с органическим растворителем.

Может применяться любой стандартный способ высушивания. Предпочтительные методы высушивания - высушивание в вакууме и высушивание распылением. При использовании этих методов может применяться любая стандартная техника.

5 В определенных вариантах, рапамицин может быть смешан с полоксамерным эксципиентом путем добавления его в смесь полоксамира с органическим раствором перед тем, как данная смесь будет высушена. В других вариантах, композиция рапамицина может быть изготовлена путем смешивания рапамицина со сформированным заранее текучим эксципиентом порошка.

10 Далее изобретение будет проиллюстрировано на следующих нижеуказанных примерах. Данные примеры описаны исключительно в целях пояснения и не предназначены для ограничения объема изобретения, если иное специально не предусмотрено. Все проценты, соотношения и компоненты настоящих примеров, в Спецификациях, Примерах и Требованиях даны по весу и являются приблизительными,

15 если не предусмотрено иное.

#### Примеры

Пример 1: Действия Плюроников в качестве ингибиторов механизмов АВС оттока.

Конфлюэнтные монослои клеток MCF-7 ADR, резистентных к адиамицину, были промыты, трипсинизированы раствором Трипсин-ЭТДА и затем промыты в натрий-20 фосфатном буферном растворе pH 7.2. После промывания клетки были помещены в 5 мл полистирольные пробирки, с концентрацией  $5 \times 10^8$  клеток (500 микролитров) на пробирку. Пробирки были центрифугированы при 1200 RPM; натрий-фосфатный буферный раствор был отфильтрован. После этого клетки были ресуспензированы в натрий-фосфатном буферном растворе, содержащем 500 нМ Родамина 123 и различные 25 концентрации Плюроников, как указано ниже в Таблице 1; референсные образцы, не содержащие Плюроников и содержащие 0.05% Плюроника L61, были включены во все серии испытаний. Все образцы были подготовлены и протестированы в трех экземплярах; представленные результаты показали среднее значение. Клетки были 30 инкубированы при температуре 37°C в 5% CO<sub>2</sub> в течение 45 минут. После инкубирования образцы были остужены до 4°C, центрифугированы при 1200 RPM, промыты один раз в 4 мл холодном натрий-фосфатном буферном растворе и ресуспензированы в 500 микролитрах холодного буферного раствора.

Клеточная супензия, 300 мкл на ячейку была перемещена в 96-ячеекные 35 полистирольные плашки; была измерена флуоресценция  $\lambda_{Ex}$  485 нм и эмиссия  $\lambda_{Em}$  530 нм. Увеличенная флуоресценция у образцов, инкубированных с Плюрониками, в отличие от флюоресценции образцов, не содержащих Плюроников, интерпретируется как усиление поглощения Родамина 123. Данное усиление нормализовано до действия, вызванного 0.05% раствором Плюроника L61.

40

45

Таблица 1: Действие Плюроников по поглощению Родамина 123 в клетках MCF ADR

5

10

15

20

25

Плюроник	Концентрация Плюроника (%)							Эквивалентная концентрация	Активность
название	0.0005	0.0015	0.005	0.015	0.05	0.15	0.5		
Сравнительное увеличение поглощения Родамина 123									
L 31	0.011	0.000	0.044	0.261	0.455	0.588	0.657	0.13%	4
L 61	0.014	0.055	0.483	0.854	1.000	1.053		0.007%	70
L 62	0.047	0.007	0.088	0.602	1.183			0.014%	35
L 64		0.021	0.032	0.167	0.646	0.907		0.04%	11
L 81	0.055	0.253	0.938	1.228	1.091			0.003%	162
P 84		0.008	0.001	0.026	0.316	0.925		0.09%	6
P 85		0.009	0.035	0.065	0.215	0.469	0.564	0.5%	1
L 92	0.012	0.092	0.669	1.251				0.004%	115
L101		0.028	0.206	0.999	1.095			0.01%	53
P103		0.039	0.137	0.292	1.367			0.024%	21
P104		0.000	0.059	0.106	0.171	0.290	0.690	0.4%	1
L121		0.039	0.079	0.260	0.849	0.947		0.03%	15
P123		0.000	0.010	0.053	0.634	1.115	1.141	0.05%	11

25

\*Эквивалентная концентрация – концентрация полимера эквивалента активности к 0,5% Плюроника P85, обусловленная интерполяцией экспериментальных данных

30

35

\*\* Активность увеличения поглощения Родамина 123, сравнильна с 0.5% Плюроника P85.

40

Вышеуказанные результаты показывают, что множественные полимеры структуры ПОЭ-ПОП-ПОЭ вызывают увеличение поглощения Родамина 123 в клетках MCF-7 ADR, интерпретируемое как подавление механизмов оттока ABC в этих клетках. Особенno эффективными Плюрониками являются Плюроники L81, L92 и L61.

Пример 2: Адгезивность соединений Плюроников

45

Соединения нижеперечисленных Плюроников были изготовлены с применением метанола или дихлорметана в качестве растворителя при помощи следующей процедуры. Точно взвешенные количества Плюроников, как описано в Таблице 2 ниже, были помещены в градуированные пластиковые флаконы. В каждый флакон было добавлено 5 мл безводного этанола или дихлорметана; смесь была тщательно перемешана до образования гомогенизированного вещества. Полученную смесь затем поместили в систему SpeedVac и высушили растворитель при пониженном давлении; образцы были центрифугированы во избежание разлива. Остаток вещества измельчили стеклянной

5 палочкой для преобразования твердого вещества в порошок. Вещество из каждого флакона последовательно переместили в другие утяжеленные контейнеры путем откручивания пробок на перевернутых флаконах и определили вес перемещенного количества. Вещество рассматривалось как неадгезивное, если, по крайней мере, 95% 10 массы было перемещено. Результаты указаны в Таблице 2 ниже.

Таблица 2

№	гидрофобный		гидрофильтрный		пропорция	этанол	дихлормета
		(г)		(г)	вес/вес	адгезивный	адгезивный
1	L 61	0.11	F127	0.89	1:08	Нет	Нет
2	L 61	0.20	F127	0.80	1:04	Нет	Нет
A1	L 61	0.25	F127	0.75	1:03	Да	Да
A2	L 61	0.33	F127	0.67	1:02	Да	Да
3	L 81	0.11	F127	0.89	1:08	Нет	Нет
4	L 81	0.20	F127	0.80	1:04	Нет	Нет
B1	L 81	0.25	F127	0.75	1:03	Да	Да
B2	L 81	0.33	F127	0.67	1:02	Да	Да
5	L 92	0.10	F87	0.90	1:09	Нет	Нет
6	L 92	0.11	F87	0.89	1:08	Нет	Нет
7	L 92	0.20	F87	0.80	1:04	Нет	Нет
C1	L 92	0.25	F87	0.75	1:03	Да	Да
C2	L 92	0.33	F87	0.67	1:02	Да	Да
8	L 92	0.10	F108	0.90	1:09	Нет	Нет
9	L 92	0.11	F108	0.89	1:08	Нет	Нет
10	L 92	0.20	F108	0.80	1:04	Нет	Нет
D1	L 92	0.25	F108	0.75	1:03	Да	Да
D2	L 92	0.33	F108	0.67	1:02	Да	Да
11	L 92	0.10	F127	0.90	1:09	Нет	Нет
12	L 92	0.11	F127	0.89	1:08	Нет	Нет
13	L 92	0.20	F127	0.80	1:04	Нет	Нет
14	L 92	0.25	F127	0.75	1:03	Да	Да
E1	L 92	0.33	F127	0.67	1:02	Да	Да

Вышеуказанные результаты показывают, что составы настоящего изобретения являются сыпучими, не-адгезивными порошками.

45 Пример 3: Прессуемость соединений Плюроников (как показано с помощью коэффициента прессуемости)

Объемная плотность ( $\rho_B$ ), плотность утряски ( $\rho_T$ ) каждого неадгезивного состава, произведенного выше, были измерены, и определен коэффициент прессуемости  $C=100^*$

(1-рв/рт). В качестве сравнения, были подготовлены идентичные составы с использованием воды в качестве растворителя, после чего следовала лиофилизация водного раствора. Коэффициенты прессуемости таких составов были рассчитаны одинаково. Результаты таких измерений приведены в Таблице 3 ниже.

5 Таблица 3

№	Гидрофобный		Гидрофильтрный		Пропорции (вес/вес)	Коэффициент прессуемости		
		[г]		[г]		Этанол	Дихлорметан	Вода
10 1	L61	0,11	F127	0,89	1:08	5,26	10	22,3
10 2	L61	0,2	F127	0,8	1:04	16,67	9,09	28
15 3	L81	0,11	F127	0,89	1:08	0	5	16,8
15 4	L81	0,2	F127	0,8	1:04	0	8	22
20 5	L92	0,1	F87	0,9	1:09	5	0	20
20 6	L92	0,11	F87	0,89	1:08	5	0	31,4
20 7	L92	0,2	F87	0,8	1:04	9,09	8,7	28,6
25 8	L92	0,1	F108	0,9	1:09	8,7	5	13
25 9	L92	0,11	F108	0,89	1:08	8,7	10	13,6
25 10	L92	0,2	F108	0,8	1:04	8,33	5	23,2
30 11	L92	0,1	F127	0,9	1:09	5,26	5	10
30 12	L92	0,11	F127	0,89	1:08	5	5	16
30 13	L92	0,2	F127	0,8	1:04	5,26	5	24,6
30 14	L92	0,25	F127	0,75	1:03	0	13,04	28,9

Вышеуказанные результаты показывают, что порошки, произведенные в процессе изготовления настоящего изобретения, имеют неожиданно более низкие коэффициенты прессуемости и, таким образом, являются более прессуемыми.

Пример 4: Производство композиции Рапамицина

1 грамм рапамицина был растворен в 25 мл этанола. После этого раствор был смешан с 5 граммами L-92, растворенными в 200 мл 20% раствора F-127, смеси этанола и воды (97/3 V/V). Раствор был инкубирован при температуре 20-25°C в течение 30 минут при постоянном перемешивании. Этанол был высушен в системе Speed Vac, и в дальнейшем суспензию высушили в условиях высокого вакуума.

40 Состав композиции:

40.0 г F-127

5.0 г L-92

1,0 г Рапамицина.

Пример 5: Производство композиции Рапамицина с F-127, L-92 и лимонной кислотой

1 грамм рапамицина был растворен в 25 мл этанола. После этого раствор был перемешан с 5 г L-92 и 2 г лимонной кислоты, растворенной в 200 мл 20% раствора F-127, смеси этанола и воды (97/3 V/V). Раствор был инкубирован при температуре 20-25°C в течение 30 минут при постоянном перемешивании. Этанол был высушен в системе

Speed Vac и в дальнейшем сусpenзию высушили в условиях высокого вакуума.

Состав композиции:

40.0 г F-127

5.0 г L-92

5 1,0 г Рапамицина

2.0 г лимонной кислоты.

Пример 6: Производство композиции Рапамицина с F-127, L-92 и лимонной кислоты.

1 грамм рапамицина был растворен в 25 мл этанола. После этого раствор был перемешан с 5 г L-92 и 2 г лимонной кислоты, растворенной в 200 мл 20% раствора F-127, смеси этанола и воды (97/3V/V). Раствор был инкубирован при температуре 20-25°C в течение 30 минут при постоянном перемешивании. Этанол был высушен в системе Speed Vac и в дальнейшем сусpenзию высушили в условиях высокого вакуума.

10 Полученное вещество растворили в дистиллированной воде и лиофилизировали.

Состав композиции:

15 40.0 г F-127

5.0 г L-92

1.0 г рапамицина

2.0 г лимонной кислоты.

Пример 7: Растворимость и стабильность сусpenзии

20 23 мг твердых составов, произведенных в соответствии с примерами 4-6, были восстановлены с помощью добавления в них 1 мл воды. Растворимость всех образцов была протестирована путем смешивания образцов через воронку. После растворения образцы были проверены визуально. Результаты показаны в Таблице 4.

25 Таблица 4

Примеры	Наблюдения за восстановленным раствором (часов)			
	0	2	3	8
30 4	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Мутный
5	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
6	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный

35 Результаты показывают, что прессуемые составы рапамицина в настоящем изобретении на патент, являются быстро растворимыми. Этот факт также показывает стабилизирующее действие лимонной кислоты.

Пример 8: Биодоступность составов Рапамицина

40 В процессе производства и использования ингредиентов, указанных в Примере 5 выше, было подготовлено некоторое количество "полимерного рапамицина". В качестве сравнения, был также изготовлен состав "свободного рапамицина", содержащего несформированный рапамицин. Состав полимерного рапамицина вводили как единичную дозу (перорально или внутривенно) двум группам беспородных самок мышей ICR. Свободный рапамицин вводили перорально только третьей группе.

45 Периодически, в моменты времени, отмеченные в Таблице 5 ниже, производились заборы образцов крови у 3 мышей из каждой группы. Всю кровь собирали в пробирки с ЭДТА для забора крови, переставляемые несколько раз, и во время эксперимента хранились при температуре 0°C со льдом в темном контейнере. В конце испытаний все

образцы были помещены для хранения при температуре -70°C. Так как рапамицин является чувствительным к свету, изготовленный препарат и образцы крови были защищены от света все время в ходе испытаний.

С помощью данных индивидуальных мышей был выполнен фармакинетический анализ, в котором было рассчитано среднее значение и стандартное отклонение от среднего значения (SEM) каждой группы, с помощью программного обеспечения PK Solutions (Версия 2.0). Результаты данного анализа суммированы в Таблице 5 ниже:

Таблица 5: Концентрация Рапамицина в цельной крови в различные  
10 моменты времени

15

	Полимерный Рапамицин IV, 0,4 мг/кг	Полимерный Рапамицин перорально 4 мг/кг	Свободный Рапамицин перорально 4 мг/кг
Время (часы)	Концентрация (нг/мл)	Концентрация (нг/мл)	Концентрация (нг/мл)
0.04	958	Не измерялась	Не измерялась
0.25	532	656	не обнаружена
0.5	746	500	не обнаружена
1	316	400	не обнаружена
2	247	480	не обнаружена
4	217	200	не обнаружена
8	76	173	не обнаружена
16	50	11	не обнаружена
24	21	16	не обнаружена

30 Вышеописанные данные показывают, что состав полимерного рапамицина значительно повышает устойчивость и биодоступность рапамицина, разрешая пероральный прием такого препарата.

#### Формула изобретения

35 1. Фармацевтическая композиция в форме сухого, текучего, прессуемого порошка, содержащая (а) рапамицин и смесь (б) гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена и (в) гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена с весовыми пропорциями б:в, равными от 1:3 до 1:9, при этом смесь выбирают из:

40 i - (б) гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 2000 и весовой процент гидрофобной части примерно 90%, и (в) гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 12600 и весовой процент гидрофобной части примерно 30%, или

45 ii - (б) гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 2750 и весовой процент гидрофобной части примерно 90%, и (в) гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 12600 и весовой

процент гидрофобной части примерно 30%, или

iii - (б) гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 3650 и весовой процент гидрофобной части примерно 80%, и (в) гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и 5 полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 7700 и весовой процент гидрофобной части примерно 30%, или

iv - (б) гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 3650 и весовой процент гидрофобной части примерно 80%, и (в) гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и 10 полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 14600 и весовой процент гидрофобной части примерно 20%, или

v - (б) гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 3650 и весовой процент гидрофобной части примерно 80%, и (в) гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и 15 полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 12600 и весовой процент гидрофобной части примерно 30%.

2. Композиция по п. 1, где указанная композиция содержит (а) рапамицин и смесь (б) гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 3650 и весовой процент гидрофобной части примерно 80%, и (в) гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и 20 полиоксипропилена, имеющего среднюю молекулярную массу примерно 12600 и весовой процент гидрофобной части примерно 30%, с весовыми пропорциями б:в, равными от 1:4 до 1:9.

3. Композиция по п. 1, где указанная композиция содержит рапамицин и смесь,

25 выбранную из ниже представленных групп, содержащих следующие Плюроники:

i - (б) Плюроник L61 с (в) Плюроником F127;

ii - (б) Плюроник L81 с (в) Плюроником F127;

iii - (б) Плюроник L92 с (в) Плюроником F87;

iv - (б) Плюроник L92 с (в) Плюроником F108;

30 v - (б) Плюроник L92 с (в) Прюроником F127.

4. Композиция по п. 1, где указанная композиция содержит (б) Плюроник L92 с (в) Плюроником F127 с весовыми пропорциями б:в, равными от 1:3 до 1:9.

5. Композиция по п. 1, где указанная композиция имеет коэффициент прессуемости меньше 20.

35 6. Композиция по п. 1, где указанная композиция имеет коэффициент прессуемости меньше 10.

7. Композиция по п. 1, где указанная композиция имеет коэффициент прессуемости меньше 5.

8. Композиция по п. 1, где указанная композиция содержит стабилизатор.

40 9. Композиция по п. 8, в которой стабилизатором является лимонная кислота.

10. Способ изготовления композиции в форме сухого, текучего, прессуемого порошка по п. 1, включающий смешивание (а) рапамицина, (б) гидрофобного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена и (в) гидрофильного блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена в органическом растворителе с образованием 45 органической смеси; и высушивание органической смеси.

11. Способ по п. 10, в котором блок-сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена выбираются из ниже представленных групп Плюроников:

i - Плюроника L61 с Плюроником F127;

- ii - Плюроника L81 с Плюроником F127;
- iii - Плюроника L92 с Плюроником F87;
- iv - Плюроника L92 с Плюроником F108;
- v - Плюроника L92 с Плюроником F127.

5 12. Способ по п. 10, где органический растворитель выбирается из группы, состоящей из спиртов и галогенированных углеводородов.

13. Способ по п. 10, где органическим растворителем является этанол.

14. Способ по п. 10, где органическим растворителем является дихлорметан.

15. Способ по п. 13, где к органическому растворителю добавляют воду в количестве

10 менее 25% от веса смеси воды с органическим растворителем.

15

20

25

30

35

40

45