Отношение к родственным заявкам

Настоящая заявка заявляет приоритет предварительной заявки США № 60/122997, поданной 5 марта 1999 г., и предварительной заявки США № 60/122998, поданной 5 марта 1999 г.

Область изобретения

Комбинации ингибитора ангиотензинпревращающего фермента и эпоксистероидного антагониста рецепторов альдостерона описаны для применения при лечении расстройств кровообращения, включая сердечно-сосудистые заболевания, такие как сердечная недостаточность, гипертензия и застойная сердечная недостаточность. Особый интерес представляют способы лечения, использующие антагонист рецепторов альдостерона эпоксистероидного типа, эплеренон, в комбинации с ингибитором ангиотензинпревращающего фермента.

Предпосылки к созданию изобретения

Миокардиальная (или сердечная) недостаточность, независимо от того, является ли она следствием предыдущего инфаркта (инфарктов) миокарда, заболевания сердца, связанного с гипертензией, или первичной миопатии, является главной проблемой здоровья людей во всем мире. Частота клинически выраженной сердечной недостаточности устойчиво повышалась в течение нескольких последних десятилетий.

С точки зрения клиники, декомпенсированная сердечная недостаточность состоит из совокупности признаков и симптомов, которые происходят из застойных органов и гипоперфузируемых тканей, формируя синдром застойной сердечной недостаточности (ЗСН). Застой вызывается, главным образом, повышенным венозным давлением и неадекватной экскрецией натрия (Na^+) относительно поступления Na^+ с пищей, и имеет важную связь с уровнями альдостерона (ALDO) в крови. Патологическая задержка Na^+ наблюдается через клетки эпителия канальцев по всему нефрону, включая последнюю часть дистального канальца и кортикальные собирательные протоки, где имеются участки рецепторов ALDO.

ALDO представляет собой наиболее активный минералокортикоидный гормон организма. Как видно из самого термина "минералокортикоид", указанный стероидный гормон обладает активностью, регулирующей обмен минеральных веществ. Он способствует реабсорбции Na^+ не только в почке, но также и из нижних отделов желудочно-кишечного тракта и слюнных и потовых желез, которые представляют собой классические ALDO-чувствительные ткани. ALDO регулирует резорбцию Na^+ и воды за счет экскреции калия (K^+) и магния (Mg^{2+}).

Альдостерон играет важную роль в патофизиологии сердечной недостаточности (СН) (Dzau VJ, Colucci WS, Hollenberg NK, Williams GH. Relation of the renin-angiotensin-aldosterone system to clinical state in congestive heart failure. Circulation 1981; 63 (3):645-651). Альдостерон способствует задержке натрия, потере магния и калия (что вносит свой вклад в аритмии и внезапную сердечную смерть), активации симпатической нервной системы и подавлению парасимпатической нервной системы, фиброзу миокарда и сосудов, дисфункции барорецепторов, нарушению эластичности артерий и повреждению сосудов. (Wang W. Chronic administration of aldosterone depresses baroreceptor reflex function in the dog. Hypertension 1994; 24(5):571-575). Постоянные повышения уровней альдостерона в крови приводят к образованию фиброзной ткани в сердце и сосудах, что вносит свой вклад в прогрессирование СН. (Weber KT, et al. Collagen in the hypertrophied pressure-overloaded myocardium. Cir. 1987; 75:140-147). Увеличение выработки коллагена в миокарде и последующая гипертрофия левого желудочка (ЛЖ) приводят к жесткости миокарда, уменьшению эластичности желудочков и сосудов, нарушению диастолического наполнения, диастолической и систолической дисфункции, ишемии и, в конце концов, к СН. Фиброз миокарда также может вызывать аритмии и внезапную смерть. Альдостерон блокирует поглощение норэпинефрина миокардом, повышает уровень норэпинефрина в плазме и способствует эктопической активности желудочков. (Struthers AD. Aldosterone escape during ACE inhibitor therapy in chronic heart failure. Eur. Heart J 1995; 16(Suppl N):103-106; Struthers AD. Aldosterone escape during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in chronic heart failure. J. Cardiac Failure 1996; 2(1):47-54). Альдостерон влияет на функцию барорецепторов и вызывает повреждение сосудов головного мозга и почек, а также дисфункцию эндотелия. (Struthers AD. Aldosterone escape during ACE inhibitor therapy in chronic heart failure. Eur. Heart J 1995; 16 (Suppl N):103-106). Альдостерон также, как было показано, повышает уровни ингибитора активатора плазминогена и, таким образом, может препятствовать фибринолизу.

ALDO может также вызывать реакции в не эпителиальных клетках. Вызванные хроническим повышением уровня ALDO в плазме, который не соответствует поступлению Na^+ с пищей, такие реакции могут иметь неблагоприятные последствия в отношении структуры сердечно-сосудистой системы. Следовательно, ALDO может вносить вклад в прогрессирующий характер миокардиальной недостаточности в силу множества причин.

Синтез и метаболизм ALDO регулируют многочисленные факторы, многие из которых действуют у пациента с недостаточностью миокарда. Указанные факторы включают ренин, а также факторы, не зависящие от ренина (такие как K^+, АКТГ), которые способствуют синтезу ALDO. Кровоток через печень, путем регулирования клиренса циркулирующего ALDO, помо-

гает определить его концентрацию в плазме, важный фактор при сердечной недостаточности, которая характеризуется уменьшением минутного объема сердца и кровотока через печень.

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система ("RAAS") представляет один из гормональных механизмов, участвующих в регуляции гомеостаза давление/объем, а также в развитии гипертензии, состояния, предшествующего развитию более серьезных сердечно-сосудистых заболеваний, таких как застойная сердечная недостаточность. Активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы начинается с секреции фермента ренина юкстагломерулярными клетками в почке. Фермент ренин действует на имеющийся в естественных условиях субстрат, ангиотензиноген, с высвобождением декапептида, ангиотензина I. Указанный декапептид расщепляется ангиотензинпревращающим ферментом ("АПФ" - англ. аббревиатура "ACE") с образованием октапептида, ангиотензина II, главного активного агента этой системы. Указанный октапептид, ангиотензин II, представляет собой мощный вазоконстриктор, а также вызывает другие физиологические эффекты, такие как стимуляция секреции альдостерона, задержка натрия и жидкости, ингибирование секреции ренина, повышение активности симпатической нервной системы, стимуляция секреции вазопрессина, положительный инотропный эффект со стороны сердца и модулирование других гормональных систем.

Делается акцент на минимизации гиперальдостеронизма как основе для оптимизации лечения пациента. Многие клиницисты пришли к выводу о том, что ингибирование ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (RAAS) ингибитором ангиотензинпревращающего фермента (И-АПФ) предотвращает образование альдостерона. Однако все возрастающее количество данных свидетельствует о том, что И-АПФ только временно подавляет уровни альдостерона (Struthers AD. Aldosterone escape during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in chronic heart failure. J Cardiac Failure 1996; 2(1):47-54). При лечении И-АПФ уровни альдостерона в плазме сначала снижаются, однако через три-шесть месяцев лечения И-АПФ возвращаются к тем уровням, которые были до лечения, несмотря на тщательное выполнение пациентом продолжительной медикаментозной терапии. (Staessen J, Lijnen P, Fagard R, Verschueren LJ, Amery A. Rise in plasma concentration of aldosterone during long-term angiotensin II supression. J. Endocr. 1981; 91:457-465). Данный феномен известен как "бегство" альдостерона, поскольку существуют другие важные детерминанты высвобождения альдостерона, такие как сывороточный калий. (Pitt B. "Escape" of aldosterone production in patients with left ventricular dysfunction treated with angiotensin converting enzyme inhibitor: implications for therapy. Cardiovascular Drugs and Therapy 1995; 9:145-149).

Предпринимались попытки уменьшить антагонизм ALDO рецепторов как у пациентов, леченных по обычным диуретическим программам, так и у пациентов, леченных ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), которые часто ограничиваются малыми дозами ингибитора АПФ из-за ортостатической гипотензии. У таких пациентов может наблюдаться рецидив симптомов сердечной недостаточности, вероятно связанных с подъемами уровней ALDO в плазме.

Блокада альдостерона с помощью И-АПФ, как было показано, оказывает благоприятный эффект на выживание и госпитализацию пациентов с СН. В испытании CONSENSUS (Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study) смертность за один год среди пациентов с тяжелой СН (класс IV по классификации NYHA), леченных эналаприлом (И-АПФ) и диуретиками, снизилась на 31% по сравнению с пациентами, леченными плацебо и диуретиками. В исследовании CONSENSUS среди пациентов с высокими исходными уровнями альдостерона в плазме наблюдалась более высокая смертность по сравнению с пациентами с низкими исходными уровнями. В группе, леченной эналаприлом, смертность снизилась только в группе с исходными уровнями альдостерона в плазме выше медианы. В группе, в которой исходные уровни альдостерона в плазме были ниже медианы, разницы в смертности по сравнению с плацебо не наблюдалось. (Swedberg K, Eneroth P, Kjekshus J, Wilhelmsen L. Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. CONSENSUS Trial Study Group. Circulation 1990; 82(5):1730-1736).

Антагонисты рецепторов альдостерона действуют путем прямого блокирования участка действия альдостерона. Агенты, блокирующие рецепторы альдостерона, широко не использовались в сочетании с И-АПФ из-за потенциального развития тяжелой гиперкалиемии. Однако в исследовании Randomized ALdactone Evaluation Study (RALES), добавление спиронолактона 25 мг ежедневно, дозы, которая не является ни диуретической, ни гемодинамической, к обычной терапии (И-АПФ и петлевой диуретик, с дигоксином или без него) при лечении пациентов с тяжелой СН (класс III или IV по классификации NYHA), приводило к 30-процентному снижению риска общей смертности, по сравнению с пациентами, получавшими обычную терапию плюс плацебо ($p<0,001$). Среди пациентов, леченных спиронолактоном, также наблюдалась частота госпитализации в связи с ухудшением СН ниже на 35 процентов, по сравнению с пациентами, получавшими плацебо. (Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, Palensky J, Wittes J for the Randomized

Aldactone Evaluation Study Investigators. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. N. Engl. J. Med. 1999; 341 (10):709-717).

Следует подчеркнуть, что такие улучшения показателей заболеваемости и смертности наблюдались при добавлении спиронолактона к обычному лечению, которое включало И-АПФ. У пациентов, леченных спиронолактоном, наблюдалось увеличение медианы концентрации калия в сыворотке крови, которое было статистически, но не клинически, значимым по сравнению с пациентами, получавшими плацебо.

У пациентов, переживших острый инфаркт миокарда (ОИМ), часто продолжает развиваться СН, которая впоследствии приводит к смерти. Блокада RAAS с помощью И-АПФ, как было показано, снижает общую смертность среди таких пациентов. В исследовании Acute Infarction Ramipril Efficacy Study (AIRE) введение И-АПФ пациентам с клиническими проявлениями СН в любое время после ОИМ приводило к снижению риска общей смертности на 27% по сравнению с плацебо (p=0,002). (The Acute Infarction Ramipril Efficacy Study (AIRE) Study Investigators. Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. Lancet 1993; 342:821-828). Более того, наблюдалось 23% снижение риска развития тяжелой резистентной СН у леченых пациентов по сравнению с плацебо (p=0,017). (Cleland JGF, Erhardt L, Murray F, Hall AS, Ball SG. Effect of ramipril on morbidity and mode of death among survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure: a report from AIRE Study Investigators. Eur. Heart J 1997; 18:41-51). В результате длительного (три года) наблюдения за пациентами AIRE (AIREX) Hall et al. установили, что пациенты, леченные И-АПФ, имели 36% снижение риска общей смертности по сравнению с плацебо (p=0,002), что наводит на мысль о том, что ингибирование RAAS после ОИМ оказывает не только значимое влияние на выживание, но и на отдаленное выживание. (Hall AS, Murray GD, Ball SG on behalf of the AIREX Study Investigators. Follow-up study of patients randomly allocated ramipril or placebo for heart failure after acute myocardial infarction: AIRE Extension (AIREX) Study. Lancet 1997; 349(9064):1493-1497). В другом исследовании с участием пациентов после ИМ (Trandolapril Cardiac Evaluation study, TRACE) у пациентов с дисфункцией ЛЖ от 2 до 6 дней после ИМ, леченных И-АПФ, относительное снижение риска смерти составляло 18% по сравнению с плацебо (p=0,001), а снижение риска прогрессирования до тяжелой СН по сравнению с плацебо - на 29% (p=0,003). (Kober L, Torp-Pedersen C, Carlsen JE, Bagger H, Eliasen P, Lyngborg K, Videbak J, Cole DS, Auclert L, Pauly NC, Aliot E, Persson S, Camm AJ for the Trandolapril Cardiac Evaluation (TRACE) Study Group, N. Engl. J. Med. 1995; 333:1670-1676; Torp-Pedersen C, Kober L, Carlsen J on behalf of the TRACE Study Group. Angiotensin-converting enzyme inhibition after myocardial infarction: the trandolapril cardiac evaluation study. Am. Heart J. 1996; 132:235-243). В сравнительном исследовании рамиприла и спиронолактона Rodriguez et al. установили, что оба препарата предотвращают дилятацию желудочков и дальнейшее ухудшение систолической дисфункции у пациентов с нарушенной фракцией выброса после ОНМ. Результаты данных исследований предполагают, что добавление антагониста рецепторов альдостерона к И-АПФ при лечении пациентов после ОИМ будет дополнительно снижать смертность. (Rodriguez JA, Godoy I, Castro P, Quintana JC, Chavez E, Corbalan R. A double-blind randomized placebo controlled study of ramipril vs. spironolactone on left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. JACC 1997; abstract 947-9:133A).

Известны многие лекарственные средства, блокирующие рецепторы альдостерона, и их эффекты у человека. Например, спиронолактон представляет собой лекарственное средство, которое действует на уровне рецепторов минералокортикоидов путем конкурентного ингибирования связывания альдостерона. Данное стероидное соединение использовалось для блокирования альдостеронзависимого транспорта натрия в дистальном канальце почки с целью уменьшения отека и лечения эссенциальной гипертензии и первичного гиперальдостеронизма [F. Mantero et al., Clin. Sci. Mol. Med., 45 (Suppl. 1), 219s-224s (1973)]. Спиронолактон также широко используется для лечения других заболеваний, связанных с повышенными уровнями альдостерона, таких как цирроз печени и застойная сердечная недостаточность [F.J. Saunders et al., Aldactone; Spironolactone: A Comprehensive Review, Searle, New York (1978)]. Прогрессивно возрастающие дозы спиронолактона от 1 мг до 400 мг в день [т.е., 1 мг/день, 5 мг/день, 20 мг/день] вводили пациентам с непереносимостью спиронолактона для лечения асцита цирротического происхождения [P.A. Greenberger et al., N. Eng. Reg. Allergy Proc., 7(4), 343-345 (июль-август, 1986)]. Было установлено, что развитие фиброза миокарда чувствительно к уровням в крови как ангиотензина II, так и альдостерона, и что антагонист альдостерона спиронолактон предотвращает фиброз миокарда у экспериментальных животных, связывая, таким образом, альдостерон с избыточным отложением коллагена (D. Klug et al., Am. J. Cardiol., 71 (3), 46A-54A (1993)]. Было показано, что спиронолактон предотвращает фиброз у экспериментальных животных безотносительно к развитию гипертрофии левого желудочка и наличия гипертензии [C.G. Brilla et al., J. Mol. Cell. Cardiol., 25(5), 563-575 (1993)]. Спиронолактон в дозировках от 25 до 100 мг ежедневно

используется для лечения индуцированной диуретиками гипокалиемии, когда вводимые перорально калиевые добавки или другие калийсберегающие схемы лечения признаны недейственными [Physician's Desk Reference, 46th Edn., p. 2153, Medical Economics Company Inc., Montvale, N.J. (1992)].

Предыдущие исследования показали, что ингибирование АПФ ингибирует ренин-ангиотензиновую систему путем практически полной блокады образования ангиотензина II. Для контроля гипертензии в клинической практике используется множество ингибиторов АПФ. В то время как ингибиторы АПФ могут эффективно контролировать гипертензию, часто встречаются побочные эффекты, включая хронический кашель, кожную сыпь, снижение вкусовых ощущений, протеинурию и нейтропению.

Помимо этого, несмотря на то, что ингибиторы АПФ эффективно блокируют образование ангиотензина II, уровни альдостерона у некоторых пациентов, имеющих сердечно-сосудистые заболевания, контролируются плохо. Например, несмотря на непрерывное ингибирование АПФ у пациентов с гипертензией, получавших каптоприл, наблюдалось постепенное возвращение альдостерона в плазме к исходным уровням (J. Staessen et al., J. Endocrinol., 91, 457-465 (1981)]. Подобный эффект наблюдался у пациентов с инфарктом миокарда, получавших зофеноприл [C. Borghi et al., J. Clin. Pharmacol., 33, 40-45 (1993)]. Пациентов, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями, также часто переводят на диету с низким содержанием натрия. Такой режим может индуцировать повышение выработки альдостерона и увеличение количества рецепторов ангиотензина, которые стимулируют синтез альдостерона. Таким образом, у пациента, применяющего диету с низким содержанием натрия, может развиться состояние гиперальдостеронизма даже в присутствии ингибитора АПФ. Данный феномен был назван "бегством" альдостерона. При параллельном лечении двух групп крыс, при котором одна группа получала спиронолактон подкожно, а другая группа получала каптоприл, спиронолактон, как было установлено, предотвращал фиброз в группе крыс с гипертензией [C.G. Brilla et al., J. Mol. Cell. Cardiol., 25, 563-575 (1993)].

Примером другого ряда антагонистов рецепторов альдостерона стероидного типа могут служить эпоксисодержащие производные спиронолактона. Например, патент США № 4559332, выданный Grob и соавторам, описывает 9a,11a-эпоксисодержащие производные спиронолактона как антагонисты альдостерона, пригодные в качестве диуретиков. Данные 9a,11a-эпоксистероиды оценивали на эндокринные эффекты по сравнению со спиронолактоном [M. de Gasparo et al., J. Pharm. Exp. Ther., 240(2), 650-656 (1987)].

Комбинации антагониста альдостерона и ингибитора АПФ изучали при лечении сердечной недостаточности. Известно, что смертность выше у пациентов с повышенными уровнями альдостерона в плазме, и что уровни альдостерона повышаются по мере прогрессирования ЗСН из-за активации RAAS. Обычное применение диуретиков может дополнительно повышать уровни альдостерона. Ингибиторы АПФ стойко ингибируют выработку ангиотензина II, но вызывают только слабый и преходящий антиальдостероновый эффект.

Комбинирование ингибитора АПФ и спиронолактона было предложено для обеспечения значительного ингибирования RAAS в целом. Например, комбинацию эналаприла и спиронолактона вводили амбулаторным пациентам с мониторингом артериального давления [P. Poncelet et al., Am. J. Cardiol., 65(2), 33K-35K (1990)]. В исследовании с участием 90 пациентов вводили комбинацию каптоприла и спиронолактона и установили ее эффективность для контроля рефрактерной ЗСН без серьезных случаев гиперкалиемии. [U. Dahlstrom et al., Am. J. Cardiol., 71, 29A-33A (21 января 1993)]. Спиронолактон, введенный совместно с ингибитором АПФ, как сообщается, был высокоэффективным у 13 из 16 пациентов, страдающих застойной сердечной недостаточностью [A.A. van Vliet et al., Am. J. Cardiol., 71, 21A-28A (21 января 1993)]. Сообщается о клинических улучшениях у пациентов, получавших комбинированную терапию спиронолактоном и ингибитором АПФ эналаприлом, хотя в этом сообщении упоминается о том, что требуются контролируемые испытания для определения наименьших эффективных доз и того, для каких пациентов комбинированная терапия будет наиболее благоприятной [F. Zannad, Am. J. Cardiol., 71(3), 34A-39A (1993)]. Заявка PCT № US 96/01969, опубликованная 15 августа 1996 г., описывает комбинированную терапию ингибитором АПФ и антагонистом альдостерона, а именно, спиронолактоном, в количестве, уменьшающем побочные эффекты, для лечения застойной сердечной недостаточности. Заявка PCT № US 96/01764, опубликованная 15 августа 1996 г., описывает комбинированную терапию ингибитором АПФ и антагонистом альдостерона, а именно, спиронолактоном, в количестве, уменьшающем побочные эффекты, и диуретиком, таким как петлевой диуретик, для лечения застойной сердечной недостаточности.

Комбинации антагониста рецепторов ангиотензина II и антагониста рецепторов альдостерона известны. Например, заявка PCT № US 91/09362, опубликованная 25 июня 1992 г., описывает лечение гипертензии с использованием комбинации имидазолсодержащего антагониста ангиотензина II и диуретика, такого как спиронолактон. Заявка PCT № US 96/09342, опубликованная 19 декабря 1996 г., описывает лечение

застойной сердечной недостаточности комбинацией антагониста ангиотензина II и антагониста рецепторов альдостерона спиронолактона. Заявка PCT № US 96/08823, опубликованная 19 декабря 1996 г., описывает лечение фиброза миокарда комбинацией антагониста ангиотензина II и антагониста рецепторов альдостерона спиронолактона. Заявка PCT № US 96/09335, опубликованная 19 декабря 1996 г., описывает лечение застойной сердечной недостаточности комбинацией антагониста ангиотензина II и эпоксистероидного антагониста альдостерона эпоксимексренона. Заявка PCT № US 96/08709, опубликованная 19 декабря 1996 г., описывает лечение кардиофиброза комбинацией антагониста ангиотензина II и эпоксистероидного антагониста рецепторов альдостерона эпоксимексренона.

Краткое описание рисунков

Фиг. 1-A показывает порошковую рентгенограмму формы H эплеренона.

Фиг. 1-B показывает порошковую рентгенограмму формы L эплеренона.

Фиг. 1-C показывает порошковую рентгенограмму метилэтилкетонового сольвата эплеренона.

Фиг. 2-A показывает термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) неизмельченной формы L, непосредственно кристаллизованной из метилэтилкетона.

Фиг. 2-B показывает термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) неизмельченной формы L, полученной десольватацией сольвата, полученного кристаллизацией эплеренона высокой чистоты из метилэтилкетона.

Фиг. 2-C показывает термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) формы L, полученной кристаллизацией сольвата из раствора эплеренона высокой чистоты в метилэтилкетоне, десольватацией сольвата с получением формы L и измельчением полученной формы L.

Фиг. 2-D показывает термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) неизмельченной формы H, полученной десольватацией сольвата, полученного варкой эплеренона низкой чистоты из подходящих растворителей.

Фиг. 3-A показывает инфракрасные спектры (диффузная отражательная способность, DRIFTS) формы H эплеренона.

Фиг. 3-B показывает инфракрасные спектры (диффузная отражательная способность, DRIFTS) формы L эплеренона.

Фиг. 3-C показывает инфракрасные спектры (диффузная отражательная способность, DRIFTS) метилэтилкетонового сольвата эплеренона.

Фиг. 3-D показывает инфракрасные спектры (диффузная отражательная способность, DRIFTS) эплеренона в растворе хлороформа.

Фиг. 4 показывает ^{13}C ЯМР спектры формы H эплеренона.

Фиг. 5 показывает ^{13}C ЯМР спектры формы L эплеренона.

Фиг. 6-A показывает профиль термогравиметрического анализа метилэтилкетонового сольвата.

Фиг. 7 показывает порошковую рентгенограмму кристаллической формы 7-метил водород 4α,5α:9α,11α-диэпокси-17-гидрокси-3-оксо-17α-прегнан-7α,21-дикарбоксилата, γ-лактона, выделенного из метилэтилкетона.

Фиг. 8 показывает порошковую рентгенограмму кристаллической формы 7-метил водород 11α,12α-эпокси-17-гидрокси-3-оксо-17α-прегн-4-ен-7α,21-дикарбоксилата, γ-лактона, выделенного из изопропанола.

Фиг. 9 показывает порошковую рентгенограмму кристаллической формы 7-метил водород 17-гидрокси-3-оксо-17α-прегна-4,9(11)-диен-7α,21-дикарбоксилата, γ-лактона, выделенного из н-бутанола.

Фиг. 10 показывает порошковую рентгенограмму влажного отжатого осадка на фильтре (метилэтилкетонового сольвата), полученного кристаллизациями из метилэтилкетона с присадкой диэпоксида (a) 0%, (b) 1%, (c) 3% и (d) 5%.

Фиг. 11 показывает порошковую рентгенограмму высушенных твердых веществ, полученных кристаллизациями из метилэтилкетона с присадкой диэпоксида (a) 0%, (b) 1%, (c) 3% и (d) 5%.

Фиг. 12 показывает порошковую рентгенограмму высушенных твердых веществ, полученных кристаллизацией из метилэтилкетона с 3% присадкой диэпоксида (a) без размалывания сольвата перед сушкой и (b) с размалыванием сольвата перед сушкой.

Фиг. 13 показывает порошковую рентгенограмму влажного отжатого осадка на фильтре (метилэтилкетонового сольвата), полученного кристаллизациями из метилэтилкетона с присадкой 11,12-эпоксида (a) 0%, (b) 1%, (c) 5% и (d) 10%.

Фиг. 14 показывает порошковую рентгенограмму высушенных твердых веществ, полученных кристаллизациями из метилэтилкетона с присадкой 11,12-эпоксида (a) 0%, (b) 1%, (c) 5% и (d) 10%.

Фиг. 15 показывает кубическую диаграмму чистоты продукта, чистоты исходного материала, скорости охлаждения и конечной температуры, на основе данных, представленных в таблице 7A.

Фиг. 16 показывает полунормальную диаграмму, полученную с использованием кубической диаграммы фиг. 15, для определения переменных, оказывающих статистически значимое влияние на чистоту конечного материала.

Фиг. 17 представляет график взаимодействия, основанный на результатах, приведенных в табл. 7А, который показывает взаимодействие между чистотой исходного материала и скоростью охлаждения и чистотой конечного материала.

Фиг. 18 показывает кубическую диаграмму массовой фракции формы Н, чистоты исходного материала, скорости охлаждения и конечной температуры, на основе данных, представленных в таблице 7А.

Фиг. 19 показывает полунормальную диаграмму, полученную с использованием кубической диаграммы фиг. 18, для определения переменных, оказывающих статистически значимое влияние на чистоту конечного материала.

Фиг. 20 представляет график взаимодействия, основанный на результатах, приведенных в таблице 7А, который показывает взаимодействие между чистотой исходного материала и конечной температурой и чистотой конечного материала.

Фиг. 21 показывает порошковую рентгенограмму аморфного эплеренона.

Фиг. 22 показывает DSC термограмму аморфного эплеренона.

Фиг. 23 суммирует план клинических испытаний.

Фиг. 24 показывает исходные параметры для различных экспериментальных групп.

Фиг. 25 показывает сопутствующие лекарственные средства у пациентов, участвующих в исследовании с комбинированной терапией.

Фиг. 26 показывает изменения диастолического артериального давления в группах, получавших эплеренон (50 мг в день) и спиронолактон (25 мг в день), по сравнению с плацебо.

Фиг. 27 показывает уровни альдостерона в моче при различной частоте введения эплеренона (25 мг четыре раза в день, 25 мг два раза в день, 50 мг четыре раза в день, 100 мг четыре раза в день) и спиронолактона (25 мг четыре раза в день) по сравнению с плацебо.

Фиг. 28 показывает активность ренина в плазме и экскрецию альдостерона в группах, получавших эплеренон (50 мг в день) и спиронолактон (25 мг в день), по сравнению с плацебо.

Фиг. 29 показывает изменения уровней АД для всех пациентов при различной частоте введения эплеренона и спиронолактона, по сравнению с плацебо.

Фиг. 30 показывает изменения уровней АД для пациентов с исходным высоким АД при различной частоте введения эплеренона и спиронолактона, по сравнению с плацебо.

Фиг. 31 показывает исследование, схематичное для биологической оценки II: мультицентровое, рандомизированное, двойное слепое, с контролем плацебо, двумя подгруппами, параллельное групповое испытание.

Описание изобретения

Лечение расстройств кровообращения, включая сердечно-сосудистые заболевания, такие как сердечная недостаточность, цирроз, гипертензия и застойная сердечная недостаточность, обеспечивается комбинированной терапией, включающей применение терапевтически эффективного количества ингибитора ангиотензинпревращающего фермента ("АПФ") в сочетании с применением терапевтически эффективного количества антагониста рецепторов альдостерона эпоксистероидного типа и, необязательно, диуретика, не относящегося к антагонистам рецепторов альдостерона, или дигоксина. Предпочтительно, указанным диуретиком является петлевой диуретик.

Термин "ингибитор ангиотензинпревращающего фермента" ("ингибитор АПФ") охватывает агент или соединение или комбинацию двух или более агентов или соединений, обладающих способностью блокировать, частично или полностью, быстрое ферментативное превращение физиологически неактивной декапептидной формы ангиотензина ("ангиотензина I") в сосудосуживающую октапептидную форму ангиотензина ("ангиотензин II"). Блокирование ангиотензина II может быстро влиять на регуляцию жидкостного и электролитного баланса, артериальное давление и объем крови, путем устранения главных эффектов ангиотензина II. К главным эффектам ангиотензина II относят стимуляцию синтеза и секреции альдостерона корой надпочечников и повышение артериального давления путем прямой констрикции гладкой мускулатуры артериол.

Термин "антагонист рецепторов альдостерона" охватывает агент или соединение или комбинацию двух или более указанных агентов или соединений, которые связываются с рецептором альдостерона в качестве конкурентного ингибитора действия самого альдостерона на сайте рецепторов в почечных канальцах, таким образом, что модулируют опосредованную рецепторами активность альдостерона. Типичными среди указанных антагонистов рецепторов альдостерона являются соединения эпоксистероидного типа.

Термин "антагонист рецепторов альдостерона эпоксистероидного типа" охватывает один или более агентов или соединений, характеризующихся наличием ядра стероидного типа и имеющих эпокси-фрагмент, соединенный с ядром; указанный агент или соединение связываются с рецептором альдостерона в качестве конкурентного ингибитора действия самого альдостерона на сайте рецепторов, таким образом, что модулируют опосредованную рецепторами активность альдостерона.

Термин "комбинированная терапия" (или "совместная терапия"), при определении пригодности ингибитора АПФ и антагониста рецепторов альдостерона и, необязательно, диуретик-

ка, не относящегося к антагонистам рецепторов альдостерона, или дигоксина, охватывает введение каждого агента в последовательном порядке по схеме, которая будет обеспечивать благоприятные эффекты комбинации лекарственных средств, а также охватывает практически одновременное совместное введение указанных агентов, такое как введение в одной капсуле, содержащей фиксированное соотношение указанных активных агентов, или в нескольких, отдельных для каждого агента, капсулах.

Термин "терапевтически эффективное" означает количество каждого агента для применения в комбинированной терапии, которое будет достигать цели улучшения достаточной функции сердца путем уменьшения или предотвращения, например, прогрессирования застойной сердечной недостаточности, в то же время избегая неблагоприятных побочных эффектов, обычно связанных с каждым агентом.

Термин "количество, уменьшающее побочные эффекты" при описании терапевтически эффективного количества антагониста рецепторов альдостерона эпоксистероидного типа в комбинированной терапии, определяет количество указанного агента или количественные пределы указанного агента, которые способны улучшать достаточную функцию сердца, в то же время уменьшая или избегая одного или более побочных эффектов, индуцированных антагонистом альдостерона, таких как гиперкалиемия. Дозировка антагониста рецепторов альдостерона эпоксистероидного типа, которая должна выполнять терапевтическую цель благоприятного усиления достаточной функции сердца, в то же время уменьшая или избегая побочных эффектов, должна представлять собой дозировку, которая практически не индуцирует диурез, т.е. практически не оказывающую диуретического действия дозировку.

Термин "не оказывающее диуретического действия" количество, особенно в отношении количества антагониста рецепторов альдостерона эпоксистероидного типа, определяет количество указанного агента или количественные пределы указанного агента, которые не вызывают значительного повышения диуретического эффекта, т.е. повышения экскреции натрия и воды.

Предпочтительная комбинированная терапия должна состоять, главным образом, из двух или трех активных агентов, а именно, ингибитора АПФ, антагониста рецепторов альдостерона эпоксистероидного типа, и, необязательно, диуретика, не относящегося к антагонистам рецепторов альдостерона, или дигоксина. Для комбинации ингибитора АПФ и антагониста ALDO, агенты следует использовать в комбинации в массовом соотношении приблизительно 0,5-один к двадцати-одному ингибитора ангиотензинпревращающего фермента к антагонисту рецепторов альдостерона. Предпочтительные пределы этих двух агентов (ингибитор АПФ к антагонисту ALDO) будут составлять приблизительно один-один к пятнадцати-одному, в то время как более предпочтительные пределы будут составлять приблизительно один-один к пяти-одному, в зависимости, в конечном итоге, от выбора ингибитора АПФ и антагониста ALDO. Необязательный диуретик может быть представлен в пределах приблизительно от 1 до 200 мг, предпочтительно от 5 до 150 мг, в зависимости от выбранного диуретика и болезненного состояния, по поводу которого осуществляется лечение.

Примеры ингибиторов АПФ, которые могут использоваться в комбинированной терапии, показаны в следующих четырех категориях.

Первая группа ингибиторов АПФ состоит из следующих соединений: AB-103, анковенин, беназеприлат, BRL-36378, BW-A575C, CGS-13928C, CL-242817, CV-5975, экватен, EU-4865, EU-4867, EU-5476, фороксимитин, FPL 66564, FR-900456, Hoe-065, I5B2, индолаприл, кетометилмочевина, KRI-1177, KRI-1230, L-681176, либензаприл, MCD, MDL-27088, MDL-27467A, мовелтиприл, MS-41, никотианамин, пентоприл, фенацеин, пивоприл, рентиаприл, RG-5975, RG-6134, RG-6207, RGH-0399, ROO-911, RS-10085-197, RS-2039, RS 5139, RS 86127, RU-44403, S-8308, SA-291, спираприлат, SQ-26900, SQ-28084, SQ-28370, SQ-28940, SQ-31440, синекор, утибаприл, WF-10129, Wy-44221, Wy-44655, Y-23785, Yissum P-0154, забициприл и зофеноприл.

Вторая группа ингибиторов АПФ, представляющих интерес, состоит из следующих соединений: Asahi Brewery AB-47, алатриоприл, BMS 182657, Asahi Chemical C-111, Asahi Chemical C-112, Dainippon DU-1777, миксаприл, прентил, зофеноприлат и 1-(-(1-карбокси-6-(4-пиперидинил)гексил)амино)-1-оксопропилоктагидро-1H-индол-2-карбоновая кислота.

Третья группа ингибиторов АПФ, представляющих больший интерес, состоит из следующих соединений: Bioproject BP1.137, Chiesi CHF 1514, Fisons FPL-66564, идраприл, Marion Merrell Dow MDL-100240, периндоприлат и Servier S-5590.

Четвертая группа ингибиторов АПФ, представляющих наибольший интерес, состоит из следующих соединений: алацеприл, беназеприл, каптоприл, цилазаприл, делаприл, эналаприл, эналаприлат, фозиноприл, фозиноприлат, имидаприл, лизиноприл, периндоприл, хинаприл, рамиприл, саралазинацетата, темокаприл, трандолаприл, церанаприл, моэксиприл, хинаприлат и спираприл.

Многие из указанных ингибиторов АПФ имеются в продаже, особенно те, которые перечислены в четвертой группе, выше. Например, весьма предпочтительный ингибитор АПФ каптоприл продается компанией E.R. Squibb & Sons, Inc., Princeton, N.J., под товарным знаком

'"CAPOTEN" ("КАПОТЕН"), в таблеточной дозированной форме с дозами 12,5, 50 и 100 мг на таблетку. Эналаприл или эналаприлмалеата и лизиноприл являются двумя более предпочтительными ингибиторами АПФ, которые продаются компанией Merck & Co., West Point, Pa. Эналаприл продается под товарным знаком "VASOTEC" ("ВАЗОТЕК") в таблеточной дозированной форме с дозами 2,5, 5, 10 и 20 мг на таблетку. Лизиноприл продается под товарным знаком '"PRINIVIL" ("ПРИНИВИЛ") в таблеточной дозированной форме с дозами 5, 10, 20 и 40 мг на таблетку.

Диуретик, не относящийся к антагонистам рецепторов альдостерона, который используется в комбинации ингибитора АПФ и антагониста рецепторов альдостерона, можно выбрать из нескольких известных классов, таких как тиазиды и родственные им сульфонамиды, калийсберегающие диуретики, петлевые диуретики и ртутьорганические диуретики.

Примерами тиазидов являются бендрофлуметиазид, бензтиазид, хлортиазид, циклотиазид, гидрохлортиазид, гидрофлуметиазид, метиклотиазид, политиазид и трихлорметиазид.

Примерами сульфонамидов, родственных тиазидам, являются хлорталидон, хинетазон и метолазон.

Примерами калийсберегающих диуретиков являются триаметерен и амилорид.

Примерами петлевых диуретиков, т.е., диуретиков, действующих в восходящей части петли Генле почек, являются фуросемид и этинакриловая кислота.

Примерами ртутьорганических диуретиков являются меркаптомерин-натрий, меретоксиллин, прокаин и мерзалил с теофиллином.

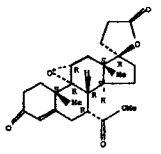
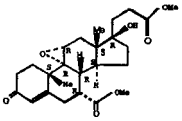
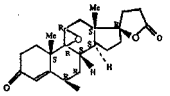
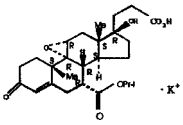
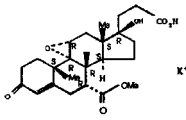
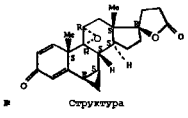
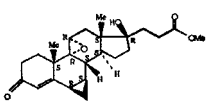
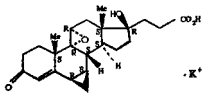
Эпоксистероидные антагонисты рецепторов альдостерона, подходящие для применения в комбинированной терапии, состоят из соединений, имеющих стероидное ядро, замещенное фрагментом эпокси-типа. Термин фрагмент "эпокси-типа" охватывает любой фрагмент, характеризующийся наличием атома кислорода как мостика между двумя атомами углерода, примеры которого включают следующие фрагменты:

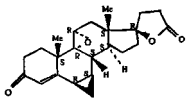
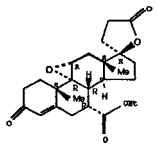
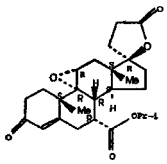


Термин '"стероидный", используемый в термине "эпоксистероидный", обозначает ядро, имеющее циклопентенфенантреновый фрагмент с обычными кольцами "A", "B", "C" и "D". Фрагмент эпокси-типа может быть связан с циклопентенфенантреновым ядром в любом возможном для присоединения или замещения положении, т.е. конденсирован с одним из колец стероидного ядра, или фрагмент может быть замещен на кольцевом члене кольцевой системы. Термин "эпоксистероидный" охватывает стероидное ядро, имеющее один или более фрагментов эпокси-типа, соединенных с ним.

Эпоксистероидные антагонисты рецепторов альдостерона, пригодные для использования в комбинированной терапии, включают семейство соединений, имеющих эпокси-фрагмент, конденсированный с кольцом "C" стероидного ядра. Особенно предпочтительными являются 20-спироксановые соединения, характеризующиеся наличием 9α,11α-замещенного эпокси-фрагмента. Таблица 1, ниже, описывает ряд 9α,11α-эпоксистероидных соединений, которые можно использовать в комбинированной терапии. Особенно предпочтительным среди указанных соединений табл. 1, является соединение № 1, которое известно под обычным названием эпоксимексренон, а также под обозначением USAN эплеренона. Указанные эпоксистероиды можно получить с помощью способов, описанных в патенте США № 4559332, выданном Grob et al. 17 декабря 1985 г.

Таблица 1. Антагонист рецепторов альдостерона

Соединение №	Структура	Название
1		Прегн-4-ен-7,21-дикарбоновая кислота, 9,11-эпокси-17-гидрокси-3-оксо-, γ-лактон, метиловый эфир, (7^{α}, 11^{α}, 17^{α})-
2		Прегн-4-ен-7,21-дикарбоновая кислота, 9,11-эпокси-17-гидрокси-3-оксо-, диметиловый эфир, (7^{α}, 11^{α}, 17^{α})-
Соединение №	Структура	Название
3		3'H-циклопропа[6,7]прегна-4,6-диен-21-карбоновая кислота, 9,11-эпокси-6,7-дигидро-17-гидрокси-3-оксо-, γ-лактон, (6β, 7β, 11β, 17β)-
4		Прегн-4-ен-7,21-дикарбоновая кислота, 9,11-эпокси-17-гидрокси-3-оксо-, 7-(1-метилэтиловый) эфир, монокалиевая соль, (7^{α}, 11^{α}, 17^{α})-
Соединение №	Структура	Название
5		Прегн-4-ен-7,21-дикарбоновая кислота, 9,11-эпокси-17-гидрокси-3-оксо-, 7-(метилэтиловый) эфир, монокалиевая соль, (7^{α}, 11^{α}, 17^{α})-
6		3'H-циклопропа[6,7]прегна-1,4,6-триен-21-карбоновая кислота, 9,11-эпокси-6,7-дигидро-17-гидрокси-3-оксо-, γ-лактон (6^{α}, 7^{α}, 11^{α})-
Соединение №	Структура	Название
7		3'H-циклопропа[6,7]прегна-4,6-диен-21-карбоновая кислота, 9,11-эпокси-6,7-дигидро-17-гидрокси-3-оксо-, метиловый эфир, (6^{α}, 7^{α}, 17^{α})-
8		3'H-циклопропа[6,7]прегна-4,6-диен-21-карбоновая кислота, 9,11-эпокси-6,7-дигидро-17-гидрокси-3 оксо-, монокалиевая соль, (6^{α}, 7^{α}, 11^{α}, 17^{α})-

Соединение №	Структура	Название
9		3'H-циклопропа[6,7]прегна-1,4,6-триен-21-карбоновая кислота, 9,11-эпокси-6,7-дигидро-17-гидрокси-3-оксо-, лактон (6^{α}, 7^{α}, 11^{α}, 17^{α})-
10		Прегн-4-ен-7,21-дикарбоновая кислота, 9,11-эпокси-17-гидрокси-3-оксо-, 7^{α}-лактон, этиловый эфир, (7^{α}, 11^{α}, 17^{α})-
11		Прегн-4-ен-7,21-дикарбоновая кислота, 9,11-эпокси-17-гидрокси-3-оксо-, γ-лактон, 1-метилэтиловый эфир (7^{α}, 11^{α}, 17^{α})-

Введение ингибитора АПФ, антагониста рецепторов альдостерона и, необязательно, диуретика, не относящегося к антагонистам рецепторов альдостерона, или дигоксина, можно осуществлять последовательно, отдельными композициями, или можно осуществлять одновременным введением единой композиции или отдельных композиций. Введение можно осуществлять пероральным путем или внутривенными, внутримышечными или подкожными инъекциями. Композиция может иметь форму болюса или форму водных или неводных изотонических стерильных растворов или суспензий для инъекций. Такие растворы и суспензии можно приготовить из стерильных порошков или гранул, имеющих один или более фармацевтически приемлемых носителей или разбавителей, или связывающих агентов, таких как желатин или гидроксипропилметилцеллюлоза, с одним или более смазывающих агентов, консервантов, поверхностно-активных или диспергирующих агентов.

Для перорального введения фармацевтическая композиция может быть в форме, например, таблетки, капсулы, суспензии или жидкости. Фармацевтическую композицию предпочтительно приготавливают в форме дозированной единицы, содержащей конкретное количество активного ингредиента. Примерами таких дозированных единиц являются таблетки или капсулы. Ингибитор АПФ может присутствовать в количестве приблизительно от 1 до 200 мг, предпочтительно, приблизительно от 2 до 150 мг, в зависимости от конкретного выбранного ингибитора АПФ. Подходящая суточная доза для млекопитающего может варьировать в широких пределах в зависимости от состояния пациента и других факторов. Антагонист ALDO может присутствовать в количестве приблизительно от 1 до 400 мг, предпочтительно, приблизительно от 2 до 150 мг, в зависимости от конкретного выбранного антагониста ALDO и конкретного болезненного состояния, по поводу которого осуществляется комбинированная терапия.

Для болезненных состояний, которые требуют предотвращения, уменьшения или лечения сердечно-сосудистого болезненного состояния без появления гиперкалиемии, например антагонист ALDO, обычно эплеренон, будет присутствовать в комбинированной терапии в количестве в пределах приблизительно от 5 до 200 мг на дозу. Предпочтительные пределы для эплеренона будут составлять приблизительно от 25 до 50 мг на дозу. Более предпочтительно, указанные пределы будут составлять приблизительно от 10 до 15 мг на дозу в день.

Активные ингредиенты могут также вводиться путем инъекции в виде композиции, в которой в качестве подходящего носителя может использоваться, например, физиологический раствор, декстроза или вода.

Схему дозирования для лечения болезненного состояния с помощью комбинированной терапии по настоящему изобретению выбирают в соответствии с рядом факторов, включая тип, возраст, массу, пол и состояние здоровья пациента, тяжесть заболевания, путь введения и конкретное применяемое соединение, и, таким образом, она может варьировать в широких пределах.

Для терапевтических целей активные компоненты комбинированной терапии по настоящему изобретению обычно объединяют с одним или более вспомогательных веществ, подходящих для указанного пути введения. При пероральном введении компоненты можно смешивать с лактозой, сахарозой, порошком крахмала, сложными эфирами целлюлозы и алкановых кислот, алкиловыми эфирами целлюлозы, тальком, стеариновой кислотой, стеаратом магния, оксидом магния, натриевыми и кальциевыми солями фосфорной и серной кислот, желатином, аравийской камедью, альгинатом натрия, поливинилпирролидоном и/или поливиниловым спиртом, а затем таблетировать или инкапсулировать для удобного введения. Композиции для парентерального введения могут быть в форме водных или неводных изотонических стерильных растворов или суспензий для инъекций. Такие растворы и суспензии можно приготавливать из стерильных порошков или гранул, имеющих один или более фармацевтически приемлемых носителей или разбавителей, упомянутых для использования в композициях для перорального введения. Компоненты можно растворять в воде, полиэтиленгликоле, пропиленгликоле, этаноле, кукурузном масле, масле семян хлопка, арахисовом масле, кунжутном масле, бензиловом спирте, хлориде натрия

и/или различных буферах. Другие вспомогательные вещества и способы введения хорошо известны в области фармацевтики.

Фармацевтические композиции для применения в способах лечения по настоящему изобретению можно вводить в пероральной форме или путем внутривенного введения. Пероральное введение комбинированной терапии является предпочтительным. Дозирование при пероральном введении можно осуществлять по схеме с однократной суточной дозой или с однократной дозой через день или множеством разделенных доз в течение дня. Активные агенты, которые составляют комбинированную терапию, можно вводить одновременно, как в виде объединенной дозированной формы, так и в виде отдельных дозированных форм, предназначенных для практически одновременного перорального введения. Активные агенты, которые составляют комбинированную терапию, можно также вводить последовательно, по схеме, предусматривающей многоэтапный прием внутрь одного из активных компонентов. Таким образом, схема может предусматривать последовательное введение активных агентов с разделенным по времени приемом внутрь отдельных активных агентов. Период времени между множественными этапами приема внутрь может варьировать от нескольких минут до нескольких часов, в зависимости от свойств каждого активного агента, таких как эффективность, растворимость, биодоступность, полупериод существования в плазме и кинетический профиль агента, а также в зависимости от возраста и состояния пациента. Активные агенты комбинированной терапии, вводятся ли они одновременно, практически одновременно или последовательно, могут включать режим, предусматривающий введение одного активного агента пероральным путем, а другого активного агента - внутривенным путем. Независимо от того, вводятся ли активные агенты комбинированной терапии пероральным или внутривенным путем, раздельно или вместе, каждый такой активный агент будет содержаться в подходящей фармацевтической композиции фармацевтически приемлемых наполнителей, разбавителей и других компонентов композиции. Примеры подходящих фармацевтически приемлемых композиций, содержащих активные компоненты, для перорального введения приводятся ниже. Несмотря на то, что в таких композициях перечисляются оба активных агента вместе в одной прописи, такую пропись можно использовать для композиции, содержащей один из активных компонентов.

Пример 1. Пероральную дозу можно приготовить просеиванием и последующим смешиванием следующих перечисленных ингредиентов в указанных количествах. Указанную дозу затем можно поместить в твердую желатиновую капсулу.

Ингредиенты	Количество, мг
Каптоприл	62,0
Эплеренон	12,5
Стеарат магния	10
Лактоза	100

Пример 1А. Пероральную дозу можно приготовить просеиванием и последующим смешиванием следующих перечисленных ингредиентов в указанных количествах. Указанную дозу затем можно поместить в твердую желатиновую капсулу.

Ингредиенты	Количество, мг
Каптоприл	62,0
Эплеренон	12,5
Фуросемид	73,9
Стеарат магния	10
Лактоза	100

Пример 2. Пероральную дозу можно приготовить смешиванием и гранулированием с 10% раствором желатина. Влажные гранулы просеивают, сушат, смешивают с крахмалом, тальком и стеариновой кислотой, просеивают и прессуют в таблетку.

Ингредиенты	Количество, мг
Каптоприл	62,0
Эплеренон	12,5
Дигидрат сульфата кальция	100
Сахароза	15
Крахмал	8
Тальк	4
Стеариновая кислота	2

Пример 2А. Пероральную дозу можно приготовить смешиванием и гранулированием с 10% раствором желатина. Влажные гранулы просеивают, сушат, смешивают с крахмалом, тальком и стеариновой кислотой, просеивают и прессуют в таблетку.

Ингредиенты	Количество, мг
Каптоприл	62,0
Эплеренон	12,5
Фуросемид	73,9
Дигидрат сульфата кальция	100
Сахароза	15
Крахмал	8
Тальк	4
Стеариновая кислота	2

Пример 3. Пероральную дозу можно приготовить просеиванием и последующим смешиванием следующих перечисленных ингредиентов в указанных количествах. Указанную дозу затем можно поместить в твердую желатиновую капсулу.

Ингредиенты	Количество, мг
Эналаприл	14,3
Эплеренон	12,5
Стеарат магния	10
Лактоза	100

Пример 3А. Пероральную дозу можно приготовить просеиванием и последующим смешиванием следующих перечисленных ингредиентов в указанных количествах. Указанную дозу затем можно поместить в твердую желатиновую капсулу.

Ингредиенты	Количество, мг
Эналаприл	14,3
Эплеренон	12,5
Фуросемид	73,9
Стеарат магния	10
Лактоза	100

Пример 4. Пероральную дозу можно приготовить смешиванием и гранулированием с 10% раствором желатина. Влажные гранулы просеивают, сушат, смешивают с крахмалом, тальком и стеариновой кислотой, просеивают и прессуют в таблетку.

Ингредиенты	Количество, мг
Эналаприл	14,3
Эплеренон	12,5
Дигидрат сульфата кальция	100
Сахароза	15
Крахмал	8
Тальк	4
Стеариновая кислота	2

Пример 4 А. Пероральную дозу можно приготовить смешиванием и гранулированием с 10% раствором желатина. Влажные гранулы просеивают, сушат, смешивают с крахмалом, тальком и стеариновой кислотой, просеивают и прессуют в таблетку.

Ингредиенты	Количество, мг
Эналаприл	14,3
Эплеренон	12,5
Фуросемид	73,9г
Дигидрат сульфата кальция	100
Сахароза	15
Крахмал	8
Тальк	4
Стеариновая кислота	2

Лечение конкретных состояний и нарушений

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению полезны в случаях, когда показано введение блокатора рецепторов альдостерона. Было установлено, что данные композиции являются особенно эффективными для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, таких как сердечная недостаточность; гипертензия (особенно для лечения гипертензии от легкой до средней степени тяжести); отек, связанный с печеночной недостаточностью; состояние после инфаркта миокарда; цирроз печени, профилактика инсульта и снижение частоты сердечных сокращений (ЧСС) у лиц с повышенной частотой сердечных сокращений.

Для лечения сердечной недостаточности фармацевтическая композиция предпочтительно обеспечивает суточную дозу эплеренона в количестве приблизительно от 25 до 200 мг, более предпочтительно приблизительно от 25 до 75 мг и еще более предпочтительно около 50 мг. Подходящей может быть суточная доза приблизительно от 0,33 до 2,67 мг/кг массы тела (на основе средней массы тела около 75 кг), предпочтительно приблизительно от 0,33 до 1,00 кг/кг массы тела и наиболее предпочтительно 0,67 мг/кг массы тела. Суточную дозу можно вводить одной-четырьмя дозами в день, предпочтительно одной дозой в день.

Для лечения гипертензии фармацевтическая композиция предпочтительно обеспечивает суточную дозу эплеренона в количестве приблизительно от 50 до 300 мг, более предпочтительно приблизительно от 50 до 150 мг и еще более предпочтительно около 100 мг. Подходящей может быть суточная доза приблизительно от 0,67 до 4,00 мг/кг массы тела, предпочтительно приблизительно от 0,67 до 2,00 кг/кг массы тела и наиболее предпочтительно 1,33 мг/кг массы тела. Суточную дозу можно вводить одной-четырьмя дозами в день, предпочтительно одной дозой в день.

Для лечения отека, связанного с печеночной недостаточностью, фармацевтическая композиция предпочтительно обеспечивает суточную дозу эплеренона в количестве приблизительно от 50 до 500 мг, более предпочтительно приблизительно от 100 до 400 мг и еще более предпочтительно около 300 мг. Подходящей может быть суточная доза приблизительно от 0,67 до 6,67 мг/кг массы тела, предпочтительно приблизительно от 1,33 до 5,33 кг/кг массы тела и наиболее предпочтительно 4,00 мг/кг массы тела. Суточную дозу можно вводить одной-четырьмя дозами в день, предпочтительно одной дозой в день.

Было установлено, что фармацевтические композиции по настоящему изобретению обеспечивают терапевтический эффект в качестве блокаторов рецепторов альдостерона у человека через интервал времени приблизительно от 12 до 24 ч, предпочтительно около 24 ч, после перорального введения.

В общем, фармацевтические композиции по настоящему изобретению обеспечивают суточную дозу эплеренона, достаточную для повышения концентраций ренина и альдостерона в сыворотке крови человека через интервал времени приблизительно от 12 до 24 ч, предпочтительно, около 24 ч, после перорального введения. Конкретно, данные композиции обеспечивают суточную дозу эплеренона, достаточную для среднего повышения концентрации ренина в сыворотке крови человека через интервал времени приблизительно от 12 до 24 ч, предпочтительно около 24 ч, после приема композиции внутрь по меньшей мере приблизительно на 10%. Подобно этому, указанные композиции обеспечивают суточную дозу эплеренона, достаточную для среднего повышения концентра-

ций альдостерона в сыворотке крови человека через интервал времени приблизительно от 12 до 24 ч, предпочтительно около 24 ч, после приема композиции внутрь по меньшей мере приблизительно на 50%.

Было установлено также, что фармацевтические композиции по настоящему изобретению обеспечивают суточную дозу эплеренона, достаточную для среднего повышения $\log_{10}$ отношения (натрий/калий) в моче человека через интервал времени приблизительно от 12 до 24 ч, предпочтительно около 24 ч, после приема композиции внутрь.

Было установлено также, что фармацевтические композиции по настоящему изобретению обеспечивают суточную дозу эплеренона, достаточную для среднего понижения диастолического артериального давления у человека через интервал времени приблизительно от 12 до 24 ч, предпочтительно около 24 ч, после приема композиции внутрь, по меньшей мере приблизительно на 5%.

Стандартные дозы

Дозированные единицы лекарственных форм фармацевтических композиций могут в обычном случае содержать, например, 10, 20, 25, 37,5, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350 или 400 мг эплеренона. Предпочтительные дозированные единицы содержат около 25, 50, 100 или 150 мг эплеренона. Соответствующую дозированную единицу можно выбирать, чтобы она соответствовала желательной частоте введения, которая используется до достижения необходимой суточной дозы. Количество дозированных единиц вводимой фармацевтической композиции и схема дозирования для лечения состояния или заболевания будет зависеть от различных факторов, включая возраст, массу, пол и состояние здоровья субъекта, тяжесть состояния или заболевания, путь и частоту введения, и, таким образом, может варьировать в широких пределах.

Однако, было установлено, что эффективность требующейся суточной дозы фармацевтической композиции по настоящему изобретению, как оказалось, при введении один раз в день фактически не отличается от эффективности при введении два раза в день, что касается композиций, описанных в настоящей заявке. Было высказано предположение, что композиции по настоящему изобретению доставляют количество эплеренона, достаточное для ингибирования длительного геномного ответа, вызванного связыванием альдостерона с сайтом рецепторов альдостерона. Прерывание связывания альдостерона эплереноном предотвращает индуцированный альдостероном синтез генного продукта, что приводит к продолжительному периоду функциональной блокады рецепторов альдостерона, при которой не требуется поддержания концентрации эплеренона в плазме крови. Соответственно, при использовании таких таблеток для удобства введения предпочтительным является введение один раз в день.

Форма фармацевтических композиций

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают эплеренон в сочетании с одним или более нетоксичных фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или вспомогательных веществ (в настоящем описании собирательно называются "материалами-носителями"). Материалы-носители должны быть приемлемыми с точки зрения совместимости с другими ингредиентами композиции и не должны причинять вред реципиенту. Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть адаптированы для введения любым удобным путем выбора подходящих материалов-носителей и дозы эплеренона, эффективной для целей намеченного лечения. Например, данные композиции могут быть приготовлены в форме, удобной для введения пероральным, внутрисосудистым, интраперитонеальным, подкожным, внутримышечным (в/м) или ректальным путем.

Соответственно, применяемый материал-носитель может представлять собой твердое вещество или жидкость, или и то, и другое, и предпочтительно приготавливается в сочетании с соединением в виде композиции с дозированными единицами, например, в виде таблетки, которая может содержать приблизительно от 1 до 95%, предпочтительно приблизительно от 10 до 75%, более предпочтительно приблизительно от 20 до 60% и еще более предпочтительно приблизительно от 20 до 40 мас.% эплеренона. Такие фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть приготовлены любым, хорошо известным в фармации способом, который заключается, главным образом, в смешивании компонентов.

Твердые формы эпоксистероидных антагонистов рецепторов альдостерона

Способы по настоящему изобретению охватывают введение терапевтически эффективного количества эпоксистероидных антагонистов рецепторов альдостерона, особенно эплеренона, в любой из его твердых форм, как в виде одной или более твердых форм в чистом виде, так и в форме фармацевтической композиции, включающей одну или более твердых форм эплеренона. Такие новые твердые формы включают, без ограничения, сольватированный кристаллический эплеренон, несольватированный кристаллический эплеренон и аморфный эплеренон, а также их смеси в любом полезном соотношении.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон, который вводится в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет несольватированную кристаллическую форму эплеренона, имеющую порошковую рентгенограмму, представленную в таблице 1А, ниже (в настоящем

описании обозначается как "полиморф с более высокой температурой плавления" или "форма H").

В другом варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон, который вводится в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет несольватированную кристаллическую форму эплеренона, имеющую порошковую рентгенограмму, представленную в табл. 1B, ниже (в настоящем описании обозначается как "полиморф с более низкой температурой плавления" или "форма L").

Не включенная в композицию форма H демонстрирует более высокую скорость растворения (приблизительно на 30% выше) при более низких температурах (т.е., при температурах ниже температуры энантиотропного перехода, как будет обсуждено позже), чем, например, не включенная в композицию форма L. В случае, когда растворение эплеренона в желудочно-кишечном тракте представляет стадию контролирования скорости при доставке эплеренона к клеткам-мишеням, более быстрое растворение обычно приводит к улучшению биодоступности. Таким образом, форма H может улучшать профиль биодоступности по сравнению с формой L. Помимо этого, выбор твердой формы эплеренона, имеющей более высокую скорость растворения, по всей вероятности, обеспечивает более высокую гибкость в выборе наполнителей и приготовлении фармацевтических композиций с немедленным высвобождением активного ингредиента, по сравнению с другими твердыми формами, имеющими более низкую скорость растворения.

Форма L обладает более высокой физической стабильностью при более низких температурах (т.е., при температурах ниже температуры энантиотропного перехода, как будет обсуждено позже), чем, например, форма H. Твердые формы эплеренона, такие как форма L, которые не требуют использования специальной обработки или условий хранения, и которые не требуют частой инвентарной замены, являются желательными. Например, выбор твердой формы эплеренона, которая является физически стабильной во время процесса приготовления (например, во время размалывания эплеренона для получения материала с уменьшенным размером частиц и увеличенной площадью поверхности), может устранить необходимость особых условий обработки и повышенных расходов, обычно связанных с такими особыми условиями обработки. Подобно этому, выбор твердой формы эплеренона, которая является физически стабильной при различных условиях хранения (особенно при различных возможных условиях хранения готового продукта эплеренона), может помочь избежать полиморфных или других деградационных изменений эплеренона, которые могут привести к порче продукта или ухудшению его эффективности. Таким образом, выбор твердой формы эплеренона, такой как форма L, имеющая более высокую физическую стабильность, обеспечивает значительные преимущества по сравнению с менее стабильными формами эплеренона.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон, который вводится в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет сольватированную кристаллическую форму эплеренона. Предпочтительно, сольватированные кристаллические формы практически не содержат растворителей, которые не являются фармацевтически приемлемыми. Поскольку форма H и форма L обычно являются более физически стабильными при комнатной температуре и атмосферном давлении по сравнению с кристаллическими сольватами, сольватированные кристаллические формы, используемые в таких композициях, обычно включают фармацевтически приемлемый, кипящий при более высоких температурах и/или образующий водородные связи растворитель, такой как, без ограничения, бутанол. Полагают, что сольватированные кристаллические формы вместе могут предложить ряд различных скоростей растворения и в случаях, когда растворение эплеренона в желудочно-кишечном тракте представляет стадию контролирования скорости при доставке эплеренона к клеткам-мишеням, показатели биодоступности, соответствующие форме H и форме L.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон, который вводится в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет аморфный эплеренон. Полагают, что аморфный эплеренон имеет различные скорости растворения, и в случаях, когда растворение эплеренона в желудочно-кишечном тракте представляет стадию контролирования скорости при доставке эплеренона к клеткам-мишеням, показатели биодоступности, соответствующие форме H и форме L.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон, который вводится в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет комбинацию, включающую первую твердую форму эплеренона и вторую твердую форму эплеренона. Обычно первую и вторую твердые формы эплеренона выбирают из формы H, формы L, сольватированного эплеренона и аморфного эплеренона. В целом, массовое соотношение указанной первой твердой формы эплеренона и указанной второй твердой формы эплеренона предпочтительно составляет по меньшей мере приблизительно 1:9, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 1:1, еще более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 2:1, еще более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 5:1 и еще более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 9:1.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон вводят в форме фармацевтической композиции, в которой общее количество эплеренона, содержащегося в композиции, представлено в виде чистой фазы формы H.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон вводят в форме фармацевтической композиции, в которой общее количество эплеренона, содержащегося в композиции, представлено в виде чистой фазы формы L.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон вводят в форме фармацевтической композиции, в которой общее количество эплеренона, содержащегося в композиции, представлено в виде чистой фазы сольватированного кристаллического эплеренона.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон вводят в форме фармацевтической композиции, в которой общее количество эплеренона, содержащегося в композиции, представлено в виде аморфного эплеренона.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон вводят в форме фармацевтической композиции, включающей первую твердую форму эплеренона и вторую твердую форму эплеренона, и первую и вторую твердые формы эплеренона выбирают из формы H, формы L, сольватированного эплеренона и аморфного эплеренона. В целом, массовое соотношение указанной первой твердой формы эплеренона и указанной второй твердой формы эплеренона предпочтительно составляет по меньшей мере приблизительно 1:9, предпочтительно по меньшей мере приблизительно 1:1, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 2;1, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 5:1 и еще более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 9:1.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения эплеренон вводят в форме фармацевтической композиции, включающей форму H и форму L. Соотношение количества формы H и формы L в композиции обычно составляет приблизительно от 1:20 до 20:1. В других вариантах осуществления, например, это соотношение составляет приблизительно от 10:1 до 1:10; приблизительно от 5:1 до 1:5; приблизительно от 2:1 до 1:2 или около 1:1.

Хотя каждый из описанных выше вариантов осуществления может охватывать введение твердой формы эплеренона с широкими пределами размеров частиц эплеренона, было установлено, что сочетание выбора твердой формы эплеренона с уменьшением размеров частиц эплеренона может улучшить биодоступность не включенного в композицию эплеренона и фармацевтических композиций, включающих твердую форму эплеренона.

В одном таком варианте осуществления настоящего изобретения размер частиц D_{90} не включенного в композицию эплеренона или эплеренона, используемого в качестве исходного материала в фармацевтической композиции, обычно составляет менее приблизительно 400 микрон, предпочтительно менее приблизительно 200 мкм, более предпочтительно, менее приблизительно 150 мкм, еще более предпочтительно, менее приблизительно 100 мкм и, еще более предпочтительно менее приблизительно 90 мкм. В другом варианте осуществления настоящего изобретения размер частиц D_{90} составляет приблизительно от 40 до 100 мкм. В другом варианте осуществления настоящего изобретения размер частиц D_{90} составляет приблизительно от 30 до 50 мкм. В другом варианте осуществления настоящего изобретения размер частиц D_{90} составляет приблизительно от 50 до 150 мкм. В другом варианте осуществления настоящего изобретения размер частиц D_{90} составляет приблизительно от 75 мкм до 125.

В другом таком варианте осуществления настоящего изобретения размер частиц D_{90} не включенного в композицию эплеренона или эплеренона, используемого в качестве исходного материала в фармацевтической композиции, обычно составляет менее приблизительно 15 мкм, предпочтительно менее приблизительно 1 мкм, более предпочтительно менее приблизительно 800 нм, еще более предпочтительно менее приблизительно 600 нм и еще более предпочтительно менее приблизительно 400 нм. В другом варианте осуществления настоящего изобретения размер частиц D_{90} составляет приблизительно от 10 нм до 1 мкм. В другом варианте осуществления настоящего изобретения размер частиц D_{90} составляет приблизительно от 100 нм до 800 нм. В другом варианте осуществления настоящего изобретения размер частиц D_{90} составляет приблизительно от 200 до 600 нм. В другом варианте осуществления настоящего изобретения размер частиц D_{90} составляет приблизительно от 400 до 800 нм.

Твердые формы эплеренона с размером частиц менее приблизительно 15 мкм могут быть приготовлены в соответствии с применимыми для этого случая методиками уменьшения размеров частиц, известными в данной области. Такие методики включают, без ограничения, методики, описанные в патентах США №№ 5145684, 5318767, 5384124 и 5747001. Патенты США №№ 5145684, 5318767, 5384124 и 5747001 полностью включены в настоящее описание в качестве ссылок. В соответствии со способом патента США № 5145684, например, частицы удобного размера приготавливают диспергированием эплеренона в жидкой дисперсионной среде влажным размалыванием смеси в присутствии размалывающей среды для уменьшения

частиц до желаемого размера. Если это необходимо или выгодно, частицы можно уменьшать в размерах в присутствии поверхностного модификатора.

Определения

Термин "аморфный", применяемый к эплеренону, относится к твердому состоянию, при котором молекулы эплеренона располагаются беспорядочно и не образуют различимой кристаллической решетки или элементарной ячейки. При проведении порошковой рентгенографии аморфный эплеренон не дает никаких характерных кристаллических пиков.

В случае, когда в настоящей заявке ссылаются на "температуру кипения" вещества или раствора, термин "температура кипения" означает температуру кипения вещества или раствора в подходящих условиях процесса.

Термин "кристаллическая форма", применяемый к эплеренону, относится к твердой форме, в которой молекулы эплеренона образуют различимую кристаллическую решетку (i), включающую различимые элементарные ячейки, и (ii) дающую пики дифракции при облучении рентгеновскими лучами.

Термин "кристаллизация", используемый в настоящей заявке, может относиться к кристаллизации и/или перекристаллизации, в зависимости от применимых обстоятельств, относящихся к получению исходного материала эплеренона.

Термин "варка" означает процесс, при котором взвесь твердого эплеренона в растворителе или смеси растворителей нагревают до температуры кипения растворителя или смеси растворителей в условиях, применимых к указанному процессу.

Термин "прямая кристаллизация", используемый в настоящей заявке, относится к кристаллизации эплеренона непосредственно из подходящего растворителя без образования и десольватации промежуточной сольватированной кристаллической твердой формы эплеренона.

Термин "размер частиц", используемый в настоящей заявке, относится к размеру частиц, измеренному с помощью обычных методик измерения размера частиц, известных в данной области, таких как рассеяние лазерного луча, фракционирование седиментацией полевого потока, фотонная корреляционная спектроскопия или дисковое центрифугирование.

Термин "размер частиц D_{90}" означает размер по меньшей мере 90% частиц, измеренный с помощью указанных обычных методик измерения размера частиц.

Термин "чистота" означает химическую чистоту эплеренона, согласно обычному анализу ВЭЖХ. Используемый в настоящем описании термин "эплеренон низкой чистоты" обычно означает эплеренон, который содержит эффективное количество промотора роста формы H и/или ингибитора роста формы L. Используемый в настоящем описании термин "эплеренон высокой чистоты" обычно означает эплеренон, который не содержит или содержит менее эффективного количества промотора роста формы H и/или ингибитора роста формы L.

Термин "фазовая чистота" означает чистоту твердого состояния эплеренона с учетом конкретной кристаллической или аморфной формы эплеренона, по результатам аналитических методов инфракрасной спектроскопии, описанных в настоящей заявке.

Термин "ПР" (XPRD) означает порошковую рентгенографию.

Термин "$T_{пл}$" означает температуру плавления.

Описание твердой формы

1. Молекулярная структура.

Рентгеновский анализ монокристалла показывает, что молекулярная структура эплеренона формы H и формы L различается, особенно с точки зрения ориентации сложноэфирной группы в положении 7 стероидного кольца. Ориентацию сложноэфирной группы можно определить углом кручения C8-C7-C23-02.

В кристаллической решетке формы H молекула эплеренона принимает форму, при которой метоксигруппа сложного эфира находится почти на одной линии со связью C-H в положении 7, а карбонильная группа находится почти над центром B-стероидного кольца. Угол кручения C8-C7-C23-02 в данной структуре составляет приблизительно -73,0°. При такой ориентации атом кислорода карбонила сложноэфирной группы (01) находится в тесном контакте с атомом кислорода 9,11-эпоксидного кольца (04). Расстояние 01-04 составляет около 2,97 Å, что меньше расстояния контакта ван дер Вааля 3,0 Å (допуская, что радиус ван дер Вааля для кислорода составляет 1,5 Å).

В кристаллической решетке формы L молекула эплеренона принимает форму, при которой сложноэфирная группа повернута приблизительно на 150° относительно данной группы у формы H и имеет угол кручения C8-C7-C23-02 приблизительно +76,9°. При такой ориентации метоксигруппа сложного эфира направлена на 4,5-алкеновый сегмент A-стероидного кольца. При такой ориентации расстояние между атомом кислорода сложноэфирной группы (01, 02) и атомом кислорода 9,11-эпоксидного кольца увеличивается относительно данного расстояния для формы H. Расстояние 02-04 составляет около 3,04 Å, что незначительно превышает расстояние контакта ван дер Вааля. Расстояние 01-04 составляет около 3,45 Å.

Молекула эплеренона, как оказалось, принимает структурные свойства формы L в сольватированных кристаллических формах, по результатам рентгеновского анализа монокристалла, полученным к настоящему времени.

2. Порошковая рентгенография.

Различные кристаллические формы эплеренона были проанализированы с помощью порошкового дифрактометра Siemens D5000 или многоцелевого дифрактометра Inel. Для порошкового дифрактометра Siemens D5000 необработанные данные были получены для величин 2q от 2 до 50, с шагом 0,020 и шаговым периодом две секунды. Для многоцелевого дифрактометра Inel образцы помещали в алюминиевый держатель образцов и необработанные данные собирали в течение 30 мин при всех двух тета-величинах одновременно.

В табл. 1A, 1B и 1C представлены значимые параметры главных пиков с точки зрения величин 2q и интенсивностей для формы H (полученной десольватацией этанолового сольвата, полученного варкой эплеренона низкой чистоты), формы L (полученной десольватацией метилэтилкетонового сольвата, полученного перекристаллизацией эплеренона высокой чистоты) и метилэтилкетоновых сольватов (полученных конверсией взвеси эплеренона высокой чистоты в метилэтилкетоне при комнатной температуре) кристаллических форм эплеренона, соответственно (рентгеновское облучение при длине волны 1,54056 Å).

Малые сдвиги в расположении пиков могут иметь место в образцах дифракции формы H и формы L в результате несовершенства в расположении плоскостей дифракции кристаллов, из-за способа производства формы H и формы L (т.е., десольватации сольвата). Помимо этого, форма H выделена из сольвата, полученного варкой сырого эплеренона. Данный способ дает более низкую общую химическую чистоту (приблизительно 90%) формы H. И наконец, сольватированные формы эплеренона, как ожидается, покажут некоторый сдвиг в расположении дифракционных пиков из-за повышенной подвижности молекул растворителя внутри каналов растворителя в кристаллической решетке.

Таблица 1A. Данные формы H

Угол 2-тета	Интервал d Å	Интенсивность	Интенсивность %
6,994	12,628	1188	7,2
8,291	10,655	2137	13
10,012	8,827	577	3,5
11,264	7,849	1854	11,3
12,04	7,344	7707	46,8
14,115	6,269	3121	19
14,438	6,13	15935	96,8
15,524	5,703	637	3,9
16,169	5,477	1349	8,2
16,699	5,305	1663	10,1
16,94	5,23	1692	10,3
17,147	5,167	2139	13
17,66	5,018	6883	41,8
17,91	4,949	16455	100
18,379	4,823	3106	18,9
18,658	4,752	1216	7,4
19,799	4,48	1499	9,1
20,235	4,385	383	2,3
21,707	4,091	1267	7,7
21,8	4,073	1260	7,7
21,969	4,044	1279	7,8
22,461	3,955	4264	25,9
23,191	3,832	1026	6,2
23,879	3,723	1000	6,1
24,599	3,616	1688	10,3
25,837	3,445	931	5,7
26,034	3,42	686	4,2
26,868	3,316	912	5,5
27,093	3,288	1322	8
27,782	3,209	1236	7,5
28,34	3,147	1845	11,2
28,861	3,091	957	5,8
29,866	2,9892	745	4,5
30,627	2,9166	992	6
31,108	2,8726	1205	7,3
33,215	2,6951	1287	7,8
33,718	2,656	802	4,9
34,434	2,6024	914	5,6

Таблица 1B. Данные формы L

Угол 2-тета	Интервал d Å	Интенсивность чис. имп. в сек	Интенсивность %
7,992	11,054	11596	26,6
10,044	8,799	12048	27,6
11,206	7,889	4929	11,3
12,441	7,109	1747	4
12,752	6,936	4340	9,9
13,257	6,673	2444	5,6
14,705	6,019	43646	100
15,46	5,727	2670	6,1
15,727	5,63	7982	18,3
16,016	5,529	3519	8,1
17,671	5,015	8897	20,4
17,9	4,951	2873	6,6
18,352	4,83	612	1,4
18,703	4,74	689	1,6
19,524	4,543	1126	2,6
20,103	4,413	3753	8,6
20,63	4,302	1451	3,3
21,067	4,214	876	2
21,675	4,097	2760	6,3
22,232	3,995	1951	4,5
22,652	3,922	1657	3,8
23,624	3,763	827	1,9
24,279	3,663	1242	2,8
25,021	3,556	5144	11,8
25,485	3,492	1702	3,9
25,707	3,463	2493	5,7
26,251	3,392	1371	3,1
26,85	3,318	1970	4,5
27,319	3,262	1029	2,4
27,931	3,192	440	1
27,969	3,187	440	1
28,937	3,083	1128	2,6
29,703	3,004	1211	2,8
30,173	2,9594	1506	3,5
30,584	2,9206	1602	3,7
30,885	2,8928	1550	3,6
31,217	2,8628	1068	2,4
31,605	2,8285	1038	2,4
32,059	2,7895	1211	2,8
32,64	2,7412	684	1,6
32,747	2,7324	758	1,7
33,46	2,6759	506	1.2
34,194	2,6201	1085	2,5
34,545	2,5943	915	2,1

Таблица 1С. Данные метлэтилкетона

Угол 2-тета	Интервал d Å	Интенсивность чис. имп. в сек	Интенсивность %
7,584	11,648	5629	32,6
7,753	11,393	15929	92,3
10,151	8,707	2877	16,7
11,31	7,817	701	4,1
12,646	6,994	1027	5,9
13,193	6,705	15188	88
13,556	6,526	14225	82,4
14,074	6,287	1966	11,4
14,746	6,002	2759	16
15,165	5,837	801	4,6
15,548	5,694	1896	11
17,031	5,202	7980	46,2
17,28	5,127	17267	100
17,706	5,005	6873	39,8
18,555	4,778	545	3,2
18,871	4,699	1112	6,4
19,766	4,488	1704	9,9
20,158	4,401	1396	8,1
20,725	4,282	2644	15,3
21,787	4,076	1127	6,5
22,06	4,026	451	2,6
22,864	3,886	1542	8,9
23,412	3,796	14185	82,2
23,75	3,743	1154	6,7
24,288	3,662	3063	17,7
25,253	3,524	1318	7,6
25,503	3,49	1736	10,1
25,761	3,455	1225	7,1
26,176	3,402	1346	7,8
26,548	3,355	1098	6,4
27,357	3,257	1944	11,3
27,605	3,229	2116	12,3
27,9	3,195	858	5
28,378	3,142	583	3,4
28,749	3,103	763	4,4
29,3	3,046	1182	6,8
29,679	3,008	2606	15,1
30,402	2,9377	2184	12,6
30,739	2,9063	648	3,8

Графические примеры рентгенограмм формы H, формы L и метилэтилкетоновых сольватов кристаллических форм эплеренона показаны на фиг. 1-A, 1-B и 1-C, соответственно. Форма H демонстрирует различимые пики при 7,0 ± 0,2, 8,3 ± 0,2 и 12,0 ± 0,2 градусах двух тета. Форма L демонстрирует различимые пики при 8,0 ± 0,2, 12,4 ± 0,2, 12,8 ± 0,2 и 13,3 ± 0,2 градусах двух тета. Метилэтилкетоновая сольватная кристаллическая форма демонстрирует различимые пики при 7,6 ± 0,2, 7,8 ± 0,2 и 13,6 ± 0,2 градусах двух тета.

3. Температура плавления/разложения.

Температуры плавления и/или разложения несольватированных кристаллических форм эплеренона определяли с помощью дифференциального сканирующего калориметра TA Instruments 2920. Каждый образец (1-2 мг) помещали в алюминиевый лоток, герметично закрытый или не закрытый, и нагревали со скоростью 10°C в минуту. Пределы плавления/разложения определяли от экстраполированного начала до максимума эндотермы плавления/разложения.

Плавление несольватированных кристаллических форм эплеренона (формы H и формы L) было связано с химическим разложением и потерей улавливаемого кристаллической решеткой растворителя. На температуру плавления/разложения также влияли манипуляции с твердым веществом перед анализом. Например, неразмолотая форма L (приблизительный размер частиц D_{90} около 180-450 мкм), полученная прямой кристаллизацией из подходящего растворителя или десольватацией сольвата, полученного кристаллизацией эплеренона высокой чистоты в подходящем растворителе или смеси растворителей, обычно имела пределы температур плавления около 237-242°C. Размолотая форма L (приблизительный размер частиц D_{90} около 80-100 микрон) (форма L, полученная кристаллизацией сольвата из раствора эплеренона высокой чистоты в подходящем растворителе или смеси растворителей, десольватацией сольвата с получением формы L и размалыванием полученной формы L), обычно имела более низкие и широкие пределы температур плавления/разложения около 223-234°C. Неразмолотая форма H (приблизительный размер частиц D_{90} около 180-450 мкм), полученная десольватацией сольвата, полученного варкой эплеренона низкой чистоты, обычно имела более высокие пределы температур плавления/разложения около 247-251°C. Примеры DSC термограмм (a) неразмолотой формы L, прямо кристаллизованной из метилэтилкетона, (b) неразмолотой формы L, полученной десольватацией сольвата, полученного кристаллизацией эплеренона высокой чистоты из метилэтилкетона, (c) формы L, полученной размалыванием десольватированного сольвата, полученного кристаллизацией эплеренона высокой чистоты из метилэтилкетона, и (d) неразмолотой формы H, полученной десольватацией сольвата, полученного варкой эплеренона низкой чистоты из метилэтилкетона, представлены на фиг. 2-A, 2-B, 2-C и 2-D, соответственно.

DSC термограммы сольватированных форм эплеренона определяли с использованием дифференциального сканирующего калориметра Perkin Elmer Pyris 1. Каждый образец (1-10 мг) помещали в незапечатанный алюминиевый лоток и нагревали со скоростью 10°C в минуту. Одно или более эндотермальных явлений при более низких температурах были связаны с изменениями энтальпии, которые имели место в результате потери растворителя кристаллической решеткой. Эндотерма или эндотермы наивысшей температуры были связаны с плавлением/разложением формы L или формы H эплеренона.

4. Спектрометрия инфракрасного поглощения.

Спектры инфракрасного поглощения несольватированных форм эплеренона (формы H и формы L) были получены на спектрофотометре

Nicolet DRIFT (диффузное отражательное инфракрасное преобразование fourier) Magna System 550. Использовали коллекторную систему Spectra-Tech и чашку для микрообразцов. Образцы (5%) анализировали в бромиде калия и сканировали от 400-4000 $см^{-1}$. Инфракрасные спектры поглощения эплеренона в разбавленном растворе хлороформа (3%) или в сольватированных кристаллических формах были получены на спектрофотометре Bio-rad FTS-45. Образцы раствора хлороформа анализировали с использованием ячейки раствора с длиной оптического пути 0,22 мм с планшетами с хлоридом натрия. FTIR спектры сольватов собирали с использованием вспомогательного устройства IBM micro-MIR (множественная внутренняя отражательная способность). Образцы сканировали от 400-4000 $см^{-1}$. Примеры спектров инфракрасного поглощения (a) формы H, (b) формы L, (c) метилэтилкетонового сольвата и (d) эплеренона в растворе хлороформа представлены на фиг. 3-A, 3-B, 3-C и 3-D, соответственно.

Табл. 2 представляет показательные полосы поглощения для эплеренона в форме H, форме L и метилэтилкетоновых сольватных кристаллических формах. Показательные полосы поглощения для эплеренона в растворе хлороформа также представлены для сравнения. Наблюдались различия между формой H и формой L или метилэтилкетоновым сольватом, например, в карбонильной части спектра. Форма H имеет отрезок для карбонила сложного эфира около 1739 $см^{-1}$, в то время как форма L и метилэтилкетоновый сольват имеют соответствующий отрезок около 1724 и 1722 $см^{-1}$, соответственно. Отрезок для карбонила сложного эфира эплеренона в растворе хлороформа наблюдается в размере около 1727 $см^{-1}$. Изменение в частоте отрезка для карбонила сложного эфира между формой H и формой L отражает изменение ориентации сложноэфирной группы между двумя кристаллическими формами. Помимо этого, отрезок для сложного эфира конъюгированного кетона в A-стероидном кольце сдвигается приблизительно с 1664-1667 $см^{-1}$, как для формы H, так и для метилэтилкетонового сольвата, до приблизительно 1655 $см^{-1}$ для формы L. Соответствующий отрезок для карбонила наблюдается приблизительно на 1665 $см^{-1}$ в разбавленном растворе.

Другое различие между формой H и формой L наблюдалось в участке изгиба C-H. Форма H имеет поглощение приблизительно на 1399 $см^{-1}$, что не наблюдалось у формы L, метилэтилкетонового сольвата или эплеренона в растворе хлороформа. Отрезок 1399 $см^{-1}$ наблюдается на участке расщепления CH_2 на C2 и C21 метиленовые группы, прилегающие к карбонильным группам.

Таблица 2

Участок поглощения	Форма H ($см^{-1}$)	Форма L ($см^{-1}$)	Сольват метилэтилкетона ($см^{-1}$)	Эплеренон в хлороформе ($см^{-1}$)
ν C=O (лактон)	1773	1775	1767	1768
ν C=O (сложный эфир)	1739	1724	1722	1727
ν C=O (3 кето)	1664	1655	1667	1665
ν C=C (3,4-олефин)	1619	1619	1622	1623
$\delta_{as}CH3$, δCH2, δCH2 (α к карбонилу)	1460, 1444, 1426	1467, 1438, 1422, 1399	1467, 1438, 1422	1464, 1438, 1422
$\delta_s CH3$	1380	1381	~1380	1378

5. Ядерный магнитный резонанс.

Спектры ^{13}C ЯМР были получены в области 31,94 МГц. Примеры спектров ^{13}C ЯМР формы H и формы L эплеренона показаны на фиг. 4 и 5, соответственно. Форма H эплеренона, проанализированная с получением данных, отраженных на фиг. 4, не обладала фазовой чистотой и включала малое количество формы L эплеренона. Форма H наиболее четко различалась по углеродным резонансам приблизительно на 64,8 миллионных долях, 24,7 миллионных долях и 19,2 миллионных долях. Форма L наиболее четко различалась по углеродным резонансам приблизительно на 67,1 миллионных долях и 16,0 миллионных долях.

6. Термогравиметрия.

Термогравиметрический анализ сольватов выполняли с использованием термогравиметрического анализатора TA Instruments TGA 2950. Образцы помещали на незапечатанный алюминиевый лоток с продувкой азотом. Исходная температура составляла 25°C и повышалась со скоростью около 10°C в минуту. Пример профиля термогравиметрического анализа для метилэтилкетонового сольвата показан на фиг. 6-A.

7. Параметры элементарной ячейки.

Табл. 3A, 3B и 3C, ниже, суммируют параметры элементарной ячейки, определенные для формы H, формы L и нескольких сольватированных кристаллических форм.

Таблица 3A

Параметр	Форма H	Форма L	Сольват метилэтилкетона
Система кристалла	Орторомбическая	Моноклинная	Орторомбическая
Пространственная группа	$P2_12_12_1$	$P2_1$	$P2_12_12_1$
a	21,22 Å	8,78 Å	23,53 Å
b	15,40 Å	11,14 Å	8,16 Å
c	6,34 Å	11,06 Å	13,08 Å
α	90°	90°	90°
β	90°	93,52°	90°
γ	90°	90°	90°
Z	4	2	4
Объем (Å)	2071,3	1081,8	2511,4
ρ (рассчитано)	1,329 $г/см^3$	1,275 $г/см^3$	1,287 $г/см^3$
R	0,0667	0,062	0,088

Таблица 3B

Параметр	Сольват ацетона	Сольват толуола	Сольват бутилацетата[1]
Система кристалла	Орторомбическая	Орторомбическая	Орторомбическая
Пространственная группа	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$
a	23,31 Å	23,64 Å	23,07 Å
b	13,13 Å	13,46 Å	13,10 Å
c	8,28 Å	8,16 Å	8,24 Å
α	90°	90°	90°
β	90°	90°	90°
γ	90°	90°	90°
Z	4	4	4
Объем (Å)	2533,7	2596,6	2490,0
ρ (рассчитано)	1,239 г/см^3	1,296 г/см^3	1,334 г/см^3
R	0,058	0,089	0,093

[1] Молекулы сольвата не были полностью очищены из-за беспорядочного расположения молекул растворителя в каналах.

Таблица 3C

Параметр	Сольват изобутилацетата[1]	Сольват изопропанола[1]	Сольват этанола[1]
Система кристалла	Орторомбическая	Орторомбическая	Орторомбическая
Пространственная группа	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$
a	23,19 Å	23,15 Å	23,51 Å
b	12,95 Å	12,73 Å	13,11 Å
c	8,25 Å	8,25 Å	8,27 Å
α	90°	90°	90°
β	90°	90°	90°
γ	90°	90°	90°
Z	4	4	4
Объем (Å)	2476,4	2433,2	2548,6
ρ (рассчитано)	1,337 г/см^3	1,296 г/см^3	1,234 г/см^3
R	0,098	0,152	0,067

[1] Молекулы сольватов не были полностью очищены из-за беспорядочного расположения молекул растворителя в каналах.

Дополнительная информация о выбранных сольватированных кристаллических формах эплеренона представлена в табл. 4 ниже. Данные об элементарных ячейках, представленные в табл. 3A, выше, для метилэтилкетонового сольвата также являются показательными для параметров элементарных ячеек многих таких дополнительных кристаллических сольватов эплеренона. Большинство изученных кристаллических сольватов эплеренона имеют практически идентичную структуру. В то время как могут иметь место некоторые минимальные сдвиги в пиках порошковой рентгенографии от одной сольватированной кристаллической формы до следующей из-за размера инкорпорированной молекулы растворителя, в целом образцы дифракции практически одинаковы, а параметры элементарной ячейки и молекулярные позиции практически идентичны для большинства изученных сольватов.

Таблица 4

Растворитель	Стехиометрия (растворитель:эплеренон)	Одинаковая структура с сольватом метилэтилкетона	Температура десольватации[1] (°C)
Метилэтилкетон	1:1	нет данных	89
2-Пентанон	---	---	---
Уксусная кислота	1:2	Да	203
Ацетон	1:1	Да	117
Бутилацетат	1:2	Да	108
Хлороформ	---	Да	125
Этанол	1:1	Да	166
Изобутанол	---	---	---
Изобутилацетат	1:2	Да	112
Изопропанол	1:1	Да	121
Метилацетат	1:1	Да	103
Этилпропионат	1:1	Да	122
н-Бутанол	1:1	Да	103
н-Октанол	---	Да	116
н-Пропанол	1:1	Да	129
Пропилацетат	1:1	Да	130
Пропиленгликоль	---	Да	188
трет-Бутанол	---	---	---
Тетрагидрофуран	1:1	Да	136
Толуол	1:1	Да	83
трет-Бутилацетат		Да	109

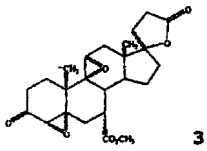
[1] Определено как экстраполированная температура десольватации от конечного этапа потери веса растворителя, по результатам термогравиметрического анализа при скорости нагревания 10°C в минуту при продувке азотом.

На температуры десольватации, однако, может влиять способ получения сольвата. Различные способы могут приводить к образованию различных количеств центров кристаллизации, способных инициировать десольватацию в сольвате при более низких температурах.

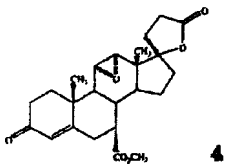
Элементарная ячейка сольвата составлена из четырех молекул эплеренона. Стехиометрия молекул эплеренона и молекул растворителя в элементарной ячейке для ряда сольватов также представлена в табл. 4, выше. Элементарная ячейка формы H составлена из четырех молекул эплеренона. Элементарная ячейка формы L составлена из двух молекул эплеренона. Элементарные ячейки сольвата во время десольватации превращаются в элементарные ячейки формы H и/или формы L, когда молекулы эплеренона претерпевают трансляцию и ротацию для заполнения пространств, оставленных молекулами растворителя. Табл. 4 представляет также температуры десольватации для ряда различных сольватов.

8. Кристаллические свойства молекул примесей.

Некоторые примеси в эплереноне могут индуцировать образование формы H во время десольватации сольвата. В частности, оценивали эффект следующих двух молекул примесей: 7-метил водород 4α,5α:9α,11α-диэпокси-17-гидрокси-3-оксо-17α-прегнан-7α,21-дикарбоксилат, γ-лактон 3 ("диэпоксид") и 7-метил водород 11α,12α-эпокси-17-гидрокси-3-оксо-17α-прегн-4-ен-7α,21-дикарбоксилат, γ-лактон 4 ("11,12-эпоксид").



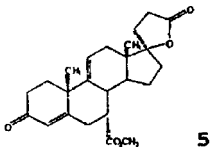
3



4

Влияние таких молекул примесей на кристаллическую форму эплеренона, получаемую после десольватации, описано более подробно в примерах настоящей заявки.

В силу сходства структуры монокристалла 7-метил водород 17-гидрокси-3-оксо-17α-прегна-4,9(11)-диен-7α,21-дикарбоксилата, γ-лактона 5 ("9,11-олефина") и формы H, было сделано предположение о том, что 9,11-олефин также может индуцировать образование формы H во время десольватации сольвата.



5

Диэпоксид, 11,12-олефин и 9,11-олефин можно получить как описано, например, в примерах 47C/ 47B и 37H, в Ng et al., WO 98/25948, соответственно.

Монокристаллическая форма была выделена для каждого соединения-примеси. Показательные порошковые рентгенограммы кристаллических форм, выделенных для диэпоксида, 11,12-эпоксида и 9,11-олефина, представлены на фиг. 7, 8 и 10, соответственно. Порошковая рентгенограмма каждой молекулы примеси аналогична порошковой рентгенограмме формы H, что наводит на мысль о том, что форма H и три соединения-примеси имеют сходные монокристалические структуры.

Монокристаллы каждого соединения-примеси также были выделены и подвергнуты рентгеновскому определению структуры, чтобы убедиться, что указанные три соединения имеют монокристаллические структуры, подобные форме H. Монокристаллы диэпоксида были выделены из метилэтилкетона. Монокристаллы 11,12-эпоксида были выделены из изопропанола. Монокристаллы 9,11-олефина были выделены из н-бутанола. Данные о структуре кристаллов, определенные для каждой кристаллической формы каждого соединения-примеси, представлены в таблице 5. Полученная кристаллическая система и параметры ячейки были практически одинаковы для кристаллических форм формы H, диэпоксида, 11,12-эпоксида и 9,11-олефина.

(а) Таблица 5

Параметр	Форма H	Диэпоксид	11,12-Эпоксид	9,11-Олефин
Система кристалла	Орторомбическая	Орторомбическая	Орторомбическая	Орторомбическая
Пространственная группа	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$
a	21,22 Å	21,328 Å	20,90 Å	20,90 Å
b	15,40 Å	16,16 Å	15,55 Å	15,74 Å
c	6,34 Å	6,15 Å	6,38 Å	6,29 Å
α	90°	90°	90°	90°
β	90°	90°	90°	90°
γ	90°	90°	90°	90°
Z	4	4	4	4
Объем (A)	2071,3	2119,0	2073,2	2069,3
P (рассчитано)	1,329 г/см^3	1,349 г/см^3	1,328 г/см^3	1,279 г/см^3
R	0,0667	0,0762	0,0865	0,0764

Четыре соединения, представленные в табл. 5, кристаллизуются в одну и ту же пространственную группу и имеют сходные параметры ячейки (т.е., являются изоструктурными). Было высказано предположение, что диэпоксид, 11,12-эпоксид и 9,11-олефин имеют строение формы H. Относительная легкость выделения пространственной организации формы H (непосредственно из раствора) для каждого соединения-примеси указывает на то, что решетка формы H является стабильной формой пространственной организации данного ряда структурно сходных соединений.

Получение эплеренона

Исходный материал эплеренона, используемый для получения новых кристаллических форм по настоящему изобретению, можно получить с использованием способов, описанных в Ng et al., WO 97/21720 и Ng et al., WO 98/25948, в частности, на схеме 1, приведенной в WO 97/21720 и WO 98/25948.

Получение кристаллических форм

1. Получение сольватированной кристаллической формы.

Сольватированные кристаллические формы эплеренона можно получить кристаллизацией эплеренона из подходящего растворителя или смеси подходящих растворителей. Подходящий растворитель или смесь подходящих растворителей обычно включает органический растворитель или смесь органических растворителей, которые растворяют эплеренон вместе со всеми примесями при повышенной температуре, но при охлаждении предпочтительно кристаллизуется сольват. Растворимость эплеренона в таких растворителях или смесях растворителей обычно составляет от 5 до 200 мг/мл при комнатной температуре. Растворитель или смесь растворителей предпочтительно выбирают из тех растворителей, которые использовались ранее в процессе получения исходного материала эплеренона, в частности, из тех растворителей, которые являются фармацевтически приемлемыми, если они содержатся в конечной фармацевтической композиции, включающей кри-

сталлическую форму эплеренона. Например, система растворителя, включающая метиленхлорид, дающая сольват, включающий метиленхлорид, обычно нежелательна.

Каждый используемый растворитель предпочтительно является фармацевтически приемлемым растворителем, особенно растворитель класса 2 или класса 3, как определено в "Impurities: Guideline For Residual Solvents", International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use (Рекомендовано для принятия на 4 стадии процесса ICH 17 июля 1997 г. комиссией по выработке регламента ICH). Еще более предпочтительно, растворитель или смесь растворителей выбирают из группы, состоящей из метилэтилкетона, 1-пропанола, 2-пентанона, уксусной кислоты, ацетона, бутилацетата, хлороформа, этанола, изобутанола, изобутилацетата, метилацетата, этилпропионата, н-бутанола, н-октанола, изопропанола, пропилацетата, пропиленгликоля, трет-бутанола, тетрагидрофурана, толуола, метанола и трет-бутилацетата. Еще более предпочтительно растворитель выбирают из группы, состоящей из метилэтилкетона и этанола.

Для получения сольватированной кристаллической формы эплеренона, количество исходного материала эплеренона растворяют в объеме растворителя и охлаждают до образования кристаллов. Температуру растворителя, при которой к растворителю добавляют эплеренон, обычно будут выбирать на основе кривой растворимости растворителя или смеси растворителей. Для большинства растворителей, описанных в настоящей заявке, например, такая температура растворителя обычно составляет по меньшей мере около 25°C, предпочтительно при приблизительно от 30°C до температуры кипения растворителя и более предпочтительно приблизительно от 25°C ниже температуры кипения растворителя до температуры кипения растворителя.

Альтернативно, горячий растворитель можно добавлять к эплеренону, и смесь можно охлаждать до образования кристаллов. Температуру растворителя в то время, когда его добавляют к эплеренону, обычно будут выбирать на основе кривой растворимости растворителя или смеси растворителей. Для большинства растворителей, описанных в настоящей заявке, например, температура растворителя обычно составляет по меньшей мере около 25°C, предпочтительно приблизительно от 50°C до температуры кипения растворителя и более предпочтительно приблизительно от 15°C ниже температуры кипения растворителя до температуры кипения растворителя.

Количество исходного материала эплеренона, смешиваемого с данным объемом растворителя, по всей вероятности, будет зависеть от кривой растворимости растворителя или смеси растворителей. Обычно количество эплеренона, добавляемого к растворителю, не будет полностью растворяться в этом объеме растворителя при комнатной температуре. Для большинства растворителей, описанных в настоящей заявке, например, количество исходного материала эплеренона, смешиваемого с данным объемом растворителя, обычно превышает приблизительно в 1,5-4,0 раза, предпочтительно приблизительно в 2,0-3,5 раза и более предпочтительно приблизительно в 2,5 раза, количество эплеренона, которое растворяется в этом объеме растворителя при комнатной температуре.

После полного растворения исходного материала эплеренона в растворителе раствор обычно медленно охлаждают для кристаллизации сольватированной кристаллической формы эплеренона. Для большинства растворителей, описанных в настоящей заявке, например, раствор охлаждают со скоростью менее приблизительно 20°C в минуту, предпочтительно со скоростью около 10°C в минуту или медленнее, более предпочтительно, со скоростью около 5°C в минуту или медленнее, и еще более предпочтительно, со скоростью около 1°C в минуту или медленнее.

Конечная температура, при которой собирают сольватированную кристаллическую форму, будет зависеть от кривой растворимости растворителя или смеси растворителей. Для большинства растворителей, описанных в настоящей заявке, например, конечная температура обычно составляет менее приблизительно 25°C, предпочтительно менее приблизительно 5°C и более предпочтительно менее приблизительно -5°C. Понижение конечной температуры обычно благоприятствует образованию сольватированной кристаллической формы.

Альтернативно можно использовать другие способы получения сольвата. Примеры таких способов включают без ограничения (i) растворение исходного материала эплеренона в одном растворителе и добавление сорастворителя для облегчения кристаллизации сольватированной кристаллической формы, (ii) паровой диффузионный рост сольвата, (iii) выделение сольвата выпариванием, таким как ротационное выпаривание и (iv) конверсию взвеси.

Кристаллы сольватированной кристаллической формы, полученные, как описано выше, можно отделять от растворителя любым подходящим обычным способом, таким как фильтрование или центрифугирование. Усиленное перемешивание системы растворителя во время кристаллизации обычно приводит к образованию кристаллических частиц меньших размеров.

2. Получение формы L из сольвата.

Форму L эплеренона можно получать непосредственно из сольватированной кристаллической формы путем десольватации. Десольватацию можно осуществлять любым подходя-

щим способом десольватации, таким как, без ограничения, нагревание сольвата, понижение давления среды, окружающей сольват, или их комбинация. Если сольват нагревают для удаления растворителя, например, в печи, температура сольвата во время этого процесса не превышает температуру энантиотропного перехода для формы H и формы L. Эта температура предпочтительно не превышает приблизительно 150°C.

Давление десольватации и время десольватации не являются принципиально важными. Давление десольватации предпочтительно, составляет около одной атмосферы или менее. Однако, если давление десольватации понижается, температура, при которой может осуществляться десольватация, и/или время десольватации, по всей вероятности, уменьшаются. В частности, для сольватов, имеющих более высокие температуры десольватации, сушка в вакууме позволит использовать более низкие температуры сушки. Время десольватации только должно быть достаточным для десольватации, и, следовательно, образования формы L, для завершения процесса.

Чтобы гарантировать получение продукта, содержащего практически только форму L, исходным материалом эплеренона обычно является эплеренон высокой чистоты, предпочтительно практически чистый эплеренон. Исходный материал эплеренона, используемый для получения формы L эплеренона, обычно является по меньшей мере на 90% чистым, предпочтительно по меньшей мере на 95% чистым и более предпочтительно по меньшей мере на 99% чистым. Как более подробно обсуждается в других местах настоящей заявки, определенные примеси в исходном материале эплеренона могут неблагоприятно влиять на выход и содержание формы L в продукте, полученном в результате этого процесса.

Кристаллизованный продукт эплеренона, полученный указанным способом из исходного материала эплеренона высокой чистоты, обычно включает по меньшей мере 10% формы L, предпочтительно, по меньшей мере 50% формы L, более предпочтительно, по меньшей мере 75% формы L, еще более предпочтительно, по меньшей мере 90% формы L, еще более предпочтительно, по меньшей мере около 95% формы L, и, еще более предпочтительно, практически чистую фазу формы L.

2. Получение формы H из сольвата.

Продукт, включающий форму H, можно получать практически так же, как описано выше для получения формы L, (i) использованием исходного материала эплеренона низкой чистоты вместо исходного материала эплеренона высокой чистоты, (ii) затравливанием системы растворителя кристаллами чистой фазы формы H или (iii) комбинацией (i) и (ii).

A. Использование примесей как промоторов и ингибиторов роста.

Наличие и количество выбранных примесей в исходном материале эплеренона, в большей степени, чем общее количество всех примесей в исходном материале эплеренона, влияет на потенциал образования кристаллов формы H во время десольватации сольвата.

Выбранная примесь обычно является промотором роста формы H или ингибитором роста формы L. Она может содержаться в исходном материале эплеренона, содержаться в растворителе или смеси растворителей перед добавлением исходного материала эплеренона, и/или может добавляться к растворителю или смеси растворителей после добавления исходного материала эплеренона. Bonafede et al., "Selective Nucleation and Growth of an Organic Polymorph by Ledge-Directed Epitaxy on a Molecular Crystal Substate", J. Amer. Chem. Soc., Vol. 117, № 30 (2 августа 1995 г.), обсуждает использование промоторов роста и ингибиторов роста в полиморфных системах и включается в настоящее описание в качестве ссылки. Для настоящего изобретения примесь обычно включает соединение, имеющее структуру монокристалла, практически идентичную структуре монокристалла формы H. Примесь предпочтительно представляет соединение, имеющее порошковую рентгенограмму, практически идентичную порошковой рентгенограмме формы H и более предпочтительно выбирается из группы, состоящей из диэпоксида, 11,12-эпоксида, 9,11-олефина и их комбинаций.

Количество примеси, необходимое для получения кристаллов формы H, обычно может зависеть частично от растворителя или смеси растворителей, и растворимости примеси относительно эплеренона. При кристаллизации формы H из растворителя метилэтилкетона, например, массовое соотношение диэпоксида и исходного материала эплеренона низкой чистоты обычно составляет по меньшей мере приблизительно 1:100, предпочтительно по меньшей мере приблизительно 3:100, более предпочтительно приблизительно от 3:100 до 1:5 и еще более предпочтительно приблизительно от 3:100 до 1:10. 11,12-Эпоксид имеет более высокую растворимость в метилэтилкетоне, чем диэпоксид, и обычно требуется большее количество 11,12-эпоксида, необходимое для получения кристаллов формы H. В случае, если примесь включает 11,12-эпоксид, массовое соотношение диэпоксида и исходного материала эплеренона низкой чистоты обычно составляет по меньшей мере приблизительно 1:5, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 3:25 и еще более предпочтительно приблизительно от 3:25 до 1:5. В случае, если для получения кристаллов формы H используются примеси и диэпоксида и 11,12-эпоксида, массовое соотношение каждой примеси и исходного материала эплеренона

может быть ниже соответствующего соотношения при использовании для получения кристаллов формы H только одной примеси.

Смесь формы H и формы L обычно получают, когда сольват, включающий выбранную примесь, десольватируется. Масса фракции формы H в продукте, который получают первоначальной десольватацией сольвата, обычно составляет менее приблизительно 50%. Дальнейшая обработка данного продукта кристаллизацией или варкой, как обсуждается ниже, обычно будет увеличивать массу фракции формы L в продукте.

Затравливание

Кристаллы формы H также могут быть получены затравливанием системы растворителя кристаллами чистой фазы формы H (или промотором роста формы H и/или ингибитором роста формы L, как обсуждалось выше) перед кристаллизацией эплеренона. Исходный материал эплеренона может представлять как эплеренон низкой чистоты, так и эплеренон высокой чистоты. Когда полученный сольват, полученный из одного из исходных материалов, десольватируют, масса фракции формы H в продукте обычно составляет по меньшей мере приблизительно 70% и может составлять около 100%.

Массовое соотношение затравочных кристаллов формы H, добавляемых к системе растворителя, и исходного материала эплеренона, добавляемого в систему растворителя, обычно составляет по меньшей мере приблизительно 0,75:100, предпочтительно приблизительно от 0,75:100 до 1:20 и более предпочтительно приблизительно от 1:100 до 1:50. Затравочные кристаллы формы H могут быть получены любым из способов, обсуждаемых в настоящей заявке, для получения кристаллов формы H, особенно для получения кристаллов формы H варкой, как обсуждается ниже.

Затравочные кристаллы формы H можно добавлять единовременно, за несколько раз или практически непрерывно в течение периода времени. Добавление затравочных кристаллов формы H, однако, обычно завершают до того, как эплеренон начинает кристаллизоваться из раствора, т.е. затравливание завершают до достижения температуры помутнения (нижней границы метастабильной зоны). Затравливание обычно осуществляют, когда температура раствора находится в пределах приблизительно от 0,5°C выше температуры помутнения до 10°C выше температуры помутнения, предпочтительно в пределах приблизительно от 2°C до 3°C выше температуры помутнения. Если температура свыше температуры помутнения, при которой добавляются затравочные кристаллы, повышается, количество затравки, необходимое для кристаллизации кристаллов формы H, обычно увеличивается.

Затравливание предпочтительно наблюдается не только свыше температуры помутнения, но и в пределах метастабильной зоны. Как температура помутнения, так и метастабильная зона, зависят от растворимости и концентрации эплеренона в растворителе или смеси растворителей. При 12-кратном по объему разбавлении метилэтилкетона, например, верхняя граница метастабильной зоны обычно находится в пределах приблизительно от 70 до 73°C, а нижняя граница метастабильной зоны (т.е. температура помутнения) находится в пределах приблизительно от 57 до 63°C. Для концентрации 8 объемов метилэтилкетона, метастабильная зона является даже более узкой, поскольку раствор перенасыщен. При такой концентрации температура помутнения раствора наблюдается в пределах приблизительно от 75 до 76°C. Поскольку температура кипения метилэтилкетона составляет приблизительно 80°C при нормальных условиях, затравливание для данного раствора обычно наблюдается в пределах приблизительно от 76,5°C до температуры кипения.

Показательный неограничивающий пример затравливания формой H представлен ниже в примере 11.

Кристаллизованный продукт эплеренона, полученный с использованием промотора роста формы H или ингибитора роста формы L, и/или с использованием затравливания формой H, включает по меньшей мере 2% формы H, предпочтительно по меньшей мере 5% формы H, более предпочтительно по меньшей мере 7% формы H и еще более предпочтительно по меньшей мере около 10% формы H. Оставшийся кристаллизованный продукт эплеренона представляет форму L.

Форма H, полученная размалыванием эплеренона

В качестве еще одной альтернативы было установлено, что небольшое количество формы H можно получить подходящим размалыванием эплеренона. Концентрации формы H в размолотом эплереноне достигали приблизительно 3%.

4. Получение формы L из сольвата, полученного из эплеренона низкой чистоты.

Как обсуждалось выше, кристаллизация эплеренона низкой чистоты для образования сольвата с последующей десольватацией сольвата обычно дает продукт, включающий и форму H, и форму L. Продукт, имеющий большее содержание формы L, можно получить из эплеренона низкой чистоты практически так же, как описано выше для получения формы H, затравливанием системы растворителя кристаллами чистой фазы формы L или использованием промотора роста формы L и/или ингибитора роста формы H. Схема затравливания и массовые соотношения количества затравочных кристаллов формы L, добавляемых в систему растворителя, и количества исходного материала эплеренона, добавляемого в систему растворителя, обычно те же, что и соотношения, обсуждавшиеся выше

для получения формы H эплеренона затравливанием кристаллами чистой фазы формы H.

Кристаллизованный продукт эплеренона, полученный данным способом, обычно включает по меньшей мере 10% формы L, предпочтительно по меньшей мере 50% формы L, более предпочтительно по меньшей мере 75% формы L, более предпочтительно по меньшей мере 90% формы L, еще более предпочтительно по меньшей мере около 95% формы L и еще более предпочтительно практически чистую фазу формы L.

Схемы затравливания, описанные в данном разделе и в предыдущем разделе, относящемся к получению формы H эплеренона, также могут позволить улучшить контроль за размером частиц кристаллизованного эплеренона.

5. Кристаллизация формы L непосредственно из раствора.

Форма L эплеренона также может быть получена прямой кристаллизацией эплеренона из подходящего растворителя или смеси растворителей без образования промежуточного сольвата и сопутствующей потребности в десольватации. Обычно (i) растворитель имеет размер молекул, который несовместим с имеющимся пространством каналов в кристаллической решетке сольвата, (ii) эплеренон и любые примеси являются растворимыми в растворителе при повышенных температурах и (iii) при охлаждении происходит кристаллизация несольватированной формы L эплеренона. Растворимость эплеренона в растворителе или смеси растворителей обычно составляет приблизительно от 5 до 200 мг/мл при комнатной температуре. Растворитель или смесь растворителей предпочтительно включает один или более растворителей, выбранных из группы, состоящей из метанола, этилацетата, изопропилацетата, ацетонитрила, нитробензола, воды и этилбензола.

Для кристаллизации формы L эплеренона непосредственно из раствора количество исходного материала эплеренона растворяют в объеме растворителя и охлаждают до образования кристаллов. Температуру растворителя, при которой эплеренон добавляют к растворителю, обычно следует выбирать на основе кривой растворимости растворителя или смеси растворителей. Для большинства растворителей, описанных в настоящей заявке, например, данная температура растворителя обычно составляет по меньшей мере около 25°C, при приблизительно от 30°C до температуры кипения растворителя и более предпочтительно приблизительно от 25°C ниже температуры кипения растворителя до температуры кипения растворителя.

Альтернативно, горячий растворитель можно добавлять к эплеренону, и смесь можно охлаждать до образования кристаллов. Температуру растворителя в то время, когда его добавляют к эплеренону, обычно будут выбирать на основе кривой растворимости растворителя или смеси растворителей. Для большинства растворителей, описанных в настоящем описании, например, температура растворителя обычно составляет по меньшей мере около 25°C, предпочтительно приблизительно от 50°C до температуры кипения растворителя и более предпочтительно приблизительно от 15°C ниже температуры кипения растворителя до температуры кипения растворителя.

Количество исходного материала эплеренона, смешиваемого с данным объемом растворителя, по всей вероятности, будет зависеть от кривой растворимости растворителя или смеси растворителей. Обычно количество эплеренона, добавляемого к растворителю, не будет полностью растворяться в данном объеме растворителя при комнатной температуре. Для большинства растворителей, описанных в настоящей заявке, например, количество исходного материала эплеренона, смешиваемого с данным объемом растворителя, обычно превышает приблизительно в 1,5-4,0 раза, предпочтительно приблизительно в 2,0-3,5 раза и более предпочтительно приблизительно в 2,5 раза, количество эплеренона, которое растворяется в указанном объеме растворителя при комнатной температуре.

Чтобы гарантировать получение продукта, содержащего практически чистую фазу формы L, исходным материалом эплеренона обычно является эплеренон высокой чистоты. Исходный материал эплеренона предпочтительно является по меньшей мере на 65% чистым, более предпочтительно по меньшей мере на 90% чистым, еще более предпочтительно по меньшей мере на 98% чистым и еще более предпочтительно по меньшей мере на 99% чистым.

После полного растворения исходного материала эплеренона в растворителе раствор обычно медленно охлаждают для кристаллизации сольватированной кристаллической формы эплеренона. Для большинства растворителей, описанных в настоящей заявке, например, раствор охлаждают со скоростью менее приблизительно 1,0°C в мин, предпочтительно со скоростью около 0,2°C в мин или медленнее и более предпочтительно со скоростью приблизительно от 5°C в мин до 0,1°C в мин.

Конечная температура, при которой собирают кристаллы формы L, будет зависеть от кривой растворимости растворителя или смеси растворителей. Для большинства растворителей, описанных в настоящей заявке, например, конечная температура обычно составляет менее приблизительно 25°C, предпочтительно менее приблизительно 5°C и более предпочтительно менее приблизительно -5°C.

Альтернативно можно использовать другие способы получения кристаллов формы L. Примеры таких способов включают, без ограничения, (i) растворение исходного материала эплеренона в одном растворителе и добавление сорастворителя для облегчения кристаллизации

формы L эплеренона, (ii) паровой диффузионный рост формы L эплеренона, (iii) выделение формы L эплеренона выпариванием, таким как ротационное выпаривание и (iv) конверсию взвеси.

Кристаллы сольватированной кристаллической формы, полученные, как описано выше, можно отделять от растворителя любым подходящим обычным способом, таким как фильтрование или центрифугирование.

Помимо этого, форму L эплеренона можно также получать варкой (как описано ниже) взвеси эплеренона высокой чистоты в метилэтилкетоне и фильтрованием эплеренона при температуре кипения взвеси.

6. Получение формы H непосредственно из раствора.

Было высказано предположение о том, что если кристаллизацию осуществляют при температуре выше температуры энантиотропного перехода (T_t) для формы H и формы L, особенно если присутствуют промоторы роста формы H или ингибиторы роста формы L, или растворитель затравлен кристаллами чистой фазы формы H, форма H должна кристаллизоваться непосредственно из раствора, поскольку форма H является более стабильной при таких более высоких температурах. Используемая система растворителя предпочтительно включает растворитель с высокой температурой кипения, такой как нитробензол. Подходящие промоторы роста формы H должны включать, без ограничения, диэпоксид и 11,12-олефин.

7. Варка эплеренона с растворителем.

Сольватированные кристаллические формы, форма H и форма L эплеренона также могут быть получены варкой исходного материала эплеренона в подходящем растворителе или смеси растворителей. В процессе варки взвесь эплеренона нагревают до температуры кипения растворителя или смеси растворителей. Например, количество исходного материала эплеренона объединяют с объемом растворителя или смеси растворителей, нагретых до кипения с обратным холодильником, и дистиллят удаляют, в то время как добавляют дополнительное количество растворителя одновременно с удалением дистиллята. Альтернативно дистиллят можно конденсировать и отправлять на повторный цикл без дополнительного добавления растворителя во время процесса варки. Обычно после удаления оригинального объема растворителя или его конденсации и прохождения повторного цикла взвесь охлаждают, и образуются сольватированные кристаллы. Сольватированные кристаллы можно отделить от растворителя любыми подходящими известными способами, такими как фильтрование или центрифугирование. Десольватация сольвата, как было описано ранее, дает форму H или форму L эплеренона, в зависимости от наличия или отсутствия выбранных примесей в сольватированных кристаллах.

Подходящий растворитель или смесь растворителей обычно включает один или более растворителей, описанных в настоящей заявке выше. Растворитель можно выбрать, например, из группы, состоящей из метилэтилкетона и этанола.

Количества исходного материала эплеренона, добавляемого к растворителю, который используется в процессе варки, обычно достаточно для поддержания взвеси (т.е., эплеренон в растворителе или смеси растворителей не растворен полностью) при температуре кипения растворителя или смеси растворителей. Показательные величины включают, без ограничения, около одного грамма эплеренона на четыре мл метилэтилкетона или около одного грамма эплеренона на восемь мл этанола.

Раствор обычно медленно охлаждают после завершения оборота растворителя для кристаллизации сольватированной кристаллической формы эплеренона. Для изученных растворителей, например, раствор охлаждают со скоростью менее приблизительно 20°C в мин, предпочтительно, со скоростью около 10°C в минуту или медленнее, более предпочтительно, со скоростью около 5°C в мин или медленнее, и, еще более предпочтительно, со скоростью около 1°C в мин или медленнее.

Конечная температура, при которой собирают сольватированную кристаллическую форму, будет зависеть от кривой растворимости растворителя или смеси растворителей. Для большинства растворителей, описанных в настоящей заявке, например, конечная температура обычно составляет менее приблизительно 25°C, предпочтительно менее приблизительно 5°C и более предпочтительно менее приблизительно -5°C.

Если желательно получение продукта, включающего преимущественно или исключительно форму L, обычно подвергают варке исходный материал эплеренона высокой чистоты. Исходный материал эплеренона высокой чистоты предпочтительно является по меньшей мере на 98% чистым, более предпочтительно по меньшей мере на 99% чистым и еще более предпочтительно по меньшей мере на 99,5% чистым. Выварenный продукт эплеренона, полученный данным способом, обычно включает по меньшей мере 10% формы L, предпочтительно по меньшей мере 50% формы L, более предпочтительно по меньшей мере 75% формы L, более предпочтительно по меньшей мере 90% формы L, еще более предпочтительно по меньшей мере около 95% формы L и еще более предпочтительно практически чистую фазу формы L.

Если желательно получение продукта, включающего преимущественно или исключительно форму H, обычно подвергают варке ис-

ходный материал эплеренона низкой чистоты. Исходный материал эплеренона низкой чистоты предпочтительно содержит лишь столько промотора роста формы H и/или ингибитора роста формы L, сколько нужно для получения формы H. Предпочтительно, исходный материал эплеренона низкой чистоты является по меньшей мере на 65% чистым, более предпочтительно по меньшей мере на 75% чистым и еще более предпочтительно по меньшей мере на 80% чистым. Вываренный продукт эплеренона, полученный этим способом, обычно включает по меньшей мере 10% формы H, предпочтительно по меньшей мере 50% формы H, более предпочтительно по меньшей мере 75% формы H, более предпочтительно по меньшей мере 90% формы H, еще более предпочтительно по меньшей мере около 95% формы H и еще более предпочтительно практически чистую фазу формы H.

8. Получение аморфного эплеренона.

Аморфный эплеренон можно получить в малых количествах подходящим размельчением твердого эплеренона, таким как дробление, размалывание и/или микронизация. Чистую фазу аморфного эплеренона можно получить, например, лиофилизацией раствора эплеренона, особенно водного раствора эплеренона. Указанные процессы проиллюстрированы в примерах 17 и 18, ниже.

Рабочие примеры

Следующие примеры содержат подробные описания способов получения различных твердых форм эплеренона, описанных в настоящей заявке. Данные подробные описания входят в объем настоящего изобретения и служат для его иллюстрации. Данные подробные описания представлены только в иллюстративных целях и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения. Все части приводятся по массе, а температуры в градусах Цельсия, если не указано иное. Исходный материл эплеренона, используемый в каждом из следующих примеров, был получен в соответствии со схемой 1, представленной Ng et al., WO 98/25948.

Пример 5. Получение (a) сольвата метилэтилкетона из исходного материала эплеренона высокой чистоты и (b) формы L кристаллического эплеренона из полученного сольвата.

A. Получение сольвата метилэтилкетона.

Эплеренон высокой чистоты (437 мг; чистота более 99%, менее 0,2% диэпоксида и 11,12-эпоксида) растворяли в 10 мл метилэтилкетона нагреванием до кипения на нагревательной пластинке при магнитном перемешивании со скоростью 900 об./мин. Полученный раствор оставляли охлаждаться до комнатной температуры при непрерывном перемешивании магнитной мешалкой. После достижения комнатной температуры раствор помещали на баню с температурой 1°C при продолжающемся перемешивании в течение одного часа. Через час твердый сольват метилэтилкетона собирали вакуумной фильтрацией.

B. Получение формы L кристаллического эплеренона.

Твердый сольват метилэтилкетона, полученный на стадии A, выше сушили в печи при температуре 100°C в течение четырех часов при атмосферном давлении. Высушенное твердое вещество определяли как чистую форму L с помощью анализов DSC и ПР.

Пример 6. Получение дополнительных сольватов из исходного материала эплеренона высокой чистоты.

Дополнительные кристаллические формы получали заменой метилэтилкетона одним из следующих растворителей: н-пропанол, 2-пентанон, уксусная кислота, ацетон, бутилацетат, хлороформ, этанол, изобутанол, изобутилацетат, изопропанол, метилацетат, этилпропионат, н-бутанол, н-октанол, пропилацетат, пропиленгликоль, трет-бутанол, тетрагидрофуран и толуол, и выполнением кристаллизации, практически так, как описано выше на стадии A примера 5. Форма L эплеренона образовывалась из каждого из сольватов практически так, как описано выше на стадии B примера 5.

Пример 7. Получение солъвата метилэтилкетона паровым диффузионным ростом.

Эплеренон (400 мг; чистота более 99,9%) растворяли в 20 мл метилэтилкетона нагреванием на нагревательной пластинке, с получением маточного раствора. 8 мл маточного раствора переносили в первый 20 мл сцинтилляционный флакон и разбавляли до 10 мл метилэтилкетоном (80%). 10 мл маточного раствора переносили во второй 20 мл сцинтилляционный флакон и разбавляли до 10 мл метилэтилкетоном (40%). Оставшиеся 2 мл маточного раствора разбавляли до 10 мл метилэтилкетоном (20%). Четыре флакона, содержавшие разбавленные растворы, переносили в эксикатор, содержавший небольшое количество гексана в качестве антирастворителя. Эксикатор герметично закрывали и позволяли парам гексана диффундировать в растворы метилэтилкетона. Кристаллы сольвата метилэтилкетона вырастали в образце 80% разбавления на следующий день.

Пример 8. Получение сольвата метилэтилкетона ротационным выпариванием.

Приблизительно 400 мг эплеренона (чистота более 99,9%) отвешивали в 250 мл круглодонную колбу. В колбу добавляли растворитель (150 мл) и, если необходимо, слегка нагревали до растворения твердого вещества. Полученный прозрачный раствор помещали в роторный испаритель Buchi с температурой бани около 85°C и растворитель удаляли под вакуумом. Удаление растворителя прекращали, когда в круглодонной колбе оставалось приблизительно 10 мл растворителя. Полученные твердые вещества анализировали подходящим способом (ПР,

DSC, TGA, микроскопией и т.п.) для определения формы.

Пример 9. Конверсия взвеси.

Приблизительно 150 мг формы L эплеренона и 150 мг формы H эплеренона добавляли к 5 мл этилацетата. Полученную взвесь оставляли перемешиваться со скоростью 300 об./мин (магнитная мешалка) в течение ночи. На следующий день образец твердого вещества собирали фильтрованием. Анализ образца с помощью ПР показал, что образец полностью состоял из формы L эплеренона.

Пример 10. Получение (a) сольвата из исходного материала эплеренона низкой чистоты и (b) формы H кристаллического эплеренона из полученного сольвата.

Образцы, содержавшие различные количества примеси 7-метил водород 4α,5α:9α,11α-диэпокси-17-гидрокси-3-оксо-17α-прегнан-7α,21-дикарбоксилат, γ-лактон ("диэпоксид") или примеси 7-метил водород 11α, 12α-эпокси-17-гидрокси-3-оксо-17α-прегн-4-ен-7α,21-дикарбоксилат, γ-лактон ("11,12-эпоксид"), получали добавлением желаемого количества примеси в 10 мл сцинтилляционный флакон вместе с количеством эплеренона, достаточным для получения общей массы образца 100 мг. Процент массы диэпоксида или 11,12-эпоксида в каждом образце представлен в табл. 6A и 6B, соответственно. Микрочастицы для магнитного перемешивания добавляли в каждый сцинтилляционный флакон вместе с 1 мл метилэтилкетона. Флаконы плотно закрывали и твердое вещество растворяли нагреванием до кипения с обратным холодильником на нагревательной пластинке при магнитном перемешивании. После растворения твердых веществ растворы оставляли охлаждаться до комнатной температуры на нагревательной пластинке. Магнитное перемешивание продолжали во время периода охлаждения. По достижении растворами комнатной температуры твердые вещества собирали вакуумной фильтрацией и немедленно анализировали с помощью порошковой рентгенографии (ПР). Твердые вещества затем помещали в печь при 100°C и сушили в течение одного часа при атмосферном давлении. Высушенные твердые вещества анализировали с помощью ПР на содержание формы H путем мониторинга площади пика дифракции формы H приблизительно на 12,1 градуса два тета. Все образцы ПР записывали с помощью многоцелевого дифрактометра Inel.

Таблица 6A

Процент массы диэпоксида	Масса эплеренона (мг)	Масса диэпоксида (мг)
0%	100,44	--
1%	99,08	1,24
2%	98,09	2,24
3%	97,08	3,04
5%	95,09	5,04

Таблица 6B

Процент массы 11,12-эпоксида	Масса эплеренона (мг)	Масса 11,12-эпоксида (мг)
0%	101,38	0
1%	99,23	1,10
5%	94,97	5,36
10%	90,13	10,86

A. Результаты по диэпоксиду.

Фиг. 10 показывает порошковые рентгенограммы влажного отжатого осадка на фильтре (сольвата метилэтилкетона), полученного кристаллизациями из метилэтилкетона с присадкой диэпоксида (a) 0%, (b) 1%, (c) 3% и (d) 5%. Интенсивность пиков стандартизована для простоты сравнения. В рентгенограммах не было пиков, характерных для формы H или диэпоксида. Образцы были характерны для метилэтилкетонового сольвата эплеренона.

Фиг. 11 показывает порошковые рентгенограммы высушенных твердых веществ, полученных кристаллизациями из метилэтилкетона с присадкой диэпоксида (a) 0%, (b) 1%, (c) 3% и (d) 5%. Интенсивность пиков стандартизована для простоты сравнения. Форма H не была выявлена в сухих образцах, соответствующих кристаллизациям из метилэтилкетона с присадкой 0 и 1%. Форма H была выявлена в сухих образцах, соответствующих кристаллизациям из метилэтилкетона с присадкой 3 и 5%. Площадь пика дифракции формы H приблизительно на 12,1 градуса два тета и установленное содержание формы H для каждого образца приведены в таблице 6C, ниже.

Таблица 6C

Мас.% диэпоксида в исходной смеси эплеренона	Мас.% диэпоксида в полученных кристаллах (ВЭЖХ)	Площадь пика формы H 12° два тета	Установленный мас.% формы H
0%	---	Не выявлено	Не выявлено
1%	0,29%	Не выявлено	Не выявлено
3%	0,58%	1168	10%
5%	1,05%	4175	30%

Результаты, представленные в табл. 6C, подтверждают, что присутствие диэпоксида влияет на образование формы H во время десольватации. Эти результаты показывают, что диэпоксид является эффективным в индуцировании образования формы H эплеренона, когда он включается и/или адсорбируется в кристаллы сольвата метилэтилкетона.

Эксперимент с присадкой 3% диэпоксида повторяли для анализа влияния способа получения на количество формы H, образующейся во время десольватации. В этом эксперименте сольват метилэтилкетона, полученный в результате кристаллизации с присадкой, разделяли на две части. Первую часть оставляли без воздействия, в то время как вторую часть слегка измельчали в ступе и толкли пестиком, чтобы индуцировать высокую степень разрушения кристаллов. Обе части сушили при 100°C в течение

одного часа при атмосферном давлении. Высушенные твердые вещества анализировали с помощью ПР. Образцы ПР представлены на фиг. 12 для высушенных твердых веществ, полученных кристаллизацией из метилэтилкетона с 3% присадкой диэпоксида, (a) без размалывания сольвата перед сушкой и (b) с размалыванием сольвата перед сушкой. Порошковые рентгенограммы показывают большее количество формы H в размолотом образце по сравнению с неразмолотым образцом. Такие результаты предполагают, что условия, при которых выделяется и обрабатывается сольват метилэтилкетона, могут влиять на кристаллическую форму, которая получается в результате десольватации.

B. Результаты по 11,12-эпоксиду.

Фиг. 13 показывает порошковые рентгенограммы отжатого осадка на фильтре (сольвата метилэтилкетона), полученного кристаллизациями из метилэтилкетона с присадкой 11,12-эпоксида (a) 0%, (b) 1%, (c) 5% и (d) 10%. Интенсивность пиков стандартизована для простоты сравнения. В образцах дифракции не было пиков, характерных для формы H или 11,12-эпоксида. Образцы были характерны для метилэтилкетонового сольвата эплеренона.

Фиг. 14 показывает порошковые рентгенограммы высушенных твердых веществ, полученных кристаллизациями из метилэтилкетона с присадкой 11,12-эпоксида (a) 0%, (b) 1%, (c) 5% и (d) 10%. Интенсивность пиков стандартизована для простоты сравнения. Форма H не была выявлена в сухих образцах, соответствующих кристаллизациям из метилэтилкетона с присадкой 0, 1% и 5%. Форма H была выявлена в сухих образцах, соответствующих кристаллизации из метилэтилкетона с присадкой 10%. Площадь пика дифракции формы H на 12,1 градуса два тета и установленное содержание формы H для каждого образца приведены в табл. 6D, ниже.

Таблица 6D

Мас.% 11,12-эпоксида в исходной смеси эплеренона	Мас.% 11,12-эпоксида в полученных кристаллах (ВЭЖХ)	Площадь пика формы H 12° два тета	Установленный мас.% формы H
0%	Данных нет	Не выявлено	Не выявлено
1%	Данных нет	Не выявлено	Не выявлено
5%	Данных нет	Не выявлено	Не выявлено
10%	Данных нет	1541	10-15%

Результаты, представленные в табл. 6D, подтверждают, что присутствие 11,12-эпоксида влияет на образование формы H во время десольватации. Процентная доля примеси при кристаллизации из метилэтилкетона, которая требуется для индуцирования образования формы H эплеренона, как представляется, больше для 11,12-эпоксида, чем для диэпоксида.

Пример 11. Влияние кристаллизации и сушки на конечную кристаллическую форму.

Были проведены следующие четыре эксперимента, анализирующие влияние кристаллизации и сушки на конечную кристаллическую форму: (i) кристаллизация эплеренона из метилэтилкетона (статистический план эксперимента 2^3 + 3), (ii) кристаллизация остатка маточного раствора низкого качества, (iii) кристаллизация эплеренона высокой чистоты с затравливанием формой H и (iv) кристаллизация эплеренона низкой чистоты с затравливанием формой L. Переменные параметры в плане эксперимента включали скорость охлаждения, уровень чистоты исходного материала и конечную температуру кристаллизации. Для целей данного примера эплеренон высокой чистоты был определен как сверхчистый измельченный эплеренон (анализ ВЭЖХ показал, что этот материал был на 100,8% чистым), а эплеренон низкой чистоты был определен как эплеренон с чистотой 89%. Для получения эплеренона низкой чистоты десорбированные маточные растворы из процесса получения эплеренона анализировали и смешивали с получением материала, который содержал 61,1% эплеренона, 12,8% диэпоксида и 7,6% 11,12-эпоксида. Данный материал затем смешивали с достаточным количеством эплеренона высокой чистоты с получением 89% эплеренона.

A. Кристаллизация из метилэтилкетона.

В эксперименте по кристаллизации из метилэтилкетона все этапы выполняли с использованием 60 г эплеренона высокой чистоты. Высокая конечная температура была определена как 45°C, а нижняя конечная температура была определена как 5°C. Высокая скорость охлаждения была определена как 3°C в мин, а низкая скорость охлаждения была определена как 0,1°C в мин. Центральные параметры составляли: охлаждение 1,5°C, эплеренон с чистотой 94,5% и конечная температура 25°C. После фонового считывания FTIR 250 мл метилэтилкетона помещали в реактор 1L Mettler RC-1, MP10 и перемешивали при 100 об./мин. После нескольких сканирований в реактор помещали эплеренон, а затем еще 470 мл метилэтилкетона. Перемешивание усиливали до 500 об./мин для суспендирования твердых веществ и температуру загрузки повышали до 80°C. Температуру загрузки поддерживали на уровне 80°C, чтобы гарантировать растворение эплеренона. Обычно в полученном прозрачном растворе были видны черные или белые частицы. Температуру загрузки затем постепенно понижали с желательной скоростью до желательной конечной температуры, которую затем поддерживали в течение одного часа перед помещением в переносную колбу и фильтрованием. Реактор, переносную колбу и отжатый осадок на фильтре затем промывали 120 мл метилэтилкетона. После прохождения отжатого осадка промывание прекращали. Около 10 г каждого влажного осадка на фильтре сушили в вакуумной печи при номинальных условиях 75°C со слабой продувкой азотом. Для "высоких, высоких, высоких" и "низких, низких,

низких" экспериментов, описанных ниже, сушку в псевдоожиженном слое осуществляли при "высоких" и "низких" условиях. Сушку в псевдоожиженном слое при высоких условиях определяли как 100°C и режимом продувки "4", в то время как сушку в псевдоожиженном слое при низких условиях определяли как 40°C и режимом продувки "1".

B. Кристаллизация остатка маточного раствора низкого качества.

В эксперименте по кристаллизации остатка маточного раствора низкого качества 60 г материала с чистотой 61,1% и 720 мл метилэтилкетона помещали непосредственно в реактор 1L Mettler RC-1, MP10. Материал с чистотой 61,1% не смешивали с эплереноном высокой чистоты перед загрузкой в реактор. Полученную смесь нагревали до 80°C; при указанной температуре получали непрозрачную взвесь. Кристаллизация продолжалась, и смесь фильтровали при 45°C в условиях быстрого охлаждения.

C. Затравливание формой H.

В эксперименте по затравливанию формой H 60 г чистого (100,8%) эплеренона и 720 мл метилэтилкетона помещали в реактор 1L Mettler RC-1, MP10. Смесь нагревали до 80°C, а затем охлаждали до 25°C со скоростью 1,5°C в мин. После охлаждения раствора до 62°C производили затравливание 3 г кристаллов чистой фазы формы H для запуска кристаллизации. Затравочные кристаллы формы H получали с помощью процесса варки, описанного в примере 13, ниже.

D. Затравливание формой L.

В эксперименте по затравливанию формой L 66,6 г эплеренона с чистотой 89,3% (полученного смешиванием 48,3 г 100% эплеренона с 18,3 г 61,1% эплеренона) и 720 мл метилэтилкетона помещали в реактор 1L Mettler RC-1, MP10. Смесь нагревали до 80°C, а затем охлаждали до 25°C со скоростью 1,5°C в мин. После охлаждения раствора до 63°C производили затравливание 3 г кристаллов чистой фазы формы L для запуска кристаллизации. Затравочные кристаллы формы L получали с помощью процесса кристаллизации и десольватации, описанного в примере 5 выше.

Результаты данных экспериментов представлены в таблице 7A. В эксперименте кристаллизации n+1 форму H выявили только в эксперименте с использованием эплеренона низкой чистоты, когда продукт содержал диэпоксид. Повышенные уровни диэпоксида в конечном продукте также наблюдались при более высоких скоростях охлаждения.

В эксперименте по кристаллизации остатка маточного раствора низкого качества получали материал низкого качества, который оказался смесью диэпоксида и формы H, по результатам порошковой рентгенографии.

В эксперименте по затравливанию формой H (когда эплеренон высокой чистоты затравливали формой H) получали продукт, который представлял собой 77% форму H по результатам порошковой рентгенографии, но полностью форму H по результатам анализа DSC. Модель порошковой рентгенографии, однако, не испытывали на линейность при содержании формы H ниже приблизительно 15%. Данный эксперимент был единственным из четырех экспериментов указанного примера, в котором форму H получали в отсутствии диэпоксида.

В эксперименте по затравливанию формой L (когда эплеренон низкой чистоты затравливали формой L) получали продукт, который целиком представлял собой форму L.

Данные, полученные для сушки эплеренона в псевдоожиженном слое при высоких условиях, как оказалось, соответствовали данным, полученным для сушки в вакуумной печи. Сушка в псевдоожиженном слое при низких условиях дала результаты, которые отличались от результатов, полученных при сушке в вакуумной печи.

Таблица 7A

Скорость охлаждения[1]	Конечная температура охлаждения[2]	Уровень примесей[3]	Т-ра образования центров кристаллизации (°C)	Мас.% 11,12-эпоксида[4]	Мас.% диэпоксида[4]	Анализ десольватированного кристалла	% Выхода	Мас.% формы H (ПР)
+	+	-	57,0	Не опред.	Не опред.	100,3	66,1	Не опред.
+	-	-	54,9	Не опред.	Не опред.	100,3	98,1	Не опред.
-	+	-	60,9	Не опред.	Не опред.	100,3	-	Не опред.
-	-	-	63,4	Не опред.	Не опред.	100,5	79,3	Не опред.
+	+	++	Данных нет	4,8	36,6	43,3	27	100[5]
+	+	+	52,2	0,49	0,88	98,3	62	29
+	-	+	53,3	0,56	1,0	98,1	87	9
0	0	0	59,0	0,18	0,36	99,4	75	5
-	+	+	63,3	0,20	0,44	99,4	36	31
-	-	+	61,4	0,18	0,40	99,5	87	Не опред.
0	0	0	60,6	0,18	0,36	99,5	79,2	Не опред.
0	0	0	55,9	0,38	0,80	98,6	80,5	<3%
0	0	100,8% эплеренон, затравленный формой H		0,03	Не опред.	100,4	82,2	77/100[6]
0	0	89,3% эплеренон, затравленный формой L		0,33	0,50	97,5	80,2	Не опред.

[1] Скорость охлаждения: (+) = 3°C/мин; (0) = 1,5°C/мин и (-) = 0,1°C/мин.

[2] Конечная температура охлаждения: (+) = 45°C; (0) = 25°C и (-) = 5°C.
[3] Уровень примесей: (+) = исходный материал эплеренона с чистотой 89,3%; (++) = исходный материал эплеренона с чистотой 61,1%; (0) = исходный материал эплеренона с чистотой 100,8%; и (-) = исходный материал эплеренона с чистотой 94,5%.
[4] Процент массы после сушки сольвата в вакуумной печи при 75°C.
[5] Как представляется, смесь формы H и диэпоксида по результатам анализа ПР.
[6] Как представляется, 77% форма H по результатам анализа ПР и 100% форма H по результатам анализа DSC.

A. Чистота материала.

Кубическая диаграмма чистоты продукта, чистоты исходного материала, скорости охлаждения и конечной температуры, на основе данных, представленных в табл. 7A, показана на фиг. 15. Кубическая диаграмма предполагает, что использование материала более высокой чистоты в начале кристаллизации будет давать продукт более высокой чистоты. Конечная температура кристаллизации, как представляется, не оказывает сильного влияния на чистоту продукта. Скорость охлаждения, однако, как представляется, оказывает влияние в виде получения слегка менее чистого продукта при более высокой скорости охлаждения. Фактически уровень диэпоксида обычно был выше при более высоких скоростях охлаждения.

Фиг. 16 показывает полунормальную диаграмму, полученную с использованием результатов кубической диаграммы, для определения переменных, если они существуют, оказывающих статистически значимое влияние на чистоту продукта. Чистота исходного материала имела более сильное статистически значимое влияние на чистоту продукта, хотя скорость охлаждения и взаимодействие между скоростью охлаждения и чистотой исходного материала также наблюдались как статистически значимые эффекты.

Фиг. 17 представляет график взаимодействия, основанный на данных результатах и показывающий взаимодействие между чистотой исходного материала и скоростью охлаждения и чистотой продукта. При использовании эплеренона высокой чистоты (исходный материал эплеренона с чистотой 100,8%) скорость охлаждения, как представляется, не оказывает или оказывает незначительное влияние на конечную чистоту. При использовании эплеренона низкой чистоты (исходный материал эплеренона с чистотой 89,3%), однако, чистота продукта понижается по мере возрастания скорости охлаждения. Такой результат наводит на мысль о том, что при кристаллизациях эплеренона, проводимых при более высоких скоростях охлаждения, кристаллизуется больше примесей.

B. Содержание формы H.

Кубическая диаграмма массовой фракции формы H, чистоты исходного материала, скорости охлаждения и конечной температуры, на основе данных, представленных в таблице 7A, показана на фиг. 18. Кубическая диаграмма предполагает, что использование эплеренона более высокой чистоты в начале кристаллизации будет давать меньшее количество формы H. Конечная температура кристаллизации, как представляется, также оказывает влияние на форму конечного продукта. Скорость охлаждения, как представляется, не оказывает сильного влияния на образование формы H, хотя некоторое количество формы H может образовываться в результате более быстрого охлаждения при низкой конечной температуре в присутствии примесей.

Фиг. 19 показывает полунормальную диаграмму, полученную с использованием результатов кубической диаграммы, для определения переменных, если они существуют, оказывающих статистически значимое влияние на количество формы H в конечном материале. Чистота исходного материала, конечная температура кристаллизации и взаимодействие между этими двумя переменными наблюдались как статистически значимые эффекты.

Фиг. 20 представляет график взаимодействия, основанный на данных результатах и показывающий взаимодействие между чистотой исходного материала и конечной температурой и конечным содержанием формы H. При использовании эплеренона высокой чистоты (исходный материал эплеренона с чистотой 100,8%) конечная температура, как представляется, оказывает незначительное влияние на содержание формы H. Ни в одном случае с использованием чистого эплеренона форма H не получалась. При использовании эплеренона низкой чистоты (исходный материал эплеренона с чистотой 89,3%), однако, форма H присутствовала в обоих случаях; при этом формы H было значительно больше при более высоких конечных температурах.

Табл. 7B представляет массовую фракцию формы H, определенную в материалах, высушенных с использованием сушки в псевдоожиженном слое (LAB-LINE/P.R.L. Hi-Speed Fluid Bed Dryer, Lab-Line Instruments, Inc.) или сушки в вакуумной печи (Baxter Scientific Products Vacuum Drying Oven, Model DP-32). Подобное содержание формы H наблюдалось в сравнимых материалах, высушенных с использованием сушки в псевдоожиженном слое при высоких условиях или сушки в вакуумной печи. Различие наблюдалось, однако, в сравнимых материалах, высушенных с использованием сушки в псевдоожиженном слое при низких условиях, по сравнению с сушкой в вакуумной печи.

Таблица 7В

Скорость охлаждения	Конечная температура	Уровень примесей	Тип сушки	Мас.% формы Н
Высокая	Высокая	Высокий	Вакуумная печь	29%
Высокая	Высокая	Высокий	Псевдоожиженный слой при высоких условиях	25%
Высокая	Высокая	Высокий	Псевдоожиженный слой при низких условиях	4,7%
Низкая	Низкая	Низкий	Вакуумная печь	Не определяли
Низкая	Низкая	Низкий	Псевдоожиженный слой при высоких условиях	Не определяли
Низкая	Низкая	Низкий	Псевдоожиженный слой при низких условиях	5,5%

Пример 12. Кристаллизация смеси формы Н и формы L из метилэтилкетона для получения сольвата и (b) десольватации сольвата для получения формы L.

Форму Н эплеренона (10 г) объединяли с 80 мл метилэтилкетона. Смесь нагревали до температуры кипения с обратным холодильником (79°С) и перемешивали при указанной температуре в течение приблизительно 30 мин. Полученную взвесь затем постепенно и с выдерживанием пауз охлаждали, поддерживая температуру взвеси 65, 50, 35 и 25°С в течение приблизительно 90 мин при каждой температуре. Взвесь фильтровали и промывали приблизительно 20 мл метилэтилкетона. Выделенное твердое вещество сначала сушили на фильтре, а затем в вакуумной печи при 40-50°С. Сушку завершали в вакуумной печи при 90-100°С. Десольватированное твердое вещество получали при регенерации 82%. Анализы ПР, MIR и DSC подтвердили, что твердое вещество имеет кристаллическую структуру формы L.

Пример 13. Варка исходного материала эплеренона низкой чистоты с растворителем для получения формы В.

А. Варка с этанолом в качестве растворителя.

Эплеренон низкой чистоты (24,6 г; 64 мас.% по анализу ВЭЖХ) объединяли со 126 мл этанола 3А. Взвесь нагревали до температуры кипения с обратным холодильником и дистиллят удаляли. Дополнительные 126 мл этанола 3А добавляли одновременно с удалением 126 мл растворителя дистилляцией при атмосферном давлении. После замены растворителя смесь охлаждали до 25°С и перемешивали в течение одного часа. Твердое вещество отфильтровывали и промывали этанолом 3А. Твердое вещество сушили на воздухе с получением этанолового сольвата. Сольват затем сушили в вакуумной печи при 90-100°С в течение 6 ч с получением 14,9 г формы Н эплеренона.

В. Затравка с метилэтилкетоном в качестве растворителя.

В альтернативном процессе варки 1 г эплеренона низкой чистоты (чистота около 65%) подвергали варке в 4 мл метилэтилкетона в течение двух часов. Через два часа смесь оставляли охлаждаться до комнатной температуры. После охлаждения твердое вещество собирали вакуумной фильтрацией и определяли как метилэтилкетоновый сольват по результатам анализа ПР. Твердое вещество сушили при 100°С в течение 60 мин. Высушенные твердые вещества определяли как чистую форму Н по результатам анализа ПР.

Пример 14. Варка исходного материала эплеренона высокой чистоты с растворителем для получения формы L.

А. Варка с этанолом в качестве растворителя.

Эплеренон высокой чистоты (1 г) подвергали варке с 8 мл этанола в течение приблизительно двух часов. Раствор затем оставляли охлаждаться до комнатной температуры и твердые вещества собирали вакуумной фильтрацией. Анализ твердых веществ с помощью ПР немедленно после фильтрования показал, что твердые вещества представляют собой сольват (преимущественно этаноловый сольват). Твердые вещества затем сушили при 100°С и атмосферном давлении в течение 30 мин. Высушенные твердые вещества анализировали с помощью ПР и определяли как преимущественно чистую форму L (форму Н не выявили).

В. Затравка с метилэтилкетоном в качестве растворителя.

Эплеренон высокой чистоты (1 г) подвергали варке в 4 мл метилэтилкетона в течение двух часов. Через два часа раствор оставляли охлаждаться до комнатной температуры, после чего твердые вещества собирали вакуумной фильтрацией. Твердое вещество немедленно анализировали с помощью ПР и определяли как сольват эплеренона (преимущественно, метилэтилкетоновый сольват). Сольват затем сушили при 100°С и атмосферном давлении в течение 60 мин. Высушенные твердые вещества анализировали с помощью ПР и определяли как преимущественно чистую форму L, без наличия пиков дифракции формы Н.

Пример 15. Кристаллизация формы L непосредственно из раствора.

Процедура А. Эплеренон (2,5 г) растворяли в этилацетате нагреванием до 75°С. После растворения эплеренона температуру раствора поддерживали на уровне 75°С в течение 30 мин, чтобы гарантировать полное растворение. Раствор затем охлаждали со скоростью 1°С в мин до 13°С. По достижении 13°С взвесь оставляли перемешиваться в течение двух часов при 750 об./мин с помощью подвесной мешалки. Кристаллы собирали вакуумной фильтрацией и сушили в вакуумной печи при 40°С в течение одного часа. Порошковая рентгенограмма и DSC термограмма твердого вещества были характер-

ны для формы L эплеренона. Термальный гравиметрический анализ (TGA) твердого вещества показал отсутствие потери массы твердым веществом вплоть до 200°C.

Процедура B. При альтернативной процедуре 2 г эплеренона растворяли в 350 мл смеси 15/85% ацетонитрил/вода нагреванием на нагревательной пластинке при перемешивании магнитной мешалкой. После растворения эплеренона раствор оставляли охлаждаться до комнатной температуры в течение ночи при перемешивании магнитной мешалкой. Полученное твердое вещество собирали вакуумной фильтрацией. Кристаллы были двоякопреломляющими и имели треугольный пластинчатый внешний вид. Твердое вещество имело ПР и DSC, характерные для формы L эплеренона. TGA показал отсутствие потери массы твердым веществом вплоть до 200°C.

Процедура C. При альтернативной процедуре 640 мг эплеренона помещали в 50 мл колбу с 20 мл этилбензола. Полученную смесь нагревали до 116°C и получали прозрачный раствор. Прозрачный раствор охлаждали до 25°C в течение 30 мин. Образование центров кристаллизации начиналось при 84°C в течение периода охлаждения. Полученные твердые вещества отфильтровывали из раствора и сушили на воздухе с получением 530 мг твердых веществ (регенерация 83%). Микроскопия на горячей стадии и ПР подтвердили, что твердые вещества представляют кристаллы формы L.

Процедура D. При альтернативной процедуре 1,55 мг эплеренона добавляли к 2,0 мл нитробензола и нагревали до 200°C. Полученную взвесь перемешивали в течение ночи при 200°C. Раствор оставляли охлаждаться до комнатной температуры (натуральная конвекция воздуха) в течение следующего дня и выделяли твердые вещества. Твердые вещества определяли как форму L эплеренона с помощью ПР и микроскопии в поляризованном свете.

Процедура E. При альтернативной процедуре 5,0 г эплеренона (чистота более 99%) добавляли к 82 г метанола (104 мл). При перемешивании (210 об./мин) раствор нагревали до 60°C и поддерживали при указанной температуре в течение 20 мин для гарантии полного растворения. Раствор затем охлаждали до -5°C со скоростью 0,16°C в минуту при перемешивании. Кристаллы собирали фильтрованием и сушили в вакуумной печи при 40°C в течение 20 ч. Высушенные твердые вещества определяли как чистую форму L эплеренона с помощью анализов DSC и ПР.

Процедура F. При альтернативной процедуре 6,0 г эплеренона (этаноловый сольват, содержащий 9% этанола и имеющий скорректированную чистоту 95,2%) добавляли к 82 г метанола (104 мл). При перемешивании (210 об./мин) раствор нагревали до 60°C и поддерживали при указанной температуре в течение 20 мин для гарантии полного растворения. Раствор затем охлаждали до 50°C со скоростью 0,14°C в минуту, а затем поддерживали при данной температуре в течение 2,5 ч. Раствор затем охлаждали до -5°C со скоростью 0,13°C в минуту при перемешивании. Кристаллы собирали фильтрованием и сушили в вакуумной печи при 40°C в течение 16 ч. Высушенные твердые вещества определяли как чистую форму L эплеренона с помощью анализов DSC и ПР.

Пример 16. Кристаллизация формы H непосредственно из раствора.

150,5 мг диэпоксида и 2,85 г эплеренона добавляли к 1,5 мл нитробензола. Смесь перемешивали магнитной мешалкой при 200°C в течение нескольких часов. Взвесь затем оставляли охлаждаться до комнатной температуры путем естественной конвекции воздуха. Образец сушили и анализировали с помощью микроскопии в поляризованном свете и ПР. ПР показала, что образец представляет смесь формы H и формы L. Кристаллы при микроскопии были просвечивающими, что указывало на отсутствие десольватации (и конверсии как в форму H, так и в форму L).

Пример 17. Получение аморфного эплеренона раздроблением.

Приблизительно половину стального контейнера Wig-L-Bug заполняли приблизительно 60 г эплеренона (чистота более 99,9%). Стальной шар и крышку помещали в контейнер с образцом и встряхивали в течение 30 с с помощью аппарата Wig-L-Bug. Эплеренон соскабливали с поверхности контейнера Wig-L-Bug и контейнер встряхивали в течение еще 30 с. Полученное твердое вещество анализировали с помощью ПР и DSC и определяли как смесь аморфного эплеренона и формы L кристаллического эплеренона.

Пример 18. Получение аморфного эплеренона лиофилизацией.

Приблизительно 100 мг необработанного эплеренона помещали в химический стакан, содержавший 400 мл воды. Раствор слегка нагревали в течение 5 мин, а затем обрабатывали ультразвуком и нагревали при перемешивании в течение еще пяти минут. Приблизительно 350 мл раствора эплеренона отфильтровывали в 1000 мл круглодонную колбу, содержавшую 50 мл ВЭЖХ воды. Раствор замораживали в бане, содержавшей сухой лед и ацетон, в течение периода времени от 1 до 2 мин. Колбу закрепляли в установке для сублимационной сушки Labconco Freezone 4.5 и сушили в течение ночи. Твердые вещества из колбы переносили в маленькую бутылку коричневого стекла. Малую аликвоту микроскопировали в поляризованном свете с использованием объектива с переменным фокусным расстоянием 10X, 1,25X в масле cargille и обнаружили, что она состоит по меньшей мере на 95% из аморфного эплеренона. Фиг. 21 и 22 показывают порошковую рентгено-

грамму и DSC термограмму, полученные для аморфного эплеренона. Пик, наблюдающийся на 39° два тета, на фиг. 21 относится к алюминиевому контейнеру для образцов.

Пример 19. Полиморфная композиция эплеренона.

Были приготовлены таблетки, содержавшие 25, 50, 100 и 200 мг дозы формы L эплеренона, которые имели следующий состав:

Ингредиент	% от массы таблетки
Форма L эплеренона	29,41
Форма H эплеренона	Не выявлено
Моногидрат лактозы (№ 310, NF)	42,00
Микрокристаллическая целлюлоза (NF, Avicel PH101)	18,09
Кроскармеллоза-натрий (NF, Ac-Di-Sol)	5,00
Гидроксипропилметилцеллюлоза (№2910, USP, Pharmacoat 603)	3,00
Лаурилсульфат натрия (NF)	1,00
Тальк (USP)	1,00
Стеарат магния (NF)	0,5
Всего	100,00

Пример 20. Полиморфная композиция эплеренона.

Были приготовлены капсулы (твердая желатиновая капсула, № 0), содержавшие 100 мг дозу эплеренона, которые имели следующий состав:

Ингредиент	Количество (мг)
Форма L эплеренона	90,0
Форма H эплеренона	10,0
Лактоза, водная, NF	231,4
Микрокристаллическая целлюлоза, NF	45,4
Тальк, USP	10,0
Кроскармеллоза-натрий, NF	8,0
Лаурилсульфат натрия, NF	2,0
Коллоидный диоксид кремния, NF	2,0
Стеарат магния, NF	1,2
Общая масса содержимого капсул	400,0

Пример 21. Полиморфная композиция эплеренона.

Были приготовлены капсулы (твердая желатиновая капсула, размер № 0), содержавшие 200 мг дозу эплеренона, которые имели следующий состав:

Ингредиент	Количество (мг)
Форма L эплеренона	190,0
Форма H эплеренона	10,0
Лактоза, водная, NF	147,8
Микрокристаллическая целлюлоза, NF	29,0
Тальк, USP	10,0
Кроскармеллоза-натрий, NF	8,0
Лаурилсульфат натрия, NF	2,0
Коллоидный диоксид кремния, NF	2,0
Стеарат магния, NF	1,2
Общая масса содержимого капсул	400,0

Пример 22. Приготовление размолотого эплеренона.

Высушенный метилэтилкетоновый сольват сначала размельчали путем пропускания сольвата через сито 20 меш на Fitzmill. Размельченный сольват затем измельчали на стержневой мельнице с шипованным диском Alpine Hosakawa с охлаждением жидким азотом, при скорости подачи около 250 кг/ч. Измельчение на стержневой мельнице дает размолотый эплеренон с размером D_{90} около 65-100 мкм.

Следующие примеры иллюстрируют особенности настоящего изобретения, но не должны истолковываться как ограничения. Экспериментальные процедуры, которые использовались для получения представленных данных, более подробно обсуждаются ниже. Символы и обозначения, используемые в данных примерах, соответствуют общепринятым в современной фармакологической литературе. Если не указано иное, (i) все процентные доли, указанные в примерах, являются массовыми процентами от общей массы композиции, (ii) общая масса композиции для капсул представляет общую массу содержимого капсулы и не включает массу самой капсулы и (iii) таблетки с оболочкой покрыты обычным покрывающим материалом, таким как Opadry White YS-1-18027A, а массовая доля покрытия составляет около 3% от общей массы таблетки с оболочкой.

Пример 23. Таблетка дозой 25 мг с немедленным высвобождением.

Была приготовлена таблетка дозой 25 мг с немедленным высвобождением (таблетка диаметром 7/32", около 0,56 см), которая имела следующий состав.

Таблица 8

Ингредиент	Мас.% таблетки	Кол-во (мг)
Эплеренон	29,41	25,00
Моногидрат лактозы (№ 310, NF)	42,00	35,70
Микрокристаллическая целлюлоза (NF, Avicel PH101)	18,09 (7,50% интрагранулярной плюс 10,59% экстрагранулярной)	15,38
Кроскармеллоза-натрий (NF, Ac-Di-Sol)	5,00	4,25
Гидроксипропилметилцеллюлоза (№ 2910, USP, Pharmacoat 603)	3,00	2,55
Лаурилсульфат натрия (NF)	1,00	0,85
Тальк (USP)	1,00	0,85
Стеарат магния (NF)	0,50	0,42
Всего	100	85
Opadry White YS-1-18027A	3,00	2,55

Пример 24. Таблетка дозой 50 мг с немедленным высвобождением.

Была приготовлена таблетка дозой 50 мг с немедленным высвобождением (таблетка диаметром 9/32", около 0,7 см), которая имела следующий состав.

Таблица 9

Ингредиент	Мас.% таблетки	Количество (мг)
Эплеренон	29,41	50,00
Моногидрат лактозы (№ 310, NF)	42,00	71,40
Микрокристаллическая целлюлоза (NF, Avicel PH101)	18,09 (7,50% интрагранулярной плюс 10,59% экстрагранулярной)	30,75
Кроскармеллоза-натрий (NF, Ac-Di-Sol)	5,00	8,50
Гидроксипропилметилцеллюлоза (№ 2910, USP, Pharmacoat 603)	3,00	5,10
Лаурилсульфат натрия (NF)	1,00	1,70
Тальк (USP)	1,00	1,70
Стеарат магния (NF)	0,50	0,85
Всего	100	170
Opadry White YS-1-18027A	3,00	5,10

Пример 25. Таблетка дозой 100 мг с немедленным высвобождением.

Была приготовлена таблетка дозой 100 мг с немедленным высвобождением (таблетка диаметром 12/32", около 0,95 см), которая имела следующий состав:

Таблица 9А

Ингредиент	Мас.% таблетки	Количество (мг)
Эплеренон	29,41	100,00
Моногидрат лактозы (№ 310, NF)	42,00	142,80
Микрокристаллическая целлюлоза (NF, Avicel PH101)	18,09 (7,50% интрагранулярной плюс 10,59% экстрагранулярной)	61,50
Кроскармеллоза-натрий (NF, Ac-Di-Sol)	5,00	17,00
Гидроксипропилметилцеллюлоза (№ 2910, USP, Pharmacoat 603)	3,00	10,20
Лаурилсульфат натрия (NF)	1,00	3,40
Тальк (USP)	1,00	3,40
Стеарат магния (NF)	0,50	1,70
Всего	100	340
Opadry White YS-1-18027A	3,00	10,20

Пример 26. Капсула дозой 10 мг с немедленным высвобождением.

Была приготовлена капсула дозой 10 мг с немедленным высвобождением, которая имела следующий состав:

Таблица 10

Ингредиент	Количество (мг)	Количество в показательной серии (кг)
Эплеренон	10,0	1,00
Лактоза, водная, NF	306,8	30,68
Микрокристаллическая целлюлоза, NF	60,0	6,00
Тальк, USP	10,0	1,00
Кроскармеллоза-натрий, NF	8,0	0,80
Лаурилсульфат натрия, NF	2,0	0,20
Коллоидный диоксид кремния, NF	2,0	0,20
Стеарат магния, NF	1,2	0,12
Общая масса содержимого капсул	400,0	40,00
Твердая желатиновая капсула, размер № 0, белая непрозрачная	1 капсула	100000 капсул

Пример 27. Капсула дозой 25 мг с немедленным высвобождением.

Была приготовлена капсула дозой 25 мг с немедленным высвобождением, которая имела следующий состав.

Таблица 11

Ингредиент	Количество (мг)	Количество в показательной серии (кг)
Эплеренон	25,00	2,50
Лактоза, водная, NF	294,1	29,41
Микрокристаллическая целлюлоза, NF	57,7	5,77
Тальк, USP	10,0	1,00
Кроскармеллоза-натрий, NF	8,0	0,80
Лаурилсульфат натрия, NF	2,0	0,20
Коллоидный диоксид кремния, NF	2,0	0,20
Стеарат магния, NF	1,2	0,12
Общая масса содержимого капсул	400,0	40,00
Твердая желатиновая капсула, размер № 0, белая непрозрачная	1 капсула	100 000 капсул

Пример 28. Капсула дозой 50 мг с немедленным высвобождением.

Была приготовлена капсула дозой 50 мг с немедленным высвобождением, которая имела следующий состав.

Таблица 12

Ингредиент	Количество (мг)	Количество в показательной серии (кг)
Эплеренон	50,0	5,00
Лактоза, водная, NF	273,2	27,32
Микрокристаллическая целлюлоза, NF	53,6	5,36
Тальк, USP	10,0	1,00
Кроскармеллоза-натрий, NF	8,0	0,80
Лаурилсульфат натрия, NF	2,0	0,20
Коллоидный диоксид кремния, NF	2,0	0,20
Стеарат магния, NF	1,2	0,12
Общая масса содержимого капсул	400,0	40,00
Твердая желатиновая капсула, размер № 0, белая непрозрачная	1 капсула	100000 капсул

Пример 29. Капсула дозой 100 мг с немедленным высвобождением.

Была приготовлена капсула дозой 100 мг с немедленным высвобождением, которая имела следующий состав.

Таблица 13

Ингредиент	Количество (мг)	Количество в показательной серии (кг)
Эплеренон	100,0	10,00
Лактоза, водная, NF	231,4	23,14
Микрокристаллическая целлюлоза, NF	45,4	4,54
Тальк, USP	10,0	1,00
Кроскармеллоза-натрий, NF	8,0	0,80
Лаурилсульфат натрия, NF	2,0	0,20
Коллоидный диоксид кремния, NF	2,0	0,20
Стеарат магния, NF	1,2	0,12
Общая масса содержимого капсул	400,0	40,00
Твердая желатиновая капсула, разм. № 0, белая непр.	1 капсула	100000 капсул

Пример 30. Капсула дозой 200 мг с немедленным высвобождением.

Была изготовлена капсула дозой 200 мг с немедленным высвобождением, которая имела следующий состав.

Таблица 14

Ингредиент	Количество (мг)	Количество в показательной серии (кг)
Эплеренон	200,0	20,00
Лактоза, водная, NF	147,8	14,78
Микрокристаллическая целлюлоза, NF	29,0	2,90
Тальк (USP)	10,0	1,00
Кроскармеллоза-натрий, NF	8,0	0,80
Лаурилсульфат натрия, NF	2,0	0,20
Коллоидный диоксид кремния, NF	2,0	0,20
Стеарат магния, NF	1,2	0,12
Общая масса содержимого капсул	400,0	40,00
Твердая желатиновая капсула, размер № 0, белая непрозрачная	1 капсула	100000 капсул

Биологическая оценка I

Комбинированную терапию ингибитором АПФ, эплереноном и фуросемидом оценивали на людях, как описано в следующих клинических испытаниях.

Материалы и методы

План исследования

Данное исследование представляло собой рандомизированное, двойное слепое, мультицентровое, двустороннее, параллельными группами испытание с контролем плацебо и активным лекарственным средством, в котором оценивали четыре разных суточных дозы эплеренона по сравнению с плацебо. Активным контролем служила доза спиронолактона 25 мг, которую вводили один раз в день. Двойной слепой период лечения продолжался 12† недель. Схема исследования представлена на фиг. 23. Популяция, принимавшая участие в исследовании

Список участников

Участники общим числом 321 были отобраны случайным способом в группу периода двойного слепого лечения. Такой размер выборки обеспечивал 90% мощность двустороннего уровня доверительной вероятности 5% для выявления средней разницы содержания альдостерона в моче 7† нмоль/день.

Критерии включения

Для включения в настоящее исследование кандидаты соответствовали следующим критериям:

1. Пациент был мужчиной или женщиной в возрасте ≥18 лет. Пациенты-женщины находились в постменопаузе, были стерилизованы хирургическим путем или использовали эффективные контрацептивы барьерного типа.

2. Пациент имел все следующие признаки симптоматической сердечной недостаточности: 1) фракцию выброса ≤40% (по результатам контрастной вентрикулографии, радионуклидного сканирования или эхокардиографии) в течение шести месяцев до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств; 2) в анамнезе функциональный класс III или IV по классификации NYHA в течение шести месяцев до занесения в список участников исследования и 3) функциональный класс II-IV по классификации NYHA ко времени занесения в список участников исследования.

3. Пациент получал и будет продолжать следующую терапию ко времени занесения в список участников исследования: a) петлевой диуретик, доза которого оставалась неизменной в течение двух недель до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств и b) ингибитор АПФ, доза которого оставалась неизменной в течение одного месяца до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств.

4. Если пациент получал лечение препаратами дигиталиса, то такое лечение было начато по меньшей мере за три месяца до времени занесения в список участников исследования, а доза оставалась неизменной в течение одного месяца до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств.

5. Содержание калия в сыворотке крови пациента составляло <5 мЭкв/л.

6. Систолическое АД пациента в положении сидя составляло ≥90 мм рт.ст.

7. Пациент давал заверенное письменное согласие до диагностических процедур и введения первой дозы испытуемых лекарственных средств.

Критерии исключения

Кандидата исключали из настоящего исследования, если он/она соответствовали любому из перечисленных ниже критериев:

1. Женщины детородного возраста, не предохраняющиеся от беременности или использующие пероральные или депонированные (гормональные) контрацептивные средства.

2. Пациент имел любое острое, угрожающее жизни заболевание (включая пациентов с автоматическим имплантированным кардиовертером/дефибриллятором), или имеет первичную печеночную недостаточность.

3. Пациент имел сердечный трансплантат или ожидал операции по пересадке сердца.

4. Пациент имел гемодинамически значимое заболевание клапанов сердца. Пациент, прооперированный по поводу заболевания клапанов сердца, допускался.

5. Пациент перенес инфаркт миокарда или подвергался коронарной ангиопластике или хирургическому шунтированию в течение трех месяцев до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств.

6. Пациент имел нестабильную стенокардию.

7. Пациент имел систолическое АД >160 †мм рт.ст. или диастолическое АД >95 †мм рт.ст. в положении сидя.

8. Пациент имел врожденное заболевание почек (определенное как концентрация креатинина в сыворотке крови >180 фмоль/л или >2,0 мг/дл.

9. Пациент имел неуправляемый диабет, определенный как уровень сахара крови натощак >200 †мл/л, инсулинзависимый диабет или любое другое неуправляемое эндокринное заболевание.

10. Пациент имел активную злокачественную опухоль любого типа или злокачественную опухоль в анамнезе. (Пациенты с анамнезом базально-клеточного рака, который был удален хирургическим путем, были приемлемы. Пациенты с анамнезом других злокачественных опухолей, которые были удалены хирургическим путем или лечились до излечения и не имели признаков рецидива в течение по меньшей мере пяти лет до занесения в список участников исследования, также были приемлемы).

11. Печеночные ферменты пациента (SGOT, SGPT, GTT) более чем в 1,5 раза превышали верхнюю границу нормы.

12. Пациент имел другие клинически значимые отклонения от нормы гематологических или биохимических показателей.

13. Пациент получал калиевые добавки или антиаритмическую терапию (кроме амиодарона). Введение лекарственных средств прекращали по меньшей мере за 5 полупериодов существования до первоначального визита, а калиевые добавки - по меньшей мере за 48 ч.

14. Пациент получал калийсберегающий диуретик в течение одного месяца до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств.

15. Пациент получал, на постоянной основе, любое из следующих лекарственных средств ко времени занесения в список участников исследования: a) нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (включая аспирин >300 мг в день), b) стероиды, c) агонисты или антагонисты дофамина, d) гепарин или e) †инсулин.

16. Пациент получал любое находящееся на стадии изучения лекарственное средство в течение 30 дней до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств или намерен получать находящееся на стадии изучения лекарственное средство, помимо применявшихся в настоящем исследовании лекарственных средств, во время настоящего исследования.

17. У пациента известна гиперчувствительность к эплеренону, спиронолактону или родственным соединениям.

18. Пациент ранее был допущен к участию в настоящем исследовании.

Процедуры рандомизации

Пациентов назначали в порядке записи для участия в исследовании в группы, получавшие 12-недельный курс эплеренона 25 мг один раз в день, 25 мг два раза в день, 50 мг один раз в день, 100 мг один раз в день, 25 мг спиронолактона один раз в день или плацебо, согласно случайной рандомизации компьютером, подготовленной Searle до начала исследования. Рандомизация составляла 1:1 для всех групп. Пациенты получали свои номера в исследовании при первоначальном визите.

Описание применявшихся лекарственных форм

Лекарственные формы, которые использовались в исследовании, были поставлены компанией Searle и представляли:

- капсулы, содержащие эплеренон в дозах 25 мг, 50 мг, 100 мг или 200 мг, одинакового внешнего вида;

капсулы плацебо, одинакового с капсулами эплеренона внешнего вида;

- таблетки, содержащие спиронолактон в дозе 25 мг.

- капсулы плацебо, одинакового с капсулами спиронолактона внешнего вида.

Новые изучавшиеся лекарственные средства выдавали во время первоначального визита, визитов на 2, 4 и 8 неделе.

Введение лекарственных средств

Изучавшиеся лекарственные средства вводились независимо от приемов пищи. Утреннюю дозу вводили между 6:00 и 10:00 после пробуждения. Вечернюю дозу вводили 12 ч позже.

Для всех периодов введения доз пациентов инструктировали принимать одну капсулу из флакона 1 и одну таблетку из флакона 2 утром, после пробуждения и одну капсулу из флакона 3 вечером, 12 часами позже. Если дозу пропускали, пациент не принимал двойную дозу, например, на следующий день. Однако пропущенную дозу можно было принять до конца дня, если соблюдался по меньшей мере восьмичасовой интервал между двумя ежедневными дозами. В один день вводились только две дозы, одна утренняя и одна вечерняя. Пациентов просили принимать изучавшиеся лекарственные средства каждый день в одно и то же время.

План исследования

Предварительный период

Отборочный визит

До начала каких бы то ни было процедур, связанных с исследованием, у участников получали письменное информированное согласие.

• Анамнез собирали не ранее двух недель до начала двойного слепого лечения. Анамнез включал конкретные вопросы для исходной идентификации заболевания сердца, лежащего в основе синдрома ЗСН, и идентификации продолжительности и клинического течения ЗСН перед допуском к испытаниям.

• В течение указанного предварительного периода осуществляли также физикальное обследование.

• Масса тела и показатели жизненно важных функций включали частоту сердечных сокращений и артериальное давление, измеренное манжеткой (сфигмоманометром), в положении сидя.

• Измерение фракции выброса (ФВ), выполненное в пределах шести месяцев до исследования, было приемлемо. Если в пределах шести месяцев ФВ не измерялась, ее измеряли для подтверждения ФВ ≤40%.

• Определяли функциональный класс по классификации NYHA.

• Всегда после завершения измерений артериального давления, частоты сердечных сокращений и температуры снимали ЭКГ (12 отведений).

Критерии включения/исключения просматривались и использовались для определения потенциальной приемлемости каждого пациента для исследования.

Клинические лабораторные анализы

Следующие клинические лабораторные анализы (крови и мочи) выполнялись натощак.

Гематология
Лейкоциты (по типам)
Содержание тромбоцитов
Эритроциты
Гематокрит
Гемоглобин
Биохимия
Натрий
Калий
Хлорид
Кальций
Магний
Фосфат (неорганический)
Мочевина (BUN)
Общий билирубин/прямой и непрямой
Мочевая кислота
Глюкоза
Щелочная фосфатаза
Глутамил-трансфераза (GGT)
SGOT (АСТ)
SGPT (АЛТ)
Биохимия сод.
Креатинин
Общий белок
Альбумин
ЛДГ
Креатин-киназа (КК)
Холестерин
Триглицериды
Анализ мочи
pH
Удельный вес
Белок
Глюкоза
Кетоны
Кровь

Процедуры и наблюдения

Функциональная классификация по NYHA

Во время выборочных визитов в ходе исследования для каждого пациента определяли функциональный класс по классификации NYHA на текущий момент. Следующая классификация применялась для оценки функционального класса пациента.

Класс I. Отсутствие симптомов при обычной физической активности.

Класс II. Симптомы при обычной физической активности, но не в покое.

Класс III. Симптомы при физической активности меньше обычной, но не в покое.

Класс IV. Симптомы имеют место в покое.

Балльная шкала задержки натрия

Балльная система использовалась для определения степени задержки натрия для каждого пациента на данный момент. Балльная система показана в табл. 15.

Таблица 15. Балльная система оценки задержки натрия

Параметр	Степень	Оценка
Хрипы	0	отсутствуют
	1	в нижней 1/3 легких
	2	в нижних 2/3 легких
	3	жидкость по всем легким
Периферический отек, оставляющий ямку после надавливания	0	отсутствует
	1	следы
	2	ограничен лодыжками
	3	не ограничен лодыжками
	4	анасарка
Изменение веса	-1	понижен
	0	не изменен
	1	повышен
Гепатомегалия	0	отсутствует
	1	присутствует
Третий тон сердца	0	отсутствует
(ритм галопа)	1	присутствует
Повышенной давление в яремной вене (JVP)	0	отсутствует
	1	присутствует

Сумма всех степеней представляла балльную оценку задержки натрия у пациента. Пределы возможных сумм баллов составляют от -1 до 11.

Сбор мочи

24-часовой сбор мочи начинали за два дня до 0 дня, при визите на 12 неделе и 16 неделе. Объем мочи и продолжительность сбора измеряли и образцы анализировали на следующие величины:

1. Натрий
2. Калий
3. Альдостерон

Впоследствии определяли степень 24-часовой задержки натрия и отношение натрий/калий.

Ренин плазмы, натрийуретический пептид предсердий (ANP) и натрийуретический пептид головного мозга (BNP)

Образцы крови забирали утром после ночного воздержания от пищи, но до приема каких бы то ни было лекарственных средств. Пациент лежал на спине в течение 30 мин перед забором образца.

В образцах определяли активный и общий ренин, N-терминальные уровни ANP и BNP.

Прием дополнительных лекарственных средств

Использования любого лекарственного средства, помимо испытуемого лекарственного средства, по возможности избегали в течение периода лечения. Конкретно, исключались следующие лекарственные средства:

1. Калийсберегающие диуретики (например, спиронолактон, триамтерен).

2. Нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (включая постоянный прием аспирина более 300 †мг в день).

3. Стероиды.

4. Антиаритмики (кроме амиодарона).

5. Агонисты или антагонисты дофамина.

6. Гепарин.

7. Инсулин.

Калиевые добавки исключались на вводном периоде, но могли применяться на усмотрение исследователя в качестве неотложного лечения и во время исследования, особенно, в случае гипокалиемии < †3,5 мЭкв/л. Дигиталис, нитраты, антагонисты кальция и бета-блокаторы представляли приемлемые сопутствующие лекарственные средства. Изменения в продолжающемся лечении ингибитором АПФ, петлевым диуретиком или дигиталисом разрешали, если считали необходимым. Если падение АД требовало корректировки медикаментозного лечения, рекомендовали сначала снижать дозу диуретика или, во вторую очередь, ингибитора АПФ, не прерывая введения испытуемого лекарственного средства.

Оценка результатов

Анализ популяций

Всех пациентов, которые принимали по меньшей мере одну дозу испытуемого лекарственного средства, включали в группу "нацеленности на лечение". Оцениваемая группа состояла из рандомизированных пациентов, которые соответствовали всем следующим критериям:

1. Пациент имел признаки симптоматической сердечной недостаточности ко времени занесения в список участников исследования, определенные как:

a. Фракция выброса ≤40% (по результатам контрастной вентрикулографии, радионуклидного сканирования или эхокардиографии) в течение шести месяцев до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств;

b. Функциональный класс III или IV по классификации NYHA в течение шести месяцев до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств и

c. Функциональный класс II-IV по классификации NYHA ко времени занесения в список участников исследования.

2. Пациент продолжал получать ингибитор АПФ и петлевой диуретик, дозы которых оставались неизменными в течение одного месяца до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств. Если во время вводного периода пациент получал лечение препаратами дигиталиса, то такое лечение должно было быть начато по меньшей мере за три месяца до времени занесения в список участников исследования, а доза оставалась неизменной в течение по меньшей мере одного месяца до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств.

3. Пациент не имел:

a. Гемодинамически значимого и нескорректированного заболевания клапанов сердца на вводном периоде;

b. Инфаркта миокарда в течение трех месяцев до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств;

c. Нестабильной стенокардии на вводном периоде.

4. Не получал калийсберегающий диуретик как во время испытаний, так и в течение одного месяца до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств.

5. Не получал любое из следующих лекарственных средств ни ко времени занесения в список участников исследования, ни в течение рассматриваемого интервала времени:

a. Постоянное использование нестероидных противовоспалительных лекарственных средств (включая постоянный прием аспирина в дозе > 300 мг в день) . Постоянный прием определялся как прием в течение более трех дней подряд;

b. Стероиды;

c. Агонисты или антагонисты дофамина;

a. Инсулин;

e. Гепарин;

f. Антиаритмики (кроме амиодарона).

6. Пациент перед исследованием проходил диагностические процедуры, связанные с сердцем, в течение 14 дней до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств.

7. Принимал по меньшей мере 80% назначенных доз испытуемых лекарственных средств в течение рассматриваемого интервала времени.

Оценка эффективности

Измерения клинической эффективности в данном исследовании представляли функциональную классификацию по NYHA и балльную оценку задержки натрия, исходные и после 12 недель лечения. Группы, получавшие лечение, должны сравниваться с точки зрения количества пациентов с улучшением, без изменений или с ухудшением по каждому показателю, от исходных величин до величин на 12 неделе. Для функциональной классификации по NYHA, улучшение состояния сердца должно определяться как понижение по меньшей мере на один функциональный класс, а ухудшение должно определяться как повышение по меньшей мере на один функциональный класс. Подобно этому, улучшение (ухудшение) балльной оценки задержки натрия должно определяться как понижение (повышение) общей суммы баллов. Для

каждой переменной критерий Кохрана-Мантеля-Генцеля (CMH), стратифицированный по центру, должен использоваться для оценки различий между группами, получавшими лечение. Помимо этого, стратифицированные CMH критерии должны использоваться для сравнения каждого активного лечения с плацебо и каждой дозы эплеренона со спиронолактоном.

Критерии Краскелла-Уоллиса использовались для сравнения групп, получавших лечение, с точки зрения изменений показателей жизненно важных функций (артериального давления, частоты сердечных сокращений и массы), скорости экскреции натрия с мочой, отношения Na/K в моче, 24-часового альдостерона в моче, ANP, BNP в плазме крови, ренина плазмы крови и магния в сыворотке крови, по сравнению с исходными величинами, при каждом визите. Ответ на дозу оценивали с использованием ранговой корреляции Спермана. Каждое активное лечение сравнивали с плацебо, а каждую дозу эплеренона сравнивали со спиронолактоном с использованием ранговых суммарных критериев Вилкоксона.

Результаты

Комплектование

Отбирали триста двадцать одного пациента со стабильным классом сердечной недостаточности II-IV по классификации NYHA.

Характеристики пациентов

Демографические показатели, исходные показатели жизненно важных функций и состояние сердца пациентов суммированы на фиг. 24.

Средний возраст пациентов составлял 61 год и около 80% из них были мужчинами. Исходно около 97% пациентов имели II-III класс по классификации NYHA. С точки зрения балльной оценки задержки натрия ни в одной группе после 12 недель лечения статистически значимого изменения не наблюдалось. Ни в одной группе после 12 недель лечения статистически значимого изменения по классам NYHA не наблюдалось.

Лечение пациентов

Сопутствующие лекарственные средства, принимавшиеся пациентами во время данного исследования, показаны на фиг. 25. Семьдесят пять процентов пациентов принимали каптоприл, эналаприл или лизиноприл. Остальные 25% принимали один из различных других ингибиторов АПФ. Восемьдесят пять процентов принимали петлевой диуретик фуросемид. Пятьдесят пять процентов принимали дигиталис.

Изменения показателей жизненно важных функций

Ни в одной группе после 12 недель лечения статистически значимых изменений массы тела или артериального давления (см. фиг. 26) не наблюдалось.

Содержание альдостерона в моче (см. фиг. 27)

Содержание альдостерона в моче определяли при первоначальном визите и визите через 12 недель. Экскреция альдостерона с мочой показала среднее повышение по сравнению с исходными величинами во всех группах, получавших лечение, хотя величины в группах, получавших 25 мг эплеренона четыре раза в день, не достигали статистически значимого уровня ($P>0,05$). Более выраженные повышения наблюдались при использовании эплеренона в дозах 50 и 100 мг.

Активность ренина плазмы крови (см. фиг. 28)

Активность ренина плазмы (PRA) достоверно повышалась при лечении как эплереноном, так и спиронолактоном. Повышенная PRA коррелировала с повышенной экскрецией альдостерона, что является показателем активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы в ответ на медикаментозное лечение.

N-терминальный натрийуретический пептид предсердий (ANP) и натрийуретический пептид головного мозга (BNP) (см. фиг. 29 и 30)

Через 12 недель лечения во всех группах наблюдалось недостоверное снижение уровней ANP.

Снижение BNP было высокодостоверным для эплеренона в дозах 25 мг и 100 мг (см. фиг. 29). Для пациентов с высокими исходными уровнями BNP такое снижение было еще больше (см. фиг. 30). ANP и BNP представляют противодействующие друг другу гормоны, которые при сердечной недостаточности разрегулированы и не могут противодействовать вазоконстрикции и задержке жидкости, индуцированным другими гормонами. Уровни ANP и BNP в крови являются прогностическими признаками сердечной недостаточности. BNP, синтезируемый в предсердии, является более чувствительным, чем ANP в отношении прогноза снижения фракции выброса левого желудочка, которая является мерой сердечной недостаточности. Достоверное снижение уровней BNP, наблюдавшееся в группах, получавших эплеренон, указывает на то, что эплеренон в дозе 25 мг в день в сочетании с ингибитором АПФ и петлевым диуретиком оказывает достоверное благоприятное действие на пациентов с сердечной недостаточностью.

Тестостерон

У мужчин наблюдалось достоверное повышение уровней тестостерона в группе, получавшей спиронолактон, по сравнению с пациентами, получавшими эплеренон. Такой результат отражает дополнительное связывание спиронолактона с рецепторами тестостерона, что может вызвать нежелательные побочные эффекты, такие как уменьшение предстательной железы, снижение либидо и гинекомастия. Отсутствие влияния на уровни тестостерона, которое наблюдалось при лечении эплереноном, показывает, что эплеренон не препятствует связыванию тестостерона с рецепторами и не вызывает ка-

ких бы то ни было связанных с этим нежелательных побочных эффектов.

Калий сыворотки крови

Ни в одной группе после 12 недель лечения статистически значимых изменений уровней калия в сыворотке крови не наблюдалось.

Моногидрат лактозы, используемый во всех примерах настоящей заявки, коммерчески доступен от Formost Farms, Baraboo, Wisconsin. Микрокристаллическая целлюлоза марки Avicel и кроскармеллоза-натрия марки Ac-Di-Sol использовались во всех примерах настоящей заявки. Оба соединения коммерчески доступны от FMC Corporation, Chicago, Illinois. Гидроксипропилметилцеллюлоза марки Pharmacoat 603 использовалась во всех примерах настоящей заявки. Указанное соединение коммерчески доступно от Shin-Etsu Chemical Co. Ltd. Лаурилсульфат натрия, используемый во всех примерах настоящей заявки, коммерчески доступен от Henkel Corporation, Cincinnati, Ohio. Тальк, используемый во всех примерах настоящей заявки, коммерчески доступен от Cyprus Foote Mineral Co., Kings Mountain, North Carolina, или Luzenac America, Inc., Eglewood, Colorado. Стеарат магния, используемый во всех примерах настоящей заявки, коммерчески доступен от Mallinckrodt Inc., St. Louis, Missouri. Opadry White YS-1-18027A, используемый для приготовления таблеток с оболочкой, описанных в примерах настоящей заявки, является готовым для нанесения покрытия покрывающим составом, коммерчески доступным от Colorcon, West Point, Pennsylvania.

Несмотря на то, что настоящее изобретение было описано с использованием конкретных вариантов его осуществления, подробности данных вариантов осуществления не должны истолковываться как ограничения.

Биологическая оценка II

Материалы и методы

План и процедуры исследования

Данное мультицентровое, рандомизированное, двойное слепое, двустороннее, параллельными группами испытание с контролем плацебо должно продолжаться до наступления 1012 смертей, что требует, как было установлено, участия в нем приблизительно 6200 рандомизированных пациентов, наблюдение за которыми должно осуществляться в течение в среднем около 2,5 лет. См. фиг. 31.

Подходящие пациенты могут быть выявлены для включения в любое время после оценки в палате интенсивной терапии и предположительного диагноза ОИМ с СН. Пациенты, подходящие для данного исследования (Hall AS, Winter C, Bogle SM, Mackintosh AF, Murray GD, Ball SG on behalf of the AIRE Study Investigators. The acute infarction ramipril efficacy (AIRE) study: rationale, design, organization, and outcome definitions, J. Cardiovasc. Pharmacol. 1991; 18(Suppl. 2):S105-S109), должны иметь:

• ОИМ (рассматриваемый случай), подтвержденный:

- отклонением от нормы содержания сердечных ферментов (креатин-фосфокиназа [КФК] более чем в 2 раза выше верхней границы нормы [ВГН] и/или КФК-МВ [полоса изофермента КФК-МВ] >10% от общего содержания КФК); и

- электрокардиографической (ЭКГ) диагностикой ИМ (т.е., прогрессирующие изменения сегмента ST и зубца T, совместимые с ОИМ, при наличии или отсутствии зубцов Q).

• Дисфункцию ЛЖ, подтвержденную фракцией выброса ЛЖ (ФВЛЖ) ≤40% по результатам эхокардиограммы, радионуклидной ангиографии или ангиографии ЛЖ, определенную после рассматриваемого ОИМ и до рандомизации.

• СН, подтвержденную по меньшей мере одним из следующих:

- отеком легких (двусторонние шумы после кашля, имеющие характер потрескивания, по меньшей мере, над одной третью легочных полей снизу вверх, при отсутствии значительного хронического легочного заболевания); или

- рентгенографическим исследованием грудной клетки, показывающим венозный застой в легких с интерстициальным или альвеолярным отеком; или

- аускультативными признаками третьего тона сердца (S_3) с устойчивой тахикардией (>100 ударов в минуту).

Пациенты будут получать обычное лечение, которое может включать И-АПФ, диуретики, нитраты и β-блокаторы и могут получать антикоагулянты и антитромбоцитарные агенты, и могут получать тромболитики или подвергаться неотложной ангиопластике.

Подходящие пациенты могут быть выявлены для включения в любое время после оценки в палате интенсивной терапии и предположительного диагноза ОИМ с СН. Пациенты, отобранные для данного исследования, должны быть рандомизированы между 3 (> 48 ч) и 10 днями после ОИМ, если их клиническое состояние будет стабильным, например, если им не понадобятся вазопрессоры или инотропные средства, интрааортальный баллонный насос (ИАБН), у них не будет гипотензии (АДс <90 мм рт.ст.) или рецидива боли в груди, который потенциально может привести к неотложной коронарной ангиографии. Пациенты с имплантированными сердечными дефибрилляторами исключаются. Рандомизацию предпочтительно осуществлять до выписки из клиники.

Пациенты должны быть рандомизированы для получения эплеренона 25 мг четыре раза в день (ежедневно) или плацебо. Через четыре недели дозу испытуемого лекарственного средства увеличат до 50 мг четыре раза в день (две таблетки), если калий сыворотки крови <5,0

мЭкв/л. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит >5,5 мЭкв/л, но <6,0 мЭкв/л, доза испытуемого лекарственного средства будет снижена до следующего более низкого уровня, т.е. с 50 мг четыре раза в день до 25 мг четыре раза в день (одна таблетка), с 25 мг четыре раза в день до 25 мг четыре раза через день или с 25 мг четыре раза через день до временной отмены (более подробные инструкции по введению доз см. в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств"). Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует временно отменить, и вновь назначить введение в дозе 25 мг четыре раза через день, когда калий сыворотки крови составит <5,5 мЭкв/л, и увеличивать дозу в соответствии со схемой, представленной в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств", табл. 16. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови устойчиво находится на уровне ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует окончательно отменить. Уровень калия может быть повторен, если повышение калия представляется ложным (т.е., из-за гемолиза или недавнего введения калиевой добавки). Если пациент перестал переносить испытуемые лекарственные средства, следует рассмотреть сначала возможность изменений дозы сопутствующих лекарственных средств, а после этого рассмотреть возможность изменения дозы испытуемых лекарственных средств. Калий сыворотки крови будет определяться через 48 ч после начала лечения, через 1, 4 и 5 недель, во время всех запланированных визитов и через неделю после любого изменения дозы. Изменения доз следует проводить на основе результатов самого последнего измерения уровня калия, как описано в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств".

Визиты должны осуществляться при отборе, первоначальном визите (рандомизации), через 1 и 4 недели, через 3 месяца и далее каждые 3 месяца вплоть до окончания исследования. При отборе пациентов следует получить анамнез, анализы на сердечные ферменты, определить класс по классификации Killip, время до реперфузии (если определение возможно), получить документацию по ОИМ и СН, определить ФВЛЖ и сывороточный тест на беременность для женщин детородного возраста. Физикальное обследование следует осуществлять при отборе пациентов, а также во время заключительного визита (прекращение введения испытуемого лекарственного средства). Для безопасности гематологические и биохимические анализы крови, а также анализы мочи должны быть сделаны при отборе пациентов, через 4 недели, 3 и 6 месяцев, и далее каждые 6 месяцев вплоть до окончания исследования. Во время отбора пациентов следует отобрать дополнительный образец крови для анализа ДНК. Во время каждого визита должны регистрироваться показатели жизненно важных функций (частота сердечных сокращений и АД в положении сидя), функциональный класс по классификации New York Heart Association (NYHA), неблагоприятные события и выбранные сопутствующие лекарственные средства. Оценки качества жизни (ОКЖ) должны осуществляться во время отбора пациентов, через 4 недели, 3, 6 и 12 месяцев и во время заключительного визита. За всеми рандомизированными пациентами следует осуществлять наблюдение во время всех назначенных сроков в течение исследования, каждые 3 месяца до окончания исследования.

1. Сопутствующая терапия может включать: ингибитор АПФ, ± диуретики, ± β-блокаторы, ± аспирин, ± другие обычные постинфарктные схемы лечения.

2. Повышение дозы, если текущая доза хорошо переносится, а калий сыворотки крови составляет <5,0 мЭкв/л.

3. Калий сыворотки крови должен определяться через 48 ч, через 1 неделю, через 5 недель и через 1 неделю после любого изменения дозы испытуемых лекарственных средств. Изменения доз следует проводить на основе результатов самого последнего измерения уровня калия. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит >5,5 мЭкв/л, но <6,0 мЭкв/л, необходимо снизить дозу испытуемого лекарственного средства до следующей более низкой дозы. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит ≥6,0 мЭкв/л, следует временно отменить испытуемое лекарственное средство. Если введение испытуемого лекарственного средства временно прекращено, его можно возобновить в дозе одна таблетка 25 мг четыре раза в день, когда калий сыворотки крови составит <5,5 мЭкв/л, и увеличивать дозу в соответствии со схемой, представленной в табл. 16. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови устойчиво находится на уровне ≥6,0 мЭкв/л, необходимо окончательно отменить испытуемое лекарственное средство.

Определение калия сыворотки крови через 48 ч после начала введения испытуемых лекарственных средств.

Популяция, принимавшая участие в исследовании

Список участников

Следует набрать достаточное количество пациентов, чтобы общее количество смертей в ходе исследования могло составить 1012.

Критерии включения

1. У пациента был ОИМ, подтвержденный:

а. повышением содержания сердечных ферментов (общее содержание КФК более чем в

2 раза выше ВГН и/или КФК-МВ >10% от общего содержания КФК); и

b. ЭКГ диагностикой ИМ (т.е., прогрессирующие изменения сегмента ST и зубца T, совместимые с ОИМ, при наличии или отсутствии зубцов Q).

2. У пациента имеется дисфункция ЛЖ, подтвержденная ФВЛЖ ≤40% по результатам эхокардиограммы, радионуклидной ангиографии или ангиографии ЛЖ, определенная после рассматриваемого ОИМ и до рандомизации.

3. У пациента имеются клинические признаки СН, подтвержденные по меньшей мере одним из следующих:

a. отеком легких (двусторонние шумы после кашля, имеющие характер потрескивания, по меньшей мере, над одной третью легочных полей снизу вверх, при отсутствии значительного хронического легочного заболевания); или

b. рентгенографическим исследованием грудной клетки, показывающим венозный застой в легких с интерстициальным или альвеолярным отеком; или

c. аускультативными признаками третьего тона сердца (S_3) с устойчивой тахикардией (>100 ударов в минуту). Клинические признаки СН после ОИМ могут быть преходящими и наблюдаться в любое время после начала рассматриваемого ОИМ до рандомизации. Признаки СН необязательно должны присутствовать во время рандомизации.

4. Стабильное клиническое состояние во время рандомизации между 3 (>48 ч) и 10 днями после ОИМ. Стабильное клиническое состояние исключает использование вазопрессоров и инотропных средств. Стабильное состояние исключает также использование ИАБН, гипотензию (АДс <90 мм рт.ст.) и рецидив боли в груди, который потенциально может привести к неотложной коронарной ангиографии.

5. Пациент является мужчиной или небеременной женщиной в возрасте ≥21 года.

6. Если пациентом является женщина, то она находится в постменопаузе или, если она находится в детородном возрасте, то применяет адекватную контрацепцию (гормональную, например, пероральные контрацептивы или гормональные имплантаты, или барьерный метод, например, график, BMC и т.п.) или стерилизована хирургическим путем и не лактирует. Воздержание не является приемлемой формой контрацепции.

7. Если пациентом является женщина детородного возраста, то у нее имеется отрицательный сывороточный тест на беременность не позднее 72 ч до первого введения дозы в исследовании с двойным слепым введением испытуемых лекарственных средств.

8. У пациента нет клинически значимых отклонений от клинических лабораторных показателей, которые, по мнению исследователя, могли бы препятствовать безопасному участию пациента в этом исследовании.

9. Пациент желает и способен принимать участие в исследовании во всей его продолжительности.

10. До начала каких бы то ни было анализов или процедур, связанных с данным исследованием, или изменения медикаментозной терапии, у пациента получают письменное информированное согласие.

Критерии исключения

1. Пациент имеет СН, связанную с первичным заболеванием клапанов сердца, или врожденной этиологией.

2. Пациент имеет в настоящее время признаки клинической нестабильности (например, аритмии, кроме фибрилляции предсердий, кардиогенный шок и т.п.).

3. У пациента имеется постинфарктная стенокардия, которая потенциально может привести к неотложной коронарной ангиографии.

4. Планируется обходное коронарное шунтирование (ОКШ) по поводу рассматриваемого ОИМ.

5. У пациента имеется имплантированный сердечный дефибриллятор (ИСД).

6. У пациента имеется неуправляемая гипотензия (АДс <90 мм рт.ст.).

7. Пациенту требуются калийсберегающие диуретики или спиронолактон.

8. У пациента во время периода отбора уровень креатинина в сыворотке крови составляет >2,5 мл/дл.

9. У пациента во время периода отбора уровень калия в сыворотке крови составляет >5,0 мЭкв/л.

10. Пациенту планируется пересадка сердца.

11. У пациента в настоящее время имеются проблемы алкогольной или наркотической зависимости, которые, с точки зрения исследователя, являются препятствием для участия в исследовании.

12. Пациент находится в любом состоянии, при котором, с точки зрения исследователя, участие в данном исследовании не отвечает интересам пациента.

13. Известна гиперчувствительность пациента к эплеренону или спиронолактону.

14. У пациента имеется тяжелое органическое заболевание или оперативное вмешательство, или заболевание желудочно-кишечного тракта, которые, с точки зрения исследователя, могут мешать всасыванию, фармакокинетике или удалении испытуемых лекарственных средств.

15. У пациента имеются хронические психозы или поведенческие особенности, которые, с точки зрения исследователя, могут ограничивать способность пациента подчиняться всем требованиям данного исследования.

16. У пациента имеется сопутствующее патологическое состояние, которое, как ожидается, приведет к смерти в течение следующих трех лет (например, терминальная стадия рака, СПИД и т.п.), включая пациентов, получающих иммуносупрессивную или антинеопластическую терапию.

17. Пациент получал любое находящееся на стадии изучения лекарственное средство или принимал участие в испытаниях устройства, находящегося на стадии изучения, в течение 30 дней до введения первой дозы испытуемых лекарственных средств или активно участвует в любом испытании лекарственного средства или устройства, или намерен получать находящееся на стадии изучения лекарственное средство, помимо эплеренона, или лечиться с помощью устройства, находящегося на стадии изучения, в ходе данного исследования.

18. Пациент ранее был допущен к участию в настоящем исследовании.

Процедуры рандомизации

Пациентов должны назначать в каждую группу двойного слепого исследования в том порядке, в котором они отвечали критериям рандомизации. Они должны получать назначенное им лечение, согласно компьютерной схеме рандомизации, разработанной Searle, перед началом исследования.

Разработка кода рандомизации

Руководитель клинической базы данных Searle должен разрабатывать схему рандомизации для пациентов с использованием стандартной программы рандомизации Searle. Статистик Searle должен разрабатывать схему рандомизации для идентификационных номеров наборов лекарственных средств, отдельно от схемы рандомизации для пациентов. Рандомизации должны поставляться подрядчику, упаковывающему лекарственные средства, и в центр интерактивной системы голосового ответа (IVRS) для назначения лекарственных средств. Статистик Searle не должен иметь доступа к кодам рандомизации после начала набора пациентов. Руководитель клинической базы данных Searle должен хранить схему рандомизации пациентов и схему идентификации лекарственных средств в закрытом файле на протяжении всего исследования. Закрытая копия схемы рандомизации пациентов должна быть отправлена в Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) до начала исследования. К схеме рандомизации должна также иметь доступ информированная статистическая группа, выполняющая статистический анализ для коллегии по вопросам мониторинга данных по безопасности (DSMB). Ответственное лицо в Searle Pharmacy должно иметь доступ к идентификационной рандомизации наборов лекарственных средств только для целей адекватной упаковки лекарственных средств. Остальной персонал Searle не должен иметь доступа к схемам рандомизации до завершения исследования.

В целом, персонал, работающий в учреждении, участвующем в исследовании, не должен иметь доступа к кодам рандомизации. Однако, если возникнет медицинская необходимость раскодировать конкретного пациента, к каждой упаковке испытуемых лекарственных средств прилагается запечатанное лечебное назначение.

Интерактивная система голосовой рандомизации (IVRS)

Круглосуточная IVRS должна использоваться для назначения номеров и испытуемого лекарственного средства пациентам вслепую, контрольных описаний испытуемого лекарственного средства в учреждении, проводящем исследование, и для слежения за набором и прогрессом пациентов.

Персонал учреждения, проводящего исследование, должен звонить в центр IVRS для рандомизации каждого пациента. Исследователь должен снабжать центр IVRS различными идентификационными данными для каждого пациента и подтверждать соответствие критериям включения/исключения. Центр IVRS должен назначать пациенту лечение в соответствии со схемой рандомизации пациентов, описанной выше. Система IVRS затем должна вслепую выбирать идентификационный номер лекарственного средства, соответствующий назначенному пациенту лечению, из номеров, имеющихся в распоряжении учреждения, проводящего исследование.

После рандомизации учреждения, проводящие исследование, должны позвонить в центр IVRS всякий раз, когда выдается испытуемое лекарственное средство. Центр IVRS также должен оповещаться, если пациент выбывает из исследования или раскодируется. Помимо этого, в центр IVRS необходимо позвонить для подтверждения получения испытуемых лекарственных средств.

Дополнительные подробности системы и процедур IVRS должны быть изложены в отдельном руководстве IVRS.

Неотложное раскодирование

В случае неотложного события, учреждению, проводящему исследования, должен быть предоставлен номер телефона, по которому запрашивается разрешение на раскодирование данных исследования. Код может быть вскрыт, если возникает неотложная ситуация, которая, с точки зрения исследователя, требует знания кода. В этих случаях исследователю следует перед вскрытием кода попытаться связаться со спонсором. Дата и причина вскрытия кода должна быть представлена исследователем в соответствующей CRF в центр координации данных как можно быстрее. Дополнительную информацию см. в приложении 3.0.

Описание клинических поставок

Searle должен поставлять эплеренон в таблетках по 25 мг и таблетки плацебо, парные таблеткам эплеренона по 25 мг, следующим образом:

Лекарственные средства первоначальной фазы исследования (от 0 недели до 4 недели)

На первоначальном этапе (0 день) должны выдаваться флаконы по 40 таблеток с крышками, обеспечивающими недоступность для детей.

Лекарственные средства фазы проведения исследования (после 4 недели)

Для проведения всего остального исследования должны выдаваться флаконы по 200 таблеток с крышками, обеспечивающими недоступность для детей.

Испытуемые лекарственные средства, представляющие двойной слепой эплеренон или соответствующее ему плацебо, должны поставляться во флаконах, предварительно снабженных этикетками с соответствующими номерами наборов, для каждой подгруппы лечения. Перед выдачей все испытуемые лекарственные средства должны храниться согласно условиям хранения, указанным на этикетках, в безопасном месте с ограниченным доступом. У себя дома пациент должен хранить лекарственные средства, не подвергая их экстремальным воздействиям окружающей среды. После того, как исследование будет закончено или прервано, все использованные и неиспользованные упаковки лекарственных средств должны быть возвращены или ими следует распорядиться так, как указано наблюдателем или наблюдателями, назначенными Searle.

Обозначения клинических поставок

Для данного слепого исследования на компьютере должны изготавливаться этикетки, состоящие из двух частей. Одна часть этикетки, содержащая информацию для исследования и пациента, должна быть прикреплена к контейнеру; другая часть является отрывной и содержит ту же информацию плюс запечатанный кармашек, содержащий идентификацию назначенного лечения. Отрывная часть должна удаляться при выдаче, прикрепляться к соответствующей CRF пациента и храниться в исследовательском файле исследователя.

Следующие инструкции по приему должны появляться на этикетке на языке (языках) той страны, в которой будет использоваться лекарственное средство:

Флакон для первоначальной фазы

"Принимайте одну таблетку каждое утро, запивая водой, или каким-либо другим способом, указанным Вашим лечащим врачом".

Флакон для фазы проведения исследования

"Принимайте две таблетки каждое утро, запивая водой, или каким-либо другим способом, указанным Вашим лечащим врачом".

Подробную информацию по рандомизации и поддержанию слепого характера исследования см. в разделе 3.3 и приложении 3, раздел 3.0.

Введение испытуемых лекарственных средств

Пациенты должны получать эплеренон 25 мг четыре раза в день или плацебо (одну таблетку) в течение первых четырех недель лечения. Через четыре недели доза испытуемого лекарственного средства должна быть увеличена до 50 мг четыре раза в день (две таблетки), если калий сыворотки крови составит <5,0 мЭкв/л. Если калий сыворотки крови составит ≥5,0 мЭкв/л через 4 недели, но <5,0 мЭкв/л через 5 недель, доза испытуемого лекарственного средства должна быть увеличена до 50 мг четыре раза в день (две таблетки). В данном случае калий сыворотки крови нужно проверять на 6 неделе.

Табл. 16 суммирует обязательные изменения доз по уровням калия сыворотки крови. Калий сыворотки крови должен определяться через 48 ч после начала лечения, через 1 и 5 недель, и через неделю после каждого изменения дозы. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит >5,5 мЭкв/л, доза испытуемого лекарственного средства должна быть снижена до следующего более низкого уровня, т.е. с 50 мг четыре раза в день до 25 мг четыре раза в день, с 25 мг четыре раза в день до 25 мг четыре раза через день или с 25 мг четыре раза через день до временной отмены. Следует вновь назначить введение испытуемого лекарственного средства в дозе 25 мг через день, когда калий сыворотки крови составит <5,5 мЭкв/л, и увеличивать дозу в соответствии со схемой, представленной в табл. 16. Уровень калия может быть повторен, если повышение калия представляется ложным (т.е. из-за гемолиза или недавнего введения калиевой добавки).

Если пациент перестал переносить испытуемые лекарственные средства, следует рассмотреть сначала возможность изменений дозы сопутствующих лекарственных средств (например, калиевых добавок, И-АПФ и т.п.), а после этого рассмотреть возможность изменения дозы испытуемых лекарственных средств. Если в любое время на протяжении исследования уровень калия сыворотки крови составит ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует временно отменить. Если уровень калия сыворотки крови устойчиво составляет ≥6,0 мЭкв/л, пациент должен прекратить прием испытуемого лекарственного средства. Если повышенные уровни калия наблюдаются <6,0 мЭкв/л, калиевые добавки, если они принимаются пациентом, следует отменить, а пациент должен продолжать прием испытуемого лекарственного средства. Если введение испытуемого лекарственного средства прекращено, следует еще раз изучить сопутствующие лекарственные средства и изменить, если возможно, их дозы, на основе достаточного клинического опыта.

Таблица 16. Изменение доз испытуемого лекарственного средства в зависимости от уровней калия сыворотки крови

Если уровень калия сыворотки крови составляет:	а принимаемая в настоящее время доза составляет:	Изменение дозы:	Количество таблеток:
<5,0 мЭкв/л	Отмена	Повышение	1 таблетка четыре раза через день
<5,0 мЭкв/л	1 таблетка четыре раза через день	Повышение	1 таблетка четыре раза в день
<5,0 мЭкв/л	1 таблетка четыре раза в день	Повышение	2 таблетки четыре раза в день
<5,0 мЭкв/л	2 таблетки четыре раза в день	Без изменений	2 таблетки четыре раза в день
≥5,0 и <5,5 мЭкв/л	Отмена	Повышение	1 таблетка четыре раза через день
≥5,0 и <5,5 мЭкв/л	1 таблетка четыре раза через день	Без изменений	1 таблетка четыре раза через день
≥5,0 и <5,5 мЭкв/л	1 таблетка четыре раза в день	Без изменений	1 таблетка четыре раза в день
≥5,0 и <5,5 мЭкв/л	2 таблетки четыре раза в день	Без изменений	2 таблетки четыре раза в день
≥5,0 и <6,0 мЭкв/л	Отмена	Без изменений	Ни одной
≥5,0 и <6,0 мЭкв/л	1 таблетка четыре раза через день	Понижение	Ни одной
≥5,0 и < 6,0 мЭкв/л	1 таблетка четыре раза в день	Понижение	1 таблетка четыре раза через день
≥ 5, 0 и < 6, 0 мЭкв/л	2 таблетки четыре раза в день	Понижение	1 таблетка четыре раза в день
≥ 6,0 мЭкв/л	Любая доза		Ни одной

Если повышение устойчиво, следует прекратить введение лекарственного средства. Если повышение однократное, следует временно отменить введение.

План исследования

Схема наблюдений и процедур

Отборочный период

Отборочный период определен как период после ОИМ и до рандомизации. Данный раздел описывает процедуры, которые должны быть сделаны в течение отборочного периода.

До начала каких бы то ни было процедур, связанных с данным исследованием, или изменения медикаментозной терапии у каждого пациента должно быть получено письменное информированное согласие.

Критерии включения/исключения должны просматриваться и использоваться для определения потенциальной приемлемости каждого пациента для исследования.

Время до реперфузии после ОИМ должно быть зафиксировано, если определение возможно.

Анамнез, физикальное обследование, показатели жизненно важных функций и электрокардиограмма

Анамнез должен включать конкретные вопросы, позволяющие идентифицировать лежащее в основе заболевание сердца.

Физикальное обследование должно включать измерение массы тела и роста и оценку наличия или отсутствия легочных хрипов, ритма галопа (S_3) с устойчивой тахикардией и периферического отека.

Показатели жизненно важных функций должны включать измерение частоты сердечных сокращений и АД с помощью манжетки (сфигмоманометра) в положении сидя.

Будет выполнена ЭКГ в 12 отведениях.

Документирование острого инфаркта миокарда, дисфункции левого желудочка и сердечной недостаточности

Документирование рассматриваемого ОИМ (Hall AS, Winter C, Bogle SM, Mackintosh AF, Murray GD, Ball SG on behalf of the AIRE Study Investigators. The acute infarction ramipril efficacy (AIRE) study: rationale, design, organization, and outcome definitions, J. Cardiovasc. Pharmacol. 1991; 18(Suppl. 2):S105-S109) включает:

1. Повышение содержания сердечных ферментов:

• общая КФК более чем в 2 раза выше ВГН и/или

• КФК-МВ > 10% от общей КФК,

2. ЭКГ диагностику ИМ (т.е. прогрессирующие изменения сегмента ST и зубца T, совместимые с ОИМ, при наличии или отсутствии зубцов Q).

Дисфункция ЛЖ должна быть документирована ФВЛЖ ≤40% по результатам эхокардиограммы, радионуклидной ангиографии или ангиографии ЛЖ, определенным после рассматриваемого ОИМ и до рандомизации.

Документирование СН (Hall AS, Winter C, Bogle SM, Mackintosh AF, Murray GD, Ball SG on behalf of the AIRE Study Investigators. The acute infarction ramipril efficacy (AIRE) study: rationale, design, organization, and outcome definitions, J. Cardiovasc. Pharmacol. 1991; 18(Suppl. 2):S105-S109) включает по меньшей мере одно из следующих:

1. Отек легких (двусторонние шумы после кашля, имеющие характер потрескивания по меньшей мере над одной третью легочных полей снизу вверх, при отсутствии значительного хронического легочного заболевания);

2. Рентгенографическое исследование грудной клетки, показывающее венозный застой в легких с интерстициальным или альвеолярным отеком; или

3. Аускультативные признаки третьего тона сердца (S_3) с устойчивой тахикардией (>100 ударов в минуту).

Клинические признаки СН после ОИМ могут быть преходящими и наблюдаться в любое

время после начала рассматриваемого ОИМ и до рандомизации. Признаки СН необязательно должны присутствовать во время рандомизации.

Клинические лабораторные анализы

Клинические лабораторные анализы, гарантирующие безопасность, должны выполняться по следующим параметрам. Если возможно, забор крови следует осуществлять утром:

Гематология

Лейкоциты (по типам)

Эритроциты

Гемоглобин

Гематокрит

Содержание тромбоцитов (приблизительная оценка неприемлема)

Биохимия

Натрий

Калий

Хлорид

Кальций

Магний

Фосфат (неорганический)

BUN (мочевина)

Креатинин

Общий белок

Общий билирубин (прямой и непрямой)

Глюкоза

Щелочная фосфатаза

Гамма глутамилтрансфераза (γ-GT)

SGOT (АСТ)

SGPT (АЛТ)

ЛДГ

Креатин-фосфокиназа (КФК)

КФК-МВ (только скрининг)

Общий холестерин

ЛНП

Холестерин

Альбумин

Мочевая кислота

Холестерин ЛВП

Триглицериды

Для женщин детородного возраста сывороточный тест на беременность.

Анализ мочи

РН

Удельный вес

Кетоны

Белок

Глюкоза

Кровь

Исследователь должен изучать результаты всех лабораторных анализов и каждый исходный лабораторный доклад. Любые отклоняющиеся от нормы показатели до начала исследования, которые требуют клинического вмешательства или которые исследователь считает клинически значимыми, должны исключать пациента из участников исследования. Все лабораторные анализы должны выполняться назначенной центральной лабораторией или местной лабораторией, если это необходимо. Все исследовательские учреждения, использующие центральную лабораторию, должны обеспечиваться инструкциями и материалами для сбора и доставки образцов центральной лабораторией.

Класс по классификации Killip

Класс пациента по классификации Killip на текущий момент (Killip T and Kimball JT. Treatment of myocardial infarction in coronary care unit. A two year experience with 250 patients. Am. J. Cardiol. 1967;20:457-467) будет определяться следующим образом:

Класс I: отсутствие хрипов и третьего тона сердца;

Класс II: хрипы над каждым легочным полем до 50% или наличие третьего тона сердца;

Класс III: хрипы более чем над 50% каждого легочного поля;

Класс IV: кардиогенный шок (вследствие падения минутного объема сердца, вторичного по отношению к тяжелому заболеванию сердца, обычно, ОИМ).

Функциональная классификация New York Heart Association (NYHA)

Функциональный класс пациента по классификации NYHA на текущий момент должен определяться (Silber EN, Katz LN. The physician and the cardiac patient. Глава 12, стр. 234 в Heart Disease. New York : MacMillan Publishing Co., Inc., 1975) следующим образом:

Класс I: отсутствие симптомов при обычной физической активности;

Класс II: симптомы при обычной физической активности, но не в покое;

Класс III: симптомы при физической активности меньше обычной, но не в покое;

Класс IV: симптомы имеют место в покое.

Оценки качества жизни

Пациенты, занесенные в список участников испытания в Соединенных Штатах Америки, Соединенном Королевстве, Испании, Канаде, Бразилии, Германии, Бельгии, Франции, Нидерландах и Аргентине, должны давать следующие оценки КЖ во время периода отбора и до введения первой дозы испытуемого лекарственного средства.

1. Канзасский вопросник по кардиомиопатии (KCCQ).

Указанный специфичный в отношении конкретного заболевания инструмент для пациентов с СН был широко апробирован и утвержден для того, чтобы гарантировать правильность его оценок. Он количественно выражает весь спектр состояния здоровья, на которое повлиял синдром СН. Вопросник KCCQ из 23 пунктов количественно выражает конкретные симптомы (их частоту, тяжесть и изменение с течением времени), функцию (соматическую и социальную) и качество жизни. Специфичные в отношении конкретного заболевания измерения, как было повторно показано, являются более чувствительными в отношении клинического изменения, чем общие показатели состояния

здоровья, и KCCQ должен обеспечивать надежную оценку влияния эплеренона на состояние здоровья пациента. (Guyatt GH, Feeny DH, Patrick DL. Measuring health-related quality of life. Ann. Intern. Med. 1993;118:622-629; Spertus JA, Winder JA, Dewhurst TA, Deyo RA, Fihn SD. Monitoring the quality of life in patients with coronary artery disease. Am. J. Cardiol. 1994; 74:1240-1244).

2. Диспансеризация - краткая форма - 12 (SF-12).

SF-12 представляет собой обычный вопросник из 12 пунктов, с помощью которого можно получить общую суммарную балльную оценку соматического и психического здоровья. (Ware J Jr., Kosinksi M, Keller SD. A 12-item short-form health survey: construction of scales and preliminary tests of reliability and validity. Med. Care 1996; 34:220-233; Jenkinson C, Layte R, Jenkinson D, et al. A shorter form health survey: can the SF-12 replicate results from the SF-36 longitudinal studies? J. Public health Med. 1997;19:179-186; Gandek B, Ware JE, Aaronson NK, et al. Cross-validation of item selection and scoring for the SF-12 Health Survey in nine countries: results from IQOLA Project. International Quality of Life Assessment Project. J. Clin. Epidemiol. 1998;51: 1171-1178). В отличие от KCCQ она не является специфичной для CH и должна выявлять ограничения в состоянии здоровья, обусловленные другими сопутствующими патологическими состояниями. Тем не менее, популяционные нормы для данного инструмента являются доступными и позволят получить исходные данные для популяции пациентов при сравнении с другими исследованиями (включая исследования, посвященные лечению различных заболеваний).

3. Рейтинговая шкала состояния здоровья EuroQol.

EuroQol количественно определяет три уровня функции в пяти различных обычных областях. (Kind P. The EuroQol instrument: An index of health-related quality of life. В издании: Spilker B, ed. Quality of life and pharmacoeconomics in clinical trials. 2-е издание. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996:191-201). С включением "чувствующего термометра": она составлена из шести вопросов и может эффективно суммировать ранг состояния здоровья в один номер (пригодность), который должен использоваться для запланированного экономического анализа данного испытания. (Torrence GW. Measurement of health state utilities for economic appraisal. J. Health Econ. 1986;5:1-30).

4. Депрессивная шкала результатов медицинских исследований (MOS-D).

MOS-D была разработана для использования в программе национального исследования медицинских результатов в качестве скринингового инструмента для депрессивных расстройств в популяции медицинских пациентов. (Burnham MA, Wells KB, Leake B, Landsverk J. Development of a brief screening instrument for detecting depressive disorders. Med. Care 1988;26:775-789). Она состоит из восьми пунктов, которые представляют пункты, взятые из Diagnostic Interview Schedule (DIS) и Center for Epidemiological Studies Depression Scale (CES-D), в которых не используются соматические показатели депрессии, потенциально приводящий к ошибкам маркер депрессии среди пациентов с CH. MOS-D обладает отличной чувствительностью (93% (95% ДИ 86-97)) и хорошей специфичностью (72% (95% ДИ 68-76)). MOS-D должен использоваться как для исходного распознавания клинически значимых субпопуляций (т.е., отношения депрессивных и недепрессивных пациентов) для второстепенных и третьих по значению целей определения исходных прогностических признаков большей пользы (в отношении результатов как по смертности, так и по состоянию здоровья) от эплеренона, так и в качестве оценки чувствительности депрессии к лечению эплереноном - еще одной второстепенной цели настоящего исследования.

5. Тревожность - краткий список симптомов (BSI-A).

BSI-A представляет более короткую альтернативу Symptom Checklist 90 - Revised. Он составлен из шести пунктов, которые измеряют уровень тревожности. (Derogatis LR, Melisaratos N. The Brief Symptom Inventory: an introductory report. Psychol. Med. 1983;13:595-605). Как и в MOS-D у него есть то преимущество, что в нем не используются соматические показатели эмоциональных состояний, которые могут переоценить уровень состояний настроения у пациентов с сердечно-сосудистым заболеванием. BSI-A имеет высокое внутреннее постоянство (альфа Кронбаха = 0,85) и хорошо установленную конструктивную, конвергенционную, распознающую и прогностическую обоснованность. С учетом появляющихся публикаций по связи тревожности и сердечно-сосудистого заболевания, исходную тревожность можно использовать для оценки отличительных эффектов лечения эплереноном на состояние здоровья и показатели смертности (второстепенная и третья по значению цели настоящего исследования). Краткость и отличные психометрические свойства BSI-A делают указанное измерение исключительно полезным для начала разработки данной новой области исследований.

Образец крови для анализа ДНК

Должен быть получен образец крови 30 мл для анализа ДНК. Из данного образца 20 мл должны быть помещены в пробирки, содержащие EDTA, а 10 мл должны быть помещены в пробирки, содержащие цитрат натрия. Пробирки должны храниться при 4°C пока их не заберет курьер и немедленно не доставит в назначенную лабораторию.

Допуск пациентов

После отбора допущенным пациентам последовательно следует присвоить их номер в исследовании. Помимо этого они должны быть идентифицированы первым, средним и последним инициалами. Если пациент не имеет среднего инициала, следует использовать тире.

Период лечения

Сопутствующие лекарственные средства

На протяжении настоящего исследования использование калийсберегающих диуретиков и спиронолактона запрещается. Других ограничений по использованию сопутствующих лекарственных средств в данном испытании нет. Любое лекарственное средство разрешается, если, по мнению исследователя, оно необходимо. Пациенты должны избегать использования любых дополнительных лекарственных средств (включая лекарственные средства, отпускаемые без рецепта врача [OTC]) без разрешения исследователя.

Для всех сопутствующих лекарственных средств даты начала и окончания их использования, а также причина использования, должны фиксироваться в соответствующей CRF. Для избранных сопутствующих лекарственных средств (включая И-АПФ, антагониста AII, антиаритмики, антикоагулянты, антитромбоцитарные агенты, (β-блокаторы, блокаторы кальциевых каналов, дигоксин, диуретики, магниевые добавки, калиевые добавки и α-блокаторы), доза, а также даты начала и окончания их использования должны фиксироваться в соответствующей CRF. Все изменения при использовании указанных избранных сопутствующих лекарственных средств должны фиксироваться в соответствующей CRF.

Первоначальный 1 визит и рандомизация (0 день)

Рандомизацию нужно производить между 3 днем (>48 ч) и 10 днем после начала ОИМ (самое раннее появление симптомов), предпочтительно, до выписки из клиники.

При 1 визите (0 день) пациентов оценивают на пригодность для периода лечения. Оценки 1 визита включают:

1. Частоту сердечных сокращений в положении сидя и АД, измеренное с помощью манжетки, в положении сидя.

2. Определение функционального класса по классификации NYHA.

3. Отметку о сопутствующих лекарственных средствах.

4. Определение критериев включения/исключения.

Каждый годный пациент получит следующий доступный четырехзначный номер и будет получать лечение, назначенное данному номеру с помощью схемы рандомизации, полученной на компьютере в Searle до начала исследования.

Пациенты должны получать четырехнедельный запас двойного слепого испытуемого лекарственного средства и вновь должны быть проинструктированы о приеме одной таблетки каждое утро, запивая водой или каким-либо другим способом, указанным исследователем.

Лабораторные оценки безопасности (48 ч после рандомизации)

Уровень калия в сыворотке крови должен определяться через 48 ч после начала введения доз. Если возможно, кровь для данного анализа нужно брать утром.

Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит >5,5 мЭкв/л, но <6,0 мЭкв/л, доза испытуемого лекарственного средства должна быть снижена до следующего более низкого уровня, например, с 25 мг четыре раза в день до 25 мг четыре раза через день, с 25 мг четыре раза через день до временной отмены. Уровень калия сыворотки крови должен определяться через одну неделю после каждого изменения дозы. Изменения дозы следует осуществлять на основе самого последнего анализа уровня калия сыворотки крови. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует временно отменить. Если испытуемое лекарственное средство временно отменено, его можно вновь назначить в дозе одна таблетка четыре раза через день, когда калий сыворотки крови составит <5,5 мЭкв/л, и увеличивать дозу, как указано в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств", табл. 16. Более подробные инструкции по введению и возобновлению введения испытуемого лекарственного средства см. в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств". Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови устойчиво находится на уровне ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует окончательно отменить.

2 визит (1 неделя ± 3 дня после рандомизации)

Следующие процедуры должны быть выполнены спустя одну неделю лечения:

1. Частота сердечных сокращений в положении сидя и АД, измеренное с помощью манжетки, в положении сидя.

2. Отбор образца крови для анализа на уровень калия сыворотки. Если это возможно, кровь следует брать утром.

3. Определение функционального класса по классификации NYHA. Оценка конечных параметров.

4. Отметка о любых новых сопутствующих лекарственных средствах и любых изменениях дозы избранных лекарственных средств. Отметка о любых неблагоприятных событиях.

5. Подсчет возвращенных лекарственных средств и отметка о соблюдении пациентом режима и схемы лечения.

Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит >5,5 мЭкв/л, но <6,0 мЭкв/л, доза испытуемого лекарственного средства должна быть снижена до следующего более низкого уровня, например, с 50 мг четыре раза в день (две таблетки) до 25 мг четыре раза в день (одна таблетка), с 25 мг четыре раза в день до 25 мг четыре раза через день, с 25 мг четыре раза через день до временной отмены. Уровень калия сыворотки крови должен определяться через одну неделю после каждого изменения дозы. Изменения дозы следует осуществлять на основе самого последнего анализа уровня калия сыворотки крови. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует временно отменить. Если испытуемое лекарственное средство временно отменено, его можно вновь назначить в дозе одна таблетка четыре раза через день, когда калий сыворотки крови составит <5,5 мЭкв/л, и увеличивать дозу, как указано в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств", табл.16. Более подробные инструкции по введению и возобновлению введения испытуемого лекарственного средства см. в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств". Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови устойчиво находится на уровне ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует окончательно отменить.

3 визит (4 недели ± 3 дня после рандомизации)

Следующие процедуры должны быть выполнены после четырех недель лечения:

1. Частота сердечных сокращений в положении сидя и АД, измеренное с помощью манжетки, в положении сидя.

2. Отбор образца крови для лабораторной оценки безопасности, включая калий.

3. Отбор анализа мочи для лабораторной оценки безопасности.

4. Определение функционального класса по классификации NYHA.

5. Оценка конечных параметров.

6. Оценки ОКЖ.

7. Отметка о любых новых сопутствующих лекарственных средствах и любых изменениях дозы избранных лекарственных средств.

8. Отметка о любых неблагоприятных событиях.

9. Подсчет возвращенных лекарственных средств и отметка о соблюдении пациентом режима и схемы лечения.

10. Выдача трехмесячного запаса испытуемого лекарственного средства с карточкой для ежедневных записей о приеме лекарственных средств.

Во время данного визита пациент должен получить инструкции продолжать прием 25 мг четыре раза в день эплеренона/плацебо. Если уровень калия сыворотки крови, измеренный во время данного визита, составит <5,0 мЭкв/л, учреждение, в котором проводится исследование, должно связаться с пациентом и проинструктировать его увеличить дозу до двух таблеток в день. Если калий сыворотки

крови составит ≥5,0 мЭкв/л через 4 недели, но <5,0 мЭкв/л через 5 недель, дозу следует повысить до 50 мг четыре раза в день (две таблетки). В этом случае калий сыворотки крови следует проверить на 6 неделе. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит >5,5 мЭкв/л, но <6,0 мЭкв/л, доза испытуемого лекарственного средства должна быть снижена до следующего более низкого уровня, например, с 50 мг четыре раза в день (две таблетки) до 25 мг четыре раза в день (одна таблетка), с 25 мг четыре раза в день до 25 мг четыре раза через день, с 25 мг четыре раза через день до временной отмены. Уровень калия сыворотки крови должен определяться через одну неделю после каждого изменения дозы. Изменения дозы следует осуществлять на основе самого последнего анализа уровня калия сыворотки крови. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует временно отменить. Если испытуемое лекарственное средство временно отменено, его можно вновь назначить в дозе одна таблетка четыре раза через день, когда калий сыворотки крови составит <5,5 мЭкв/л, и увеличивать дозу, как указано в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств", таблица 16. Более подробные инструкции по введению и возобновлению введения испытуемого лекарственного средства см. в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств". Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови устойчиво находится на уровне ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует окончательно отменить.

Лабораторные оценки безопасности (5 недель после рандомизации)

Уровень калия в сыворотке крови должен определяться через 5 недель для всех пациентов. Для пациентов, у которых уровень доз не был повышен через 4 недели, дозу испытуемого лекарственного средства можно увеличить до двух таблеток четыре раза в день, если калий сыворотки крови составит <5,0 мЭкв/л. Если доза повышена при данном визите, уровень калия сыворотки крови должен быть определен через одну неделю. Если возможно, кровь для данного анализа нужно брать утром.

Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит >5,5 мЭкв/л, но <6,0 мЭкв/л, доза испытуемого лекарственного средства должна быть снижена до следующего, более низкого, уровня, например, с 50 мг четыре раза в день (две таблетки) до 25 мг четыре раза в день (одна таблетка), с 25 мг четыре раза в день до 25 мг четыре раза через

день, с 25 мг четыре раза через день до временной отмены. Уровень калия сыворотки крови должен определяться через одну неделю после каждого изменения дозы. Изменения дозы следует осуществлять на основе самого последнего анализа уровня калия сыворотки крови. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует временно отменить. Если испытуемое лекарственное средство временно отменено, его можно вновь назначить в дозе одна таблетка четыре раза через день, когда калий сыворотки крови составит <5,5 мЭкв/л, и увеличивать дозу, как указано в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств", табл. 16. Более подробные инструкции по введению и возобновлению введения испытуемого лекарственного средства см. в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств". Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови устойчиво находится на уровне ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует окончательно отменить.

4 и дальнейшие визиты (3 месяца ± 10 дней после рандомизации и далее каждые 3 месяца)

Следующие процедуры должны быть выполнены после трех месяцев лечения и далее каждые три месяца:

1. Частота сердечных сокращений в положении сидя и АД, измеренное с помощью манжетки, в положении сидя.

2. Отбор образца крови для лабораторной оценки безопасности, включая калий, и отбор анализа мочи для лабораторной оценки безопасности будут выполняться через 3, 6, 12, 18, 24 месяца и далее каждые шесть месяцев на протяжении всего исследования. Отбор крови для анализа только на калий сыворотки крови будет выполняться через 9, 15, 21 месяц и далее каждые три месяца на протяжении всего исследования.

3. Определение функционального класса по классификации NYHA.

4. Оценка конечных параметров.

5. Оценки ОКЖ будут выполняться через 3, 6 и 12 месяцев.

6. Отметка о любых новых сопутствующих лекарственных средствах и любых изменениях дозы избранных лекарственных средств.

7. Отметка о любых неблагоприятных событиях.

8. Подсчет возвращенных лекарственных средств и отметка о соблюдении пациентом режима и схемы лечения.

9. Выдача трехмесячного запаса испытуемого лекарственного средства с карточкой для ежедневных записей о приеме лекарственных средств.

Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит >5,5 мЭкв/л, но <6,0 мЭкв/л, доза испытуемого лекарственного средства должна быть снижена до следующего, более низкого, уровня, например, с 50 мг четыре раза в день (две таблетки) до 25 мг четыре раза в день (одна таблетка), с 25 мг четыре раза в день до 25 мг четыре раза через день, с 25 мг четыре раза через день до временной отмены. Уровень калия сыворотки крови должен определяться через одну неделю после каждого изменения дозы. Изменения дозы следует осуществлять на основе самого последнего анализа уровня калия сыворотки крови. Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови составит ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует временно отменить. Если испытуемое лекарственное средство временно отменено, его можно вновь назначить в дозе одна таблетка четыре раза через день, когда калий сыворотки крови составит <5,5 мЭкв/л, и увеличивать дозу, как указано в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств", табл. 16. Более подробные инструкции по введению и возобновлению введения испытуемого лекарственного средства см. в разделе "Введение испытуемых лекарственных средств". Если в любое время на протяжении исследования калий сыворотки крови устойчиво находится на уровне ≥6,0 мЭкв/л, испытуемое лекарственное средство следует окончательно отменить.

Последний визит или преждевременное прекращение приема испытуемого лекарственного средства

Следующие процедуры должны быть выполнены во время последнего визита:

1. Частота сердечных сокращений в положении сидя и АД, измеренное с помощью манжетки, в положении сидя.

2. Физикальное обследование.

3. Электрокардиограмма в 12 отведениях.

4. Отбор образца крови для лабораторной оценки безопасности, включая калий.

5. Отбор анализа мочи для лабораторной оценки безопасности.

6. Определение функционального класса по классификации NYHA.

7. Оценка конечных параметров.

8. Оценки КЖ.

9. Отметка о любых новых сопутствующих лекарственных средствах и любых изменениях дозы избранных лекарственных средств.

10. Отметка о любых неблагоприятных событиях.

11. Подсчет возвращенных лекарственных средств и отметка о соблюдении пациентом режима и схемы лечения.

При конечной оценке все отклонения от нормы должны учитываться исследователем, и он должен осуществлять наблюдение за пациентом вплоть до удовлетворительного разрешения проблемы.

Окончательное прекращение приема испытуемого лекарственного средства до завершения исследования

Если по какой-либо причине пациент окончательно прекращает прием испытуемого лекарственного средства до завершения исследования, причину данного прекращения следует занести в специальную форму об окончательном прекращении приема испытуемого лекарственного средства. Прекращение пациентом приема испытуемого лекарственного средства также должно быть зарегистрировано в центре IVRS координатором или исследователем. Пациент должен пройти процедуры, описанные в разделе 4.3.h, "Последний визит или преждевременное прекращение приема испытуемого лекарственного средства", и соответствующие CRF должны быть завершены. Ко всем данным о пациенте, полученным до прекращения приема испытуемого лекарственного средства, должен быть открыт доступ для G.D. Searle & Co., и за пациентом должны продолжать наблюдение каждые три месяца по телефону на предмет конечных результатов, до окончания исследования.

Пациент может окончательно прекратить прием испытуемого лекарственного средства по любой из следующих причин:

1. Неспособность переносить испытуемое лекарственное средство.

2. Устойчивый уровень калия сыворотки крови ≥6,0 мЭкв/л, когда пациент получает самую низкую дозу (1 таблетку через день).

3. Беременность.

4. Административные причины.

5. Любая другая причина, которая, по мнению исследователя, должна наилучшим образом отвечать интересам пациента.

6. Требование пациента о прекращении участия в исследовании. Пациент имеет право прекратить свое участие в исследовании в любое время и по любой причине.

7. Лечение спиронолактоном.

Всем понятно, что чрезмерное количество отказов от продолжения исследования может сделать невозможной интерпретацию результатов исследования; следовательно, прекращения приема испытуемых лекарственных средств без особой необходимости следует избегать. Четкое описание процедур испытания пациентами и понимание ими формы об информированном согласии не только является обязательным, но и имеет главное значение в отношении ограничения прекращения приема испытуемых лекарственных средств, не являющегося необходимым.

Обоснование размера выборки

Размер выборки и предположительная смертность

За рандомизированными пациентами должно осуществляться наблюдение до тех пор, пока количество смертей не достигнет 1012. Такое число обеспечит более 90% мощность для выявления 18,5% снижения коэффициента смертности по сравнению с группой плацебо. Когда коэффициент смертности в группе плацебо за первый год составляет 15% или выше и до 6200 пациентов продолжают участие в исследовании через 18 месяцев, целевое число 1012 смертей должно наблюдаться в течение первых 30 месяцев испытания (18 месяцев участия плюс 12 месяцев наблюдения после записи последнего пациента).

С целью оценки количества пациентов и продолжительности периода наблюдения, которые требуются для достижения указанного количества смертей, рассматривались данные трех испытаний. В данных испытаниях коэффициент смертности за один год для групп, получавших активное лечение, варьировал от 12 до 23%. В испытании AIRE, которое проводилось в нескольких европейских странах, и в испытании TRACE, которое проводилось в Дании, коэффициенты смертности за первый год в активных (И-АПФ) подгруппах составляли 16 и 23%, соответственно. (The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators. Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. Lancet 1993; 342:821-828; Kober L, Torp-Pedersen C, Carlsen JE, Bagger H, Eliasen P, Lyngborg K, Videbak J, Gole DS, Auclert L, Pauly NC, Aliot E, Persson S, Camm AJ for the Trandolapril Cardiac Evaluation (TRACE) Study Group, N. Engl. J. Med. 1995; 333: 1670-1676). В испытании AIRE, среди всех рандомизированных пациентов, которые не получали дигоксин, коэффициент смертности за первый год составлял около 12% (около 17% для пациентов, получавших дигоксин). (Spargias KS, Hall AS, Ball SG. Safety concerns about digoxin after acute myocardial infarction. Lancet 1999; 354:391-392). В испытании GISSI-3, среди пациентов, рандомизированных для получения лизиноприла, которые были живы на 3 день, имея класс по классификации Killip > I, смертность за первый год составила 22%; для данных пациентов лечение И-АПФ прекратили на 42 день, но более 50% из них продолжали лечение в течение длительного периода времени. Таблица ниже представляет требующееся количество пациентов и продолжительность наблюдения на основе трех различных оценок для коэффициента смертности в группе плацебо за один год (12, 15 и 18%). Такие результаты были получены с использованием программного обеспечения, описанного Shih в 1995 г. (Shih JH. Sample size calculation for complex clinical trials with survival endpoints. Controlled Clinical Trials 1995;16:395-407.

Расчеты предполагают снижение риска смертности, подобное тому, которое наблюдалось в подгруппе активного лечения в испытании AIRE. Сходные результаты были получены с использованием результатов испытания TRACE. Использовались активные подгруппы, а не подгруппы плацебо, таких испытаний с ис-

пользованием И-АПФ, поскольку настоящее испытание будет разрешать использование фоновой медикаментозной терапии, включая И-АПФ, всем пациентам. Предполагается также, что отношение рисков между двумя подгруппами лечения остается постоянным с течением времени (пропорциональные риски) и что более высокая скорость восстановления здоровья будет наблюдаться в последние 12 месяцев периода участия, чем в первые шесть месяцев.

Таблица 17. Количество пациентов, которых следует внести в список участников, при различных величинах предположительной смертности

			Количество пациентов, которых следует внести в список (округление до 100)				
Снижение риска смерти (%)	Целевое количество смертей	Коэффициент смертности в группе плацебо за 1-й год (%)	Наблюдение 12 месяцев	Наблюдение 15 месяцев	Наблюдение 18 месяцев	Наблюдение 21 месяц	Наблюдение 24 месяца
15,0	1,598	12	11600	10800	10100	9400	8900
		15	9300	8700	8100	7600	7200
		18	7800	7300	6800	6400	6000
18,5	1,012	12	7500	6900	6500	6100	5700
		15	6000	5600	5200	4900	4600
		18	5000	4700	4400	4100	3900
22,0	687	12	5200	4800	4500	4200	4000
		15	4200	3900	3600	3400	3200
		18	3500	3200	3000	2800	2700

Наблюдение через 18 месяцев после внесения в список участников

Снижение смертности в ходе исследования составило 27% в испытании AIRE и 22% в испытании TRACE. В ходе настоящего испытания ожидается меньший эффект лечения по сравнению с более ранними испытаниями, поскольку подгруппы активного лечения в более ранних испытаниях, как ожидается, должны быть более схожими с подгруппой плацебо настоящего испытания. Таким образом, при разработке концепции размеров выборки учитывались такие величины снижения смертности за первый год, как 15, 18,5 и 22%. Следует отметить, что в недавнем испытании RALES активный агент, обладающий тем же механизмом действия, что и эплеренон, приводил к снижению смертности по сравнению с плацебо, хотя и на другой популяции пациентов. (Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, Palensky J, Wittes J for the Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. New Engl. J. Med. 1999; 341(10):709-717). В испытании RALES большинство пациентов в каждой подгруппе лечения получали обычную терапию, помимо назначенного им испытуемого лекарственного средства.

Невозможность дальнейшего наблюдения за пациентами

Приблизительный расчет размеров выборки не был скорректирован на случаи возможного отсутствия дальнейшего наблюдения за пациентами, поскольку процедуры управления исследованием, как ожидается, поддерживают эту возможность на уровне менее 1%.

Исходный и демографический анализ

Сравнимость групп лечения с точки зрения исходных и демографических факторов должна изучаться с использованием t-критериев для непрерывных переменных и методов chi-квадратов для безусловных переменных.

Анализ эффективности

Главные и второстепенные конечные результаты

Все статистические анализы главных и второстепенных конечных результатов должны следовать принципу "нацеленности на лечение". Данные по рандомизированным пациентам должны анализироваться в соответствии с оригинальным назначенным пациенту лечением и за всеми пациентами должно осуществляться наблюдение на предмет смертности и других главных конечных результатов на протяжении всего исследования, независимо от соблюдения ими режима и схемы приема испытуемых лекарственных средств.

Каждый конечный результат во "времени до события" должен анализироваться с использованием логарифмического рангового критерия на общем уровне 0,05, рассчитываемого, как необходимо для промежуточных анализов. Для того, чтобы быть включенным в статистический анализ, по любому подлежащему рассмотрению событию конечного результата должно быть вынесено решение комитета по критическим событиям (Critical Events Committee). Кривые Каплана-Мейера должны использоваться для суммирования различных распределений "времени до события". Предварительные анализы указанных конечных результатов с использованием исходных характеристик в качестве ковариантов, можно осуществлять с помощью регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса, для определения относительных коэффициентов риска и 95% доверительных интервалов.

Логарифмические ранговые критерии и регрессионные анализы Кокса должны быть стратифицированы по географическому региону. Регионы должны состоять из Соединенных Штатов Америки и Канады; Латинской Америки; Западной Европы и Восточной Европы, ко-

торые также будут включать Австралию, Новую Зеландию, Израиль и Южную Африку.

Качество жизни

Подходящие статистические методы будут использоваться для анализа оценки КЖ. Инструменты, подлежащие анализу, включают KCCQ, SF-12, рейтинговую шкалу состояния здоровья EuroQol, депрессивную шкалу MOS-D и шкалу тревожности BSI-A.

Анализы по подгруппам

Анализы главных и второстепенных конечных результатов должны быть выполнены по подгруппам. Подгруппы должны составляться на основании исходных записей о расе (черная, нечерная), поле, возрасте, наличии диабета, фракции выброса, калии сыворотки крови, креатинине сыворотки крови, использовании β-блокаторов, использовании дигоксина, использовании калиевых добавок, первом или последующем ОИМ, классе Killip, состоянии реперфузии, анамнезе гипертензии, анамнезе СН, анамнезе курения, анамнезе стенокардии, времени от рассматриваемого случая ОНМ до рандомизации и географическом регионе. Подгруппы, основанные на непрерывных измерениях, таких как возраст, фракция выброса, калий сыворотки крови и креатинин сыворотки крови, должны быть дихотомизированы по величине медианы.

Анализ безопасности

Все пациенты, которые получали по меньшей мере одну дозу испытуемого лекарственного средства, должны быть включены в анализ безопасности. Рутинные данные по безопасности должны быть собраны только для пациентов, все еще принимающих испытуемое лекарственное средство.

Симптомы и неблагоприятные события

Все неблагоприятные события должны быть закодированы и суммированы по группе лечения. Появление неблагоприятных событий во время лечения должно фиксироваться в таблицах по лечебной группе и по системе организма, а также по тяжести и определению. Помимо этого частота неблагоприятных событий, вызывающих прекращение приема испытуемого лекарственного средства, и тяжелые неблагоприятные события должны быть суммированы по лечебной группе. Только те неблагоприятные и тяжелые неблагоприятные события, которые наблюдаются в течение 30 дней после получения пациентом последней дозы испытуемого лекарственного средства, следует включать в анализ безопасности.

Показатели жизненно важных функций

Показатели жизненно важных функций должны быть перечислены и суммированы по намеченному времени и лечению. Изменения частоты сердечных сокращений и АД по сравнению с исходными величинами должны анализироваться с помощью анализа ковариансы, с исходным значением в качестве ковариантa.

Клинические лабораторные анализы

Данные клинических лабораторных анализов должны быть суммированы и сравниваться по лечебным группам. В лечебной группе изменения исходных величин по сравнению с величинами после лечения должны анализироваться с помощью парного t-критерия. Различия между лечебными группами должны оцениваться с использованием анализа ковариансы, с исходным значением в качестве ковариантa. Таблицы сдвигов должны использоваться для графического изображения сдвигов в лабораторных показателях. Указанные таблицы сдвигов должны выявлять те лабораторные показатели, которые по отношению к клинике являются высокими или низкими, как исходно, так и после лечения. Появление клинически значимых лабораторных результатов должно быть сведено в таблицу по лечебной группе.

Комиссии

Во взаимодействии со спонсором комиссия по выработке регламента (Steering Committee), включающая ведущих исследователей от каждой страны или региона-участника, должно осуществлять надзор за испытанием. Должна существовать также независимая коллегия по вопросам мониторинга данных по безопасности (Data Safety Monitoring Board). По всем конечным результатам должно быть вынесено решение комитета по критическим событиям (Critical Events Committee).

Steering Committee

Steering Committee должна включать ведущих исследователей от каждой страны или региона-участника, спонсора и независимого статистика. В отношении результатов исследования она должна оставаться неинформированной в течение всего испытания. Она должна осуществлять надзор за проведением и обнародованием результатов испытания, включая разработку сети исследователей, гарантированное экспертное клиническое руководство и высокий стандарт научного качества, а также внесение всех необходимых изменений в протокол исследования. Устав Steering Committee должен определять сферу ответственности указанной комиссии.

Critical Events Committee (CEC) (комитет по критическим событиям)

Целью независимого комитета Critical Events Committee (CEC) является классификация причин всех типов конечных результатов для каждого пациента во время данного испытания. Указанный комитет должен изучать документацию по каждому сомнительному типу конечного результата и оставаться неинформированным в отношении лечебных назначений. CEC должен оценивать характер каждого события и определять, удовлетворяются ли заранее перечисленные критерии конечных результатов. Устав CEC должен определять сферу ответственности указанного комитета.

Data Safety Monitoring Board (DSMB) и промежуточные анализы

Независимая коллегия DSMB должна быть составлена для мониторинга безопасности и эффективности испытания и для определения того, существуют ли различия в лечении, достаточные для преждевременного прекращения испытания. DSMB должна состоять из пяти членов: четырех кардиологов, экспертов в области диагностики сердечной недостаточности и ее прогрессирования, и одного медицинского статистика, эксперта в области анализа данных клинических испытаний. Один из членов должен выполнять обязанности председателя. Ни один из членов DSMB не должен работать в качестве исследователя в настоящем исследовании. Устав DSMB должен определять сферу ответственности указанной коллегии.

Решения о раннем прекращении исследования в связи с эффективностью должны определяться границей типа О'Брайена-Флеминга с расходной функцией альфа Lan-DeMets. Рекомендации DSMB доводят до сведения председателя Steering Committee для постановления о прекращении исследования.

Для поддержания закрытости информации в Searle и среди других участников исследования внешняя статистическая группа должна готовить все аспекты промежуточных докладов и контактировать непосредственно с DSMB.

Центр IVRS

Центр IVRS должен использоваться для назначения в группы лечения и слежения за отбором, отзывом и медицинскими поставками.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Комбинация, включающая терапевтически эффективное количество эпоксистероидного антагониста рецепторов альдостерона и терапевтически эффективное количество ингибитора ангиотензинпревращающего фермента, причем указанный ингибитор ангиотензинпревращающего фермента выбран из группы, состоящей из алацеприла, беназеприла, каптоприла, цилазаприла, делаприла, эналаприла, эналаприлата, фозиноприла, фозиноприлата, имидаприла, лизиноприла, периндоприла, хинаприла, рамиприла, саралазинацетата, темокаприла, трандолаприла, церанаприла, моэксиприла, хинаприлата, спираприла, Bioproject BP1.137, Chiesi CHF 1514, Fisons FPL-66564, идраприла, Marion Merrell Dow MDL-100240, периндоприлата и Servier S-5590.

2. Комбинация по п.1, в которой указанный эпоксистероидный антагонист рецепторов альдостерона присутствует в количестве, которое является терапевтически эффективным в отношении антагонизма к альдостерону, но которое не является достаточным для указанного антагониста рецепторов альдостерона, чтобы вызвать значительный неблагоприятный побочный эффект.

3. Комбинация по п.1, в которой указанный ингибитор ангиотензинпревращающего фермента выбран из группы, состоящей из алацеприла, беназеприла, каптоприла, цилазаприла, делаприла, эналаприла, эналаприлата, фозиноприла, фозиноприлата, имидаприла, лизиноприла, периндоприла, хинаприла, рамиприла, саралазинацетата, темокаприла, трандолаприла, церанаприла, моэксиприла, хинаприлата и спираприла.

4. Комбинация по п.1, в которой указанный антагонист рецепторов альдостерона представляет соединение эпоксистероидного типа, которое характеризуется наличием 9α-, 11α-замещенного эпоксифрагмента.

5. Комбинация по п.4, в которой указанное соединение эпоксистероидного типа представляет эплеренон.

6. Комбинация по п.1, отличающаяся тем, что указанный ингибитор ангиотензинпревращающего фермента и указанный антагонист рецепторов альдостерона присутствуют в указанной комбинации в пределах массовых соотношений приблизительно от 0,5 к 1 до 20 к 1 указанного ингибитора ангиотензинпревращающего фермента к указанному антагонисту рецепторов альдостерона.

7. Комбинация по п.6, в которой указанные пределы массовых соотношений составляют приблизительно от 1 к 1 до 15 к 1.

8. Комбинация по п.7, в которой указанные пределы массовых соотношений составляют приблизительно от 1 к 1 до 5 к 1.

9. Комбинированная терапия для лечения сердечно-сосудистых заболеваний у субъекта, страдающего или склонного к множеству сердечно-сосудистых заболеваний, включающая введение терапевтически эффективного количества двухкомпонентной комбинации, состоящей, по существу, из эпоксистероидного антагониста рецепторов альдостерона в качестве первого компонента, и ингибитора ангиотензинпревращающего фермента в качестве второго компонента, причем указанный ингибитор ангиотензинпревращающего фермента выбран из группы, состоящей из алацеприла, беназеприла, каптоприла, цилазаприла, делаприла, эналаприла, эналаприлата, фозиноприла, фозиноприлата, имидаприла, лизиноприла, периндоприла, хинаприла, рамиприла, саралазинацетата, темокаприла, трандолаприла, церанаприла, моэксиприла, хинаприлата, спираприла, Bioproject BP1.137, Chiesi CHF 1514, Fisons FPL-66564, идраприла, Marion Merrell Dow MDL-100240, периндоприлата и Servier S-5590.

10. Комбинированная терапия по п.9, при которой указанный эпоксистероидный антагонист рецепторов альдостерона присутствует в количестве, которое является терапевтически эффективным в отношении антагонизма к аль-

достерону, но которое не является достаточным, чтобы вызвать неблагоприятный побочный эффект.

11. Комбинированная терапия по п.9, при которой указанный ингибитор ангиотензинпревращающего фермента выбран из группы, состоящей из алацеприла, беназеприла, каптоприла, цилазаприла, делаприла, эналаприла, эналаприлата, фозиноприла, фозиноприлата, имидаприла, лизиноприла, периндоприла, хинаприла, рамиприла, саралазинацетата, темокаприла, трандолаприла, церанаприла, моэксиприла, хинаприлата и спираприла.

12. Комбинированная терапия по п.9, отличающаяся тем, что указанный ингибитор ангиотензинпревращающего фермента и указанный эпоксистероидный антагонист рецепторов альдостерона вводят последовательно.

13. Комбинированная терапия по п.9, отличающаяся тем, что указанный ингибитор ангиотензинпревращающего фермента и указанный эпоксистероидный антагонист рецепторов альдостерона вводят одновременно.

14. Комбинированная терапия по п.9, при которой указанный эпоксистероидный антагонист рецепторов альдостерона представляет соединение, которое характеризуется наличием 9α-, 11α-замещенного эпоксифрагмента.

15. Комбинированная терапия по п.14, при которой указанное эпоксистероидное соединение представляет эплеренон.

16. Комбинированная терапия по п.9, отличающаяся тем, что указанный ингибитор ангиотензинпревращающего фермента и указанный эпоксистероидный антагонист рецепторов альдостерона используют в указанной комбинированной терапии в пределах массовых соотношений приблизительно от 0,5 к 1 до 20 к 1 указанного ингибитора ангиотензинпревращающего фермента к указанному антагонисту рецепторов альдостерона.

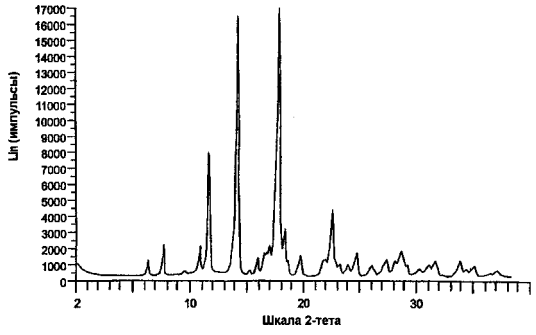
17. Комбинированная терапия по п.16, при которой указанные пределы массовых соотношений составляют приблизительно от 1 к 1 до 15 к 1.

18. Комбинированная терапия по п.17, при которой указанные пределы массовых соотношений составляют приблизительно от 1 к 1 до 5 к 1.

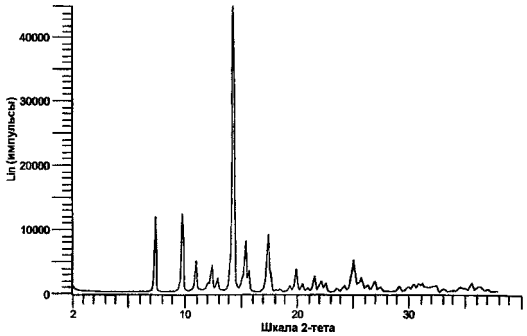
19. Комбинированная терапия по п.9, при которой указанный ингибитор ангиотензинпревращающего фермента представляет каптоприл в пределах доз приблизительно от 40 до 80 мг на дозу, или представляет эналаприл в пределах доз приблизительно от 5 до 25 мг на дозу.

20. Комбинированная терапия по п.9, при которой указанный ингибитор ангиотензинпревращающего фермента представляет рамиприл в пределах доз приблизительно от 2 до 20 мг на дозу, или представляет лизиноприл в пределах доз приблизительно от 5 до 25 мг на дозу.

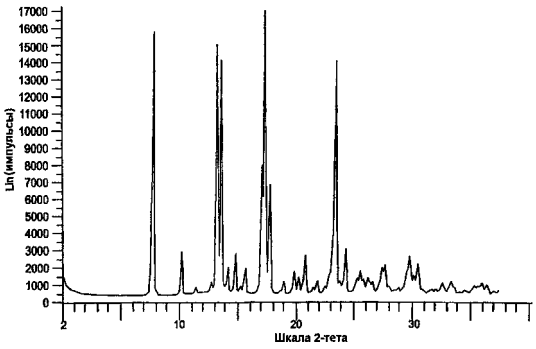
21. Комбинированная терапия по пп.9, 19 или 20, при которой указанный эпоксистероидный антагонист рецепторов альдостерона представляет эплеренон в пределах доз приблизительно от 25 до 100 мг на дозу.



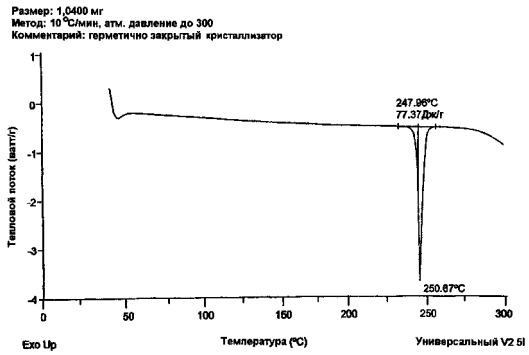
Фиг. 1А



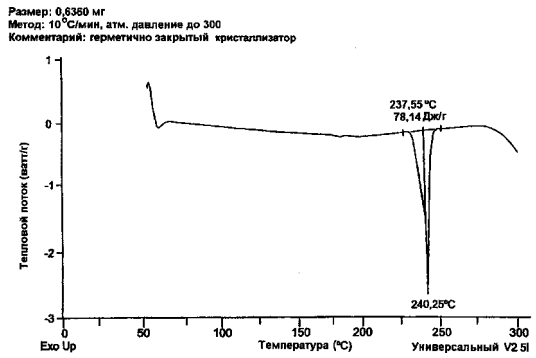
Фиг. 1В



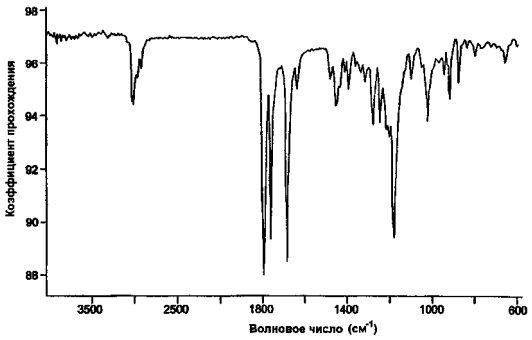
Фиг. 1C



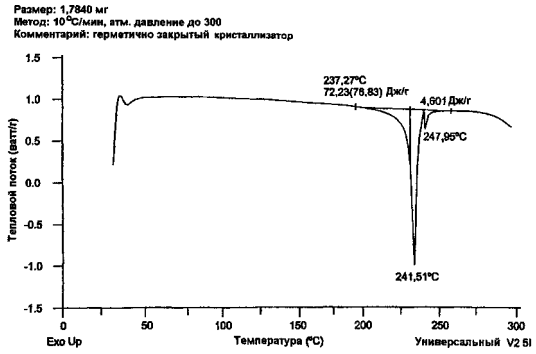
Фиг. 2D



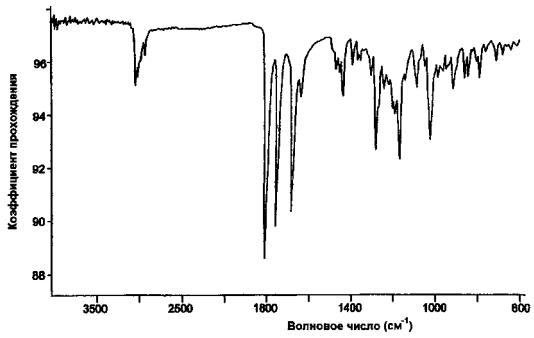
Фиг. 2A



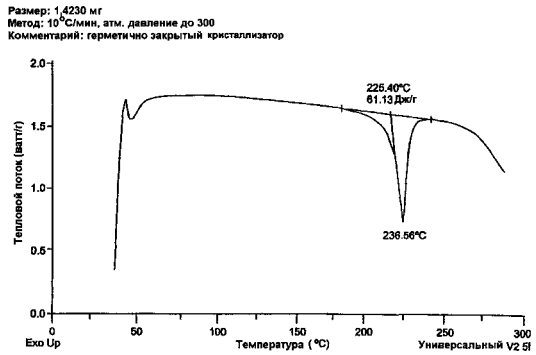
Фиг. 3A



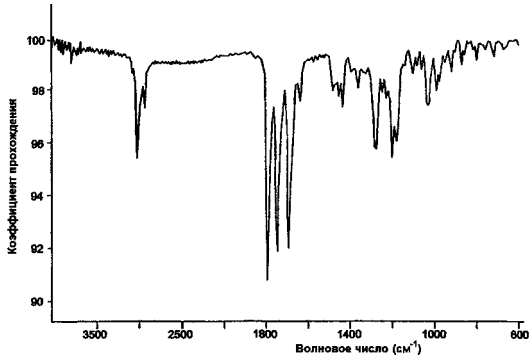
Фиг. 2B



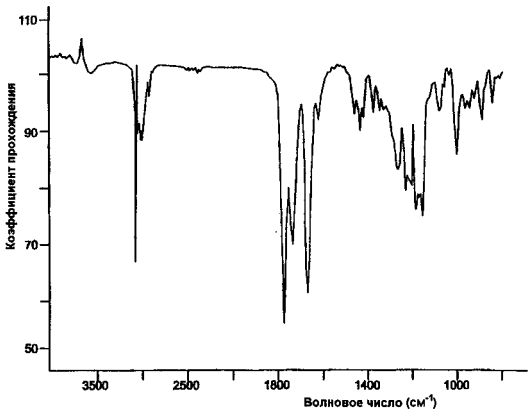
Фиг. 3B



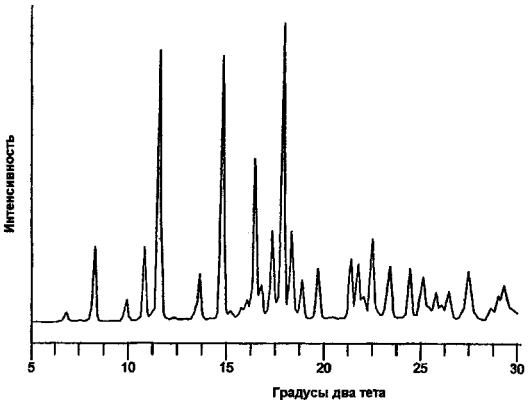
Фиг. 2C



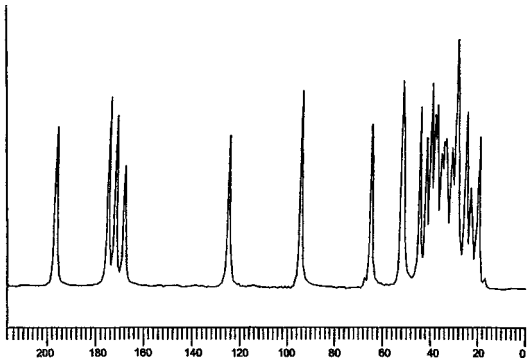
Фиг. 3C



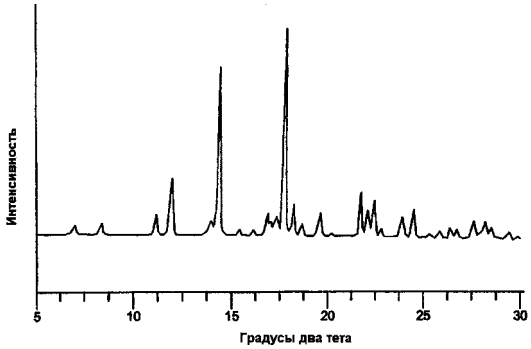
Фиг. 3D



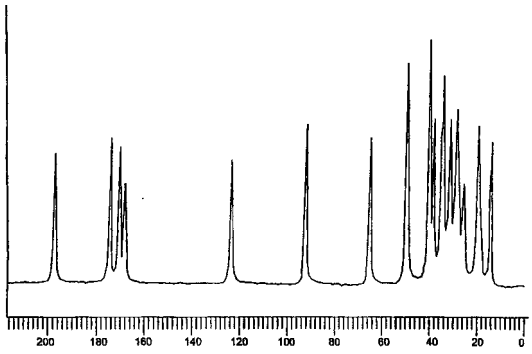
Фиг. 7



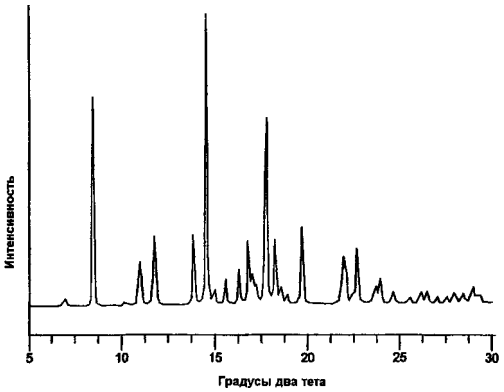
Фиг. 4



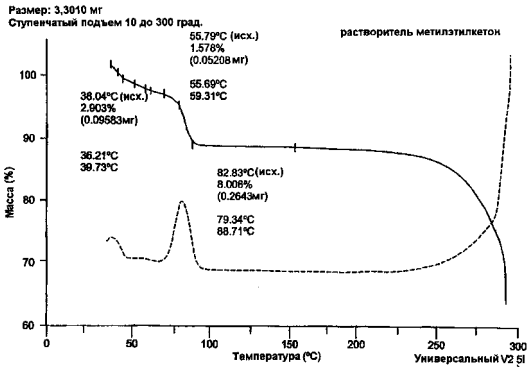
Фиг. 8



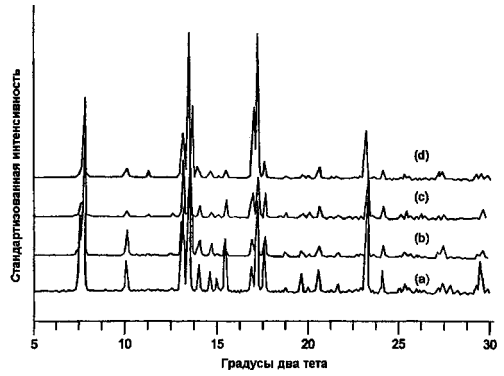
Фиг. 5



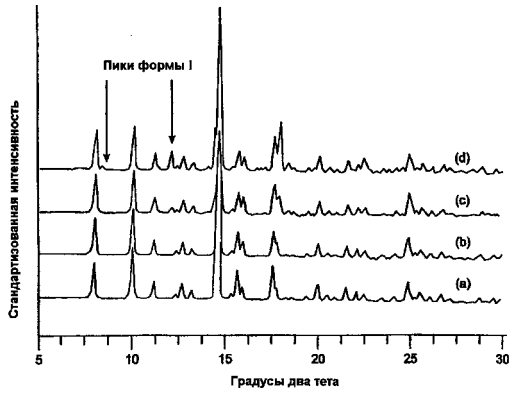
Фиг. 9



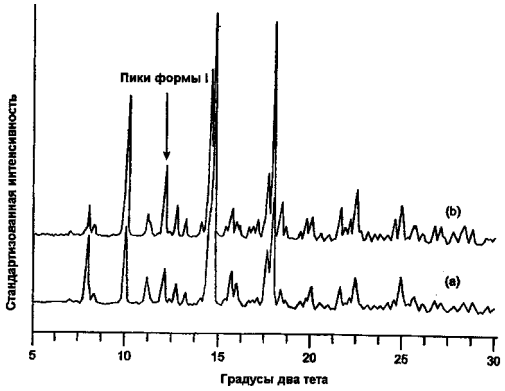
Фиг. 6A



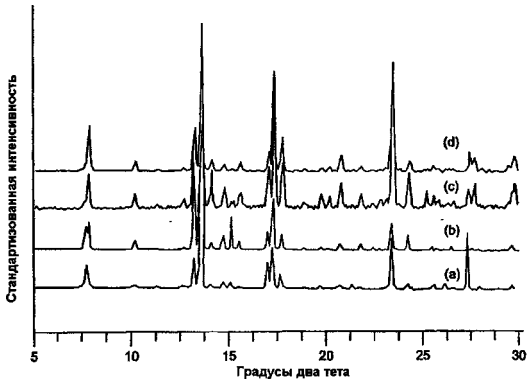
Фиг. 10



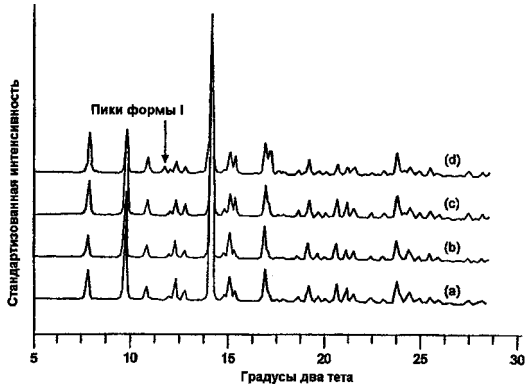
Фиг. 11



Фиг. 12



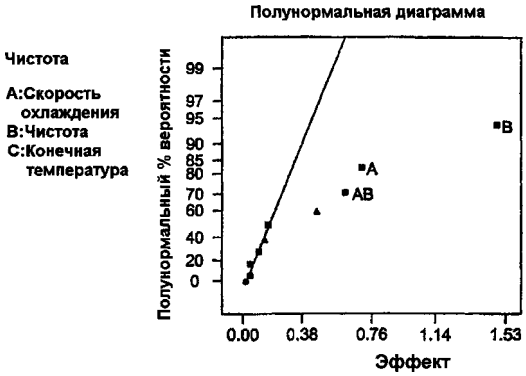
Фиг. 13



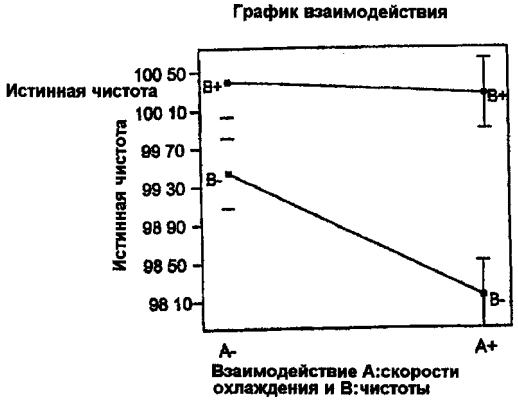
Фиг. 14



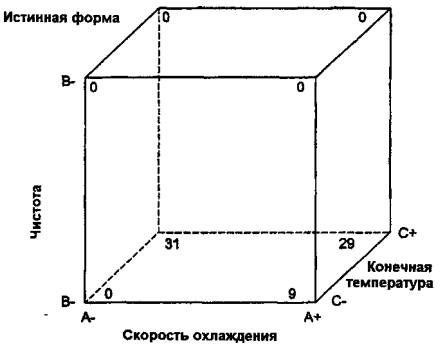
Фиг. 15



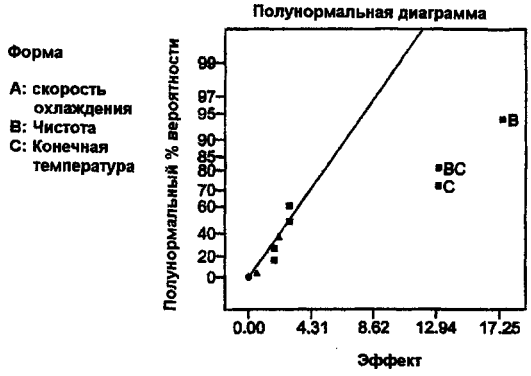
Фиг. 16



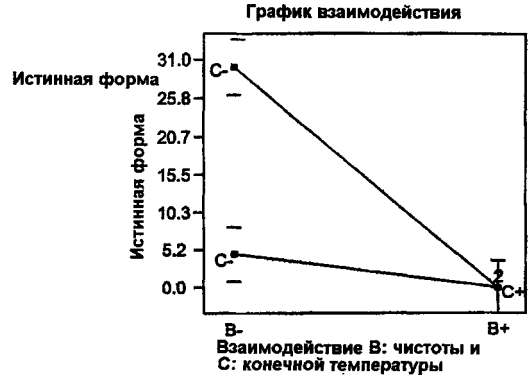
Фиг. 17



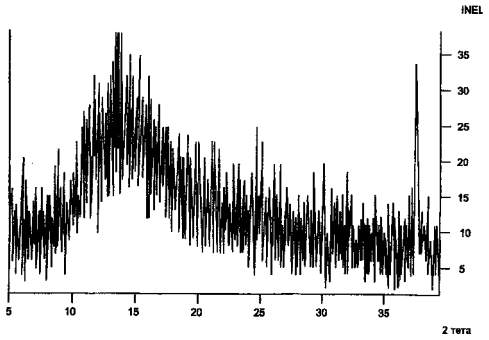
Фиг. 18



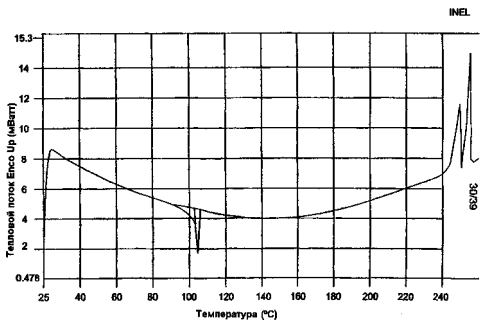
Фиг. 19



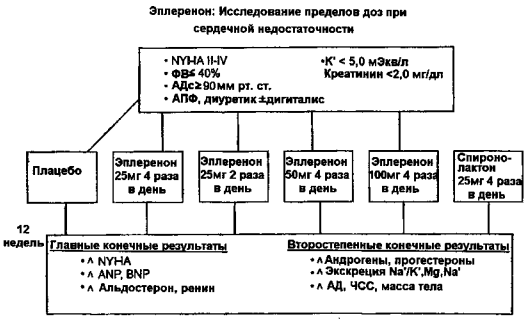
Фиг. 20



Фиг. 21



Фиг. 22



Фиг. 23

Исходные показатели

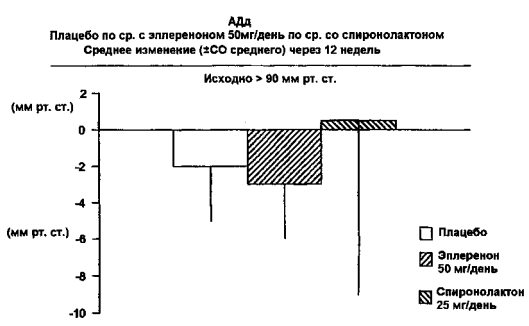
Средняя переменная (СО)	Плацебо n=55	ЭПЛЕРЕНОН: Эплеренон 25мг 4 раза в день n=63	Эплеренон 25мг 2 раза в день n=52	Эплеренон 50мг 4 раза в день n=55	Эплеренон 100мг 4 раза в день n=50	Спиронолактон 25мг 4 раза в день n=46	величина p
Возраст	60	62	61	62	61	62	0.9
M/I (%)	80/20	78/24	81/19	80/20	78/22	72/28	0.9
NYHA II III (%)	100	97	94	100	98	100	
NYHA IV (%)	0	3	6	0	2	0	
I I (%)	29	29	29	30	30	30	0 8
ЧСС (уд./мин)	74	76	76	73	76	76	0.7
АДс (мм рт. ст.)	127	124	128	125	129	130	0.4
АДд (мм рт. ст.)	78	78	79	78	78	78	1.0
K' (ммольл)	4.48	4.38	4.28	4.34	4.38	4.45	0.2
Креатинин (ммольл)	107	109	104	107	109	107	0.7

Фиг. 24

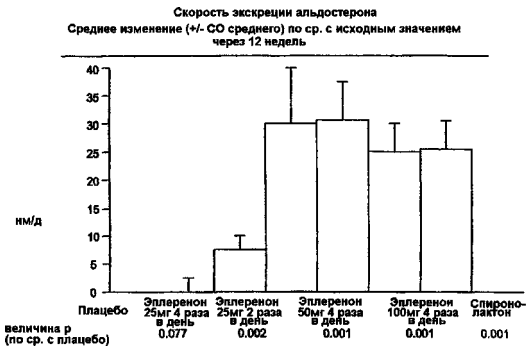
Сопутствующие лекарственные средства

Категория	% пациентов	Средняя доза (мг/день)
• Ингибитор АПФ		
Каптоприл	30	62
Эналаприл	30	15
Лизиноприл	15	15
• Петлевой диуретик		
Фуросемид	85	50
• Прочие		
Дигиталис	55	
бета-Блокаторы	35	
Аспирин	35	
Антикоагулянты	35	
Калиевые добавки	25	
Антагонист кальция	25	

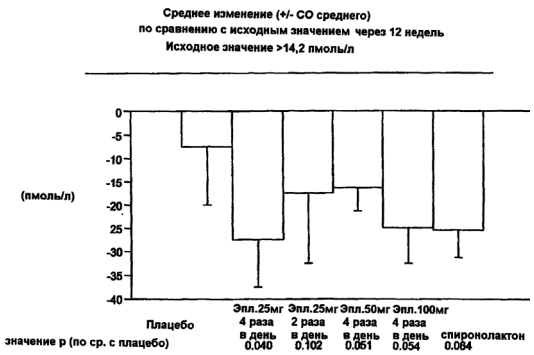
Фиг. 25



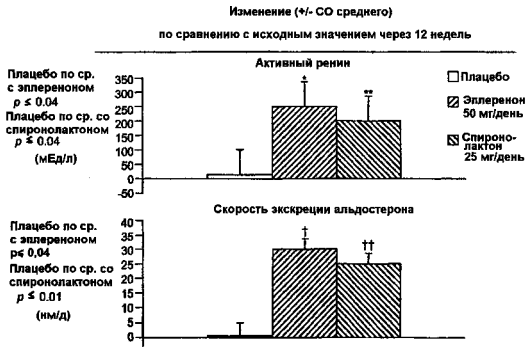
Фиг. 26



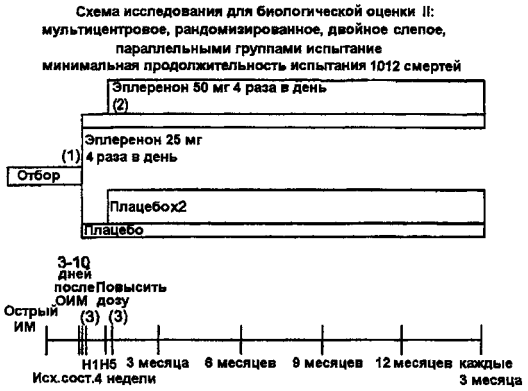
Фиг. 27



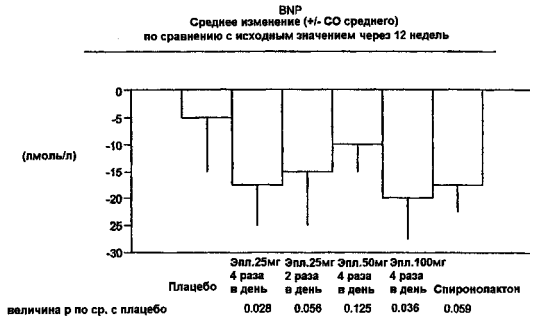
Фиг. 30



Фиг. 28



Фиг. 31



Фиг. 29