



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2004110936/15, 17.10.2002

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
17.10.2002

(30) Конвенционный приоритет:
19.10.2001 (пп.34-39) US 60/346,201
05.04.2002 (пп.1-33) US 60/370,597

(43) Дата публикации заявки: 27.05.2005

(45) Опубликовано: 20.02.2008 Бюл. № 5

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: US 2001027178 A1, 04.10.2001. WO
0128519 A1, 26.04.2001. WO 9918120 A1,
15.04.1999. US 5998365 A, 07.12.1999. CHANG T
et al. The effect of water-soluble vitamin E
on cyclosporine pharmacokinetics in healthy
volunteers. - Clin Pharmacol Ther. 1996 Mar;
59 (3):297-303 [Реферат АБД Medline]. RU
2126263 C1, 20.02.1999.

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу:
19.05.2004

(86) Заявка РСТ:
CA 02/01561 (17.10.2002)

(87) Публикация РСТ:
WO 03/032949 (24.04.2003)

Адрес для переписки:
191186, Санкт-Петербург, а/я 230, "АПС-
ПАТЕНТ", пат.пов. В.М.Рыбакову, рег. № 90

(72) Автор(ы):

НАЙКЕР Селварай (СА),
ФОСТЕР Роберт Т. (СА)

(73) Патентообладатель(и):
ИЗОТЕХНИКА ИНК. (СА)

(54) МИКРОЭМУЛЬСИОННЫЙ ПРЕДКОНЦЕНТРАТ АНАЛОГА ЦИКЛОСПОРИНА

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к медицине и описывает иммуносупрессивные фармацевтические композиции, содержащие: а) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; б) витамин Е TPGS (d-α-токоферил-полиэтиленгликоль(1000)-сукцинат); в) масло МСТ; д) эмульгатор, выбранный из группы, состоящей из Твина 40 и Твина 80; е) этанол, причем при

контакте с водной средой указанная фармацевтическая композиция образует прозрачную микроэмульсию. Композиции обеспечивают высокую биологическую доступность лекарства и/или уменьшают один или более из побочных эффектов, связанных с введением циклоспорина. Раскрыты также способы применения и получения композиций. 7 н. и 32 з.п. ф-лы, 7 табл., 5 ил.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION(21), (22) Application: **2004110936/15, 17.10.2002**(24) Effective date for property rights: **17.10.2002**(30) Priority:
19.10.2001 (cl.34-39) US 60/346,201
05.04.2002 (cl.1-33) US 60/370,597(43) Application published: **27.05.2005**(45) Date of publication: **20.02.2008 Bull. 5**(85) Commencement of national phase: **19.05.2004**(86) PCT application:
CA 02/01561 (17.10.2002)(87) PCT publication:
WO 03/032949 (24.04.2003)Mail address:
**191186, Sankt-Peterburg, a/ja 230, "ARS-
PATENT", pat.pov. V.M.Rybakovu, reg. № 90**

(72) Inventor(s):

**NAJKER Selvaraj (CA),
FOSTER Robert T. (CA)**

(73) Proprietor(s):

IZOTEKhnIKA INK. (CA)**(54) CICLOSPORIN ANALOG MICROEMULSION PRECONCENTRATE**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmacy.

SUBSTANCE: invention describes immunosuppressive pharmaceutical compositions containing the following components: (a) ISA_{Tx}247 taken in the pharmaceutically effective amount; (b) vitamin E TPGC (d- α -tocopheryl-polyethylene glycol(1000)-succinate); (c) MCT oil; (d) emulsifier chosen from group consisting of Tween-40 and Tween-80, and (e) ethanol. This

pharmaceutical composition forms a clear microemulsion after contact with aqueous medium. Compositions provide high biological availability of drug and/or decrease one or more adverse effects associated with administration of ciclosporin. Also, invention discloses methods for using and preparing these compositions.

EFFECT: valuable medicinal and pharmaceutical properties of compositions.

39 cl, 7 tbl, 5 dwg, 7 ex

Данная заявка претендует на приоритет предварительной заявки на патент США с порядковым №60/370597 (номер реестра патентного поверенного 031993-041), поданной 5 апреля 2002 г., и предварительной заявки на патент США с порядковым №60/346201 (номер реестра патентного поверенного 031993-125), поданной 19 октября 2001 г., по классификации 35 U.S.C. 119 (е). Все, что раскрыто в этих заявках, включено в настоящее описание посредством ссылки во всей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к композициям (составам), содержащим аналоги циклоспорина, которые структурно подобны циклоспорину А. В частности, композиции содержат изомерные смеси аналога циклоспорина ISA_{TX}247. Эти композиции образуют стабильные микроэмульсии, которые обеспечивают высокую растворимость лекарства, повышенную биологическую доступность лекарства и могут уменьшать один или более из побочных эффектов, связанных с введением циклоспорина. Раскрываются также способы применения и получения композиций.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Ссылки

Нижеследующие ссылки указываются в соответствующих разделах настоящего описания по номеру в скобках.

1. Gupta и Robinson. Treatise on Oral Controlled-drug Delivery, Text Ed. Под ред. Aegis Cadence. Mandel Decker, Inc. 1992.
2. Traber и др. // Helv. Chim. Acta. 1977. Т.60. С.1247-1255.
3. Kobel и др. // Europ. J. Applied Microbiology and Biotechnology. 1982. Т.14. С.237-240.
4. von Warburg и др. // Progress in Allergy. 1986. Т.38. С.28-45.
5. Rich и др. // J. Med. Chem. 1986. Т.29. С.978.
6. Патент США №4384996, опубликован 24 мая 1983 г.
7. Патент США №4771122, опубликован 13 сентября 1988 г.
8. Патент США №5284826, опубликован 8 февраля 1994 г.
9. Патент США №5525590, опубликован 11 июня 1996 г.
10. Sketris и др. // Clin. Biochem. 1995. Т. 28. С.195-211.
11. Bennett // Renal Failure. 1998. Т. 20. С.687-690.
12. Wang и др. // Transplantation. 1994. Т. 58. С.940-946.
13. "Eastman Vitamin E TPGS". Eastman Brochure. Eastman Chemical Co., Kingspot, Tenn. October 1996.
14. Hawley's Condensed Chemical Dictionary. 1987.
15. Ellis // Progress in Medicinal Chemistry. Elsevier, Amsterdam, 1988. Т.25.
16. Sokol R.J. // Lancet. Т.338 (№8761). С.212.
17. Sokol R.J. // Lancet. Т.338 (№8768). С.697.

Содержание каждого из приведенных выше документов включено в настоящее описание посредством ссылки во всей их полноте в той же степени, как если бы текст каждой индивидуальной публикации и каждого индивидуального патента был непосредственно и индивидуально введен ссылкой.

Применение циклоспорина в качестве терапевтического агента

Несмотря на достижения в преодолении отторжения трансплантатов путем подбора типов тканей донора и реципиента по тканевой совместимости в большинстве процессов пересадки для выживания донорского органа в организме хозяина необходима подавляющая иммунитет терапия. В методиках трансплантации применялись многие иммуносупрессорные агенты, в том числе азатиоприн, метотрексат, циклофосфамид, FK-506, рапамицин и кортикостероиды. Циклоспорины находят все расширяющееся применение в иммуносупрессорной терапии благодаря их преимущественному действию на опосредованные Т-клетками реакции (1).

Циклоспорин является мощным иммуносупрессорным агентом, который, как было показано, подавляет гуморальный иммунитет и клеточные иммунные реакции такие, как отторжение аллотрансплантата, аллергическая реакция замедленного типа,

экспериментальный аллергический энцефаломиелит, вызванный адъювантом Фрейнда артрит и реакция «трансплантат против хозяина» (graft versus host disease, GVHD). Он применяется для профилактики отторжения органов после их пересадки, для лечения ревматоидного артрита, для лечения псориаза и для лечения других аутоиммунных заболеваний таких, как диабет I типа, болезнь Крона и волчанка. В этой области известны многие существующие в природе циклоспорины. Полностью синтетическими или полусинтетическими методами или с применением техники смешанного культивирования были получены неприродные циклоспорины. Таким образом, класс доступных циклоспоринов обширен и включает, например, существующие в природе циклоспорины типов от A (CsA) до Z (CsZ), а также другие, неприродные типы циклоспоринов такие, как дигидро- и изо-циклоспорины (2, 3, 4). Аналоги CsA, содержащие модифицированные аминокислоты в 1-м положении, были описаны Rich и др. (5). Аналоги CsA, обладающие иммуносупрессорным, противовоспалительным и противопаразитным действием, описаны в патентах США №№4384996 (6), 4771122 (7), 5284826 (8) и 5525590 (9), уступленных Sandoz.

Циклоспорин представляет собой липофильную молекулу с молекулярной массой 1202 Дальтона. Вследствие плохой растворимости циклоспорина в воде и его высокой липофильности фармацевтические композиции циклоспорина А с обычными твердыми или жидкими фармацевтическими носителями часто обнаруживают недостатки. Например, циклоспорины плохо всасываются из таких композиций, или переносимость композиций невысока, или же они недостаточно стабильны при хранении. Часто концентрация переходящего в раствор ингредиента слишком низка в сравнении с суточной дозой.

Побочные эффекты терапии с применением циклоспорина

Терапия с помощью циклоспорина А дает многочисленные побочные эффекты. Эти эффекты включают нефротоксичность, гепатотоксичность, образование катаракты, избыточное оволосение у женщин (гирсутизм), паратез и разрастание десен (10). Среди них нефротоксичность является наиболее серьезным побочным эффектом.

Острая нефротоксичность циклоспорина морфологически сопровождается поражением канальцев с характерным появлением телец включения, изометрических вакуолей и микрокальциноза. Это приводит к снижению скорости клубочковой фильтрации, что можно обнаружить по быстрому повышению уровня креатинина в сыворотке пациентов, получавших циклоспорин (11).

Механизм, по которому циклоспорин А вызывает почечную недостаточность, в точности неизвестен. В исследованиях на крысах было показано, что индуцированное CsA функциональное и структурное поражение почек сопровождается образованием перекисей почечных липидов. Wang с соавторами показали, что совместное введение с CsA антиоксидантов снижало у крыс поражение почек (12).

Предпринятые ранее попытки снизить связанную с терапией циклоспорином опасность нефротоксичности включают введение вместе с лекарством агента, замедляющего метаболизм циклоспорина, что эффективно снижает дозу, необходимую для поддержания необходимого для терапии содержания лекарства в крови. Однако этот способ часто не решает проблемы высокой вариабельности биологической доступности циклоспорина (12). Поэтому в данной области хорошо известна проблема получения композиции с циклоспорином, имеющей высокую биологическую доступность, но не вызывающей побочных эффектов.

Формы дозирования

Чтобы обеспечить терапевтическую активность лекарства, нужно сделать биологически доступным терапевтическое количество лекарства, т.е. оно должно быть способным достигнуть места действия у пациента. В данной области хорошо известен и популярен пероральный способ доставки лекарства благодаря его простоте. Однако получение пероральных форм дозирования затруднено тем обстоятельством, что лекарство сначала в течение заданного времени должно высвободиться из дозирочной формы в кишечнике, должно раствориться и всосаться в желудочно-кишечном тракте. Поэтому решающими

факторами являются достаточная скорость высвобождения лекарства из дозирочной формы и растворимость лекарства в желудочно-кишечном (ЖК) тракте.

Хорошо известные пероральные формы дозирования, которые хорошо действуют в границах ЖК тракта, включают таблетки, капсулы, гелевые капсулы, сиропы, суспензии, эмульсии, микроэмульсии и предэмульсионные концентраты. Растворимость играет существенную роль в разработке пероральных дозирочных композиций, поскольку от вида композиции, используемой для доставки активного лекарства, зависит количество и/или концентрация лекарства, которое в течение заданного периода времени доходит до места действия. Соотношение компонентов в композиции также непосредственно влияет на растворимость лекарственного начала в желудочно-кишечном тракте и, следовательно, на степень и скорость всасывания активного лекарственного начала в кровотоке. Кроме того, на терапевтическую эффективность лекарства влияют скорость и степень высвобождения лекарства из самой системы доставки, что, в свою очередь, влияет на скорость и степень растворения активного компонента в желудочно-кишечном тракте перед его всасыванием (1).

В известных в данной области обычных системах лекарственное содержимое высвобождается в желудочно-кишечный тракт за короткий период времени, и содержание лекарства в плазме достигает пика через заданное время, обычно в течение нескольких часов после введения дозы. Конструирование известных систем пероральной доставки лекарств, включая композиции с циклоспорином, основано на получении максимально возможной скорости растворения лекарства, что связано с опасностью получения нежелательных побочных эффектов, зависящих от дозы.

Таким образом, имеется существенная потребность в композициях с циклоспорином, имеющих сниженную токсичность, но сохраняющих высокую степень биологической доступности, которые при этом не нуждаются в совместном введении с другим агентом.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение основано на том открытии, что определенные композиции, предпочтительно композиции, являющиеся предконцентратами микроэмульсий (микроэмульсионными предконцентратами) и микроэмульсиями, могут обеспечить доставку аналога циклоспорина, ISA_{TX}247, который снижает один или более из побочных эффектов, связанных с циклоспорином, и в то же время сохраняют высокую биологическую доступность лекарства. Кроме того, композиции в соответствии с настоящим изобретением также повышают иммуносупрессорное действие ISA_{TX}247 путем обеспечения достаточной биологической доступности.

Все композиции настоящего изобретения содержат ISA_{TX}247 в качестве активного ингредиента и синтетические или растительные масла, эмульгированные с помощью синтетического ко-эмульгатора - такого, как неионное поверхностно-активное вещество (ПАВ), имеющее полиоксилированную часть молекулы. Таким образом, данные композиции содержат ISA_{TX}247, ПАВ, этанол, липофильный и/или амфифильный растворитель. В композициях настоящего изобретения pH и изотоничность могут быть установлены по необходимости, и они могут также при необходимости включать биосовместимые полимеры - такие, как защитные коллоиды, стабилизаторы суспензии и скрепляющие агенты, наполнители, связующие вещества и носители.

В одном предпочтительном аспекте изобретение нацелено на получение предконцентрата микроэмульсии, содержащего: (a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; (b) витамин E TPGS (d- α -токоферил-полиэтиленгликоль(1000)-сукцинат); (c) масло MCT (medium chain triglyceride - триглицерид со средней длиной цепи); (d) эмульгатор, выбранный из группы, состоящей из Твина 40 и Твина 80; и (e) этанол. Предпочтительно предконцентрат микроэмульсии содержит от приблизительно 5% до приблизительно 10% по массе ISA_{TX}247, до приблизительно 50% по массе витамина E TPGS, до приблизительно 50% по массе масла MCT, до приблизительно 50% по массе эмульгатора и от приблизительно 5% до приблизительно 15% по массе этанола, причем композиция является жидким предконцентратом микроэмульсии при комнатной

температуре. Более предпочтительно, чтобы соотношение по массе a:b:c:d:e составляло приблизительно 0,5-1:4:2:2:1.

Настоящее изобретение предусматривает также способ получения предконцентрата микроэмульсии, включающий перемешивание масла МСТ, эмульгатора, этанола, витамина Е TPGS и надлежащего количества ISA_{TX}247, до тех пор, пока не будет достигнуто полное растворение ISA_{TX}247, причем композиция представляет собой жидкость при комнатной температуре.

В другом аспекте изобретение направлено на фармацевтическую композицию, содержащую: (a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; (b) витамин Е - d- α -токоферил-полиэтиленгликоль-сукцинат (витамин Е TPGS); (c) масло триглицерида со средней длиной цепи (МСТ); d) Твин 40 и e) этанол. Предпочтительно фармацевтическая композиция представляет собой микроэмульсию; более предпочтительно фармацевтическая композиция представляет собой предконцентрат микроэмульсии. Композиция предпочтительно содержит от приблизительно 5% до приблизительно 10% по массе ISA_{TX}247, от приблизительно 20% до приблизительно 50% по массе витамина Е TPGS, от приблизительно 5% до приблизительно 20% по массе масла МСТ, от приблизительно 5% до приблизительно 50% по массе Твина 40 и от приблизительно 5% до приблизительно 15% по массе этанола. Более предпочтительно, чтобы соотношение по массе a:b:c:d:e составляло приблизительно 0,5-1:4:2:2:1.

В дальнейшем аспекте изобретение нацелено на способ создания состояния иммуносупрессии, включающий введение индивидууму, в случае такой необходимости, эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей: (a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; (b) витамин Е TPGS; (c) масло МСТ, (d) Твин 40 и (e) этанол.

Настоящее изобретение предусматривает также способ получения фармацевтической композиции по настоящему аспекту изобретения, включающий перемешивание масла МСТ, Твина 40, этанола, витамина Е TPGS и надлежащего количества ISA_{TX}247 до тех пор, пока не будет достигнуто полного растворения ISA_{TX}247.

В дальнейшем аспекте изобретение направлено на фармацевтическую композицию, содержащую: a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; b) витамин Е TPGS; c) масло МСТ; d) Твин 80 и e) этанол. Предпочтительно фармацевтическая композиция представляет собой микроэмульсию; более предпочтительно фармацевтическая композиция представляет собой предконцентрат микроэмульсии. Фармацевтическая композиция предпочтительно содержит от приблизительно 5% до приблизительно 10% по массе ISA_{TX}247, от приблизительно 20% до приблизительно 50% по массе витамина Е TPGS, от приблизительно 5% до приблизительно 20% по массе масла МСТ, от приблизительно 5% до приблизительно 50% по массе Твина 80 и от приблизительно 5% до приблизительно 15% по массе этанола. Более предпочтительно, чтобы соотношение по массе a:b:c:d:e составляло приблизительно 0,5-1:2:4:2:1.

Еще в одном аспекте изобретение нацелено на способ создания состояния иммуносупрессии, включающий введение индивидууму, в случае такой необходимости, эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей: (a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; (b) витамин Е TPGS; (c) масло МСТ; (d) Твин 80 и (e) этанол.

Настоящее изобретение предусматривает также способ получения фармацевтической композиции по настоящему аспекту изобретения, включающий перемешивание масла МСТ, Твина 80, этанола, витамина Е TPGS и надлежащего количества ISA_{TX}247, пока не будет достигнуто полного растворения ISA_{TX}247.

Еще в одном дальнейшем аспекте изобретение направлено на фармацевтическую композицию, содержащую: (a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; (b) масло МСТ; (c) Твин 80; (d) триацетин и (e) этанол. Предпочтительно фармацевтическая композиция представляет собой микроэмульсию; более предпочтительно композиция представляет собой предконцентрат микроэмульсии. Фармацевтическая композиция

предпочтительно содержит от приблизительно 5% до приблизительно 10% по массе ISA_{TX}247, от приблизительно 20% до приблизительно 50% по массе триацетина, от приблизительно 5% до приблизительно 50% по массе масла MCT, от приблизительно 5% до приблизительно 50% по массе Твина 80 и от приблизительно 5% до приблизительно 15% по массе этанола. Более предпочтительно, чтобы соотношение по массе a:b:c:d:e составляло приблизительно 0,5-1:5:3:1:1.

В дальнейшем аспекте изобретение направлено на способ создания состояния иммуносупрессии, включающий введение индивидууму, в случае такой необходимости, эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей: (a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; (b) масло MCT; (c) Твин 80; (d) триацетин и (e) этанол.

Настоящее изобретение предусматривает также способ получения фармацевтической композиции по настоящему аспекту изобретения, включающий перемешивание масла MCT, Твина 80, этанола, триацетина и надлежащего количества ISA_{TX}247, пока не будет достигнуто полного растворения ISA_{TX}247.

Еще в одном аспекте изобретение направлено на фармацевтическую композицию, содержащую: (a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; (b) Твин 80; (c) витамин Е TPGS; (d) этанол и (e) изопропил-миристат. Предпочтительно фармацевтическая композиция представляет собой микроэмульсию; более предпочтительно композиция представляет собой предконцентрат микроэмульсии. Фармацевтическая композиция предпочтительно содержит от приблизительно 5% до приблизительно 10% по массе ISA_{TX}247, от приблизительно 20% до приблизительно 50% по массе витамина Е TPGS, от приблизительно 5% до приблизительно 55% по массе изопропил-миристата, от приблизительно 5% до приблизительно 50% по массе Твина 80 и от приблизительно 5% до приблизительно 15% по массе этанола. Более предпочтительно, чтобы соотношение по массе a:b:c:d:e составляло приблизительно 0,5-1:2:1:1:6.

В дальнейшем аспекте изобретение нацелено на способ создания состояния иммуносупрессии, включающий введение индивидууму, в случае такой необходимости, эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей: (a) ISA_{TX}247; (b) Твин 80; (c) витамин Е TPGS; (d) этанол и (e) изопропил-миристат.

Настоящее изобретение предусматривает также способ получения фармацевтической композиции по настоящему аспекту изобретения, включающий перемешивание изопропил-миристата, Твина 80, этанола, витамина Е TPGS и надлежащего количества ISA_{TX}247, пока не будет достигнуто полного растворения ISA_{TX}247.

Еще в одном аспекте изобретение нацелено на предконцентрат фармацевтической композиции, содержащий: (a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; (b) витамин Е TPGS; (c) масло MCT; (d) Твин 40 и (e) этанол. Предконцентрат фармацевтической композиции предпочтительно содержит от приблизительно 5% до приблизительно 10% по массе ISA_{TX}247, от приблизительно 20% до приблизительно 50% по массе витамина Е TPGS, от приблизительно 5% до приблизительно 20% по массе масла MCT, от приблизительно 5% до приблизительно 50% по массе Твина 40 и от приблизительно 5% до приблизительно 15% по массе этанола. Более предпочтительно, чтобы соотношение по массе a:b:c:d:e составляло приблизительно 0,5:4:2:2:1. Еще более предпочтительно, чтобы композиция представляла собой предконцентрат микроэмульсии, где предконцентрат, будучи смешан с водной средой, образует прозрачный стабильный раствор микроэмульсии. Предпочтительно водной средой является вода или фруктовый сок, за исключением грейпфрутового сока. Кроме того, предконцентрат смешивают с водной средой предпочтительно в отношении 1 часть предконцентрата на от приблизительно 10 до приблизительно 100 частей водной среды.

В дальнейшем аспекте изобретение нацелено на способ создания состояния иммуносупрессии, включающий введение индивидууму, в случае такой необходимости, эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей: (a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; (b) витамин Е TPGS; (c) масло MCT;

(d) Твин 40 и (е) этанол, смешанные в водной среде.

Настоящее изобретение предусматривает также способ получения фармацевтической композиции по настоящему аспекту изобретения, включающий смешивание масла МСТ, Твина 40, этанола, витамина Е TPGS и надлежащего количества ISA_{TX}247, пока не будет достигнуто полного растворения ISA_{TX}247. Полученный предконцентрат затем смешивают с водной средой, предпочтительно в соотношении приблизительно 1 часть предконцентрата на от приблизительно 10 до приблизительно 100 частей среды.

Еще в одном аспекте изобретение направлено на фармацевтическую композицию, содержащую: (а) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247; (b) витамин Е TPGS; (с) масло МСТ; (d) Твин 40 и (е) этанол. Фармацевтическая композиция может вводиться парентерально - как, например, подкожно (ПК) или внутримышечно (ВМ), и по усмотрению стерилизуется.

В другом аспекте настоящего изобретения любая из композиций - предконцентратов микроэмульсии может быть смешана с водной средой, чтобы получить прозрачный термодинамически стабильный раствор микроэмульсии. Водной средой могут быть вода или фруктовый сок, но не грейпфрутовый сок, который может неблагоприятным образом реагировать с ISA_{TX}247. Кроме того, предконцентрат может быть смешан с водной средой в соотношении приблизительно 1 часть предконцентрата на от приблизительно 10 до приблизительно 100 частей водной среды.

Еще в одном аспекте настоящего изобретения любая из композиций - предконцентратов микроэмульсии может быть пероральным составом, предпочтительно инкапсулированным в мягкую желатиновую капсулу.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фиг.1 показывает таблицу получения предконцентратов микроэмульсий как функцию соотношения наполнителей Твина 40 и масла МСТ.

Фиг.2 показывает график, представляющий сравнение фармакокинетических профилей у собак Beagle микроэмульсии ISA_{TX}247 по настоящему изобретению и препарата Neoral®.

Фиг.3 показывает общий вид типичных путей синтеза, которые могут быть использованы для получения аналогов циклоспорина по настоящему изобретению, причем

стереоселективные пути синтеза сгруппированы в соответствии с условиями реакций.

Фиг.4 иллюстрирует путь синтеза, который приводит к получению смеси (Е)- и (Z)-изомеров ISA_{TX}247 из бромистого предшественника.

Фиг.5 иллюстрирует другой путь синтеза, который приводит к получению смеси (Е)- и (Z)-изомеров ISA_{TX}247 из альдегидного предшественника.

СВЕДЕНИЯ, ПОДТВЕРЖДАЮЩИЕ ВОЗМОЖНОСТЬ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Как правило, в настоящем изобретении термины используются в соответствии с тем, как эти термины понимаются в данной области.

Термины «cyclosporin» и «cyclosporine» («циклоспорин») отражают просто разницу в правописании и используются здесь как взаимозаменяемые для обозначения одного и того же соединения (например, cyclosporin A и cyclosporine A являются одним и тем же соединением) или одного и того же класса соединений - в зависимости от ситуации.

Термином «предконцентрат микроэмульсии», как он используется здесь, обозначается система, способная при контакте с водной средой давать микроэмульсию. Термин «микроэмульсия» используется здесь в его обычно принятом смысле для обозначения прозрачной (non-opaque, clear) или существенно прозрачной термодинамически стабильной коллоидной дисперсии, содержащей воду и органические компоненты, в том числе гидрофобные (липофильные) органические компоненты.

Термин «эмульсия» обозначает гетерогенную систему, состоящую из, по меньшей мере, одной несмешивающейся жидкости, однородно диспергированной в другой жидкости в форме капелек, диаметр которых, как правило, превышает 0,1 мм. Такие системы обладают минимальной стабильностью, которую можно повысить добавками - такими, как поверхностно-активные агенты, тонко измельченные твердые вещества и т.д. Считается,

что обычные «эмульсии», в отличие от микроэмульсий настоящего изобретения, являются термодинамически нестабильными дисперсиями.

А. Получение композиций

Все композиции настоящего изобретения содержат $ISA_{TX}247$ в качестве активного ингредиента и синтетические или растительные масла, эмульгированные с помощью ко-эмульгатора, предпочтительно синтетического ко-эмульгатора - такого, как неионное ПАВ, имеющее полиоксилированную часть молекулы. В композициях настоящего изобретения pH и изотоничность могут быть установлены по необходимости. Композиции настоящего изобретения могут также при необходимости включать биосовместимые полимеры - такие, как защитные коллоиды, стабилизаторы суспензии и увеличивающие объем агенты, наполнители, связующие вещества и носители. Определенные предпочтительные формы осуществления дают прозрачные стабильные композиции, обеспечивающие относительно высокую растворимость лекарства и относительно быстрое растворение в водной среде (менее, чем за 5 мин при перемешивании) с образованием прозрачных микроэмульсий.

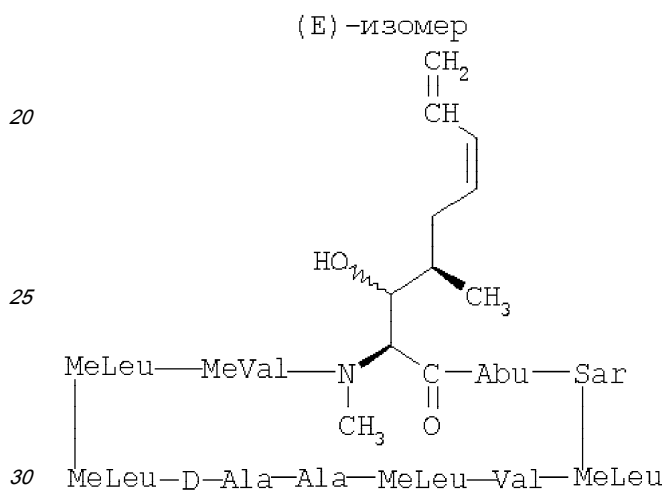
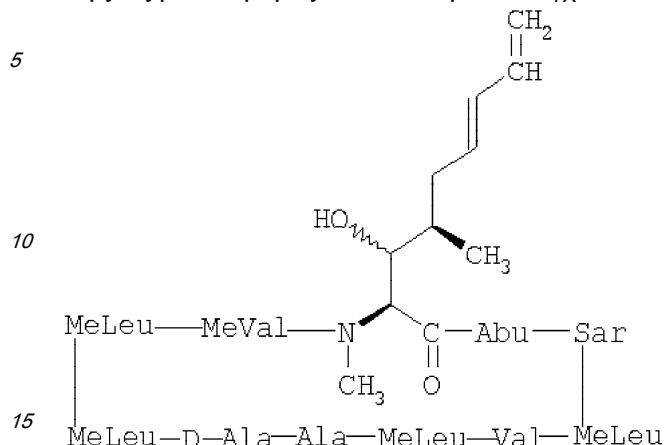
Таким образом, настоящая композиция представляет собой микроэмульсию или предконцентрат микроэмульсии, содержащий $ISA_{TX}247$, ПАВ, масло, этанол и эмульгатор, представляющий собой липофильный и/или амфифильный растворитель. В некоторых примерах осуществления препарат содержит от приблизительно 5% до приблизительно 10% по массе $ISA_{TX}247$, от приблизительно 20% до приблизительно 50% по массе ПАВ - такого, как токоферил-полиэтиленгликолевый сложный эфир карбоновой кислоты (или, по усмотрению, стабилизаторы эмульсии - такие, как триацетин), от приблизительно 5% до приблизительно 20% по массе масляного компонента - такого, как масло МСТ или изопропил-миристанат, от приблизительно 5% до приблизительно 15% по массе этанола и от приблизительно 20% до приблизительно 40% по массе липофильного растворителя и/или от приблизительно 10% до приблизительно 55% по массе амфифильного растворителя. Кроме того, композиция может по усмотрению содержать от приблизительно 10% до приблизительно 20% по массе другого ПАВ.

Варианты осуществления настоящего изобретения могут обеспечивать достаточную биологическую доступность лекарства (см. Таблицы 3 и 5 и Фиг.2) и/или сниженную токсичность (см. Таблицы 5 и 7). Механизмы такого повышения биологической доступности и снижения токсичности неизвестны. Однако, не вдаваясь в теорию, следует указать, что витамин Е TPGS может вносить вклад в эти особенности композиции. Например, было показано, что совместное введение витамина Е TPGS повышает биологическую доступность циклоспорина после пересадки печени детям (см. Sokol и др.). Витамин Е TPGS может повышать биологическую доступность, ингибируя метаболизм лекарства в кишечнике с участием цитохрома P450. Витамин Е TPGS может ингибировать индуцированную циклоспорином продукцию цитохрома P450 и последующую стадию восстановления при образовании окисленных метаболитов. Или же витамин Е TPGS может ингибировать регулируемый P-gp обратный транспорт, увеличивая общий транспорт лекарств через энтероцитный слой кишечника, что приводит к повышению биологической доступности совместно вводимого лекарства. Кроме того, витамин Е TPGS - известный антиоксидант. К тому же витамин Е TPGS может играть роль в метаболизме арахидоновой кислоты, влияя на образование простагландинов путем ингибирования высвобождения арахидоновой кислоты и ферментативной активности липоксигеназы. В итоге такого процесса витамин Е TPGS может ингибировать агрегацию тромбоцитов и вследствие этого ослаблять нефротоксическое действие $ISA_{TX}247$ (15). Или же $ISA_{TX}247$ может сам по себе быть более биологически доступным и менее токсичным, чем циклоспорин А и другие родственные соединения. Любой из этих механизмов, любая комбинация этих механизмов или неизвестный механизм могут вносить свой вклад в повышение биологической доступности и снижение токсичности раскрытых здесь композиций.

Активный ингредиент

Предпочтительный активный ингредиент композиций настоящего изобретения - это

аналог циклоспорина, ISA_{TX}247. ISA_{TX}247 может присутствовать в составе композиции в виде смеси E- и Z-изомеров или же как одиночный E- или Z-изомер. Ниже приведены структурные формулы изомеров ISA_{TX}247:



(Z)-изомер

Данные композиции состоят из лекарства ISA_{TX}247, синтетического или растительного масла, предпочтительно масла MCT (триглицерид со средней длиной цепи), эмульгированного с помощью синтетического ко-эмульгатора - такого, как неионное ПАВ, имеющее полиоксиэтилированную часть молекулы, предпочтительно полиоксиэтилированный витамин E. В содержимом композиций pH и изотоничность могут быть установлены по необходимости. Эти композиции могут также при необходимости включать биологически совместимые полимеры - такие, как поливинилпирролидон (ПВП), поливиниловый спирт (ПВС) или полиэтиленгликоль (ПЭГ) и другие полимеры в качестве защитных коллоидов и агентов стабилизации или скрепления суспензий, наполнители, связующие вещества и/или носители, в зависимости от необходимости.

Синтез смесей (E)- и (Z)-изомеров ISA_{TX}247 через реакцию Виттига

Пути синтеза с использованием реакции Виттига, приводимые здесь для примера, обозначены на Фиг.3 номером 31. Способ 1 осуществляется через бромистое промежуточное соединение ацетил-η-бромциклоспорин (41), тогда как в Способе 2 в качестве исходного соединения использован альдегид ацетил-циклоспорина А (51). В описанных ниже типичных способах реакция Виттига используется для введения алкенной функциональной группы с набором стереохимических конфигураций.

Реакции Виттига, используемые в раскрытых здесь характерных примерах осуществления для синтеза смесей (E)- и (Z)-изомеров ISA_{TX}247, могут по усмотрению проводиться в присутствии галида лития. Хорошо известно, что присутствие галидов лития в реакциях Виттига влияет на соотношение получаемых геометрических изомеров, и

поэтому добавление такого соединения может способствовать получению требуемой смеси (Е)- и (Z)-изомеров ISA_{TX}247.

Способ 1

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения смесь (Е)- и (Z)-изомеров ISA_{TX}247 получают, как показано на Фиг.4. Использование волнистых линий на Фиг.4 (см. в особенности соединения 43 и 44) имеет смысл указания на то, что приводимая для примера последовательность реакций дает смесь (Е)- и (Z)-изомеров. В одном примере осуществления процентное соотношение полученных (Е)- и (Z)-изомеров находится в интервале приблизительно от 10 до 90% (Е)-изомера и приблизительно от 90 до 10% (Z)-изомера, но эти интервалы приведены лишь для примера, и возможны многие иные интервалы. Например, смесь может содержать приблизительно от 15 до 85% по массе (Е)-изомера и приблизительно от 85 до 15% (Z)-изомера. В других примерах осуществления смесь содержит приблизительно от 25 до 75% по массе (Е)-изомера и приблизительно от 75 до 25% по массе (Z)-изомера; приблизительно от 35 до 65% по массе (Е)-изомера и приблизительно от 65 до 35% по массе (Z)-изомера; и приблизительно от 45 до 55% по массе (Е)-изомера и приблизительно от 55 до 45% по массе (Z)-изомера. Еще в одном примере осуществления изомерная смесь представляет собой смесь ISA_{TX}247, которая содержит приблизительно от 45 до 50 по массе (Е)-изомера и приблизительно от 55 до 50% по массе (Z)-изомера. Эти массовые проценты отнесены к общей массе композиции, и должно быть понятно, что сумма массовых процентов (Е)-изомера и (Z)-изомера составляет 100 массовых %. Иными словами, смесь может содержать 65% по массе (Е)-изомера и 35% по массе (Z)-изомера, или же наоборот.

Что касается Фиг.4, концевой η-углерод боковой цепи 1-го аминокислотного остатка ацетил-циклоспорина А бромруется в следующем этапе реакции при нагревании с обратным холодильником ацетил-циклоспорина А (35) с N-бромсукцинимидом и азо-бис-изобутиронитрилом в таком растворителе, как четырехокись углерода, что дает промежуточное вещество ацетил-η-бромциклоспорин А (41). N-бромсукцинимид - это реагент, который часто используется для замещения бромом аллильных атомов водорода, и есть мнение, что это происходит по свободно-радикальному механизму. Получение промежуточного вещества 41 подробно описано M.K.Eberle и F.Nuninger в работе «Synthesis of the Main Metabolite (OL-17) of Cyclosporin A» // J. Org. Chem. 1992. Т. 57. С.2689-2691.

Новое промежуточное вещество, трифенилфосфоний-бромид ацетил-циклоспорина А (42), может быть получено из ацетил-η-бромциклоспорина А (41) нагреванием последнего с трифенилфосфином в таком растворителе, как толуол.

Подразумевается, что новое промежуточное вещество 42 и другие подобные ему являются главными промежуточными веществами в синтезе большого числа аналогов циклоспорина А, содержащих в 1-м аминокислотном остатке систему сопряженного диена. Например, для получения других активированных соединений, подобных 42, с ацетил-η-бромциклоспорином А (41) могут реагировать, кроме трифенилфосфина, такие соединения, как триарилфосфины, триалкилфосфины, арилалкилфосфины и триариларсины.

Снова обращаясь к Фиг.4, следует отметить, что смесь (Е)- и (Z)-изомеров ацетил-1,3-диена (43) может быть получена перемешиванием при комнатной температуре трифенилфосфоний-бромида ацетил-циклоспорина А (42) с избытком формальдегида в толуоле. После добавления формальдегида по каплям добавляют основание - такое, как гидроокись натрия, и изомерную смесь диенов экстрагируют этилацетатом.

Реакция Виттига описана во многих руководствах по органической химии. В частности, одно из описаний предоставлено McMurry J. // Organic Chemistry. 5-е издание. Brooks/Cole, Pacific Grove, 2000. С.780-783. Реакция Виттига может быть применена для перевода кетона или альдегида в алкен. В таком процессе фосфорилид, носящий также название фосфоран, может реагировать с альдегидом или кетоном с образованием биполярного промежуточного вещества, носящего название бетаин. Обычно бетаиновое

промежуточное вещество не выделяют; точнее, оно спонтанно разлагается через состояние четырехзвенного кольца, давая алкен и трифенилфосфин-оксид. Конечным результатом является замещение карбонильного атома кислорода группой $R_2C=$, первоначально соединенной с фосфором.

5 Специалистам в данной области следует принимать во внимание, что указанные выше реагенты для реакции Виттига, приведенные в качестве примера, могут быть заменены широким кругом реагентов. Например, для получения многочисленных производных циклоспорина вместо формальдегида могут быть использованы многие алкильные, арильные, альдегидные и кетонные соединения. Авторы изобретения проводили указанный
10 выше синтез с формальдегидом и, вместо формальдегида, с такими соединениями, как ацетальдегид, дейтерированный формальдегид, дейтерированный ацетальдегид, 2-хлорбензальдегид, бензальдегид и бутиральдегид. Такие реакции Виттига могут быть проведены, кроме производных трифенилфосфония, с другими соединениями - такими, как триарилфосфины, триалкилфосфины, арилалкилфосфины и триариларсины. Вместо
15 использования гидроокиси натрия могут быть использованы многие другие основания - такие, как карбонат натрия, бутил-литий, гексил-литий, амид натрия, литиевые основания - такие, как диизопропиламид лития, и алкоксиды щелочных металлов. Кроме варьирования этих реагентов реакция может проводиться в различных органических растворителях или в смесях органических растворителей и воды, в присутствии различных
20 солей, в частности галидов лития, и при различных температурах. Все перечисленные выше факторы могут быть должным образом выбраны специалистом, имеющим обычный опыт в данной области, чтобы нужным образом повлиять на стереохимию образующейся двойной связи, то есть на соотношение цис- и транс-изомеров.

На конечной стадии этого синтеза защитную группу β -углерода удаляют с помощью
25 следующей процедуры. Смесь ацетил-(E)1,3-диена и ацетил-(Z)1,3-диена (43) растворяют в метаноле, затем добавляют воду. Добавляют основание - такое, как карбонат калия, и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре. Вместо карбоната калия могут быть использованы другие основания, в том числе гидроокись натрия, карбонат натрия, алкоксид натрия и алкоксид калия. Затем используют этилацетат для
30 экстрагирования конечного продукта - смеси (E)- и (Z)-изомеров $ISA_{TX}247$ (44).

Способ 2

В альтернативном пути реакции для синтеза смеси (E)- и (Z)-изомеров $ISA_{TX}247$, в соответствии со стратегией реакции Виттига, может быть применен путь 4-этапного синтеза в следующем виде: (1) защита β -спирта, как в Способе 1; (2) окисление ацетил-
35 циклоспорина А, полученного в 1-м этапе, с получением альдегида; (3) реакция Виттига; и (4) деацетилирование продукта реакции Виттига, или, что эквивалентно, гидролиз ацетатного сложного эфира, чтобы восстановить спирт. Эта последовательность реакции проиллюстрирована на Фиг.5.

Этот путь синтеза начинается подобно пути с использованием реакции Виттига на
40 Фиг.4, в котором первый этап состоит в защите β -спирта ацетатной эфирной группой. Эти два пути, однако, отличаются друг от друга тем, что следующий этап Способа 2 состоит в переводе ацетил-циклоспорина А (35) в альдегид, а именно альдегид ацетил-циклоспорина А (51). В этой реакции используется окисляющий агент, достаточно сильный для расщепления связи $C=C$ с образованием двух фрагментов. Расщепление алкена
45 известно в данной области знания. Озон, по-видимому, является наиболее широко употребляющимся реагентом для расщепления двойной связи, но и другие окисляющие агенты - такие, как перманганат калия ($KMnO_4$) или четырехокись осмия, могут также приводить к разрыву двойной связи.

Применение окисляющих агентов на основе рутения обсуждалось Carlsen H.J. и др. в «A
50 Greatly Improved Procedure for Ruthenium Tetroxide Catalyzed Oxidations of Organic Compounds» // J. Org. Chem. 1981. Т.46, №19. С.3736-3738. Carlsen и др. утверждают, что исторически стоимость рутения послужила стимулом к разработке процедур катализа, в наиболее известной из которых периодат или гипохлорит используются как

стехиометрические окислители. Эти исследователи обнаружили при традиционном использовании рутения утрату каталитической активности в ходе реакции, что, как они предположили, является следствием присутствия карбоновых кислот. Было обнаружено, что добавление в реакционную смесь нитрилов, в особенности ацетонитрила, существенно

5 повышают скорость и степень окислительного расщепления алкенов в системе $\text{CCl}_4/\text{H}_2\text{O}/\text{IO}_4^-$.

Согласно одному из вариантов осуществления настоящего изобретения альдегид ацетил-циклоспорина А (51) может быть получен из ацетил-циклоспорина А (35) растворением его в смеси ацетонитрила и воды и добавлением после этого вначале

10 периодата натрия, а затем гидрата хлорида рутения. Альдегид (51) может быть экстрагирован этилацетатом. Следует заметить, что синтез альдегида (51) в соответствии с этой стратегией окислительного расщепления важен для многих стереоселективных путей синтеза, подлежащих обсуждению далее, вследствие чего читателю следует в соответствующих местах вернуться к этому разделу.

15 Третий этап Способа 2 включает перевод альдегида (51) в смесь (Е)- и (Z)-диенов с помощью реакции Виттига подобным же образом, как в Способе 1. Так же, как в Способе 1, фосфор-илид добавляют к альдегиду, чтобы получить бетаин (который не выделяют), с тем окончательным результатом, что карбонильный атом кислорода замещается группой $\text{R}_2\text{C}=\text{}$, первоначально присоединенной к фосфору. И вновь такая реакция Виттига

20 может быть проведена, кроме производных трифенилфосфония, с иными фосфорсодержащими соединениями - с такими, как триарилфосфины, триалкилфосфины, арилалкилфосфины и триариларсины, при различных температурах и с использованием различных основных растворов и растворителей, или же для воздействия на стереохимию вновь образованной двойной связи может быть использовано добавление различных

25 неорганических солей.

В одном из примеров осуществления альдегид ацетил-циклоспорина А (51) растворяют в толуоле, к нему добавляют основание - такое, как гидроокись натрия в воде. Затем добавляют аллил-трифенилфосфонийбромид (52) и перемешивают реакционную смесь в течение некоторого времени. Заключительная процедура (workup) получения продукта -

30 смеси ацетил-(Е)- и ацетил-(Z)-1,3-диенов (53) включает экстракцию гексаном и/или этилацетатом, где подразумевается, что термин «заключительная процедура (workup)» означает процесс экстрагирования и/или выделения продуктов реакции из смеси реагентов, продуктов, растворителя и т.д.

В конечном этапе Способа 2, подобно конечному этапу Способа 1, ацетатную эфирную

35 группу, защищающую спирт в положении β -углерода, удаляют карбонатом калия, что дает смесь (Е)- и (Z)-изомеров $\text{ISA}_{\text{TX}}247$ (54). Для удаления защитной группы могут использоваться другие основания, кроме карбоната калия, включая гидроокись натрия, карбонат натрия, алкоксид натрия и алкоксид калия.

Витамин Е TPGS

40 Токоферилы используются в композициях в качестве антиоксидантов. D- α -токоферил-полиэтиленгликоль(1000)-сукцинат (витамин Е TPGS) (Eastman Kodak, Rochester, NY) - это водорастворимое производное витамина Е. Он имеет двойственную природу - сочетает гидрофильность и липофильность и применялся в известных ранее композициях как антиоксидант или консерватор. При применении в качестве антиоксиданта токоферил или

45 витамин Е TPGS может присутствовать в количестве от приблизительно 0,5% до приблизительно 1%, но не более 5% по массе.

Витамин Е TPGS способен смешиваться с водой и образует с водой растворы при концентрации вплоть до приблизительно 20% по массе, выше которой могут образовываться жидкокристаллические фазы. Витамин Е TPGS имеет высокую

50 температуру деструкции и хорошую термостабильность. При массовой концентрации 0,02% образуются мицеллы. Если концентрация витамина Е TPGS превышает 20% по массе, образуются жидкокристаллические фазы с большей вязкостью. При повышении концентрации витамина Е TPGS в воде более сложные жидкокристаллические фазы

эволюционируют от изотропной фазы глобулярных мицелл к изотропной смешанной цилиндрически мицеллярной и гексагональной фазе к гексагональной, смешанной гексагональной и обращенной гексагональной фазам, к обращенной глобулярно-мицеллярной фазе и к ламеллярной фазе (13). В этих композициях витамин Е TPGS

5 полезен как поверхностно-активный агент или как эмульгатор. Он может также применяться в сложных композициях, которые включают несколько других наполнителей в качестве растворителя, связующего вещества и наполнителя.

В дополнение к этому витамин Е TPGS в настоящем изобретении может присутствовать не только как эмульгирующий агент и адъювант, но может также ингибировать изменения в
10 масле, предотвращая его прогоркание.

Масляный компонент

Масляным компонентом композиций настоящего изобретения могут быть растительное масло, синтетическое масло, заменитель масла - такой, как триацетин, минеральное
15 масло или масло триглицерида со средней длиной цепи (МСТ), то есть масло триглицерида, у которого углеводородная цепь имеет 8-10 атомов углерода.

Предпочтительно масляный компонент представляет собой масло МСТ.

Масло МСТ имеет много преимуществ перед растительным маслом, в том числе: 1) более низкую подверженность окислению; 2) удельную плотность около 0,94-0,95, что
20 выше, чем у растительного масла, и близко к плотности воды, а это облегчает получение стабильной микроэмульсии; 3) оно менее гидрофобно, чем растительное масло, и вследствие этого обеспечивает достижение более высоких концентраций лекарства, в нем растворенного; и 4) оно имеет более низкую вязкость, что обеспечивает получение более
высокой концентрации масляной фазы в композиции без существенного повышения ее вязкости (15).

25 Масло МСТ является коммерческим продуктом. Примеры масел МСТ, рассматриваемых настоящим изобретением, включают (но не ограничиваются ими) TCR™ (товарный знак Societe Industrielle des Oleagineux, Франция, для смеси триглицеридов, где около 95% цепей жирных кислот имеют 8 или 10 атомов углерода) и MIGLYOL 812™ (товарный знак
Dynamit Nobel, Швеция, для смеси триэфира глицерина и каприловой и каприновой
30 кислот). Другое имеющееся в продаже масло, пригодное для композиций настоящего изобретения, - это изопропил-миристант.

Примеры растительных масел, рассматриваемых настоящим изобретением, включают (но не ограничиваются ими) масло соевых бобов, масло семян хлопка, оливковое масло, кунжутное масло и касторовое масло. Минеральные масла включают (но не
35 ограничиваются ими) природные углеводороды или их синтетические аналоги. Масляные жирные кислоты - такие, как олеиновая кислота и линолевая кислота, жирные спирты - такие, как олеиловый спирт, и жирные сложные эфиры - такие, как сорбитан-моноолеат и гидрофобные эфиры сахарозы, могут использоваться в качестве масляного компонента, хотя они не так предпочтительны, как другие упоминаемые здесь масла. Другие липиды,
40 которые могут быть использованы в композициях настоящего изобретения, включают (но не ограничиваются ими) синтетические и полусинтетические моно-, ди- и/или триглицериды, триглицериды, полученные фракционированием с помощью растворителя или термическим фракционированием природных, синтетических или полусинтетических триглицеридов, и триглицериды, полученные переэтерификацией и/или направленной или
45 случайной перегруппировкой.

Эмульгаторы

Композиции настоящего изобретения содержат, по меньшей мере, один эмульгатор. Предпочтительно эмульгатор или ПАВ представляет собой неионный липофильный растворитель или неионный амфифильный растворитель. Эмульгатором может быть Твин -
50 такой, как Твин 40, Твин 80 или подобные им. Однако может быть использовано любое ПАВ, способное образовывать предконцентрат микроэмульсии. Некоторые примеры приведены ниже.

Компонент ПАВ может представлять собой амфифильное, гидрофильное или

липофильное ПАВ или их смеси. Особенно предпочтительны неионные гидрофильные и неионные липофильные ПАВ. Примерами гидрофильных ПАВ, пригодных для применения в качестве поверхностно-активных компонентов, являются продукты реакции природных или гидрогенизованных растительных масел с этиленгликолем. Такие продукты могут быть

5 получены известными способами - например, путем реагирования природного или гидрогенизованного касторового масла или его фракций с окисью этилена, с удалением, по желанию, из продукта свободных полиэтиленгликолевых компонентов. Пригодны также различные меняющие поверхностное натяжение вещества (tensides), или ПАВ, имеющиеся в продаже с торговой маркой Cremophor™. Особенно подходящими являются Cremophor™

10 RH 40 и Cremophor™ EL. Для использования в этом качестве пригодны также различные меняющие поверхностное натяжение вещества, имеющие торговую марку Nikkol™.

Другие примеры включают полиоксиэтилен-сорбитановые сложные эфиры жирных кислот - например, моно- и трилауриловый, пальмитиловый, стеариловый и олеиловый эфиры - например, Твины, в том числе полиоксиэтилен(20)сорбитан-монолаурат [Tween®

15 20], полиоксиэтилен(20)сорбитан-монопальмитат [Tween® 40], полиоксиэтилен(20)сорбитан-моностеарат [Tween® 60], полиоксиэтилен(20)сорбитан-моноолеат [Tween® 80], полиоксиэтилен(20)сорбитан-тристеарат [Tween® 65], полиоксиэтилен(20)сорбитан-триолеат [Tween® 85], полиоксиэтилен(4)сорбитан-монолаурат [Tween® 21], полиоксиэтилен(4)сорбитан-моностеарат [Tween® 61] и

20 полиоксиэтилен(5)сорбитан-моноолеат [Tween® 81]. Особенно предпочтительные продукты этого класса для применения в композициях настоящего изобретения - это Твин 40 и Твин 80, полиоксиэтиленовые сложные эфиры жирных кислот - такие, как полиоксиэтиленовые сложные эфиры стеариновой кислоты, полиоксиэтилен-полиоксипропиленовые сополимеры, полиоксиэтилен-полиоксипропиленовые блочные сополимеры - например,

25 типа известных и имеющихся в продаже под торговой маркой Poloxamer™, диоктилсукцинат, диоктил-сульфосукцинат натрия, ди-2-этилгексил-сукцинат или лаурилсульфат натрия и фосфолипиды - в особенности лецитины. Пригодные для применения в композициях настоящего изобретения лецитины включают (но не ограничиваются ими) лецитины соевых бобов. Другие пригодные продукты включают

30 Cremophor™, Nikkol™, гликолированные природные или гидрогенизованные растительные масла и диэфир каприловой-каприновой кислот. Пригодны также пропиленгликолевые моно- и диэфиры жирных кислот - такие, как пропиленгликоль-дикаприлат, пропиленгликоль-дилаурат, пропиленгликоль-гидроксистеарат, пропиленгликоль-изостеарат, пропиленгликоль-лаурат, пропиленгликоль-рицинолеат, пропиленгликоль-

35 стеарат.

Композиции настоящего изобретения могут дополнительно включать фармацевтически приемлемые ПАВ, коллоид, суспензию, увеличивающий объем агент, наполнитель, носитель, меняющие поверхностное натяжение вещества (tensides) или вспомогательные для изменения поверхностного натяжения вещества (cotensides).

40 В. Предпочтительные композиции настоящего изобретения

Формы осуществления настоящего изобретения - это предпочтительно стабильные предконцентраты микроэмульсий, которые обеспечивают достаточные биологическую доступность лекарства и/или сниженную токсичность. Эти композиции могут иметь

45 наилучшую способность повышать биологическую доступность лекарства и снижать побочные эффекты, связанные с введением циклоспорина и его аналогов.

Микроэмульсионные композиции позволяют доставлять лекарство в частицах меньшего размера. Доставка разовой дозы лекарства в частицах меньшего размера позволяет увеличить площадь воздействия и, вероятно, усилить всасывание и улучшить биологическую доступность. Микроэмульсии были известны ранее в данной области.

50 Однако микроэмульсии с использованием компонентов заявленной композиции формируются на основе осмысленного выбора соотношений этанола, витамина Е TPGS, масляного компонента и эмульгатора, которые выходят за рамки известных ранее композиций для активных агентов, подобных ISA_{TX}247. Композиции, содержащие менее 5%

этанола или более 50% витамина Е ТPGS, образуют при комнатной температуре твердые предконцентраты микроэмульсий, что является менее предпочтительным вариантом осуществления композиций настоящего изобретения.

Относительная пропорция ингредиентов в композициях настоящего изобретения будет,

5 конечно, значительно меняться в зависимости от конкретного типа рассматриваемой композиции - например, будет ли это «предконцентрат микроэмульсии», микроэмульсия, нормальная эмульсия, раствор и так далее. Относительные пропорции будут также изменяться в зависимости от конкретной функции ингредиентов в композиции - например, для компонента ПАВ в «предконцентрате микроэмульсии» это будет зависеть от того,

10 используется ли он только как ПАВ или и как ПАВ, и как растворитель. Относительные пропорции будут также изменяться в зависимости от конкретных используемых ингредиентов и от требуемых физических характеристик конечной композиции.

Определение нужных пропорций в каждом конкретном примере находится в пределах возможностей специалиста в данной области. В соответствии с этим следует понимать,

15 что все указанные пропорции и интервалы относительных массовых соотношений, описанные ниже, указывают только на предпочтительные или индивидуально новаторские находки и не ограничивают изобретение в его более широком аспекте. Микроэмульсии настоящего изобретения могут быть предконцентратами микроэмульсий.

Предпочтительные композиции (рецептуры или составы) настоящего изобретения
20 приведены далее.

Состав 1

- a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247;
 - b) витамин Е ТPGS;
 - c) масло МСТ;
 - 25 d) Твин 40; и
 - e) этанол
- с соотношением ингредиентов 0,5-1:4:2:2:1.

Состав 2

- a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247;
 - 30 b) витамин Е ТPGS;
 - c) масло МСТ;
 - d) Твин 80; и
 - e) этанол
- с соотношением ингредиентов 0,5-1:2:4:2:1.

Состав 3

- a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247;
 - b) масло МСТ;
 - c) Твин 80;
 - d) триацетин; и
 - 40 e) этанол
- с соотношением ингредиентов 0,5-1:5:3:1:1.

Состав 4

- a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247;
 - b) Твин 80;
 - 45 c) витамин Е ТPGS;
 - d) этанол и
 - e) изопропил-миристат
- с соотношением ингредиентов 0,5-1:2:1:1:6.

Состав 5

- 50 a) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247;
- b) витамин Е ТPGS;
- c) масло МСТ;
- d) Твин 40; и

е) этанол

с соотношением ингредиентов 0,5-1:4:2:2:1, причем состав дополнительно смешан с водной средой с образованием прозрачного стабильного раствора микроэмульсии. Водные среды могут включать (но не ограничиваться ими) воду, фруктовые соки - такие, как яблочный сок, чай, молоко и какао. Пригодные фруктовые соки не должны быть грейпфрутовым соком и, предпочтительно, включают яблочный сок. Композиция (состав) предпочтительно растворяется в водной среде в отношении приблизительно 1 часть композиции на от приблизительно 10 до приблизительно 100 частей водной среды.

Фармацевтические композиции настоящего изобретения предпочтительно обеспечивают достаточную биологическую доступность. Предпочтительно, чтобы биологическая доступность $ISA_{TX}247$ была равна или превышала 30%, более предпочтительно, чтобы биологическая доступность была более 40%. Фармацевтические композиции предпочтительно находятся в форме для перорального введения - такой, как микроэмульсии или предконцентраты микроэмульсий. Водная среда преимущественно такова, чтобы она была вкусной для пациентов, чтобы они легко проглатывали пероральный состав.

Будучи введенными в эффективном количестве пациенту, в случае такой необходимости, композиции настоящего изобретения будут вызывать иммуносупрессию. Предпочтительно вводимое количество фармацевтической композиции составляет приблизительно от 0,5 до 3 мг на 1 кг веса тела индивидуума в день. Состав предпочтительно вводится либо 1 раз, либо 2 раза в день.

При надлежащем введении композиции настоящего изобретения могут быть применены для иммуносупрессии, в том числе, например, для предотвращения отторжения органа или реакции «трансплантат против хозяина», и для лечения заболеваний и болезненных состояний, в частности аутоиммунных и воспалительных заболеваний и болезненных состояний. Примеры аутоиммунных и воспалительных заболеваний и болезненных состояний, рассматриваемых здесь, включают (но не ограничиваются ими) тиреоидит Хашимото, пернициозную анемию, Аддисонову болезнь, псориаз, диабет, ревматоидный артрит, системную красную волчанку, дерматомиозит, синдром Шегрена, болезнь Вагнера, красную волчанку, рассеянный склероз, миастению гравис, болезнь Рейтера, артрит (ревматоидный артрит, хронический прогрессирующий артрит и деформирующий артрит) и ревматические заболевания, аутоиммунные гематологические расстройства (гемолитическую анемию, гипопластическую анемию, истинную эритроцитарную анемию и идиопатическую тромбоцитопению), полихондрию, склеродему, гранулематоз Вегенера, хронический активный гепатит, синдром Стивенса-Джонсона, синдром идиопатической мальабсорбции, аутоиммунное воспаление кишечника (язвенный колит и болезнь Крона), эндокринную офтальмопатию, болезнь Грейвса, саркоидоз, первичный цирроз печени, юношеский диабет (сахарный диабет 1 типа), увеит (предшествующий и последующий), кератоконъюнктивит (*keratoconjunctivitis sicca* и *vernal keratoconjunctivitis*), интерстициальный склероз легких, псориазный артрит и гломерулонефрит.

Композиции настоящего изобретения могут также применяться для лечения заболеваний, вызванных протозойными инфекциями и паразитами, - таких, как малярия, кокцидиоидомикоз и шистосомоз. Их можно также применять в качестве агентов для снятия или подавления устойчивости к антинеопластическим агентам при опухолях.

Настоящее изобретение предусматривает также композицию, подлежащую парентеральному введению (то есть подкожно или внутримышечно). Эта композиция содержит следующие компоненты:

- a) фармацевтически эффективное количество $ISA_{TX}247$;
- b) витамин E TPGS;
- c) масло MCT;
- d) Твин 40; и
- e) этанол.

Предпочтительно такую композицию стерилизуют перед введением.

С. Методология

Было обнаружено, что можно приготовить стабильные композиции с аналогом циклоспорина ISA_{TX}247. Композиции настоящего изобретения могут быть получены нижеследующим образом. Тем не менее, специалисты в данной области знают, что
 5 возможна любая последовательность этих этапов. Кроме того, примененные в нижеследующем описании компоненты таковы, как подробно описано выше, и описанные ниже способы могут легко переделать один или более из этапов или полностью изменить порядок процесса.

Хотя только в Составе 5 детализировано, каким образом предконцентрат микроэмульсии
 10 добавляется к водному раствору, чтобы получить микроэмульсию, любой из составов предконцентрата микроэмульсии может быть превращен в микроэмульсию смешиванием его с водными средами. Предпочтительно предконцентрат смешивается с водной средой в отношении 1 часть предконцентрата на 10-100 частей водной среды. Более предпочтительно, чтобы водной средой был яблочный сок.

Состав 1

Сначала к Твину 40 добавляют масло МСТ, чтобы получить смесь при комнатной температуре (20-25°C). Затем к смеси масла МСТ с Твином 40 добавляют этанол. После этого к смеси добавляют витамин Е TPGS. Вслед за этим смесь инкубируют с перемешиванием при 30-35°C до прозрачности. После этого добавляют надлежащее
 20 количество ISA_{TX}247. Окончательный этап состоит в перемешивании смешанных ингредиентов при 30-35°C до тех пор, пока ISA_{TX}247 не растворится полностью.

Состав 2

Сначала к Твину 80 добавляют масло МСТ, чтобы получить смесь при комнатной температуре (20-25°C). Затем к смеси масла МСТ с Твином 80 добавляют этанол. После
 25 этого к смеси добавляют витамин Е TPGS. Вслед за этим смесь инкубируют с перемешиванием при 30-35°C до прозрачности. После этого добавляют надлежащее количество ISA_{TX}247. Окончательный этап состоит в перемешивании смешанных ингредиентов при 30-35°C до тех пор, пока ISA_{TX}247 не растворится полностью.

Состав 3

Сначала к Твину 80 добавляют масло МСТ, чтобы получить смесь при комнатной температуре (20-25°C). Затем к смеси масла МСТ с Твином 80 добавляют этанол. После
 30 этого к смеси добавляют триацетин. Вслед за этим смесь инкубируют с перемешиванием при 30-35°C до прозрачности. После этого добавляют надлежащее количество ISA_{TX}247. Окончательный этап состоит в перемешивании смешанных ингредиентов при 30-35°C до тех пор, пока ISA_{TX}247 не растворится полностью.

Состав 4

Сначала к Твину 80 добавляют масло МСТ, чтобы получить смесь при комнатной температуре (20-25°C). Затем к смеси добавляют изопропил-миристат и этанол (20-25°C).
 40 После этого добавляют надлежащее количество ISA_{TX}247. Окончательный этап состоит в перемешивании смешанных ингредиентов при комнатной температуре (20-25°C) до тех пор, пока ISA_{TX}247 не растворится полностью.

Состав 5

Сначала к Твину 40 добавляют масло МСТ, чтобы получить смесь при комнатной
 45 температуре (20-25°C). Затем к смеси масла МСТ с Твином 40 добавляют этанол. После этого к смеси добавляют витамин Е TPGS. Вслед за этим смесь инкубируют с перемешиванием при 30-35°C до прозрачности. После этого добавляют надлежащее количество ISA_{TX}247. Окончательный этап состоит в перемешивании смешанных ингредиентов при 30-35°C до тех пор, пока ISA_{TX}247 не растворится полностью. Затем
 50 полученный предконцентрат смешивают с водной средой. Предпочтительно предконцентрат смешивается с водной средой в соотношении 1 часть предконцентрата на 10-100 частей среды.

В предпочтительных методологиях каждый из приведенных выше составов готовят,

сначала растворяя ISA_{TX}247 в этаноле. Остальные ингредиенты могут быть добавлены в любом порядке.

ОПИСАНИЕ ПРИМЕРОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В приведенных ниже примерах используемые сокращения имеют следующие значения

5 (если сокращение не расшифровано, оно имеет общепринятый смысл):

w/w = массовое соотношение (weight to weight)

NF = Национальная рецептура (National Formulary)

NF/NP = Национальная рецептура/Национальная фармакопея (National Formulary/National Pharmacopeia)

10 USP = Фармакопея США (United States Pharmacopeia)

мг = миллиграммы (milligrams)

мл = миллилитры (milliliters)

кг = килограммы (kilograms)

нг = наногаммы (nanograms)

15 нм = нанометры (nanometers)

T_{max} = время достижения максимальной концентрации (Time of maximum concentration)

C_{max} = максимальная концентрация (maximum concentration)

ППК = площадь под кривой (AUC - area under the curve)

20 LCMS = жидкостная хроматография в соединении с масс-спектрометрией (Liquid Chromatography - Mass Spectrometry)

MCT = триглицериды со средней длиной цепи (Medium chain triglycerides)

PK = фармакокинетика (Pharmacokinetics)

PS = свиная кожа (pig skin)

25 Два лекарственных продукта - пероральный раствор и мягкие желатиновые капсулы - были произведены фирмой Isotechnika, Inc. Оба лекарственных продукта содержат в качестве ингредиентов ПАВ, этанол, липофильный и/или амфифильный растворитель. Получение каждого из них описано ниже.

Пример 1. Получение перорального раствора ISA_{TX}247

Следующие ингредиенты составляют продукт - пероральный раствор лекарства

30 ISA_{TX}247: ISA_{TX}247, d- α -токоферил-полиэтиленгликоль(1000)-сукцинат (витамин E TPGS) NF, масло триглицеридов со средней длиной цепи (MCT) USP, Твин 40 NF и 95% этанол USP (таблица 1).

Ингредиент (и стандарт анализа)	Содержание в растворе в единицах и/или процентах	Количество в фасовке, кг		
		партия №39120228	партия №30010532	партия №30040517
		0,16205	0,544	0,768
d- α -токоферил-полиэтиленгликоль(1000)-сукцинат (витамин E TPGS) NF	42,24%	0,16205	0,544	0,768
масло триглицеридов со средней длиной цепи (MCT) USP	21,12%	0,08102	0,272	0,384
40 твин 40 NF	21,12%	0,08102	0,272	0,384
95% этанол USP	10,56%	0,04051	0,136	0,192
ISA _{TX} 247	4,95%	0,01900	0,0637	0,090
Всего	99,99%	0,38360	1,286	1,818

45 Витамин E TPGS расплавляли в горячей камере и переносили в диспергатор жидкостей. Нагретое содержимое каждого контейнера с TPGS перемешивали в течение не менее 1 мин, чтобы убедиться, что это гомогенная на вид жидкость. Когда температура содержимого каждого сосуда была не ниже 35°C, подготавливали при требуемой температуре 37,5°C $\pm$ 2,5°C сосуд Гроена (Groen).

50 Необходимые количества ингредиентов - витамина E TPGS, масла MCT, Твина 40 и 95% этанола взвешивали в отдельных сосудах, подходящим образом помеченных для идентификации. Витамин E TPGS немедленно переносили в сосуд Гроена. Масло MCT, Твин 40 и 95% этанол переносили мерными порциями в сосуд, содержащий предварительно взвешенное количество витамина TPGS. Сосуд тщательно закупоривали

для уменьшения испарения этанола и встряхивали при $37,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ в течение 15-20 мин после добавления этанола.

Пробы их придонного и верхнего слоев просматривали с помощью стерильных стеклянных разовых пипеток. Содержимое пипеток оценивалось на визуальную

5 гомогенность и прозрачность.

Миксер устанавливали на слабую степень вращательного перемешивания. Контейнер был закрыт для уменьшения испарения этанола во время гомогенизации. К непрерывно перемешиваемой смеси добавляли ISA_{TX}247. Затем контейнер герметизировали. Состояние смеси проверяли каждые полчаса, пока порошок не растворялся полностью.

10 Пример 2. Приготовление желатиновых капсул с ISA_{TX}247

Настоящее изобретение предусматривает также мягкие желатиновые капсулы. Эти капсулы содержат ISA_{TX}247 и те же самые нелекарственные ингредиенты, как и пероральный раствор, инкапсулированные в желатиновые капсулы типа 2D PS(NF/NP), содержащие желатин, глицерин, воду и сорбитол.

15 Желатиновые капсулы с ISA_{TX}247 готовили, инкапсулируя пероральный раствор с ISA_{TX}247 (50 мг/мл), содержащий ISA_{TX}247, витамин E TPGS NF, масло триглицеридов со средней длиной цепи (MCT) USP, Твин 40 NF и 95% этанол USP, в желатиновые капсулы типа 2D PS(NF/NP). Желатиновые капсулы типа 2D PS(NF/NP) готовили, используя желатин NF (из свиной кожи), глицерин USP, очищенную воду USP и 76% сорбитол

20 специальной квалификации.

Пример 3. Измерения стабильности / срока хранения

Приведенная ниже Таблица 2 показывает данные по стабильности, полученные с помощью известной методики LCMS, для Состава 1 как в жидкой расфасовке (хранение при 30°C), так и в форме мягких гелевых капсул (хранение при комнатной температуре).

25 Составы стабильны при нормальных условиях хранения.

Таблица 2 Концентрация ISA _{TX} 247 (мг/мл)			
	0 мес	6 мес	24 мес
Расфасованный в бутылки состав	57,1 $\pm$ 0,5	56,7 $\pm$ 0,7	58,0 $\pm$ 0,6
Мягкие гелевые капсулы	41,1 $\pm$ 0,6	42,4 $\pm$ 1,0	41,4 $\pm$ 0,9 ^A

30

^A) Для мягких гелевых капсул измерения проведены через 18 мес

Пример 4. Сравнение фармакокинетических (ПК) профилей

Приведенные ниже составы вводили крысам линии Sprague Dawley через ротовой зонд, производили мониторинг содержания ISA_{TX}247 в крови через постоянные интервалы

35 времени, чтобы получить кривую зависимости концентрации от времени (т.е. фармакокинетический профиль). Ниже приведено сравнение профилей ПК для различных составов ISA_{TX}247, в том числе раскрытых здесь. Хотя группа №2 показывает в крысиной модели хорошую биологическую доступность, данные Таблицы 3 показывают, что эти результаты могут существенно варьировать у собак и человека (см. Таблицу 4).

40

Таблица 3 Профили ПК различных составов с ISA _{TX} 247						
Путь введения	Группа	T _{max}	C _{max}	Время полужизни	ППК	Биологическая доступность в сравнении с группой 1
Пероральный	1	2	49	7,3	559	+0
Пероральный	2	4	75	6,1	1150	+106
Пероральный	3	4	36	18,1	491	-12
Пероральный	4	4	68	7,4	885	+58
Пероральный	5	2	104	7,1	1298	+132
Пероральный	6	4	57	7,7	750	+34

45

T_{max} = время (в часах) достижения максимального уровня содержания в крови ISA_{TX}247

50 C_{max} = максимальный уровень содержания в крови ISA_{TX}247 (нг/мл)

Время полужизни = время (в часах) достижения половины от максимального уровня содержания в крови ISA_{TX}247

ППК = площадь под кривой (связана с биологической доступностью лекарства)

Группа 1:

ВитЕ-TPGS/масло МСТ/Твин 40/этанол=4/2/2/1 (массовое соотношение) (раскрыто здесь как Состав 1).

Группа 2:

ВитЕ-TPGS/масло МСТ/Твин 80/этанол=2/4/2/1 (массовое соотношение) (раскрыто здесь как Состав 2).

Группа 3:

Масло МСТ/Твин 80/триацетин/этанол=5/3/1/1 (массовое соотношение) (раскрыто здесь как Состав 3).

Группа 4:

Твин 80/ВитЕ-TPGS/этанол/изопропил-миристетат=2/1/1/6 (массовое соотношение) (раскрыто здесь как Состав 4).

Группа 5 (препарат для сравнения):

ВитЕ/пропиленгликоль/Маизин/Chremophor RH 40/этанол=3/1,2/5/6,2/2 (массовое соотношение).

Группа 6:

Это состав, разбавленный 1:65 яблочным соком, чтобы получить микроэмульсию (раскрыто здесь как Состав 5).

Пример 5. Получение микроэмульсии

Свыше 100 перестановок соотношений компонентов составов были испытаны на образование микроэмульсии (критерием было оптическое поглощение менее 0,1 и менее 0,01 соответственно при 485 и 900 нм). В испытываемых составах были использованы следующие диапазоны содержания компонентов:

5-10% ISA_{TX}247

0-50% витамина Е TPGS

0-50% Твина 40 и/или Твина 80

0-50% масла МСТ

5-15% этанола.

Менее 20% испытанных составов образовывали микроэмульсию. Образование микроэмульсии относительно независимо от долевого содержания витамина Е TPGS или этанола. Однако составы с содержанием витамина Е TPGS более 50% и этанола менее 5% давали предконцентраты, застывающие при комнатной температуре, что менее предпочтительно. На Фиг.1 приведена Таблица образования предконцентратов микроэмульсий как функции соотношения содержания наполнителей Твина 40 и масла МСТ.

Пример 6. Сравнение фармакокинетических (ПК) профилей у собак

На Фиг.2 представлен график, дающий сравнение фармакокинетических (ПК) профилей у собак Beagle для микроэмульсии ISA_{TX}247 настоящего изобретения и для препарата Neoral®. Данные приведены также ниже в форме Таблицы 4. Составы вводили собакам Beagle (n=6) через ротовой зонд, через постоянные интервалы времени определяли уровни содержания ISA_{TX}247 в крови, чтобы получить кривую зависимости концентрации от времени (т.е. фармакокинетический профиль). Конкретно, собакам вводили через ротовой зонд 2 мл каждого состава (100 мг/мл). Кровь забирали в моменты времени t=0; 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5; 12 и 24 ч после введения дозы и анализировали методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (LCMS).

Таблица 4 Суммирование результатов				
Путь введения	Группа	T _{max}	C _{max}	ППК
Пероральный	1	2 ч	1439±378	8290
Пероральный	2	2 ч	2158±677	11460

T_{max} = время (в часах) достижения максимального уровня содержания в крови ISA_{TX}247

C_{max} = максимальный уровень содержания в крови ISA_{TX}247 (нг/мл)

ППК = площадь под кривой (связана с биологической доступностью лекарства)

Группа 1:

Состав 1: ВитЕ-TPGS/масло МСТ/Твин 40/этанол=4/2/2/1 (массовое соотношение).

Группа 2:

Neoral®.

Хотя эти данные указывают на несколько более низкую биологическую доступность состава с ISA_{TX}247 по сравнению с Neoral®, она существенно выше, чем биологическая доступность, которую обеспечивает Sandimmune® (данные не приведены). Обычно указывается, что биологическая доступность Neoral® составляет около 40%. Как показывает Таблица 4, биологическая доступность состава в Группе 1 сравнима с биологической доступностью Neoral®.

Эти данные указывают на то, что композиции настоящего изобретения могут иметь биологическую доступность, сравнимую с таковой у других композиций с циклоспорином, и могут ослаблять побочное действие, связанное с введением циклоспорина.

Пример 7. Фармакокинетические и токсикокинетические свойства ISA_{TX}247 и циклоспорина А

Фармакокинетические и токсикокинетические параметры ISA_{TX}247 (45-50% Е-изомера и 55-50% Z-изомера) и циклоспорина А определяли на модели кроликов. Кролики также использовались в качестве модели для изучения нефротоксичности, но гораздо реже, чем крысы. Исследования показали, что циклоспорин А, введенный кроликам, вызывает структурные и функциональные изменения при введении в дозе не только более низкой, чем описанные ранее для моделей других животных, но и находящейся в пределах, по меньшей мере, верхнего уровня терапевтического интервала у людей (Thiiveris и др., 1991, 1994). Кроме того, обнаруженные в дополнение к цитологическим изменениям в почечных канальцах фиброз кишечника и артериолопатия позволили предположить, что кролики являются более подходящей моделью для изучения нефротоксичности, поскольку эти структурные особенности являются отличительными признаками нефротоксичности, наблюдаемой у людей. ISA_{TX}247 вводили внутривенно (в/в) в течение первых 7 дней и подкожно (п/к) еще в течение 23 дней в соответствии с нижеследующей схемой применения (Таблица 5).

Таблица 5 Схема введения дозировок для изучения фармакокинетических и токсикокинетических характеристик ISA _{TX} 247 на кроличьей модели				
Группа	Дни 1-7: в/в доза (мг/кг)	Дни 8-30: п/к доза (мг/кг)	Число животных	
			самцы	самки
1. Контроль (растворитель)	0	0	4	4
2. Контроль (циклоспорин А)	10	10	6	6
3. Низкая доза ISA _{TX} 247	5	5	0	2
4. Средняя доза ISA _{TX} 247	10	10	4	4
5. Высокая доза ISA _{TX} 247	15	15	4	4

Для уверенности в том, что все наблюдаемые почечные изменения были вызваны ISA_{TX}247, а не наличием патогена, были использованы свободные от патогена кролики (SPF). Для получения фармакокинетического профиля отбирали пробы крови в 1-й и 7-й дни перед введением лекарства и после введения дозы - через 0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 18 и 24 ч. Другие оцениваемые параметры включали клиническое обследование, вес тела, потребление пищи, гематологию, клиническую химию, грубую патологию и гистопатологическое исследование выбранных тканей/органов.

Образцы крови исследовали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрическим датчиком (масс-спектрометрия с лазерной ионизацией). Приведенная ниже Таблица 6 суммирует средние фармакокинетические параметры у кроликов, получавших 10 мг/кг циклоспорина А или ISA_{TX}247.

Таблица 6 Фармакокинетические параметры вводимых внутривенно циклоспорина А и ISA _{TX} 247 у кроликов-самцов, получавших дозу 10 мг/кг/день. Результаты представлены средними значениями±стандартное отклонение				
Измеряемый параметр	Циклоспорин А		ISA _{TX} 247	
	1-й день	7-й день	1-й день	7-й день
t _{max} (ч)	0,5	0,5	0,5	0,5

$C_{\max}$ (мкг/л)	1954±320	2171±612	1915±149	1959±470
$t_{1/2}$ (ч)	7,4±2,8	9,0±4,0	7,4±1,7	9,2±1,1
Площадь под кривой (мкг/л·ч)	6697±1717	6685±1247	5659±1309	5697±1373

У кроликов-самцов, получавших дозировку 10 мг/кг/день, не было отмечено статистически значимых различий в фармакокинетических параметрах циклоспорина А и ISA_{TX}247. Фармакокинетические параметры ISA_{TX}247 у кроликов-самок, получавших такую же дозу, не отличались достоверно от полученных данных для самцов, за исключением максимальной концентрации препарата на 7-й день.

У кроликов, получавших растворитель (контроль), циклоспорин А или ISA_{TX}247, не было отмечено достоверных изменений в гематологических параметрах. Разница была отмечена в уровнях содержания креатинина в различных группах в течение периода исследования, как показано ниже в Таблице 7. Эти различия показывают, что циклоспорин А оказывает существенно большее негативное воздействие на почки, чем контрольный растворитель или ISA_{TX}247. Следует отметить, что даже в дозе 15 мг/кг/день, на 50% превышающей дозу циклоспорина А (10 мг/кг/день), ISA_{TX}247 не приводил к какому-либо существенному повышению содержания креатинина в сыворотке.

Таблица 7 Процент изменения содержания креатинина в сыворотке по сравнению с фоном у кроликов-самцов, получавших в течение 30 дней растворитель, циклоспорин А или ISA _{TX} 247		
Вводимый препарат	15-й день	30-й день
Растворитель	+6%	-3%
Циклоспорин А (10 мг/кг)	+22%	+33%
ISA _{TX} 247 (10 мг/кг)	+1%	+10%
ISA _{TX} 247 (15 мг/кг)	-19%	-11%

Обследование органов всех кроликов, получавших растворитель (контроль), 10 мг/кг циклоспорина А, 5 мг/кг ISA_{TX}247 или 10 мг/кг ISA_{TX}247, не выявило существенных отклонений. Особенно верно это было для почек, в которых не был отмечен межуточный фиброз, обычно наблюдаемый у получавших циклоспорин А животных (Thliveris и др., 1991, 1994). У кроликов-самцов, получавших 15 мг/кг ISA_{TX}247, было отмечено снижение сперматогенеза. У трех самок по завершении исследования с этой дозой 15 мг/кг ISA_{TX}247 не было отмечено изменений.

Хотя выше конкретно раскрыты и описаны только предпочтительные формы осуществления настоящего изобретения, специалистам в данной области понятно, что возможны многие модификации и видоизменения настоящего изобретения в свете приведенных выше утверждений и в пределах сферы охвата прилагаемой формулы, без отступления от духа и подразумеваемого охвата настоящего изобретения.

Все обсуждавшиеся выше цитируемые работы включены в настоящее описание посредством ссылки во всей их полноте.

Формула изобретения

1. Иммуносупрессивная фармацевтическая композиция, содержащая

а) фармацевтически эффективное количество ISA_{TX}247;

б) витамин Е TPGS (d-α-токоферил-полиэтиленгликоль(1000)-сукцинат);

с) масло МСТ;

д) эмульгатор, выбранный из группы, состоящей из Твина 40 и Твина 80; и

е) этанол,

причем при контакте с водной средой указанная фармацевтическая композиция образует прозрачную микроэмульсию.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что она содержит от приблизительно 5 до приблизительно 10% по массе ISA_{TX}247, до приблизительно 50% по массе витамина Е TPGS, до приблизительно 50% по массе масла МСТ, до приблизительно 50% по массе эмульгатора и от приблизительно 5 до приблизительно 15% по массе этанола, причем композиция представляет собой жидкий предконцентрат микроэмульсии

при комнатной температуре.

3. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что массовое соотношение компонентов а:b:c:d:e составляет приблизительно 0,5-1:4:2:2:1.

4. Иммуносупрессивная фармацевтическая композиция, содержащая:

- а) фармацевтически эффективное количество $ISA_{TX}247$;
- б) витамин Е TPGS;
- в) масло MCT;
- г) Твин 40; и
- д) этанол,

причем при контакте с водной средой указанная фармацевтическая композиция образует прозрачную микроэмульсию.

5. Фармацевтическая композиция по п.4, отличающаяся тем, что она содержит от приблизительно 5 до приблизительно 10% по массе $ISA_{TX}247$, от приблизительно 20 до приблизительно 50% по массе витамина Е TPGS, от приблизительно 5 до приблизительно 20% по массе масла MCT, от приблизительно 5 до приблизительно 50% по массе Твина 40 и от приблизительно 5 до приблизительно 15% по массе этанола.

6. Фармацевтическая композиция по п.4, отличающаяся тем, что массовое соотношение компонентов а:b:c:d:e составляет приблизительно 0,5-1:4:2:2:1.

7. Иммуносупрессивная фармацевтическая композиция, содержащая

- а) фармацевтически эффективное количество $ISA_{TX}247$;
- б) витамин Е TPGS;
- в) масло MCT;
- г) Твин 80; и
- д) этанол,

причем при контакте с водной средой указанная фармацевтическая композиция образует прозрачную микроэмульсию.

8. Фармацевтическая композиция по п.7, отличающаяся тем, что она содержит от приблизительно 5 до приблизительно 10% по массе $ISA_{TX}247$, от приблизительно 20 до приблизительно 50% по массе витамина Е TPGS, от приблизительно 5 до приблизительно 20% по массе масла MCT, от приблизительно 5 до приблизительно 50% по массе Твина 80 и от приблизительно 5 до приблизительно 15% по массе этанола.

9. Фармацевтическая композиция по п.7, отличающаяся тем, что массовое соотношение компонентов а:b:c:d:e составляет приблизительно 0,5-1:2:4:2:1.

10. Иммуносупрессивная фармацевтическая композиция, содержащая

- а) фармацевтически эффективное количество $ISA_{TX}247$;
- б) масло MCT;
- в) Твин 80;
- г) триацетин; и
- д) этанол,

причем при контакте с водной средой указанная фармацевтическая композиция образует прозрачную микроэмульсию.

11. Фармацевтическая композиция по п.10, отличающаяся тем, что она содержит от приблизительно 5 до приблизительно 10% по массе $ISA_{TX}247$, от приблизительно 20 до приблизительно 50% по массе триацетина, от приблизительно 5 до приблизительно 50% по массе масла MCT, от приблизительно 5 до приблизительно 50% по массе Твина 80 и от приблизительно 5 до приблизительно 15% по массе этанола.

12. Фармацевтическая композиция по п.10, отличающаяся тем, что массовое соотношение компонентов а:b:c:d:e составляет приблизительно 0,5-1:5:3:1:1.

13. Иммуносупрессивная фармацевтическая композиция, содержащая

- а) фармацевтически эффективное количество $ISA_{TX}247$;
- б) Твин 80;
- в) витамин Е TPGS;
- г) этанол; и

е) изопропил-миристат,
причем при контакте с водной средой указанная фармацевтическая композиция образует прозрачную микроэмульсию.

14. Фармацевтическая композиция по п.13, отличающаяся тем, что она содержит от
5 приблизительно 5 до приблизительно 10% по массе ISA_{TX}247, от приблизительно 20 до приблизительно 50% по массе витамина Е TPGS, от приблизительно 5 до приблизительно 55% по массе изопропил-миристата, от приблизительно 5 до приблизительно 50% по массе Твина 80 и от приблизительно 5 до приблизительно 15% по массе этанола.

15. Фармацевтическая композиция по п.13, отличающаяся тем, что массовое
10 соотношение компонентов а:b:c:d:e составляет приблизительно 0,5-1:2:1:1:6.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1, 4, 7, 10 или 13, отличающаяся тем, что водная среда выбрана из группы, состоящей из воды, фруктового сока (кроме грейпфрутового сока), чая, молока и какао.

17. Фармацевтическая композиция по п.16, отличающаяся тем, что фруктовый сок
15 представляет собой яблочный сок.

18. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1, 4, 7, 10 или 13, отличающаяся тем, что она пригодна для перорального введения, внутривенного, подкожного или внутримышечного введения.

19. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1, 4, 7, 10 или 13, отличающаяся
20 тем, что представляет собой предконцентрат микроэмульсии или микроэмульсию.

20. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1, 4, 7, 10, 13 или 18, отличающаяся тем, что биологическая доступность ISA_{TX}247 превышает приблизительно 30%.

21. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1, 4, 7, 10, 13 или 18,
25 отличающаяся тем, что она дополнительно содержит биологически совместимые полимеры в качестве защитных коллоидов, стабилизаторов суспензии или увеличивающих объем агентов, наполнителей, связующих веществ и носителей.

22. Фармацевтическая композиция по п.21, отличающаяся тем, что биологически
30 совместимый полимер выбран из группы, состоящей из гликолированных полиэтиленгликолем природных или гидрогенизированных растительных масел, CremophorTM, NikkolTM, Твинов, полиоксиэтилен-полиоксипропиленовых блок-сополимеров, лецитинов, моно- и двойных сложных эфиров пропиленгликоля с жирными кислотами и диэфира пропиленгликоля с каприловой и каприновой кислотами.

23. Фармацевтическая композиция по п.22, отличающаяся тем, что Твин выбран из
35 группы, состоящей из полиоксиэтилен(20)сорбитан-монолаурата, полиоксиэтилен(20)сорбитан-монопальмитата, полиоксиэтилен(20)сорбитан-триолеата, полиоксиэтилен(20)сорбитан-моностеарата, полиоксиэтилен(20)-сорбитан-моноолеата, полиоксиэтилен(20)сорбитан-тристеарата, полиоксиэтилен(4)сорбитан-монолаурата, полиоксиэтилен(4)сорбитан-моностеарата и полиоксиэтилен(5)сорбитан-моноолеата.

40 24. Способ создания состояния иммуносупрессии, включающий введение индивидууму, в случае такой необходимости, эффективного количества фармацевтической композиции, как она определена в любом из пп.1, 4, 7, 10, 13 или 18.

25. Способ по п.24, отличающийся тем, что количество вводимой фармацевтической
45 композиции равно приблизительно от 0,5 до 3 мг на кг веса тела указанного индивидуума в день.

26. Способ по п.24, отличающийся тем, что фармацевтическую композицию вводят один раз в день.

27. Способ по п.24, отличающийся тем, что фармацевтическую композицию вводят два раза в день.

50 28. Способ по п.24, отличающийся тем, что фармацевтическую композицию применяют для лечения воспалительного или аутоиммунного заболевания или болезненного состояния указанного индивидуума.

29. Способ повышения иммуносупрессорного действия ISA_{TX}247 путем получения

фармацевтической композиции, как она определена в любом из пп.1, 4, 7, 10, 13 или 18.

30. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1, 4, 7, 10, 13 или 18, отличающаяся тем, что предконцентрат смешивают с водной средой в отношении приблизительно 1 часть предконцентрата на от приблизительно 10 до приблизительно 100 частей водной среды.

31. Фармацевтическая композиция по п.30, отличающаяся тем, что водная среда выбрана из группы, состоящей из воды, фруктового сока (кроме грейпфрутового сока), чая, молока и какао.

32. Фармацевтическая композиция по п.31, отличающаяся тем, что фруктовый сок представляет собой яблочный сок.

33. Фармацевтическая композиция по п.18, отличающаяся тем, что композиция для перорального введения инкапсулирована в мягкую желатиновую капсулу.

34. Применение фармацевтической композиции, как она определена в любом из пп.1, 4, 7, 10 или 13 для изготовления лекарственного средства, предназначенного для создания состояния иммуносупрессии при введении его индивидууму.

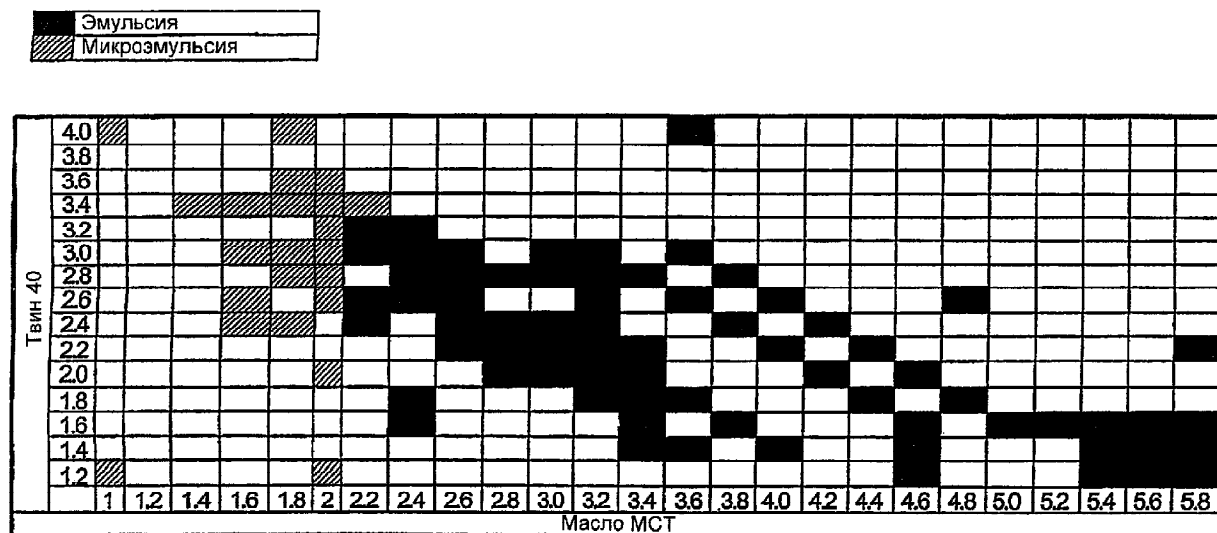
35. Применение по п.34, отличающееся тем, что лекарственное средство пригодно для введения приблизительно от 0,5 до 3 мг фармацевтической композиции на килограмм веса тела указанного индивидуума в день.

36. Применение по п.34, отличающееся тем, что лекарственное средство вводят один раз в день.

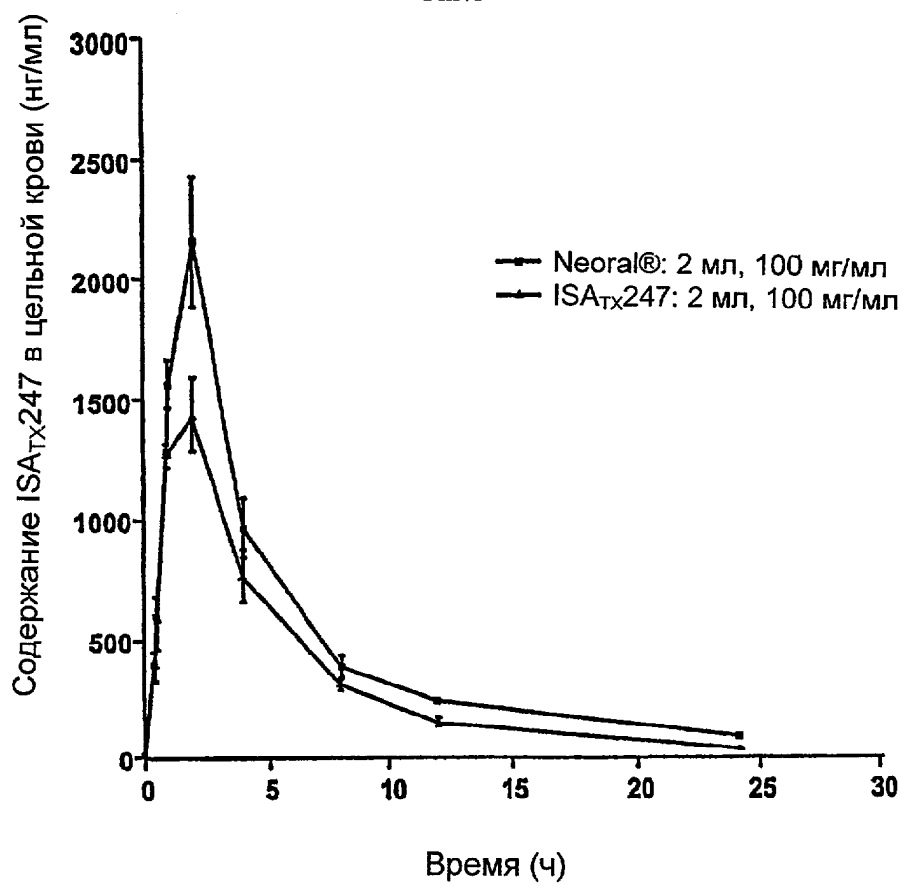
37. Применение по п.34, отличающееся тем, что лекарственное средство вводят два раза в день.

38. Применение по п.34, отличающееся тем, что лекарственное средство применяется для лечения у указанного индивидуума воспалительного или аутоиммунного заболевания или болезненного состояния.

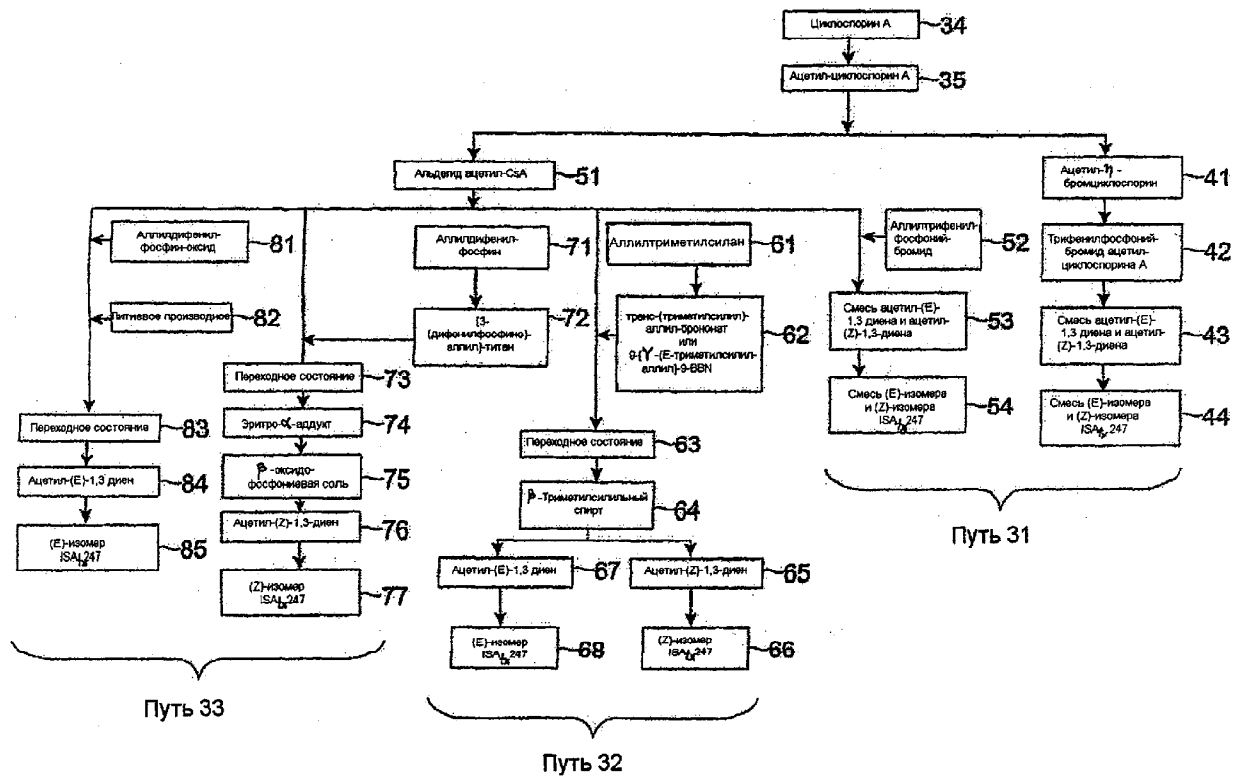
39. Применение фармацевтической композиции, как она определена в любом из пп.1, 4, 7, 10 или 13, для изготовления лекарственного средства, предназначенного для усиления иммуносупрессорного действия ISA_{TX}247.



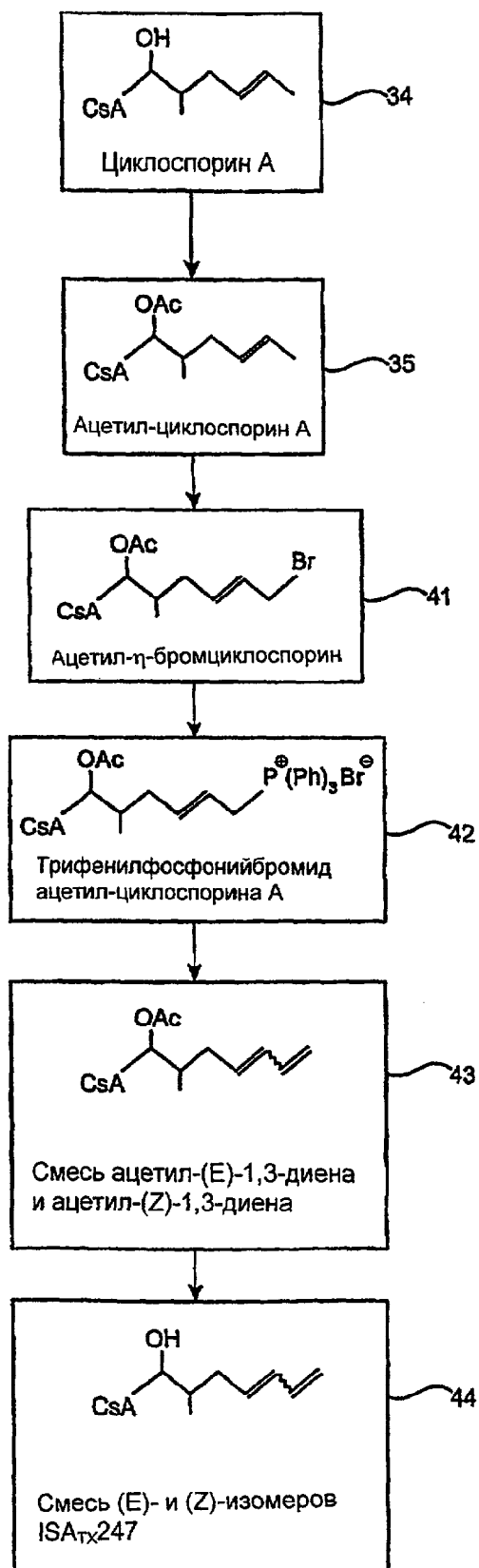
Фиг. 1



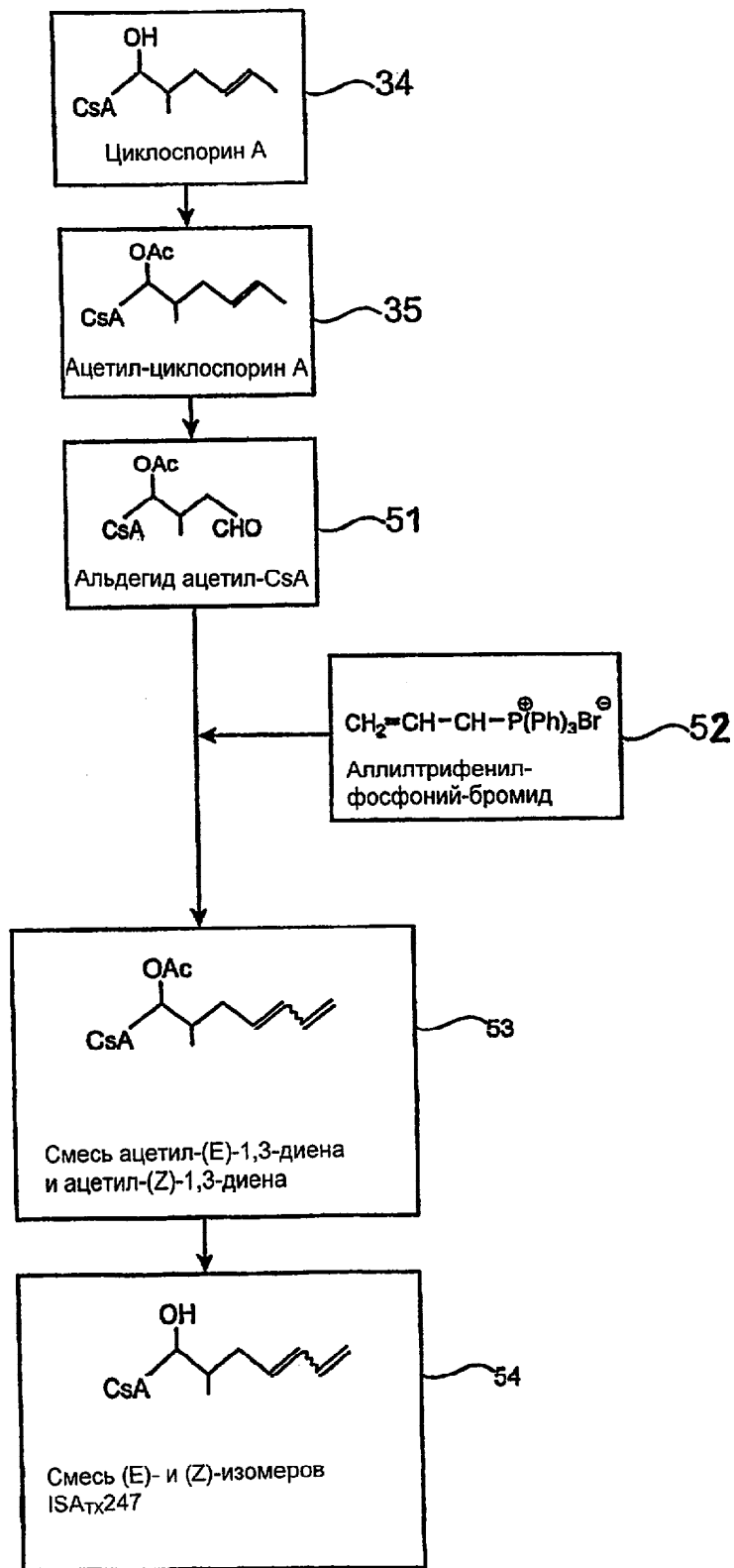
ФИГ. 2



ФИГ. 3



ФИГ. 4



ФИГ. 5