

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 037508

(13) B1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2021.04.06

(21) Номер заявки  
201891578

(22) Дата подачи заявки  
2017.01.06

(51) Int. Cl. A61K 31/454 (2006.01)  
C07D 401/04 (2006.01)  
C07D 417/14 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИИ 2-(4-ХЛОРФЕНИЛ)-N-((2-(2,6-ДИОКСОПИПЕРИДИН-3-ИЛ)-1-ОКСОИЗОИНДОЛИН-5-ИЛ)МЕТИЛ)-2,2-ДИФТОРАЦЕТАМИДА

(31) 62/276,756

(32) 2016.01.08

(33) US

(43) 2018.11.30

(86) PCT/US2017/012483

(87) WO 2017/120437 2017.07.13

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
СЕЛДЖИН КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:  
Хьюи Хо-Вах, Пью Ю (US)

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

(56) US-A1-20140328832  
US-A1-20120252844  
US-A1-20120122865  
WO-A1-2016007848

(57) В изобретении предложены лиофилизированные композиции 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа. В изобретении также предложены способы применения указанных композиций и лекарственных форм для лечения, сдерживания развития и/или предупреждения рака.

B1

037508

037508

B1

### Перекрестная ссылка на родственную заявку

В данной заявке заявлен приоритет по предварительной заявке США № 62/276756, поданной 8 января 2016 г., полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки.

### Область техники

В настоящем документе предложены композиции и лекарственные формы 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида или его стереоизомера, или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа. В настоящем документе также предложены способы применения указанных композиций и лекарственных форм для лечения, сдерживания развития и/или предупреждения рака.

### Уровень техники

Лекарственные вещества обычно вводят в составе лекарственной формы в комбинации с одним или более другими агентами, которые выполняют различные и специализированные фармацевтические функции. Лекарственные формы различных типов можно получать посредством выборочного применения фармацевтических вспомогательных веществ. Фармацевтические вспомогательные вещества выполняют различные функции и различным образом способствуют получению фармацевтических композиций, например, обеспечивая солубилизацию, растворение, загущение, стабилизацию, консервирование, окрашивание, изменение вкуса и т.д. Свойства фармацевтических вспомогательных веществ, которые учитывают при составлении композиции активного лекарственного вещества, включают биодоступность, простоту производства, простоту введения и стабильность лекарственной формы. Вследствие различных свойств активного вещества, подлежащего составлению в композицию, а также перекрестной активности между вспомогательными веществами, для лекарственных форм обычно необходимы фармацевтические вспомогательные вещества, которые уникально подобраны для достижения преимущественных физических и фармацевтических свойств активного лекарственного вещества.

Тем не менее, применение фармацевтических вспомогательных веществ при составлении лекарственных форм в некоторых случаях может вызывать нежелательные неблагоприятные реакции с активным ингредиентом, которые проявляются, например, при продолжительном хранении или в контакте с водой. Действительно, хорошо известно, что свойства готовой лекарственной формы (например, ее биодоступность и стабильность) в значительной степени сильно зависят от выбранных вспомогательных веществ, их концентрации и взаимодействия с активным соединением и друг с другом. Вспомогательные вещества являются более чем инертными или неактивными ингредиентами, и их следует выбирать так, чтобы избежать перекрестного взаимодействия с активными ингредиентами и другими вспомогательными веществами в композиции. Выбор совместимых вспомогательных веществ играет первостепенную роль при составлении лекарственных форм для обеспечения надлежащей доставки активного ингредиента и получения стабильной композиции лекарственной формы.

Показано, что 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамид или его стереоизомер, или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемая соль, таутомер, пролекарство, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф обладают противораковой активностью. Существует потребность в композициях 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида или его стереоизомера, или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа для лечения рака.

### Краткое описание сущности изобретения

В настоящем документе предложены лиофилизированные композиции, содержащие 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамид или его стереоизомер, или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф ("Соединение 1") и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. Соединение 1 описано в патенте США № 9499514 и в международной публикации № WO 2016/007848, описание каждой из которых включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме. В одном варианте реализации Соединение 1 представляет собой полиморфную Форму А, Форму В, Форму С, Форму D, Форму Е или аморфную форму 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида. В одном варианте реализации Соединение 1 представляет собой полиморфную Форму С 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида. Полиморфы 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида описаны в настоящем документе и в предварительной заявке на патент США, поданной одновременно с настоящей заявкой и озаглавленной "Solid forms of 2-(4-chlorophenyl)-n-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1-oxoisoin-dolin-5-yl)methyl)-2,2-difluoroacetamide, and their pharmaceutical compositions and uses", полное описание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, содержат твердую форму 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида. В некоторых вариантах реализации лиофилизиро-

ванные композиции, предложенные в настоящем документе, содержат аморфную форму 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида.

В одном аспекте лиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, подходят для восстановления подходящим разбавителем до соответствующей концентрации непосредственно перед введением. В одном варианте реализации лиофилизированная композиция стабильна при комнатной температуре. В одном варианте реализации лиофилизированная композиция стабильна при комнатной температуре в течение до примерно 24 месяцев. В одном варианте реализации лиофилизированная композиция стабильна при комнатной температуре в течение до примерно 24 месяцев, до примерно 18 месяцев, до примерно 12 месяцев, до примерно 6 месяцев, до примерно 3 месяцев или до примерно 1 месяца. В одном варианте реализации лиофилизированная композиция стабильна при хранении в ускоренных условиях 40°C/75% ОВ в течение до примерно 12 месяцев, до примерно 6 месяцев или до примерно 3 месяцев.

В одном аспекте лиофилизированная композиция, предложенная в настоящем документе, подходит для восстановления водным раствором для внутривенного введения. В одном аспекте лиофилизированная композиция, предложенная в настоящем документе, подходит для восстановления водой. В одном варианте реализации восстановленный водный раствор стабилен при комнатной температуре в течение до примерно 24 ч после восстановления. В одном варианте реализации восстановленный водный раствор стабилен при комнатной температуре в течение примерно 1-24, 2-20, 2-15, 2-10 ч после восстановления. В одном варианте реализации восстановленный водный раствор стабилен при комнатной температуре в течение до примерно 20, 15, 12, 10, 8, 6, 4 или 2 ч после восстановления. В некоторых вариантах реализации лиофилизированные композиции после восстановления имеют pH от примерно 4 до 5.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, содержат Соединение 1, агент для изменения pH и объемообразующий агент.

В одном варианте реализации лиофилизированная композиция, предложенная в настоящем документе, содержит примерно 0,1-2% Соединения 1, примерно 1-15% буфера и примерно 70-95% объемообразующего агента относительно общей массы лиофилизированной композиции.

В другом аспекте в настоящем документе предложена лиофилизированная композиция, содержащая Соединение 1 в количестве от примерно 0,1 до примерно 2% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В другом аспекте в настоящем документе предложена лиофилизированная композиция, которая содержит Соединение 1 в количестве от примерно 0,1 до примерно 5 мг во флаконе, например во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>.

В одном аспекте композиции, предложенные в настоящем документе, содержат цитратный буфер в количестве от примерно 5 до примерно 25% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В одном варианте реализации цитратный буфер содержит безводную лимонную кислоту и безводный цитрат натрия.

В одном аспекте объемообразующий агент в композициях, предложенных в настоящем документе, включает Captisol®, маннит или Kleptose®, например β-циклодекстрин, гидроксипропил-β-циклодекстрин и метилированный β-циклодекстрин.

В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложена единичная лекарственная форма, содержащая лиофилизированную композицию, причем лиофилизированная композиция содержит Соединение 1, буфер и объемообразующий агент.

В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложен контейнер, содержащий лиофилизированную композицию, предложенную в настоящем документе. В одном аспекте указанный контейнер представляет собой стеклянный флакон.

В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы лечения, предупреждения или облегчения рака, включая солидные опухоли и гематологические опухоли, или одного или более его симптомов или причин. В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы предупреждения рака, включая солидные опухоли и гематологические опухоли, или одного или более его симптомов или причин. В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы облегчения рака, включая солидные опухоли и гематологические опухоли, или одного или более его симптомов или причин. В некоторых вариантах реализации гематологическая опухоль представляет собой лейкоз. В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают способы лечения различных форм лейкозов, таких как хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз и острый миелобластный лейкоз. В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают способы предупреждения различных форм лейкозов, таких как хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз и острый миелобластный лейкоз. В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают способы сдерживания развития различных форм лейкозов, таких как хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз и острый миелобластный лейкоз. Способы, предложенные

в настоящем документе, включают лечение лейкозов, которые являются рецидивирующими, рефрактерными или устойчивыми. Способы, предложенные в настоящем документе, включают предупреждение лейкозов, которые являются рецидивирующими, рефрактерными или устойчивыми. Способы, предложенные в настоящем документе, включают сдерживание развития лейкозов, которые являются рецидивирующими, рефрактерными или устойчивыми. В одном варианте реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают способы лечения острого миелоидного лейкоза. В одном варианте реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают способы предупреждения острого миелоидного лейкоза. В одном варианте реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают способы сдерживания развития острого миелоидного лейкоза. В одном варианте реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают способы лечения миелодиспластического синдрома. В одном варианте реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают способы предупреждения миелодиспластического синдрома. В одном варианте реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают способы сдерживания развития миелодиспластического синдрома.

В одном варианте реализации в настоящем документе предложены способы лечения острого миелоидного лейкоза посредством внутривенного введения композиции, содержащей Соединение 1. В одном варианте реализации в настоящем документе предложены способы лечения миелодиспластического синдрома посредством внутривенного введения композиции, содержащей Соединение 1.

При практическом осуществлении указанных способов композиции, содержащие терапевтически эффективные концентрации Соединения 1, вводят индивидууму, демонстрирующему симптомы заболевания или расстройства, подлежащего лечению. Указанные количества являются эффективными для облегчения или исключения одного или более симптомов заболевания или расстройства.

Дополнительно предложен фармацевтический пакет или набор, содержащий один или более контейнеров, заполненных одним или более ингредиентами указанных фармацевтических композиций. Необязательно, вместе с таким контейнером(ами) может быть представлена памятка в форме, предписанной правительственным органом, регулирующим производство, применение или продажу фармацевтических препаратов или биологических продуктов, которая отражает разрешение, выданное агентством по производству, применению или продаже для введения человеку. Пакет или набор может содержать информацию в отношении способа введения, последовательности введения лекарств (например, по отдельности, последовательно или одновременно) или т.п.

Эти и другие аспекты рассматриваемого объекта изобретения, описанного в настоящем документе, станут понятны со ссылкой на следующее подробно описание.

#### **Краткое описание графических материалов**

На фиг. 1 представлена группа диаграмм рентгеновской порошковой дифракции Форм А, В, С, D и Е Соединения 1.

На фиг. 2 представлена диаграмма рентгеновской порошковой дифракции (РПД) Формы А Соединения 1.

На фиг. 3 представлено СЭМ-изображение Формы А Соединения 1.

На фиг. 4 представлена диаграмма термогравиметрического анализа (ТГА) Формы А Соединения 1.

На фиг. 5 представлена термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) Формы А Соединения 1.

На фиг. 6 представлена изотерма динамической сорбции паров (ДСП) Формы А Соединения 1.

На фиг. 7 представлен  $^1\text{H}$  ЯМР спектр Формы А Соединения 1.

На фиг. 8 представлено сравнение диаграмм рентгеновской порошковой дифракции Формы А Соединения 1 до (а) и после (б) прессования.

На фиг. 9 представлена диаграмма РПД Формы В Соединения 1.

На фиг. 10 представлено СЭМ-изображение Формы В Соединения 1.

На фиг. 11 представлена термограмма ТГФ Формы В Соединения 1.

На фиг. 12 представлена термограмма ДСК Формы В Соединения 1.

На фиг. 13 представлена изотерма ДСП Формы В Соединения 1.

На фиг. 14 представлен  $^1\text{H}$  ЯМР спектр Формы В Соединения 1.

На фиг. 15 представлено сравнение диаграмм рентгеновской порошковой дифракции Формы В Соединения 1 до (а) и после (б) прессования.

На фиг. 16 представлена диаграмма РПД Формы С Соединения 1.

На фиг. 17 представлено СЭМ-изображение Формы С Соединения 1.

На фиг. 18 представлена термограмма ТГФ Формы С Соединения 1.

На фиг. 19 представлена термограмма ДСК Формы С Соединения 1.

На фиг. 20 представлена изотерма ДСП Формы С Соединения 1.

На фиг. 21 представлен  $^1\text{H}$  ЯМР спектр Формы С Соединения 1.

На фиг. 22 представлено сравнение диаграмм рентгеновской порошковой дифракции Формы С Соединения 1 до (а) и после (б) прессования.

На фиг. 23 представлена диаграмма РПД Формы D Соединения 1.

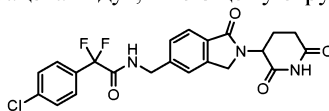
На фиг. 24 представлена термограмма ТГФ Формы D Соединения 1.  
 На фиг. 25 представлена диаграмма РПД Формы E Соединения 1.  
 На фиг. 26 представлена термограмма ТГФ Формы E Соединения 1.  
 На фиг. 27 представлена термограмма модулированной ДСК аморфного Соединения 1.  
 На фиг. 28 представлена диаграмма РПД аморфного Соединения 1.  
 На фиг. 29 представлен  $^1\text{H}$  ЯМР спектр аморфного Соединения 1.  
 На фиг. 30А, 30В и 30С представлены профили РПД лиофилизированных композиций во второй проверке.  
 На фиг. 31 представлен температурный профиль конечного процесса лиофилизации.  
 На фиг. 32 представлена технологическая схема получения композиции Соединения 1.

### Подробное описание изобретения

#### Определения

Как правило, номенклатура, использованная в данном контексте, а также лабораторные приемы в органической химии, медицинской химии и фармакологии, описанные в настоящем документе, являются хорошо известными и общепризнанными в данной области техники. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно подразумевается специалистом в области, к которой относится настоящее описание.

Термин "Соединение 1" относится к "2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамиду", имеющему структуру



и его стереоизомерам или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемым солям, таутомерам, пролекарствам, сольватам, гидратам, сокристаллам, клатратам или полиморфам. В некоторых вариантах реализации Соединение 1 относится к 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамиду и его таутомерам. В некоторых вариантах реализации Соединение 1 относится к полиморфу 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида. В некоторых вариантах реализации Соединение 1 относится к полиморфной Форме С 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида. В одном варианте реализации стереоизомер представляет собой энантиомер.

В данном контексте и если не указано иное, термин "лиофилизировать" относится к процессу выделения твердого вещества из раствора и/или удаления растворителя. В некоторых вариантах реализации это может быть достигнуто различными способами, известными специалистами в данной области техники, включая, например, выпаривание (например, под вакуумом, например, посредством сушки замораживанием и/или замораживания раствора и выпаривания замороженного растворителя под вакуумом или в условиях пониженного давления, и т.д.). В некоторых вариантах реализации раствор содержит соразтворитель.

В данном контексте термин "соразтворитель" относится к растворителю, который способствует солюбилизации активного агента в воде в процессе производства лиофилизированной композиции, предложенной в настоящем документе. Соразтворитель может представлять собой растворитель, который также обеспечивает достаточную стабильность промежуточной композиции во время производства. Соразтворитель также можно удалять из лиофилизированной композиции или уменьшать его содержание до приемлемого уровня в процессе производства. Примеры соразтворителей включают ацетонитрил, хлороформ, трет-бутанол, диметилацетамид, метанол, тетрагидрофуран, уксусную кислоту, ацетон, анизол, бутанол, бутилацетат, трет-бутилметилэфир, этанол, этилацетат, этиловый эфир, этилформиат, гептаны, изобутилацетат, изопропилацетат, метилацетат, 3-метилбутанол, метилэтилкетон, метил-изобутилкетон, 2-метил-1-пропанол, пентан, 1-пентанол, 1-пропанол, 2-пропанол и пропилацетат.

В данном контексте и если не указано иное, термин "парентеральный" включает подкожный, внутривенный, внутримышечный, внутрисуставный, интрасиновиальный, интрастернальный, интратекальный, внутрипеченочный, внутриочаговый и внутричерепной способ введения инъекции или инфузии.

В данном контексте и если не указано иное, термин "по существу не содержит чего-либо" означает содержание не более чем несущественного количества. В некоторых вариантах реализации композиция или препарат "по существу не содержит" указанного элемента, если он содержит менее 5, 4, 3, 2 или 1% по массе указанного элемента. В некоторых вариантах реализации композиция или препарат содержит менее 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1% или менее указанного элемента. В некоторых вариантах реализации композиция или препарат содержит необнаруживаемое количество указанного элемента.

В данном контексте "восстановленный водный раствор", или "восстановленная водная композиция", или "разведенная водная композиция" относится к водному раствору, полученному посредством растворения лиофилизированной композиции, предложенной в настоящем документе, в водном растворителе.

Термин "водный разбавитель" в данном контексте относится к водной жидкости, которую можно включать в парентеральную композицию. Такие водные разбавители могут включать, например, при необходимости, солевой раствор или раствор декстрозы, а также любые известные вспомогательные консерванты или вспомогательные вещества, обычно используемые в составе парентеральных композиций. Иллюстративные водные разбавители включают воду, 5% раствор декстрозы и т.п.

В данном контексте и если не указано иное, выражение "единичная доза" относится к физически отдельной единице композиции, подходящей для субъекта, подлежащего лечению (например, для однократной дозы); каждая единица содержит заданное количество активного агента, выбранное для обеспечения требуемого терапевтического эффекта (следует понимать, что для достижения требуемого или оптимального эффекта могут потребоваться несколько доз), необязательно вместе с фармацевтически приемлемым носителем, который может быть обеспечен в определенном количестве. Единичная доза может представлять собой, например, объем жидкости (например, приемлемого носителя), содержащий определенное количество одного или более терапевтических агентов, определенное количество одного или более терапевтических агентов в твердой форме, композицию с устойчивым высвобождением или устройство для доставки лекарства, содержащее определенное количество одного или более терапевтических агентов, и т.д. Следует понимать, что единичная доза может содержать различные компоненты, помимо терапевтического агента(ов). Например, приемлемые носители (например, фармацевтически приемлемые носители), разбавители, стабилизаторы, буферы, консерванты и т.д. могут быть включены так, как описано *infra*. Однако следует понимать, что общее суточное применение композиции согласно настоящему описанию определяет лечащий врач с медицинской точки зрения. Конкретный уровень эффективной дозы для любого конкретного субъекта или организма может зависеть от различных факторов, включая расстройство, подлежащее лечению, и тяжесть расстройства; активность конкретного используемого активного соединения; конкретную выбранную композицию; возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и рацион субъекта; время введения и скорость экскреции конкретного используемого активного соединения; продолжительность лечения; лекарства и/или дополнительные терапии, используемые в комбинации или одновременно с конкретным используемым соединением(ями), и подобные факторы, общеизвестные в области медицины.

В данном контексте термин "твердая форма" относится к кристаллической форме или аморфной форме, или к смеси указанных форм 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида или его стереоизомера, или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа.

В данном контексте, если не указано иное, термин "фармацевтически приемлемая соль(и)" включает, но не ограничивается этим, соли кислотных или основных фрагментов соединений, описанных в настоящем документе (например, Соединения 1). Основные фрагменты могут образовывать широкий ряд солей с различными неорганическими и органическими кислотами. Кислоты, которые можно использовать для получения фармацевтически приемлемых солей присоединения кислот таких основных соединений, представляют собой кислоты, которые образуют нетоксичные соли присоединения кислот, например, соли, содержащие фармакологически приемлемые анионы. Подходящие органические кислоты включают, но не ограничиваются ими, малеиновую, фумаровую, бензойную, аскорбиновую, янтарную, уксусную, муравьиную, щавелевую, пропионовую, винную, салициловую, лимонную, глюконовую, молочную, миндальную, коричную, олеиновую, дубильную, аспарагиновую, стеариновую, пальмитиновую, гликолевую, глютаминовую, глюконовую, глюкуроновую, сахариную, изоникотиновую, метансульфоновую, этансульфоновую, п-толуолсульфоновую, бензолсульфоновую кислоты или памоевую (например, 1,1'-метилен-бис-(2-гидрокси-3-нафтоатную) кислоту). Подходящие неорганические кислоты включают, но не ограничиваются ими, хлористоводородную, бромистоводородную, йодистоводородную, серную, фосфорную или азотную кислоты. Соединения, которые содержат аминный фрагмент, могут образовывать фармацевтически приемлемые соли с различными аминокислотами, помимо кислот, упомянутых выше. Химические фрагменты, которые являются кислотными по своей природе, могут образовывать основные соли с различными фармакологически приемлемыми катионами. Примеры таких солей представляют собой соли с щелочными металлами или щелочно-земельными металлами, в частности, соли кальция, магния, натрия, лития, цинка, калия или железа.

В данном контексте и если не указано иное, термин "сольват" означает соединение, предложенное в данном документе, или его соль, которая дополнительно содержит стехиометрическое или нестехиометрическое количество растворителя, связанного нековалентными межмолекулярными силами. Если растворителем является вода, то сольват представляет собой гидрат.

В данном контексте и если не указано иное, термин "пролекарство" означает производное соединение, которое может гидролизаться, окисляться или иным образом взаимодействовать в биологических условиях (*in-vitro* или *in-vivo*) с образованием указанного соединения. Примеры пролекарств включают, но не ограничиваются ими, производные соединений, описанных в настоящем документе (например, Соединения 1), которые содержат биогидролизуемые фрагменты, такие как биогидролизуемые амиды, биогидролизуемые сложные эфиры, биогидролизуемые карбаматы, биогидролизуемые карбонаты, био-

гидролизуемые уреиды и биогидролизуемые фосфатные аналоги. Другие примеры пролекарств включают производные соединений, описанных в настоящем документе (например, Соединения 1), которые содержат фрагменты NO, NO<sub>2</sub>, ONO или ONO<sub>2</sub>.

"Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество" относится к веществу, которое облегчает введение активного агента субъекту, например, посредством изменения стабильности активного агента или модификации абсорбции в организме субъекта после введения. Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество обычно не оказывает существенного неблагоприятного токсикологического эффекта на пациента. Примеры фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ включают, например, воду, NaCl (включая солевые растворы), нормальные солевые растворы, сахарозу, глюкозу, осмообразующие агенты, буферы, связующие вещества, наполнители, разрыхлители, смазывающие вещества, покрытия, подсластители, ароматизаторы, спирты, масла, желатины, углеводы, такие как амилоза или крахмал, сложные эфиры жирных кислот, гидроксиметилцеллюлозу, полвинилпирролидин и окрашивающие вещества и т.п. Специалистам в данной области техники понятно, что другие фармацевтические вещества, известные в данной области техники, пригодны для применения согласно настоящему изобретению и включают те, которые перечислены, например, в публикации Handbook of Pharmaceutical Excipients, Rowe R.C., Shesky P.J., and Quinn M.E., 6<sup>oe</sup> изд., The Pharmaceutical Press, RPS Publishing (2009). Термины "осмообразующий агент" и "буфер" использованы в соответствии с обычным и традиционным значением, принятым в данной области техники.

В данном контексте "вводить" или "введение" относятся к действию физической доставки вещества, существующего за пределами тела, в организм субъекта. Введение включает все формы, известные в данной области техники, для доставки терапевтических агентов, включая, но не ограничиваясь этим, местное, мукозальное введение, инъекции, внутрикожную, внутривенную, внутримышечную доставку или другой способ физической доставки, описанный в настоящем документе или известный в данной области техники (например, имплантацию устройства с медленным высвобождением, такого как мини-осмотическая помпа, субъекту; липосомные композиции; буккальное; сублингвальное; палатальное; гингивальное; назальное; вагинальное; ректальное; интраартериальное; интраперитонеальное; интравен-трикулярное; внутричерепное; или трансдермальное введение).

"Противораковые агенты" относятся к антиметаболитам (например, 5-фторурацил, метотрексат, флударабин), антимицротубулиновым агентам (например, алкалоиды барвинка, такие как винкристин, винбластин; таксаны, такие как паклитаксел, доцетаксел), алкилирующим агентам (например, циклофосфамид, мелфалан, кармустин, нитрозомочевина, такие как бисхлорэтилнитрозомочевина и гидроксимочевина), платиновые агенты (например, цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, JM-216 или сатраплатин, CI-973), антрациклинам (например, доксорубин, аунорубин), противоопухолевым антибиотикам (например, митомицин, идарубин, адриамицин, дауномицин), ингибиторам топоизомеразы (например, этопозид, камптотецины), агентам антиангиогенеза (например, Sutent® и бевацизумаб) или любым другим цитотоксическим агентам (фосфат эстрамустина, преднимустин), гормонам или агонистам, антагонистам, частичным агонистам или частичным антагонистам гормонов, ингибиторам киназ, ингибиторам контрольных точек и лучевому лечению.

Под "совместным введением" понимают, что композицию, описанную в настоящем документе, вводят в то же время, непосредственно перед или сразу после введения одной или более дополнительных терапевтических композиций, включая, например, противораковый агент. Совместное введение включает одновременное или последовательное введение соединений по отдельности или в комбинации (более одного соединения или агента). Совместное введение включает введение двух активных агентов одновременно, почти одновременно (например, в пределах примерно 1, 5, 10, 15, 20 или 30 мин друг от друга) или последовательно, в любом порядке. Таким образом, совместное введение может включать введение одного активного агента (например, соединения, описанного в настоящем документе) в пределах 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 или 24 ч от второго активного агента. Совместное введение также можно осуществлять посредством составления одной композиции, например, получения одной лекарственной формы, содержащей оба активных агента. Активные агенты могут быть составлены в отдельные композиции. В таких случаях активные агенты смешивают и вместе вводят в готовую форму лекарственной формы. Альтернативно, совместное введение, описанное в настоящем документе, может включать введение двух отдельных единичных лекарственных форм по меньшей мере двух отдельных активных агентов (например, Соединения 1 и второго активного агента, описанного в настоящем документе).

В данном контексте термин "ежедневно" означает, что терапевтическое соединение, такое как Соединение 1, вводят один раз или более одного раза в сутки, каждый день в течение определенного периода времени. Термин "непрерывно" означает, что терапевтическое соединение, такое как Соединение 1, вводят ежедневно в течение непрерывного периода времени, составляющего от по меньшей мере 10 дней до 52 недель. Термин "периодический" или "периодически" в данном контексте означает прекращение и начало одинаковых или неодинаковых интервалов. Например, периодическое введение Соединения 1 представляет собой введение в течение от одного до шести дней в неделю, введение циклами (например, ежедневное введение в течение от одного до десяти последовательных дней в 28-дневном цикле, затем период отдыха без введения в течение остальной части 28-дневного цикла, или ежедневное введение в

течение от двух до восьми последовательных недель, затем период отдыха без введения в течение до одной недели), или введение в чередующиеся дни. Термин "циклически" в данном контексте означает, что терапевтическое соединение, такое как Соединение 1, вводят ежедневно или непрерывно, но с периодом отдыха.

"Эффективное количество" представляет собой количество, достаточное для достижения эффекта, для которого его вводят (например, для лечения заболевания или снижения одного или более симптомов заболевания или патологического состояния). Таким образом, введение определенного "количества" соединения, описанного в настоящем документе, субъекту означает введение "количества, эффективного" для достижения требуемого терапевтического результата. Таким образом, "терапевтически эффективное количество" соединения, описанного в настоящем документе, для целей, предусмотренных в настоящем документе, определяют с учетом соображений, известных в данной области техники. Термин "терапевтически эффективное количество" композиции, описанной в настоящем документе, относится к количеству композиции, которое при введении является достаточным для лечения одного или более симптомов заболевания, описанного в настоящем документе (например, AML). Введение соединения, описанного в настоящем документе, можно определять в соответствии с такими факторами, как, например, состояние болезни, возраст, пол и масса индивидуума. Терапевтически эффективное количество также относится к количеству, для которого терапевтически благоприятные эффекты перевешивают любые токсические или неблагоприятные эффекты Соединения 1.

В данном контексте термины "лечить", "лечащий" и "лечение" подразумевают действие, которое происходит до тех пор, пока субъект предрасположен, диагностирован или страдает от заболевания, описанного в настоящем документе (например, лейкоза, включая AML), которое приводит к снижению тяжести симптомов указанного заболевания или замедляет, или подавляет развитие или симптомы указанного заболевания.

Термины "субъект", "пациент", "субъект, нуждающийся в этом" и "пациент, нуждающийся в этом" использованы в данном контексте взаимозаменяемо и относятся к живому организму, страдающему от одного или более заболеваний, описанных в настоящем документе (например, AML), которые можно лечить посредством введения композиции, описанной в настоящем документе. Неограничивающие примеры организмов включают людей, других млекопитающих, быков, крыс, мышей, собак, обезьян, коз, овец, коров, оленей и других немлекопитающих животных. В различных вариантах реализации субъектом является человек. Возраст субъекта-человека может составлять от примерно 1 г до примерно 100 лет. В различных вариантах реализации субъекты согласно настоящему изобретению могут характеризоваться заболеванием, подлежащим лечению (например, "субъект с AML", "онкологический субъект", "субъект с MDS" или "субъект с лейкозом").

В данном контексте и если не иное, термины "предупреждать", "предупреждающий" и "предупреждение" относятся к предупреждению возникновения, рецидива или распространения заболевания или расстройства, или одного или более его симптомов. Термины "предупреждать", "предупреждающий" и "предупреждение" предусматривают действие, которое происходит до того, как пациент заболевает конкретным заболеванием или расстройством, или его симптомами, и указанное действие замедляет или снижает тяжесть заболевания или расстройства.

В данном контексте и если не указано иное, термины "сдерживать развитие", "сдерживающий развитие" и "сдерживание развития" включают предупреждение рецидива определенного заболевания или расстройства у пациента, который уже болел указанным заболеванием или расстройством, или увеличением времени, в течение которого пациент, который болел указанным заболеванием или расстройством, остается в состоянии ремиссии. Указанные термины включают изменение порога, развития или продолжительности заболевания или расстройства, или изменение образа, которым пациент отвечает на указанное заболевание или расстройство.

В данном контексте и если не указано иное, термин "примерно", используемый в отношении доз, количеств или массовых процентов ингредиентов композиции или лекарственной формы, означает дозу, количество или массовый процент, который, как понятно специалистам в данной области техники, обеспечивает фармакологически эффект, эквивалентный эффекту, получаемому в результате введения определенной дозы, количества или массового процента. В частности, термин "примерно" означает дозу, количество или массовый процент в пределах 30, 25, 20, 15, 10 или 5% от указанной дозы, количества или массового процента.

В данном контексте и если не указано иное, термин "стабильная", используемый в отношении композиции или лекарственной формы, означает, что активный ингредиент композиции или лекарственной формы остается солубилизованным в течение определенного времени и существенно не разлагается или не агрегируется, или не становится иным образом модифицированным (например, по результатам определения с помощью ВЭЖХ). В некоторых вариантах реализации по истечении определенного периода времени остается примерно 70% или более, примерно 80% или более, или примерно 90% или более соединения в солубилизованной форме. Стабильность также может относиться к совместимости фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, описанных в настоящем документе. Соответственно лекарственную форму можно считать стабильной, если совокупность фармацевтически прием-



лемых вспомогательных веществ и активного агента(ов), описанного в настоящем документе, не ухудшает или иным образом не изменяет (например, не вступает в реакцию) эффективность или терапевтическую ценность активного агента, описанного в настоящем документе.

В данном контексте термин "опухоль" относится ко всем видам роста и пролиферации неопластических клеток, как злокачественных, так и доброкачественных, а также предраковых и раковых клеток и тканей. "Неопластический" в данном контексте относится к любой форме разрегулированного или нерегулируемого роста клеток, как злокачественных, так и доброкачественных, который приводит к аномальному разрастанию ткани. Таким образом, "неопластические клетки" включают злокачественные и доброкачественные клетки, характеризующиеся разрегулированным или нерегулируемым клеточным ростом.

В данном контексте "гематологическое злокачественное образование" относится к раку кроветворной системы и иммунной системы организма, т.е. костного мозга и лимфатической ткани. Такие раковые заболевания включают лейкозы, лимфомы (неходжкинская лимфома), болезнь Ходжкина (также называемая лимфомой Ходжкина), миелодиспластический синдром (MDS) и миелому. В одном варианте реализации миелома представляет собой множественную миелому. В некоторых вариантах реализации лейкоз представляет собой, например, острый миелогенный лейкоз (AML), острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), Т-клеточный лейкоз взрослых, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), лейкоз ворсистых клеток, миелодисплазию, миелопротрофирующие расстройства, хронический миелогенный лейкоз (CML), миелодиспластический синдром (MDS), лейкоз лимфотропного вируса человека 1 типа (HTLV 1), мастоцитоз или острый лимфобластный лейкоз В-клеток. В некоторых вариантах реализации лимфома представляет собой, например, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), иммунобластную В-клеточную лимфому, мелкоклеточную лимфому с нерассеченными ядрами, лейкоз/лимфому лимфотропного вируса человека 1 типа (HTLV-1), Т-клеточную лимфому взрослых, периферическую Т-клеточную лимфому (PTCL), кожную Т-клеточную лимфому (CTCL), мантийноклеточную лимфому (MCL), лимфому Ходжкина (HL), неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому на фоне СПИДа, фолликулярную лимфому, мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому, В-крупноклеточную лимфому с высоким содержанием Т-клеток/гистиоцитов, трансформированную лимфому, первичную медиастинальную (тимическую) В-крупноклеточную лимфому, лимфому маргинальной зоны селезенки, трансформацию Рихтера, узловую лимфому маргинальной зоны или ALK-положительную В-крупноклеточную лимфому. В одном варианте реализации гематологический рак представляет собой медленно растущую лимфому, включая, например, DLBCL, фолликулярную лимфому или лимфому маргинальной зоны.

Термин "лейкоз" относится к злокачественным неоплазмам кроветворных тканей. Лейкоз включает, но не ограничивается этим, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз и острый миелобластный лейкоз. Лейкоз может быть рецидивирующим, рефрактерным или устойчивым к традиционной терапии.

Термин "миелодиспластический синдром" относится к гематологическим состояниям, характеризующимся патологиями в выработке одного или более клеточных компонентов крови (красных клеток, белых клеток (отличных от лимфоцитов) и тромбоцитов (или их клеток-предшественниц, мегакариоцитов)), и включает следующие расстройства: рефрактерная анемия (RA); RA с кольцевидными сидеробластами (RARS); RA с избытком бластов (RAEB); рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией (RCMD), рефрактерная цитопения с однолинейной дисплазией (RCUD); неклассифицируемый миелодиспластический синдром (MDS-U), миелодиспластический синдром, связанный с изолированной аномалией хромосом del(5q), миелоидные неоплазмы, вызванные лечением, и хронический миеломоноцитарный лейкоз (CMML).

В данном контексте "промиелоцитарный лейкоз" или "острый промиелоцитарный лейкоз" относится к злокачественному заболеванию костного мозга, при котором существует недостаток зрелых кровяных клеток в миелоидной линии клеток и избыток незрелых клеток, называемых промиелоцитами. Обычно он характеризуется обменом областей в хромосомах 15 и 17.

В данном контексте "острый лимфоцитарный лейкоз (ALL)", также известный как "острый лимфобластный лейкоз" относится к злокачественному заболеванию, вызванному патологическим ростом и развитием ранних негранулярных белых кровяных клеток или лимфоцитов.

В данном контексте "Т-клеточный лейкоз" относится к заболеванию, при котором некоторые клетки лимфоидной системы, называемые Т-лимфоцитами или Т-клетками, являются злокачественными. Т-клетки представляют собой белые кровяные клетки, которые в норме могут атаковать инфицированные вирусом клетки, инородные клетки и раковые клетки и вырабатывать вещества, которые регулируют иммунную реакцию.

Термин "рецидивирующий" относится к ситуации, в которой пациенты, у которых наблюдали ремиссию рака после терапии, снова имеют раковые клетки в костном мозге и/или демонстрируют уменьшение нормальных кровяных клеток.

Термин "рефрактерный или устойчивый" относится к обстоятельствам, в которых пациенты, даже после интенсивного лечения, имеют в организме остаточные раковые клетки, например в костном мозге.

В данном контексте сокращения для любых защитных групп, аминокислот и других соединений,

если не указано иное, соответствуют их стандартному использованию, принятым сокращениями или названиям, представленным Комиссией по номенклатуре биохимических названий IUPAC-IUB (см. Biochem. 1972, 11: 942-944).

Полиморфы 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида

В одном варианте реализации Соединение 1 представляет собой полиморфную Форму А, Форму В, Форму С, Форму D, Форму Е или аморфную форму 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида. Полиформы 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида описаны в предварительной заявке на патент США, поданной одновременно с данной заявкой и озаглавленной "Solid forms of 2-(4-chlorophenyl)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1-oxoisindolin-5-yl)methyl)-2,2-difluoroacetamide, and their pharmaceutical compositions and uses", полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки. Полиморфы 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида вкратце описаны в настоящем документе.

Форма А 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида

В некоторых вариантах реализации лиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, получают из Формы А Соединения 1.

В одном варианте реализации Форма А представляет собой безводную форму Соединения 1. В другом варианте реализации Форма А Соединения 1 является кристаллической.

В некоторых вариантах реализации Форму А получают кристаллизацией из некоторых систем растворителей, например из систем растворителей, содержащих один или более из следующих растворителей: ацетон и смесь растворителей из изопропанола и воды при комнатной температуре. В некоторых вариантах реализации Форму А получают в качестве промежуточной твердой формы из суспензий при повышенной температуре, например, примерно 50°C, в смеси этанол/вода (1:1), ацетоне или ацетонитриле.

В некоторых вариантах реализации Форма А является по существу кристаллической, по результатам, например, измерений с помощью рентгеновской порошковой дифракции. В одном варианте реализации Форма А Соединения 1 имеет по существу такую диаграмму рентгеновской порошковой дифракции, как показано на фиг. 2.

В одном варианте реализации Форма А Соединения 1 имеет один или более характеристических пиков рентгеновской порошковой дифракции при углах два-тета примерно 11,5, 15,6, 16,6, 17,2, 18,1, 19,0, 19,6, 21,1, 23,2 или 24,8 градуса 2θ, как показано на фиг. 2. В другом варианте реализации Форма А Соединения 1 имеет один, два, три или четыре характеристических пика рентгеновской порошковой дифракции при углах два-тета примерно 15,6, 16,6, 17,2 или 24,8 градуса 2θ. В другом варианте реализации Форма А Соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть или семь характеристических пиков рентгеновской порошковой дифракции, указанных в табл. 1. В другом варианте реализации Форма А Соединения 1 имеет один, два или три характеристических пика рентгеновской порошковой дифракции, указанных в табл. 1.

В одном варианте реализации Форма А Соединения 1 имеет СЭМ-изображение, представленное на фиг. 3.

В одном варианте реализации кристаллическая форма Соединения 1 имеет термогравиметрическую (ТГА) термограмму, по существу соответствующую иллюстративной ТГА термограмме, изображенной на фиг. 4. В некоторых вариантах реализации для Формы А не наблюдают потерю массы по ТГА.

В одном варианте реализации кристаллическая форма А Соединения 1 имеет термограмму ДСК, по существу соответствующую изображению на фиг. 5. В некоторых вариантах реализации Форма А характеризуется диаграммой ДСК, содержащей событие плавления с температурой начала 229°C и теплотой плавления 118 Дж/г.

В некоторых вариантах реализации Форму А описывали анализом динамической сорбции паров. Иллюстративная изотерма динамической сорбции паров (ДСП) представлена на фиг. 6. В некоторых вариантах реализации при повышении относительной влажности ("ОВ") от примерно 0 до примерно 90% ОВ, Форма А демонстрирует поглощение менее 1,5%, менее 1,2% или примерно 1,2% мас./мас. воды. В некоторых вариантах реализации Форма А содержит менее 0,1% воды, по результатам определения на кулонометрическом приборе для титрования Карла Фишера (KF), оснащенном устройством для обработки образцов с печью, установленной на 225°C.

В некоторых вариантах реализации не наблюдают значительного разложения или остаточного растворителя для Формы А, по данным <sup>1</sup>H ЯМР (фиг. 7).

В некоторых вариантах реализации Форма А Соединения 1 характеризуется профилем стабильности при прессовании. В некоторых вариантах реализации Форма А является стабильной, например, ее диаграмма РПД остается по существу неизменной, с более широкими пиками дифракции при приложении давления 2000 psi в течение примерно 1 мин (фиг. 8).

В другом варианте реализации Форма А Соединения 1 является по существу чистой. В некоторых вариантах реализации по существу чистая Форма А Соединения 1 по существу не содержит других твердых форм, например аморфной формы. В некоторых вариантах реализации чистота по существу чистой Формы А Соединения 1 составляет чистоту не менее примерно 95%, чистоту не менее примерно 96%, чистоту не менее примерно 97%, чистоту не менее примерно 98%, чистоту не менее 98,5%, чистоту не менее примерно 99%, чистоту не менее примерно 99,5% или чистоту не менее примерно 99,8%.

В некоторых вариантах реализации Форма А Соединения 1 является по существу чистой. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения Форма А Соединения 1 по существу не содержит других твердых форм, содержащих Соединение 1, включая, например, Формы В, С, D, Е, и/или аморфную твердую форму, содержащую Соединение 1. В некоторых вариантах реализации Форма А представляет собой смесь твердых форм, содержащих Соединение 1, включая, например, смесь, содержащую одну или более из следующих: Формы В, С, D, Е и аморфная твердая форма, содержащая Соединение 1.

Форма В 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида

В некоторых вариантах реализации лиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, получают из безводной Формы В Соединения 1.

В некоторых вариантах реализации Форму В получают посредством перекристаллизации с антирастворителем из определенных систем растворителей, например из систем растворителей, содержащих один или более из следующих растворителей: метанол/вода, ДМСО/изопропанол, ДМСО/толуол и ДМСО/вода. В некоторых вариантах реализации Форму В получают посредством перекристаллизации с охлаждением из смеси ТГФ/вода (1:1).

В некоторых вариантах реализации Форма В является кристаллической по результатам, например, измерений с помощью рентгеновской порошковой дифракции. В одном варианте реализации Форма В Соединения 1 имеет по существу такую диаграмму рентгеновской порошковой дифракции, как показано на фиг. 9.

В одном варианте реализации Форма В Соединения 1 имеет один или более характеристических пиков рентгеновской порошковой дифракции при углах два-тета примерно 15,4, 16,3, 16,7, 17,7, 20,4, 25,6 или 27,5 градуса  $2\theta$ , как показано на фиг. 9. В другом варианте реализации Форма В Соединения 1 имеет один, два, три или четыре характеристических пика рентгеновской порошковой дифракции при углах два-тета примерно 16,7, 25,6, 15,4 или 16,3 градуса  $2\theta$ . В другом варианте реализации Форма В Соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть или семь характеристических пиков рентгеновской порошковой дифракции, указанных в табл. 2. В другом варианте реализации Форма В Соединения 1 имеет один, два или три характеристических пика рентгеновской порошковой дифракции, указанных в табл. 2.

В одном варианте реализации Форма В Соединения 1 имеет СЭМ-изображение, представленное на фиг. 10. В одном варианте реализации кристаллическая форма Соединения 1 имеет термогравиметрическую (ТГА) термограмму, по существу соответствующую иллюстративной ТГА термограмме, изображенной на фиг. 11. В некоторых вариантах реализации Форма В демонстрирует отсутствие потери массы по ТГФ при температуре ниже 170°C. В некоторых вариантах реализации Форма В демонстрирует потерю массы по ТГА примерно 0,4% в диапазоне 170-230°C.

В одном варианте реализации кристаллическая форма В Соединения 1 имеет термограмму ДСК, по существу соответствующую изображению на фиг. 12. В некоторых вариантах реализации Форма В характеризуется диаграммой ДСК, содержащей событие плавления/перекристаллизации при 219-224°C и главное событие плавления с температурой пика 231°C.

В некоторых вариантах реализации Форму В описывали анализом динамической сорбции паров. Иллюстративная изотерма динамической сорбции паров (ДСП) представлена на фиг. 13. В некоторых вариантах реализации при повышении относительной влажности ("ОВ") от примерно 0 до примерно 90% ОВ, Форма В демонстрирует поглощение примерно 1,4% мас./мас. воды. В некоторых вариантах реализации Форма В содержит менее 0,1% воды, по результатам определения на кулонометрическом приборе для титрования Карла Фишера (KF), оснащенном устройством для обработки образцов с печью, установленной на 225°C.

В некоторых вариантах реализации Форма В демонстрирует отсутствие существенного разложения или остаточного растворителя, по данным  $^1\text{H}$  ЯМР (фиг. 14).

В некоторых вариантах реализации Форма В Соединения 1 характеризуется профилем стабильности при прессовании. В некоторых вариантах реализации Форма В является стабильной, например ее диаграмма РПД остается по существу неизменной, с более широкими пиками дифракции при приложении давления 2000 psi в течение примерно 1 мин (фиг. 15).

В другом варианте реализации Форма В Соединения 1 является по существу чистой. В некоторых вариантах реализации по существу чистая Форма В Соединения 1 по существу не содержит других твердых форм, например аморфной формы. В некоторых вариантах реализации чистота по существу чистой Формы В Соединения 1 составляет чистоту не менее примерно 95%, чистоту не менее примерно 96%,

чистоту не менее примерно 97%, чистоту не менее примерно 98%, чистоту не менее 98,5%, чистоту не менее примерно 99%, чистоту не менее примерно 99,5% или чистоту не менее примерно 99,8%.

В некоторых вариантах реализации Форма В Соединения 1 является по существу чистой. В некоторых вариантах реализации Форма В Соединения 1 по существу не содержит других твердых форм, содержащих Соединение 1, включая, например, Формы А, С, D, Е, и/или аморфную твердую форму, содержащую Соединение 1. В некоторых вариантах реализации Форма В представляет собой смесь твердых форм, содержащих Соединение 1, включая, например, смесь, содержащую одну или более из следующих: Формы А, С, D, Е, и/или аморфную твердую форму, содержащую Соединение 1.

Форма С 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида

В некоторых вариантах реализации лиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, получают из безводной Формы С Соединения 1. В некоторых вариантах реализации Форма С является наиболее термодинамически стабильным ангидратом среди кристаллических форм Соединения 1.

В некоторых вариантах реализации Форму С получают суспендированием Соединения 1 в определенных системах растворителей, например, в системах растворителя, содержащих один или более из следующих растворителей: ацетонитрил/вода, ацетон или этанол/вода, в течение продолжительного периода времени.

В некоторых аспектах Форму С получают суспендированием Формы В (1 X мас.) в ацетоне (30 X об.) при повышенной температуре, например 60-80°C или 70-75°C, в течение по меньшей мере 24 ч, и охлаждением смеси до комнатной температуры. В одном аспекте суспендирование проводят при температуре 70-75°C при давлении азота 50-55-psi. В одном аспекте смесь охлаждают до комнатной температуры в течение по меньшей мере 6 ч.

В некоторых вариантах реализации Форма С является кристаллической по результатам, например, измерений с помощью рентгеновской порошковой дифракции. В одном варианте реализации Форма С Соединения 1 имеет по существу такую диаграмму рентгеновской порошковой дифракции, как показано на фиг. 16.

В одном варианте реализации Форма С Соединения 1 имеет один или более характеристических пиков рентгеновской порошковой дифракции при углах два-тета примерно 7,4, 11,5, 15,8, 16,7, 16,9, 17,7, 18,4, 19,2, 19,5, 21,1, 23,4, 24,7 или 29,9 градуса 2 $\theta$ , как показано на фиг. 16. В другом варианте реализации Форма С Соединения 1 имеет один, два, три или четыре характеристических пика рентгеновской порошковой дифракции при углах два-тета примерно 16,7, 16,9, 17,7 или 24,7 градуса 2 $\theta$ . В другом варианте реализации Форма С Соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть или семь характеристических пиков рентгеновской порошковой дифракции, указанных в табл. 3. В другом варианте реализации Форма С Соединения 1 имеет один, два или три характеристических пика рентгеновской порошковой дифракции, указанных в табл. 3.

В одном варианте реализации Форма С Соединения 1 имеет СЭМ-изображение, представленное на фиг. 17. В одном варианте реализации кристаллическая форма Соединения 1 имеет термогравиметрическую (ТГА) термограмму, по существу соответствующую иллюстративной ТГА термограмме, изображенной на фиг. 18. В некоторых вариантах реализации Форма С демонстрирует отсутствие потери массы по ТГА.

В одном варианте реализации кристаллическая форма С Соединения 1 имеет термограмму ДСК, по существу соответствующую изображению на фиг. 19. В некоторых вариантах реализации Форма С характеризуется диаграммой ДСК, содержащей событие плавления с температурой начала 232°C и теплотой плавления 126 Дж/г.

В некоторых вариантах реализации Форму С описывали анализом динамической сорбции паров. Иллюстративная изотерма динамической сорбции паров (ДСП) представлена на фиг. 20. В некоторых вариантах реализации при повышении относительной влажности ("ОВ") от примерно 0 до примерно 90% ОВ, Форма С демонстрирует поглощение примерно 0,6% мас./мас. воды. В некоторых вариантах реализации Форма С содержит менее 0,1% воды, по результатам определения на кулонометрическом приборе для титрования Карла Фишера (KF), оснащенном устройством для обработки образцов с печью, установленной на 225°C.

В некоторых вариантах реализации Форма С демонстрирует отсутствие существенного разложения или остаточного растворителя, по данным <sup>1</sup>H ЯМР (фиг. 21).

В некоторых вариантах реализации Форма С Соединения 1 характеризуется профилем стабильности при прессовании. В некоторых вариантах реализации Форма С является стабильной, например ее диаграмма РПД остается по существу неизменной, с более широкими пиками дифракции при приложении давления 2000 psi в течение примерно 1 мин (фиг. 22).

В другом варианте реализации Форма С Соединения 1 является по существу чистой. В некоторых вариантах реализации по существу чистая Форма С Соединения 1 по существу не содержит других твердых форм, например аморфной формы. В некоторых вариантах реализации чистота по существу чистой Формы С Соединения 1 составляет чистоту не менее примерно 95%, чистоту не менее примерно 96%,

чистоту не менее примерно 97%, чистоту не менее примерно 98%, чистоту не менее 98,5%, чистоту не менее примерно 99%, чистоту не менее примерно 99,5% или чистоту не менее примерно 99,8%.

В некоторых вариантах реализации Форма С Соединения 1 является по существу чистой. В некоторых вариантах реализации Форма С Соединения 1 по существу не содержит других твердых форм, содержащих Соединение 1, включая, например, Формы А, В, D, Е, и/или аморфную твердую форму, содержащую Соединение 1. В некоторых вариантах реализации Форма С представляет собой смесь твердых форм, содержащих Соединение 1, включая, например, смесь, содержащую одну или более из следующих: Формы А, В, D, Е, и/или аморфную твердую форму, содержащую Соединение 1.

Форма D 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида

В некоторых вариантах реализации лиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, получают из Формы D Соединения 1. В некоторых вариантах реализации Форма D Соединения 1 представляет собой сольват с ДМСО.

В некоторых вариантах реализации Форму D получают нагреванием Формы В в ДМСО/метил-изобутилкетоне и охлаждением раствора.

В некоторых вариантах реализации Форма D является кристаллической по результатам, например, измерений с помощью рентгеновской порошковой дифракции. В одном варианте реализации Форма D Соединения 1 имеет по существу такую диаграмму рентгеновской порошковой дифракции, как показано на фиг. 23.

В одном варианте реализации Форма D Соединения 1 имеет один или более характеристических пиков рентгеновской порошковой дифракции при углах два-тета примерно 14,1, 14,3, 18,8, 19,1, 23,6 или 24,0 градуса  $2\theta$ , как показано на фиг. 23. В другом варианте реализации Форма D Соединения 1 имеет один, два, три или четыре характеристических пика рентгеновской порошковой дифракции при углах два-тета примерно 14,1, 14,3, 18,8 или 19,1 градуса  $2\theta$ . В другом варианте реализации Форма D Соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть или семь характеристических пиков рентгеновской порошковой дифракции, указанных в табл. 4. В другом варианте реализации Форма D Соединения 1 имеет один, два или три характеристических пика рентгеновской порошковой дифракции, указанных в табл. 4.

В одном варианте реализации в настоящем документе предложена кристаллическая форма Соединения 1, имеющая термогравиметрическую (ТГА) термограмму, по существу соответствующую иллюстративной ТГА термограмме, изображенной на фиг. 24. В некоторых вариантах реализации Форма D демонстрирует потерю массы ТГА примерно 14,1% при температуре до 140°C.

В некоторых вариантах реализации Форма D содержит ДМСО в количестве примерно 14,3%, по результатам измерения газовой хроматографией.

В другом варианте реализации Форма D Соединения 1 является по существу чистой. В некоторых вариантах реализации по существу чистая Форма D Соединения 1 по существу не содержит других твердых форм, например аморфной формы. В некоторых вариантах реализации чистота по существу чистой Формы D Соединения 1 составляет чистоту не менее примерно 95%, чистоту не менее примерно 96%, чистоту не менее примерно 97%, чистоту не менее примерно 98%, чистоту не менее 98,5%, чистоту не менее примерно 99%, чистоту не менее примерно 99,5% или чистоту не менее примерно 99,8%.

В некоторых вариантах реализации Форма D Соединения 1 является по существу чистой. В некоторых вариантах реализации Форма D Соединения 1 по существу не содержит других твердых форм, содержащих Соединение 1, включая, например, Формы А, В, С, Е, и/или аморфную твердую форму, содержащую Соединение 1, описанное в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации Форма D представляет собой смесь твердых форм, содержащих Соединение 1, включая, например смесь, содержащую одну или более из следующих: Формы А, В, С, Е, и/или аморфную твердую форму, содержащую Соединение 1.

Форма Е 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида

В некоторых вариантах реализации лиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, получают из Формы Е Соединения 1. В некоторых вариантах реализации Форма Е Соединения 1 представляет собой сольват с ДМСО.

В некоторых вариантах реализации Форму Е получают из Формы С в ДМСО/МИБК или ДМСО/ИПС, или ДМСО/анизоле при комнатной температуре.

В некоторых вариантах реализации Форма Е является кристаллической, по результатам, например, измерений с помощью рентгеновской порошковой дифракции. В одном варианте реализации Форма Е Соединения 1 имеет по существу такую диаграмму рентгеновской порошковой дифракции, как показано на фиг. 25.

В одном варианте реализации Форма Е Соединения 1 имеет один или более характеристических пиков рентгеновской порошковой дифракции при углах два-тета примерно 10,5, 12,5, 16,1, 17,0, 18,5, 21,2, 21,7, 22,6, 22,9, 23,4, 23,8, 24,1, 25,1 или 26,7 градуса  $2\theta$ , как показано на фиг. 25. В другом варианте реализации Форма Е Соединения 1 имеет один, два, три или четыре характеристических пика рентгенов-

ской порошковой дифракции при углах два-тета примерно 16,1, 17,0, 21,2 или 22,9 градуса  $2\theta$ . В другом варианте реализации Форма Е Соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть или семь характеристических пиков рентгеновской порошковой дифракции, указанных в табл. 5. В другом варианте реализации Форма Е Соединения 1 имеет один, два или три характеристических пика рентгеновской порошковой дифракции, указанных в табл. 5.

В одном варианте реализации в настоящем документе предложена кристаллическая форма Соединения 1, имеющая термогравиметрическую (ТГА) термограмму, по существу соответствующую иллюстративной ТГА термограмме, изображенной на фиг. 26. В некоторых вариантах реализации Форма Е демонстрирует потерю массы ТГА примерно 19,4% при температуре до 120°C. В некоторых вариантах реализации Форма Е демонстрирует дополнительную потерю массы, составляющую 24,9%, в диапазоне от 120 до 220°C.

В одном варианте реализации Форма Е Соединения 1 является по существу чистой. В некоторых вариантах реализации по существу чистая Форма Е Соединения 1 по существу не содержит других твердых форм, например аморфной формы. В некоторых вариантах реализации чистота по существу чистой Формы Е Соединения 1 составляет чистоту не менее примерно 95%, чистоту не менее примерно 96%, чистоту не менее примерно 97%, чистоту не менее примерно 98%, чистоту не менее 98,5%, чистоту не менее примерно 99%, чистоту не менее примерно 99,5% или чистоту не менее примерно 99,8%.

В некоторых вариантах реализации Форма Е Соединения 1 является по существу чистой. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения Форма Е Соединения 1 по существу не содержит других твердых форм, содержащих Соединение 1, включая, например, Формы А, В, С, D, и/или аморфную твердую форму, содержащую Соединение 1. В некоторых вариантах реализации Форма Е представляет собой смесь твердых форм, содержащих Соединение 1, включая, например, смесь, содержащую одну или более из следующих: Формы А, В, С, D и аморфную твердую форму, содержащую Соединение 1.

Аморфная форма 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида

В некоторых вариантах реализации лиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, содержат аморфное Соединение 1.

В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы получения аморфной формы посредством нагревания Соединения 1 в ТГФ и воде и охлаждения раствора.

В одном варианте реализации в настоящем документе предложена аморфная твердая форма Соединения 1, имеющая термограмму модулированной ДСК, представленную на фиг. 27.

В одном варианте реализации аморфное Соединение 1 имеет по существу такую диаграмму рентгеновской порошковой дифракции, как показано на фиг. 28.

В одном варианте реализации аморфное Соединение 1 имеет по существу такой спектр  $^1\text{H}$  ЯМР, как показано на фиг. 29.

В другом варианте реализации аморфное Соединение 1 является по существу чистым. В некоторых вариантах реализации по существу чистое аморфное Соединение 1 по существу не содержит других твердых форм, например Формы А, Формы В, Формы С, Формы D или Формы Е. В некоторых вариантах реализации чистота по существу чистого аморфного Соединения 1 составляет чистоту не менее примерно 95%, чистоту не менее примерно 96%, чистоту не менее примерно 97%, чистоту не менее примерно 98%, чистоту не менее 98,5%, чистоту не менее примерно 99%, чистоту не менее примерно 99,5% или чистоту не менее примерно 99,8%.

#### Иллюстративные композиции

В настоящем документе предложены стабильные лиофилизированные композиции Соединения 1. В одном варианте реализации лиофилизированные композиции Соединения 1 содержат твердую форму 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида.

В одном варианте реализации лиофилизированные композиции Соединения 1 содержат аморфную форму 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, содержат Соединение 1, буфер и объемообразующий агент. В одном варианте реализации лиофилизированная композиция, предложенная в настоящем документе, содержит примерно 0,1-2% Соединения 1, примерно 2-15% буфера и примерно 70-95% объемообразующего агента относительно общей массы лиофилизированной композиции.

В одном аспекте лиофилизированная композиция, предложенная в настоящем документе, содержит Соединение 1 в количестве от примерно 0,1 до примерно 2% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В некоторых вариантах реализации количество Соединения 1 составляет от примерно 0,1 до примерно 1,5%, от примерно 0,1 до примерно 1% или от примерно 0,35 до примерно 0,9% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В некоторых вариантах реализации количество Соединения 1 составляет примерно 0,1, 0,2, 0,3, 0,35, 0,36, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 или 1,0% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В одном варианте реализации количество Соединения 1 в лиофилизированной композиции составляет от примерно 0,3 до примерно 0,4% относительно общей





В другом аспекте предложена лиофилизированная композиция, которая содержит безводный цитрат натрия в количестве от примерно 5 до примерно 20 мг во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>. В одном варианте реализации количество безводного цитрата натрия составляет примерно 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 мг во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>. В одном варианте реализации количество безводного цитрата натрия составляет примерно 17,6 мг во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>. В одном варианте реализации количество безводного цитрата натрия составляет примерно 18,2 мг во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>.

В некоторых вариантах реализации количество безводной лимонной кислоты в лиофилизированной композиции составляет примерно 2, 4, 6, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8, 7, 7,3, 7,4, 7,5, 8, 8,5 или 9% и количество безводного цитрата натрия в лиофилизированной композиции составляет примерно 2, 3, 4, 5, 6, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 12 или примерно 15% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В одном варианте реализации количество безводной лимонной кислоты в лиофилизированной композиции составляет примерно 6, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8 или 7%, и количество безводного цитрата натрия в лиофилизированной композиции составляет примерно 6, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8 или 7% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В одном варианте реализации количество безводной лимонной кислоты в лиофилизированной композиции составляет примерно 7, 7,3, 7,4, 7,5 или 8% и количество безводного цитрата натрия в лиофилизированной композиции составляет примерно 8, 8,5, 9, 9,5, 10 или 10,5% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В одном варианте реализации количество безводной лимонной кислоты составляет примерно 6,1 мг и количество безводного цитрата натрия составляет примерно 8,2 мг во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>. В одном варианте реализации количество безводной лимонной кислоты составляет примерно 17,7 мг и количество безводного цитрата натрия составляет примерно 17,6 мг во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>.

В одном аспекте объемообразующий агент в лиофилизированных композициях, предложенных в настоящем документе, включает Captisol®, маннит или Kleptose®, например, β-циклодекстрин, гидроксипропил-β-циклодекстрин и метилированный β-циклодекстрин. В некоторых вариантах реализации объемообразующий агент в лиофилизированных композициях, предложенных в настоящем документе, включает гидроксипропил-β-циклодекстрины Kleptose® (Kleptose®HPB). В некоторых вариантах реализации количество объемообразующего агента в лиофилизированных композициях, предложенных в настоящем документе, составляет от примерно 70 до примерно 95%, от примерно 75 до примерно 90% или от примерно 80 до примерно 90% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В некоторых вариантах реализации количество гидроксипропил-β-циклодекстрина в лиофилизированных композициях, предложенных в настоящем документе, составляет от примерно 70 до примерно 95%, от примерно 75 до примерно 90% или от примерно 80 до примерно 90% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В некоторых вариантах реализации количество гидроксипропил-β-циклодекстрина в лиофилизированных композициях, предложенных в настоящем документе, составляет примерно 75, 80, 81, 81,61, 82, 83, 84, 85, 86, 86,86, 87, 88, 89 или 90% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В одном варианте реализации количество гидроксипропил-β-циклодекстрина в лиофилизированных композициях, предложенных в настоящем документе, составляет примерно 86,86% относительно общей массы лиофилизированной композиции. В одном варианте реализации количество гидроксипропил-β-циклодекстрина в лиофилизированных композициях, предложенных в настоящем документе, составляет примерно 81,61% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

В другом аспекте предложена лиофилизированная композиция, которая содержит Kleptose® HPB в количестве 67 мг во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>. В другом аспекте предложена лиофилизированная композиция, которая содержит Kleptose® HPB в количестве примерно 240 мг во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>.

В некоторых вариантах реализации указанная лиофилизированная композиция после восстановления имеет pH примерно 4-5. В одном варианте реализации указанная лиофилизированная композиция после восстановления имеет pH примерно 4, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9 или 5.

В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложен контейнер, содержащий лиофилизированную композицию, предложенную в настоящем документе. В одном аспекте указанный контейнер представляет собой стеклянный флакон. В одном аспекте указанный контейнер представляет собой стеклянный флакон объемом 20 см<sup>3</sup>.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированная композиция имеет состав, описанный в табл. 21. В некоторых вариантах реализации лиофилизированная композиция имеет состав, описанный в табл. 34.

Леофилизированные композиции Соединения 1, предложенные в настоящем документе, можно вводить пациенту, нуждающемуся в этом, с применением стандартных терапевтических способов доставки Соединения 1, включая, но не ограничиваясь ими, способы, описанные в настоящем документе. В одном варианте реализации леофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, восстанавливают в фармацевтически приемлемом растворителе с получением фармацевтически приемлемого раствора, и полученный раствор вводят (например, внутривенной инъекцией) пациенту.

Леофилизированную композицию, предложенную в настоящем документе, можно восстанавливать



для парентерального введения пациенту с применением любого фармацевтически приемлемого разбавителя. Такие разбавители включают, но не ограничиваются ими, стерильную воду для инъекций (SWFI), 5% раствор декстрозы в воде (D5W) или систему соразтворителей. Можно использовать любое количество разбавителя для восстановления лиофилизированной композиции с получением подходящего раствора для инъекции. Соответственно, количество разбавителя должно быть достаточным для растворения лиофилизированной композиции. В одном варианте реализации используют 1-5 мл или 1-3 мл разбавителя для восстановления лиофилизированной композиции с получением конечной концентрации примерно 0,1-5 мг/мл, примерно 0,1-1 мг/мл, около 0,5-1 мг/мл Соединения 1. В некоторых вариантах реализации конечная концентрация Соединения 1 в восстановленном растворе составляет примерно 0,5 мг/мл. В некоторых вариантах реализации объем разбавителя для восстановления варьируется от 2 до 20 мл для получения конечной концентрации 0,05-0,5 мг/мл.

В некоторых вариантах реализации, в зависимости от требуемой дозы, для восстановления можно использовать несколько флаконов.

Восстановленные растворы лиофилизированной композиции можно хранить и использовать в пределах до примерно 24 ч, примерно 12 ч или примерно 8 ч. В некоторых вариантах реализации указанный раствор используют в пределах 8 ч после его получения. В некоторых вариантах реализации указанный раствор используют в пределах 5 ч после его получения. В некоторых вариантах реализации указанный раствор используют в пределах 1 ч после его получения.

Ллиофилизированная композиция может представлять собой композицию, указанную в табл. 21 и/или в табл. 34. Так, в некоторых вариантах реализации лиофилизированная композиция представлена обозначениями в табл. 21 и/или табл. 34 (например, Композиция IA, Композиция IC, Композиция II, Композиция III, Композиция IX или Композиция ID). В одном варианте реализации указанная композиция представляет собой Композицию IX. В одном варианте реализации указанная композиция представляет собой Композицию IC. В одном варианте реализации указанная композиция представляет собой Композицию ID.

В одном аспекте в настоящем документе предложена лиофилизированная композиция во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>, которая содержит Соединение 1 в количестве, которое обеспечивает 1 мг 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида, и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество, которое включает буфер и объемообразующий агент, как описано в настоящем документе. Буфер и объемообразующий агент могут присутствовать в количестве, описанном в настоящем документе.

В одном аспекте в настоящем документе предложена лиофилизированная композиция во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>, которая содержит Соединение 1 в количестве, которое обеспечивает 1 мг 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида, 17,7 мг безводной лимонной кислоты, 17,6 мг безводного цитрата натрия и 240 мг HPB, как описано в настоящем документе. В одном варианте реализации лиофилизированную композицию во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup> восстанавливают, используя 2 мл стерильной воды для инъекций.

В одном аспекте в настоящем документе предложена водная композиция, содержащая лиофилизированную композицию, предложенную в настоящем документе. В одном варианте реализации водный раствор содержит 0,5 мг/мл Соединения 1.

#### **Способ получения композиций**

Ллиофилизированные композиции, предложенные в настоящем документе, можно получать любыми способами, известными в данной области техники и описанными в настоящем документе, но все способы включают стадию приведения в контакт активного ингредиента с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, которое содержит один или более необходимых ингредиентов (таких как буфер и объемообразующий агент).

В одном аспекте композиции, предложенные в настоящем документе, получают растворением Соединения 1 и объемообразующего агента в цитратном буфере с получением раствора, и лиофилизацией раствора. Технологическая блок-схема, на которой показан иллюстративный способ, представлена на фиг. 32. В одном варианте реализации указанный способ включает растворение Kleptose® HPB в 20 mM, pH 4,3 цитратном буфере с получением смеси, добавление Соединения 1, растворенного в DMA, к указанной смеси с получением раствора, фильтрование указанного раствора во флакон объемом 20 см<sup>3</sup> и лиофилизацию раствора. В одном варианте реализации указанный раствор фильтруют через один или более фильтров 0,45 и/или 0,22 мкм. В одном варианте реализации флакон после лиофилизации закрывают в атмосфере азота.

В одном аспекте процесс лиофилизации включает три стадии: замораживание, первичную сушку и вторичную сушку. Жидкую композицию превращают в лиофилизированную порошковую форму посредством заморозки с полным затвердеванием на стадии замораживания, сублимации льда и растворителей при первичной сушке, и десорбции остаточной влаги и растворителей при вторичной сушке. Температуру на полке и давление в камере при первичной сушке и вторичной сушке регулируют так, чтобы получать требуемого качества готового лекарственного продукта. В одном аспекте указанного способа внешний вид и структуру осадка оценивают посредством визуального осмотра.

### Наборы

В настоящем документе предложены также фармацевтические пакеты или наборы, которые содержат фармацевтические композиции или лекарственные формы, предложенные в настоящем документе. Иллюстративные наборы содержат памятку в форме, предписанной правительственным органом, регулирующим производство, применение или продажу фармацевтических продуктов, которая отражает решение, выданное агентством по производству, применению или продаже для введения человеку.

### Способы лечения

В одном варианте реализации в настоящем документе предложен способ лечения и предупреждения рака, который включает введение пациенту лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе.

В другом варианте реализации в настоящем документе предложен способ сдерживания развития рака, который включает введение пациенту лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе.

В настоящем документе также предложены способы лечения пациентов, ранее проходивших лечение рака, но не отвечающих на стандартные терапевтические средства, а также пациентов, ранее не подверженных лечению. Данное изобретение включает также способы лечения пациентов, независимо от возраста пациентов, хотя некоторые заболевания или расстройства более распространены в определенных возрастных группах. Данное изобретение включает также способы лечения пациентов, прошедших хирургическую операцию, предпринятую для лечения рассматриваемого заболевания или патологического состояния, а также пациентов, не подверженных операции. Поскольку пациенты с раком имеют различные клинические проявления и различные клинические исходы, то лечение, обеспечиваемое пациенту, может варьироваться в зависимости от его/ее прогноза. Специалисты в данной области техники могут легко, без излишних экспериментов, определить конкретные вторичные агенты, типы хирургических операций и типы немедикаментозной стандартной терапии, которые можно эффективно использовать для лечения конкретного пациента с раком.

В данном контексте термин "рак" включает, но не ограничивается ими, солидные опухоли и гематологические опухоли. Термин "рак" относится к заболеванию кожных тканей, органов, крови и сосудов, включая, но не ограничиваясь этим, раковые заболевания мочевого пузыря, костей, крови, головного мозга, молочной железы, шейки матки, грудной клетки, толстой кишки, эндометрия, пищевода, глаз, головы, почек, печени, лимфатических узлов, легких, рта, шеи, яичников, поджелудочной железы, предстательной железы, прямой кишки, желудка, яичек, горла и матки. Конкретные раковые заболевания включают, но не ограничиваются ими, запущенную опухоль, амилоидоз,

нейробластому, менингиому, гемангиоперицитому, множественные метастазы в головной мозг, мультиформную глиобластому, глиобластому, глиому ствола головного мозга, злокачественную опухоль головного мозга с неблагоприятным прогнозом, злокачественную глиому, рецидивирующую злокачественную глиому, анапластическую астроцитому, анапластическую олигодендроглиому, нейроэндокринную опухоль, аденокарциному прямой кишки, рак толстой и прямой кишки, включая 3 и 4 стадии, нерезектабельную карциному толстой и прямой кишки, метастатическую гепатоцеллюлярную карциному, саркому Капоши, кариотипный острый миелобластный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, кожную Т-клеточную лимфому, кожную В-клеточную лимфому, диффузную В-крупноклеточную лимфому, низкодифференцированную фолликулярную лимфому, злокачественную меланому, злокачественную мезотелиому, синдром мезотелиомы со злокачественным плевральным выпотом, перитонеальную карциному, папиллярную серозную карциному, гинекологическую саркому, саркому мягкой ткани, склеродермию, кожный васкулит, гистиоцитоз из клеток Лангерганса, лейомиосаркому, прогрессирующую оссифицирующую фибродисплазию, гормональный рефрактерный рак предстательной железы, саркому резецированной мягкой ткани с высокой степенью риска, нерезектабельную гепатоцеллюлярную карциному, макроглобулинемию Вальденстрема, вялотекущую миелому, невыраженную миелому, рак фаллопиевой трубы, андроген-независимый рак предстательной железы, андроген-зависимый метастатический рак предстательной железы IV степени, гормон-нечувствительный рак предстательной железы, нечувствительный к химиотерапии рак предстательной железы, папиллярную карциному щитовидной железы, фолликулярную карциному щитовидной железы, медуллярную карциному щитовидной железы и лейомиому.

В некоторых вариантах реализации изобретения рак представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах реализации солидная опухоль является метастатической. В некоторых вариантах реализации солидная опухоль является резистентной к лекарствам. В некоторых вариантах реализации солидная опухоль представляет собой гепатоцеллюлярную карциному, рак предстательной железы, рак яичников или глиобластому.

В некоторых вариантах реализации рак представляет собой гематологическую опухоль. В некоторых вариантах реализации гематологическая опухоль является метастатической. В некоторых вариантах реализации гематологическая опухоль является резистентной к лекарствам. В некоторых вариантах реализации рак представляет собой лейкоз. В другом варианте реализации рак представляет собой MDS.

В одном варианте реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают лечение,

предупреждение и/или сдерживание развития различных типов лейкозов, таких как хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелоцитарный лейкоз (CML), острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз (AML) и острый миелобластный лейкоз (AML), посредством введения терапевтически эффективного количества лиофилизированной композиции, предложенной в настоящем документе.

В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают лечение, предупреждение и/или сдерживание развития острого лейкоза у субъекта. В некоторых вариантах реализации острый лейкоз представляет собой острый миелоидный лейкоз (AML), который включает, но не ограничивается ими, недифференцированный AML (M0), миелобластный лейкоз (M1), миелобластный лейкоз (M2), промиелоцитарный лейкоз (M3 или вариант M3 (M3V)), миеломоноцитарный лейкоз (M4 или вариант M4 с эозинофилией (M4E)), моноцитарный лейкоз (M5), эритролейкоз (M6) и мегакариобластный лейкоз (M7). В одном варианте реализации острый миелоидный лейкоз представляет собой недифференцированный AML (M0). В одном варианте реализации острый миелоидный лейкоз представляет собой миелобластный лейкоз (M1). В одном варианте реализации острый миелоидный лейкоз представляет собой миелобластный лейкоз (M2). В одном варианте реализации острый миелоидный лейкоз представляет собой промиелоцитарный лейкоз (M3 или вариант M3 (M3V)). В одном варианте реализации острый миелоидный лейкоз представляет собой миеломоноцитарный лейкоз (M4 или вариант M4 с эозинофилией (M4E)). В одном варианте реализации острый миелоидный лейкоз представляет собой моноцитарный лейкоз (M5). В одном варианте реализации острый миелоидный лейкоз представляет собой эритролейкоз (M6). В одном варианте реализации острый миелоидный лейкоз представляет собой мегакариобластный лейкоз (M7).

В некоторых вариантах реализации способы лечения, предупреждения и/или сдерживания развития острого миелоидного лейкоза у субъекта включают стадию введения указанному субъекту определенного количества лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, эффективного для лечения, предупреждения и/или сдерживания развития острого миелоидного лейкоза, отдельно или в комбинации.

В одном варианте реализации в настоящем документе предложены способы лечения, предупреждения и/или сдерживания развития острого миелоидного лейкоза посредством внутривенного введения лиофилизированной композиции Соединения 1. В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1 растворяют в воде с получением водного раствора для внутривенного введения в способах лечения, предупреждения и/или сдерживания развития острого миелоидного лейкоза, предложенных в настоящем документе.

В некоторых вариантах реализации указанные способы включают стадию введения субъекту лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в комбинации со вторым активным агентом в количествах, эффективных для лечения, предупреждения и/или сдерживания развития острого миелоидного лейкоза.

В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают лечение, предупреждение и/или сдерживание развития острого лимфоцитарного лейкоза (ALL) у субъекта. В некоторых вариантах реализации острый лимфоцитарный лейкоз включает лейкоз, первоначально зародившийся в бластных клетках костного мозга (В-клетках), вилочковой железы (Т-клетках) и лимфатических узлов. Острый лимфоцитарный лейкоз можно классифицировать в соответствии с Франко-Американо-Британской (FAB) морфологической схемой классификации на L1 - зрелые лимфобласты (Т-клетки или пре-В-клетки), L2 - незрелые и плеоморфные (различной формы) лимфобласты (Т-клетки или пре-В-клетки) и L3 - лимфобласты (В-клетки; клетки Беркитта). В одном варианте реализации острый лимфоцитарный лейкоз зарождается в бластных клетках костного мозга (В-клетки). В одном варианте реализации острый лимфоцитарный лейкоз зарождается в вилочковой железе (Т-клетки). В одном варианте реализации острый лимфоцитарный лейкоз зарождается в лимфатических узлах. В одном варианте реализации острый лимфоцитарный лейкоз представляет собой лейкоз типа L1, характеризующий зрелыми лимфобластами (Т-клетки или пре-В-клетки). В одном варианте реализации острый лимфоцитарный лейкоз представляет собой лейкоз типа L2, характеризующийся незрелыми и плеоморфными (различной формы) лимфобластами (Т-клетки или пре-В-клетки). В одном варианте реализации острый лимфоцитарный лейкоз представляет собой лейкоз типа L3, характеризующийся лимфобластами (В-клетки; клетки Беркитта). В некоторых вариантах реализации острый лимфоцитарный лейкоз представляет собой Т-клеточный лейкоз. В одном варианте реализации Т-клеточный лейкоз представляет собой периферический Т-клеточный лейкоз. В другом варианте реализации Т-клеточный лейкоз представляет собой Т-клеточный лимфобластный лейкоз. В другом варианте реализации Т-клеточный лейкоз представляет собой кожный Т-клеточный лейкоз. В другом варианте реализации Т-клеточный лейкоз представляет собой Т-клеточный лейкоз взрослых. Так, способы лечения, предупреждения и/или сдерживания развития острого лимфоцитарного лейкоза у субъекта включают стадию введения указанному субъекту определенного количества лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, эффективного для лечения, предупреждения и/или сдерживания развития острого лимфоцитарного лейкоза, отдельно или в комбинации со вторым активным агентом. В некоторых вариантах реализации ука-

занные способы включают стадию введения субъекту лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в комбинации со вторым активным агентом в количествах, эффективных для лечения, предупреждения и/или сдерживания развития острого лимфоцитарного лейкоза.

В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают лечение, предупреждение и/или сдерживание развития хронического миелогенного лейкоза (СМЛ) у субъекта. Указанные способы включают стадию введения указанному субъекту определенного количества лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, эффективного для лечения, предупреждения и/или сдерживания развития хронического миелогенного лейкоза. В некоторых вариантах реализации указанные способы включают стадию введения субъекту лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в комбинации со вторым активным агентом в количествах, эффективных для лечения, предупреждения и/или сдерживания развития хронического миелогенного лейкоза.

В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают лечение, предупреждение и/или сдерживание развития хронического лимфоцитарного лейкоза (СЛЛ) у субъекта. Указанные способы включают стадию введения указанному субъекту определенного количества лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, эффективного для лечения, предупреждения и/или сдерживания развития хронического лимфоцитарного лейкоза. В некоторых вариантах реализации указанные способы включают стадию введения субъекту лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в комбинации со вторым активным агентом в количествах, эффективных для лечения, предупреждения и/или сдерживания развития хронического лимфоцитарного лейкоза.

В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы лечения, предупреждения и/или сдерживания развития заболевания у пациентов с нарушенной функцией почек. В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложен способ лечения, предупреждения и/или сдерживания рака у пациентов с нарушенной функцией почек. В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы обеспечения соответствующей поправки дозы для пациентов с нарушенной функцией почек вследствие, но не ограничиваясь этим, заболевания, старения или других индивидуальных факторов пациента.

В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы лечения, предупреждения и/или сдерживания развития лимфомы, включая неходжкинскую лимфому. В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы лечения и/или сдерживания развития неходжкинской лимфомы (NHL), включая, но не ограничиваясь ими, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), с использованием прогностических факторов.

В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы лечения, предупреждения и/или сдерживания развития множественной миеломы, включая рецидивирующую/рефрактерную множественную миелому, у пациентов с нарушенной функцией почек, или ее симптома, включающие введение терапевтически эффективного количества лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, пациенту с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой с нарушенной функцией почек.

В одном варианте реализации в настоящем документе предложены способы лечения, предупреждения и/или сдерживания развития миелодиспластического синдром (MDS) у субъекта. Указанные способы включают стадию введения указанному субъекту терапевтически активного количества лиофилизированной композиции Соединения 1, описанной в настоящем документе. В одном варианте реализации MDS является рецидивирующим, устойчивым или рефрактерным MDS. В одном варианте реализации MDS выбран из рефрактерной анемии (RA); RA с кольцевидными сидеробластами (RARS); RA с избытком бластов (RAEB); рефрактерной цитопении с мультилинейной дисплазией (RCMD), рефрактерной цитопении с однолинейной дисплазией (RCUD); неклассифицируемого миелодиспластического синдрома (MDS-U), миелодиспластического синдрома, связанного с изолированной аномалией хромосом del(5q), миелоидных неоплазм, вызванных лечением, и хронического миеломоноцитарного лейкоза (CMML).

В некоторых вариантах реализации терапевтически или профилактически эффективное количество Соединения 1 составляет от примерно 0,005 до примерно 1000 мг в сутки, от примерно 0,01 до примерно 500 мг в сутки, от примерно 0,01 до примерно 250 мг в сутки, от примерно 0,01 до примерно 100 мг в сутки, от примерно 0,1 до примерно 100 мг в сутки, от примерно 0,5 до примерно 100 мг в сутки, от примерно 1 до примерно 100 мг в сутки, от примерно 0,01 до примерно 50 мг в сутки, от примерно 0,1 до примерно 50 мг в сутки, от примерно 0,5 до примерно 50 мг в сутки, от примерно 1 до примерно 50 мг в сутки, от примерно 0,02 до примерно 25 мг в сутки, от примерно 0,05 до примерно 10 мг в сутки, от примерно 0,05 до примерно 5 мг в сутки, от примерно 0,1 до примерно 5 мг в сутки или от примерно 0,5 до примерно 5 мг в сутки.

В некоторых вариантах реализации терапевтически или профилактически эффективное количество составляет примерно 0,1, примерно 0,2, примерно 0,5, примерно 1, примерно 2, примерно 3, примерно 4, примерно 5, примерно 6, примерно 7, примерно 8, примерно 9, примерно 10, примерно 15, примерно 20,

примерно 25, примерно 30, примерно 40, примерно 45, примерно 50, примерно 60, примерно 70, примерно 80, примерно 90, примерно 100 или примерно 150 мг в сутки. В некоторых таких вариантах реализации терапевтически или профилактически эффективное количество составляет примерно 2, примерно 3, примерно 4, примерно 5, примерно 6 или примерно 7 мг в сутки.

В одном варианте реализации рекомендованный диапазон суточной дозы Соединения 1 для состояний, описанных в настоящем документе, составляет от примерно 0,05 мг до примерно 50 мг в сутки, предпочтительно вводимый в виде однократной, разовой суточной дозы или в дробных дозах в течение суток. В некоторых вариантах реализации доза составляет от примерно 1 до примерно 50 мг в сутки. В других вариантах реализации доза составляет от примерно 0,5 до примерно 5 мг в сутки. Конкретные суточные дозы включают 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 мг в сутки.

В конкретном варианте реализации рекомендованная начальная доза может составлять 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 или 50 мг в сутки. В другом варианте реализации рекомендованная начальная доза может составлять 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4 или 5 мг в сутки. Дозу можно повышать до 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 и 50 мг/сутки. В конкретном варианте реализации Соединение 1 можно вводить в количестве примерно 25 мг/сутки пациентам с лейкозом, включая AML. В конкретном варианте реализации Соединение 1 можно вводить в количестве примерно 10 мг/сутки пациентам с лейкозом, включая AML. В конкретном варианте реализации Соединение 1 можно вводить в количестве примерно 5 мг/сутки пациентам с лейкозом, включая AML. В конкретном варианте реализации Соединение 1 можно вводить в количестве примерно 4 мг/сутки пациентам с лейкозом, включая AML. В конкретном варианте реализации Соединение 1, предложенное в настоящем документе, можно вводить в количестве примерно 3 мг/сутки пациентам с лейкозом, включая AML. В конкретном варианте реализации Соединение 1, предложенное в настоящем документе, можно вводить в количестве примерно 2 мг/сутки пациентам с лейкозом, включая AML. В конкретном варианте реализации Соединение 1, предложенное в настоящем документе, можно вводить в количестве примерно 1 мг/сутки пациентам с лейкозом, включая AML. В конкретном варианте реализации Соединение 1, предложенное в настоящем документе, можно вводить в количестве примерно 0,5 мг/сутки пациентам с лейкозом, включая AML.

В конкретном варианте реализации Соединение 1 можно вводить в количестве примерно 25 мг/сутки пациентам с MDS. В конкретном варианте реализации Соединение 1 можно вводить в количестве примерно 10 мг/сутки пациентам с MDS. В конкретном варианте реализации Соединение 1 можно вводить в количестве примерно 5 мг/сутки пациентам с MDS. В конкретном варианте реализации Соединение 1 можно вводить в количестве примерно 4 мг/сутки пациентам с MDS. В конкретном варианте реализации Соединение 1, предложенное в настоящем документе, можно вводить в количестве примерно 3 мг/сутки пациентам с MDS. В конкретном варианте реализации Соединение 1, предложенное в настоящем документе, можно вводить в количестве примерно 2 мг/сутки пациентам с MDS. В конкретном варианте реализации Соединение 1, предложенное в настоящем документе, можно вводить в количестве примерно 1 мг/сутки пациентам с MDS. В конкретном варианте реализации Соединение 1, предложенное в настоящем документе, можно вводить в количестве примерно 0,5 мг/сутки пациентам с MDS.

В конкретных вариантах реализации терапевтически или профилактически эффективное количество составляет от примерно 0,001 до примерно 100 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 50 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 25 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 10 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 9 мг/кг/сутки, от 0,01 до примерно 8 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 7 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 6 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 5 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 4 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 3 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 2 мг/кг/сутки, от примерно 0,01 до примерно 1 мг/кг/сутки или от примерно 0,01 до примерно 0,05 мг/кг/сутки.

Введенную дозу также можно выражать в единицах, отличных от мг/кг/сутки. Например, дозы для парентерального введения можно выражать в  $\text{мг}/\text{м}^2/\text{сутки}$ . Специалистам в данной области техники известно, как пересчитывать дозы из  $\text{мг}/\text{кг}/\text{сутки}$  в  $\text{мг}/\text{м}^2/\text{сутки}$  для данного роста или массы субъекта, или для обоих параметров (см. [www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm](http://www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm)). Например, доза 1 мг/кг/сутки для человека массой 65 кг приблизительно равна  $38 \text{ мг}/\text{м}^2/\text{сутки}$ .

В некоторых вариантах реализации введенное количество Соединения 1 является достаточным для обеспечения концентрации соединения в плазме в равновесном состоянии от примерно 0,001 до примерно 500 мкМ, от примерно 0,002 до примерно 200 мкМ, от примерно 0,005 до примерно 100 мкМ, от примерно 0,01 до примерно 50 мкМ, от примерно 1 до примерно 50 мкМ, от примерно 0,02 до примерно 25 мкМ, от примерно 0,05 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,1 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,5 до примерно 20 мкМ или от примерно 1 до примерно 20 мкМ.

В других вариантах реализации введенное количество лиофилизированной композиции Соединения 1 является достаточным для обеспечения концентрации соединения в плазме в равновесном состоянии от примерно 5 до примерно 100 нМ, от примерно 5 до примерно 50 нМ, от примерно 10 до примерно 100 нМ, от примерно 10 до примерно 50 нМ или от примерно 50 до примерно 100 нМ.

В данном контексте термин "концентрация в плазме в равновесном состоянии" представляет собой концентрацию, достигаемую по истечении определенного периода времени после введения лиофилизированной композиции, представленной в настоящем документе. По достижении равновесного состояния на кривой зависимости концентрации твердой формы в плазме от времени присутствуют незначительные пики и впадины.

В некоторых вариантах реализации введенное количество лиофилизированной композиции Соединения 1 является достаточным для обеспечения максимальной концентрации соединения в плазме (пиковой концентрации) от примерно 0,001 до примерно 500 мкМ, от примерно 0,002 до примерно 200 мкМ, от примерно 0,005 до примерно 100 мкМ, от примерно 0,01 до примерно 50 мкМ, от примерно 1 до примерно 50 мкМ, от примерно 0,02 до примерно 25 мкМ, от примерно 0,05 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,1 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,5 до примерно 20 мкМ или от примерно 1 до примерно 20 мкМ.

В некоторых вариантах реализации введенное количество лиофилизированной композиции Соединения 1 является достаточным для обеспечения минимальной концентрации соединения в плазме (остаточной концентрации) от примерно 0,001 до примерно 500 мкМ, от примерно 0,002 до примерно 200 мкМ, от примерно 0,005 до примерно 100 мкМ, от примерно 0,01 до примерно 50 мкМ, от примерно 1 до примерно 50 мкМ, от примерно 0,01 до примерно 25 мкМ, от примерно 0,01 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,02 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,02 до примерно 20 мкМ или от примерно 0,01 до примерно 20 мкМ.

В некоторых вариантах реализации введенное количество лиофилизированной композиции Соединения 1 является достаточным для обеспечения площади под кривой (AUC) указанного соединения от примерно 100 до примерно 100000 нг\*ч/мл, от примерно 1000 до примерно 50000 нг\*ч/мл, от примерно 5000 до примерно 25000 нг\*ч/мл или от примерно 5000 до примерно 10000 нг\*ч/мл.

В некоторых вариантах реализации пациент, подлежащий лечению одним из способов, предложенных в настоящем документе, ранее не проходил противораковую терапию до введения лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации пациент, подлежащий лечению одним из способов, предложенных в настоящем документе, проходил противораковую терапию до введения лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации у пациента, подлежащего лечению одним из способов, предложенных в данном документе, развилась лекарственная устойчивость к противораковой терапии.

Способы, предложенные в данном документе, включают лечение пациента, независимо от возраста пациента, хотя некоторые заболевания или расстройства более распространены в определенных возрастных группах.

Леофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, можно доставлять в виде разовой дозы, такой как, например, однократная болюсная инъекция, или в течение определенного времени, как, например, посредством непрерывной инфузии в течение определенного времени или в виде дробных болюсных доз в течение определенного времени. Леофилизированную композицию Соединения 1 можно вводить несколько раз, при необходимости, например, до стабилизации или регрессии заболевания у пациента или до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности у пациента. Например, стабильное заболевание для солидных опухолей обычно означает, что перпендикулярный диаметр измеримых очагов не увеличился на 25% или более с момента последнего измерения. Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) Guidelines, Journal of the National Cancer Institute 92(3): 205-216 (2000). Стабильное заболевание или его отсутствие определяют способами, известными в данной области техники, такими как оценка симптомов пациента, медицинский осмотр, визуализация опухоли, снимок которой получен с помощью рентгеновского излучения, КТ, ПЭТ или МРТ, а также с помощью других общепринятых способов оценки.

Леофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, можно вводить один раз в сутки (QD) или можно делить на несколько суточных доз, например, два раза в сутки (BID), три раза в сутки (TID) и четыре раза в сутки (QID). Кроме того, введение может быть непрерывным (т.е. ежедневно в течение нескольких последовательных дней или каждый день), периодическим, например, в циклах (т.е. включая несколько дней, недель или месяцев отдыха без лекарства). В данном контексте термин "ежедневно" означает, что терапевтическое соединение вводят один или более одного раза в сутки, каждый день в течение, например, определенного периода времени. Термин "непрерывно" означает, что терапевтическое соединение вводят ежедневно в течение непрерывного периода времени, составляющего от по меньшей мере 10 дней до 52 недель. Термин "периодический" или "периодически" в данном контексте означает прекращение и начало одинаковых или неодинаковых интервалов. Например, периодическое введение леофилизированной композиции Соединения 1 собой введение в течение от одного до шести дней в неделю, введение циклами (например, ежедневное введение в течение от одного до десяти последовательных дней в 28-дневном цикле, затем период отдыха без введения в течение остальной части 28-дневного цикла, или ежедневное введение в течение от двух до восьми последовательных недель, затем период отдыха без введения в течение до одной недели), или введение в чередую-

щиеся дни. Термин "циклически" в данном контексте означает, что терапевтическое соединение вводят ежедневно или непрерывно, но с периодом отдыха. В некоторых таких вариантах реализации введение осуществляют один раз в сутки в течение от двух до шести дней, затем следует период отдыха без введения в течение от пяти до семи дней. В некоторых других таких вариантах реализации введение осуществляют один раз в сутки в течение первых двух-пяти или десяти дней 28-дневного цикла, затем следует период отдыха без введения в течение остальных дней 28-дневного цикла.

В некоторых вариантах реализации частота введения находится в диапазоне от примерно суточной дозы до примерно месячной дозы. В некоторых вариантах реализации введение осуществляют один раз в сутки, два раза в сутки, три раза в сутки, четыре раза в сутки, один раз в два дня, два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели. В одном варианте реализации Соединение 1 вводят один раз в сутки. В другом варианте реализации Соединение 1 вводят два раза в сутки. В другом варианте реализации соединения 1, предложенное в настоящем документе, вводят три раза в сутки. В другом варианте реализации Соединение 1, предложенное в настоящем документе, вводят четыре раза в сутки.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки св течение от одного дня до шести месяцев, от одной недели до трех месяцев, от одной недели до четырех недель, от одной недели до трех недель или от одной недели до двух недель. В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение одной недели, двух недель, трех недель или четырех недель. В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение 1 дня. В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение 2 дней. В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение 3 дней. В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение 4 дней. В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение 5 дней. В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение 6 дней. В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение одной недели. В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение до 10 дней. В другом варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение двух недель. В другом варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение трех недель. В другом варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят один раз в сутки в течение четырех недель.

#### **Комбинированная терапия**

Леофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, также можно комбинировать или использовать в комбинации с другими терапевтическими агентами, подходящими для лечения и/или предупреждения рака, описанного в настоящем документе.

В одном варианте реализации в настоящем документе предложен способ лечения, предупреждения и/или сдерживания развития рака, включающий введение пациенту лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в комбинации с одним или более вторыми активными агентами, и необязательно в комбинации с лучевой терапией, переливанием крови или хирургической операцией. Примеры вторых активных агентов описаны в данном документе.

Леофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, также можно комбинировать или использовать в комбинации с другими терапевтическими агентами, подходящими для лечения и/или предупреждения MDS, описанного в настоящем документе.

В одном варианте реализации в настоящем документе предложен способ лечения, предупреждения и/или сдерживания развития MDS, включающий введение пациенту лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в комбинации с одним или более вторыми активными агентами, и необязательно в комбинации с лучевой терапией, переливанием крови или хирургической операцией. Примеры вторых активных агентов описаны в данном документе.

В данном контексте термин "в комбинации" включает применение более чем одной терапии (например, одного или более профилактических и/или терапевтических агентов). Однако применение термина "в комбинации" не ограничивает порядок, в котором терапевтические средства (например, профилактические и/или терапевтические агенты) вводят пациенту, страдающему от заболевания или расстройства. Первую терапию (например, профилактический или терапевтический агент, такой как лиофилизированная композиция Соединения 1, предложенная в данном документе) можно вводить до (например, за 5, 15, 30, 45 мин 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ч, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 или 12 недель), одновременно или после (например, через 5, 15, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ч, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 или 12 недель) вве-



дения второй терапии (например, профилактического или терапевтического агента) субъекту. В данном документе также предусмотрена тройная терапия.

Введение лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, и одного или более вторых активных агентов пациенту можно осуществлять одновременно или последовательно, одним или разными способами введения. Пригодность конкретного способа введения, используемого для конкретного активного агента, зависит от самого активного агента (например, от возможности его перорального введения без разложения до попадания в кровоток), а также от рака, подлежащего лечению.

Способ введения лиофилизированной композиции Соединения 1 не зависит от способа введения второй терапии. Так, в соответствии с указанными вариантами реализации, лиофилизированную композицию Соединения 1 вводят внутривенно, а вторую терапию можно вводить перорально, парентерально, интраперитонеально, внутривенно, внутриартериально, трансдермально, сублингвально, внутримышечно, ректально, трансбуккально, интраназально, липосомально, посредством ингаляции, вагинально, интраокулярно, посредством местной доставки через катетер или стент, подкожно, интраадипозально, интраартикулярно, интратекально или в лекарственной форме с медленным высвобождением. В одном из вариантов реализации лиофилизированную композицию Соединения 1 и вторую терапию вводят одним способом введения, IV. В другом варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1 вводят одним способом введения, например, IV, а второй агент (противораковый агент) вводят другим способом введения, например перорально.

В одном из вариантов реализации второй активный агент вводят внутривенно или подкожно и один или два раза в сутки в количестве от примерно 1 до примерно 1000 мг, от примерно 5 до примерно 500 мг, от примерно 10 до примерно 350 мг или от примерно 50 до примерно 200 мг. Конкретное количество второго активного агента зависит от конкретного используемого агента, типа заболевания, подлежащего лечению и/или сдерживанию развития, тяжести и стадии заболевания, а также от количества Соединения 1 и любых необязательных дополнительных активных агентов, параллельно вводимых пациенту.

Один или более вторых активных ингредиентов или агентов можно использовать вместе с лиофилизированной композицией Соединения 1 в способах и композициях, предложенных в настоящем документе. Вторые активные агенты могут быть высокомолекулярными соединениями (например, белками) или низкомолекулярными соединениями (например, синтетическими неорганическими, металлоорганическими или органическими молекулами).

Примеры высокомолекулярных активных агентов включают, но не ограничиваются ими, гематопэтические факторы роста, цитокины и моноклональные и поликлональные антитела, в частности, терапевтические антитела к раковым антигенам. Типичные высокомолекулярные активные агенты представляют собой биологические молекулы, такие как природные или синтетические, или рекомбинантные белки. Белки, которые особенно подходят для применения в способах и композициях, предложенных в настоящем документе, включают белки, которые стимулируют выживание и/или пролиферацию гематопэтических клеток-предшественниц и иммунологически активные пэтические клетки *in vitro* или *in vivo*. Другие подходящие белки стимулируют деление и дифференцировку коммитированных эритроидных предшественников в клетках *in vitro* или *in vivo*. Конкретные белки включают, но не ограничиваются ими: интерлейкины, такие как IL-2 (включая рекомбинантный IL-II ("rIL2") и канарипокс IL-2), IL-10, IL-12 и IL-18; интерфероны, такие как интерферон альфа-2а, интерферон альфа-2b, интерферон альфа-n1, интерферон альфа-n3, интерферон бета-1а и интерферон гамма-1b; GM-CSF и GM-CSF; и EPO.

В некоторых вариантах реализации GM-CSF, G-CSF, SCF или EPO вводят подкожно в течение около пяти дней в цикле из четырех или шести недель, в количестве от около 1 до около 750 мг/м<sup>2</sup>/сутки, от около 25 до около 500 мг/м<sup>2</sup>/сутки, от около 50 до около 250 мг/м<sup>2</sup>/сутки или от около 50 до около 200 мг/м<sup>2</sup>/сутки. В некоторых вариантах реализации GM-CSF можно вводить в количестве от около 60 до около 500 мкг/м<sup>2</sup> внутривенно в течение 2 ч или от около 5 до около 12 мкг/м<sup>2</sup>/сутки подкожно. В некоторых вариантах реализации G-CSF можно вводить подкожно в первоначальном количестве около 1 мкг/кг/сутки, а затем изменять в зависимости от повышения общего количества гранулоцитов. Поддерживающую дозу G-CSF можно вводить подкожно в количестве около 300 (у пациентов меньшей массы) или 480 мкг. В некоторых вариантах реализации EPO можно вводить подкожно в количестве 10000 единиц 3 раза в неделю.

Конкретные белки, которые можно использовать в указанных способах и композициях, включают, но не ограничиваются ими: филграстим, продаваемый в США под торговым названием Neupogen® (Amgen, Таузанд-Окс, штат Калифорния); сарграмостим, продаваемый в США под торговым названием Leukine® (Immunex, Сизтл, штат Вашингтон); и рекомбинантный EPO, продаваемый в США под торговым названием Epopgen® (Amgen, Таузанд-Окс, штат Калифорния).

Рекомбинантные и мутированные формы GM-CSF можно получать так, как описано в патентах США № 5391485; 5393870 и 5229496; описание которых включено в настоящий документ посредством ссылки. Рекомбинантные и мутированные формы G-CSF можно получать так, как описано в патентах США № 4810643; 4999291; 5528823 и 5580755; полное содержание которых включено в настоящий до-



кумент посредством ссылки.

Для применения в комбинации с лиофилизированной композицией Соединения 1, предложенной в настоящем документе, также предусмотрены нативные, природные и рекомбинантные белки. Данное описание дополнительно включает мутанты и производные (например, модифицированные формы) природных белков, которые демонстрируют *in vivo* по меньшей мере некоторую фармакологическую активность белков, из которых они получены. Примеры мутантов включают, но не ограничиваются ими, белки, которые содержат один или более аминокислотных остатков, отличных от соответствующих остатков в природных формах указанных белков. Термин "мутанты" включает также белки, которые лишены углеводных фрагментов, обычно присутствующих в их природных формах (например, негликозилированные формы). Примеры производных включают, но не ограничиваются ими, пегилированные производные и гибридные белки, такие как белки, образованные гибридизацией IgG1 или IgG3 с рассматриваемым белком или активной частью указанного белка. См., например, Penichet, M.L. and Morrison, S.L., *J. Immunol. Methods* 248: 91-101 (2001).

Антитела, которые можно использовать в комбинации с лиофилизированной композицией Соединения 1, предложенным в данном документе, включают моноклональные и поликлональные антитела. Примеры антител включают, но не ограничиваются ими, трастузумаб (Herceptin®), ритуксимаб (Rituxan®), бевацизумаб (Avastin™), пертузумаб (OmniTarg™), тоситумомаб (Bexxar®), эдреколомаб (Rapogex®) и G250. Леофилизированную композицию Соединения 1 также можно комбинировать или использовать в комбинации с анти-TNF- $\alpha$  антителами и/или анти-EGFR антителами, такими, как, например, Erbitux® или панитумумаб.

Высокомолекулярные активные агенты можно вводить в форме противораковых вакцин. Например, в предложенных способах и фармацевтических композициях можно использовать вакцины, которые секретируют или вызывают секрецию цитокинов, таких как IL-2, G-CSF и GM-CSF. См., например, Emens, L.A., et al., *Curr. Opin. Mol. Ther.* 3(1): 77-84 (2001).

Вторые активные агенты, представляющие собой низкомолекулярные вещества, также можно использовать для облегчения неблагоприятных эффектов, связанных с введением лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в данном документе. Однако, как и некоторые крупные молекулы, многие из них предположительно могут обеспечивать синергетический эффект при введении с лиофилизированной композицией Соединения 1, предложенной в настоящем документе (например, до, после или одновременно). Примеры низкомолекулярных вторых активных агентов включают, но не ограничиваются ими, противораковые агенты, антибиотики, иммунодепрессанты и стероиды.

В некоторых вариантах реализации второй агент представляет собой ингибитор HSP, ингибитор протеасомы, ингибитор FLT3 или ингибитор киназы TOR.

Примеры противораковых агентов для применения в способах и композициях, описанных в настоящем документе, включают, но не ограничиваются ими: ацивирин; акларубин; актодизол гидрохлорид; акронин; адозелезин; алдеслейкин; алтретамин; амбозицин; аметантрона ацетат; амсакрин; анастрозол; антрамицин; аспарагиназу; асперлин; азациитидин; азетеп; азотомицин; батимастат; бензодепа; бикалутамид; бисантрена гидрохлорид; биснафида димезилат; бизелезин; блеомицина сульфат; бреквинар натрия; бропинимин; бусульфат; кактиномицин; калустерон; карацемид; карбетимер; карбоплатин; кармустин; карубицина гидрохлорид; карзелезин; цедефингол; целексикс (ингибитор COX-2); хлорамбуцил; циролемицин; цисплатин; кладрибин; клофарабин; криснатола мезилат; циклофосфамид; Ага-С; дакарбазин; дактиномицин; даунорубицина гидрохлорид; децитабин; дексормаплатин; дезагуанин; дезагуанина мезилат; диазиковон; доцетаксел; доксорубицин; доксорубицина гидрохлорид; дролоксифен; дролоксифена цитрат; дромостанолон пропионат; дуазомицин; эдатрексат; эфлорнитина гидрохлорид; элсамитруцин; энлоплатин; энпромат; эпипропидин; эпирубицина гидрохлорид; эрбулозол; эзорубицина гидрохлорид; эстрамустин; эстрамустина фосфат натрия; этанидазол; этопозид; этопозид фосфат; этоприн; фадрозол гидрохлорид; фазарабин; фенретирид; флоксурин; флударабина фосфат; фторурацил; фторцитабин; фосквидон; фостриecin натрия; гемцитабин; гемцитабина гидрохлорид; герцептин; гидроксимочевину; идарубицина гидрохлорид; ифосфамид; илмофозин; ипроплатин; иринотекан; иринотекана гидрохлорид; ланреотида ацетат; лапатиниб; летрозол; лейпролида ацетат; лиарозол гидрохлорид; лометрексол натрия; ломустин; лозоксантрона гидрохлорид; мазопрокол; майтанзин; мехлоретамин гидрохлорид; мегестрола ацетат; меленгестрола ацетат; мелфалан; меногарил; меркаптопурин; метотрексат; метотрексат натрия; метоприн; метуредеп; митиндомид; митокарцин; митокромин; митогиллин; митомалцин; митомицин; митоспер; митотан; митоксантрона гидрохлорид; микофеноловую кислоту; нокадазол; ногаламицин; омаетаксин; ормаплатин; оксизуран; паклитаксел; пегаспаргазу; пелиомицин; пентамустин; пепломицина сульфат; перфосфамид; пипоброман; пипосульфат; пироксантрона гидрохлорид; пликамицин; пломестан; порфимер натрия; порфирамицин; преднимустин; прокарбазина гидрохлорид; пуромидин; пуромидина гидрохлорид; пиразофури; рибоприн; сафингол; сафингола гидрохлорид; семустин; симтразен; сорафениб; спарфосат натрия; спарсомицин; спирогермания гидрохлорид; спиромустин; спироплатин; стрептонигрин; стрептозоцин; сулофенур; талисомицин; текогалан натрия; таксотер; тегафур; телоксантрона гидрохлорид; темопорфин; тенипозид; тероксирон; тестолактон; тиамиприн; тио-

гуанин; тиотепа; тиазофурин; тирапазамин; торемифена цитрат; трестолон ацетат; трицирибина фосфат; триметрексат; триметрексата глюкуропат; трипторелин; тубулозола гидрохлорид; урациловый иприт; уредепа; вапреотид; вертепорфин; винбластин сульфат; винкристина сульфат; виндезин; виндезина сульфат; винепидина сульфат; винглицината сульфат; винлейпрозина сульфат; винорелбина тартрат; винрозидина сульфат; винзолидина сульфат; ворозол; зениплатин; зиностатин и зорубина гидрохлорид.

Другие противораковые лекарства, которые можно использовать в указанных способах и композициях, включают, но не ограничиваются ими: 20-эпи-1,25-дигидроксивитамин D3; 5-этилиурацил; абиратерон; акларубин; ацилфульвен; аденипенон; адозелезин; алдеслейкин; антагонисты ALL-TK; алтретамин; амбамустин; амидокс; амифостин; аминоклевулиновую кислоту; амрубин; амсакрин; анагредид; анастрозол; андрографолид; ингибиторы ангиогенеза; антагонист D; антагонист G; антареликс; антидорсализирующий морфогенетический белок-1; антиандроген карциномы предстательной железы; антиэстроген; антинеопластон; антисмысловые олигонуклеотиды; афидиколина глицинат; модуляторы гена апоптоза; регуляторы апоптоза; апуриновую кислоту; ага-CDP-DL-PTBA; аргинин-деаминазу; асуларин; атаместан; атримустин; аксинастатин 1; аксинастатин 2; аксинастатин 3; азасетрон; азатоксин; азатирозин; производные баккатина III; баланол; батимастат; антагонисты BCR/ABL; бензохлорины; бензилстауроспорин; бета-лактамы производные; бета-алетин; бетакламин В; бетулиновую кислоту; ингибитор b-FGF; бикалутамид; бисантрон; бисазиридинилспермин; биснафид; бистратен А; бизелезин; брелфат; бропиримин; будотитан; бутунина сульфоксимин; кальцитриол; калфостин С; производные камптотецина; капецитабин; карбоксамид-аминотриазол; карбоксиамидотриазол; CaRest M3; CARN 700; хрящевой ингибитор; карзелезин; ингибиторы казеинкиназы (ICOS); кастаноспермин; цекропин В; цетрореликс; хлорины; хлорхиноксалина сульфонамид; цикапрост; цис-порфириин; кладрибин; аналоги кломифена; клотримазол; коллисмидин А; коллисмидин А; комбретастатин А4; аналоги комбрестатина; конагенин; крамбесцидин 816; криснатол; криптофицин 8; производные криптофицина А; курацин А; циклопента-антрахиноны; циклоплатам; ципемидин; оксифосфат Ага-С; цитолитический фактор; цитостатин; дакликсимаб; децитабин; дегидродидемнин В; деслорелин; дексаметазон; дексифосфамид; дексразоксан; дексверапамил; диазиквон; дидемнин В; дидокс; диэтилнорспермин; дигидро-5-азациитидин; дигидротаксол, 9-; диоксамидин; дифенилспиромустин; доцетаксел; докозанол; доласетрон; доксифлуридин; доксорубин; дролоксифен; дронабинол; дуокармидин SA; эбселен; экомустин; эдельфозин; эдрекломаб; эфлорнитин; элемен; эмитефур; эпирубин; эпиристерид; аналог эстрамустина; агонисты эстрогена; антагонисты эстрогена; этанидазол; этопозида фосфат; эксместан; фадрозол; фазарабин; фенретинид; филгратим; финастерид; флавопиридол; флезеластин; фластерон; флударабин; фтордаунорунидина гидрохлорид; форфенимекс; форместан; фостриecin; фотемустин; гадолиния тексафин; галлия нитрат; галоцитабин; ганиреликс; ингибиторы желатиназы; гемцитабин; ингибиторы глутатиона; гепсульфам; герегулин; гексаметилен-бисацетамид; гиперин; ибандроновую кислоту; идарубин; идоксифен; идрамантон; илмофозин; иломастат; иматиниб (например, GLEEVEC®), имиквимод; иммуностимулирующие пептиды; ингибитор рецептора инсулиноподобного фактора роста 1; агонисты интерферона; интерфероны; интерлейкины; иобенгуан; йододоксорибин; ипомеанол, 4-; ироплакт; ирсогладин; изобенгазол; изогомогаликондрин В; итасетрон; ясплакинолид; кагалаид F; ламелларин-N-триацетат; ланреотид; лейнамидин; ленограстим; лентинана сульфат; лептолестатин; летрозол; ингибирующий фактор лейкоза; интерферон-альфа лейкоцитов; лейпролид+эстроген+прогестерон; лейпрорелин; левамизол; лиарозол; аналог линейного полиамина; липофильный пептид с дисахаридом; липофильные соединения платины; лисоклиамид 7; лобоплатин; ломбрицин; лометрексол; лонидамин; лозоксантрон; локсорибин; луртотекан; лютеция тексафин; лизофиллин; литические пептиды; майтанзин; манностатин А; маримастат; мазопрокол; маспин; ингибиторы матрилизина; ингибиторы матричной металлопротеиназы; меногарил; мербарон; метерелин; метиониназу; метоклопрамид; ингибитор MIF; мифепристон; милтефозин; миримостим; митогуазон; митолактол; аналоги митомицина; митонафид; митотоксин; фактор роста фибробластов сапорин; митоксантрон; мофаротен; молграмостим; эрбутукс; хорионический гонадотропин человека; монофосфорильный липид А+сфингозинкиназа (sk) клеточной стенки микобактерий; мопидамол; ипритный противораковый агент; микапероксид В; экстракт клеточной стенки микобактерий; мириапон; N-ацетилдиналин; N-замещенные бензамиды; нафарелин; нагрестип; налоксон+пентазоцин; напавин; нафтерпин; нартограстим; недаплатин; неморубин; неридроновую кислоту; нилутамид; низамидин; модуляторы оксида азота; нитроксид-антиоксидант; нитруллин; облимерсен (GENASENSE®); O<sup>6</sup>-бензилгуанин; октреотид; окиценон; олигонуклеотиды; онапристон; ондансетрон; ондансетрон; орацин; индуктор орального цитокина; ормаплатин; озатерон; оксалиплатин; оксауномицин; паклитаксел; аналоги паклитаксела; производные паклитаксела; палауамин; пальмитоилтризоксин; памидроновую кислоту; панакситриол; паномифен; парабактин; пацеллитин; ПЭГаспаргазу; пелдезин; пентозан полисульфан натрия; пентостатин; пентрозол; перфлуброн; перфосфамид; перилловый спирт; феназиномицин; фенилацетат; ингибиторы фосфатазы; пицибанил; пилокарпина гидрохлорид; пирарубин; пиритрексим; плацетин А; плацетин В; ингибиторы активатора плазминогена; комплексы платины; соединения платины; комплекс платины-триамина; порфимер натрия; порфирамицин; преднизон; пропил-бис-акридон;

простагландин J2; ингибиторы протеасом; иммуномодулятор на основе белка А; ингибитор протеинкиназы С; ингибиторы протеинкиназы С, микроалгал, ингибиторы протеинтирозинфосфатазы; ингибиторы пуриннуклеозидфосфорилазы; пурпурины; пиразолоакридин; конъюгат пиридоксильированного гемоглобина и полиоксиэтилена; антагонисты *raf*; ралтитрексед; рамосетрон; ингибиторы *ras* фарнезилпротеинтрансферазы; ингибиторы *ras*; ингибитор *ras*-GAP; ретеллиптин деметилированный; рений Re 186 этидронат; ризоксин; рибозимы; RII ретинамид; рохитукин; ромуртид; роквинимекс; рубигинон B1; рубоксил; сафингол; саинтопин; SarCNU; саркофитол А; сарграмостим; Sdi 1 миметики; семустин; производное ингибитора старения 1; смысловые олигонуклеотиды; ингибиторы сигнальной трансдукции; сизофирин; собузоксан; натрия борокапнат; натрия фенилацетат; сольверол; соматомедин-связывающий белок; сонермин; спарфозиновую кислоту; спикамицин D; спиромустин; спленопентин; спонгистатин 1; скваламин; стипиамид; ингибиторы стромелизина; сульфинозин; сверхактивный вазоактивный антагонист кишечного пептида; сурадиста; сурамин; свейнсонин; таллимустин; тамоксифена метиодид; тауромустин; тазаротен; текогалан натрия; тегафур; теллурапирилий; ингибиторы теломеразы; темопорфин; тенипозид; тетрахлодекаоксид; тетразомин; талибластин; тиокоралин; тромбopoэтин; миметик тромбopoэтина; тималфазин; агонист рецептора тимопоэтина; тимотрипан; тироидстимулирующий гормон; этилэтиопурпурин олова; тирапазамин; титаносена бихлорид; топсентин; торемифен; ингибиторы трансляции; третиноин; триацетилюридин; трицирибин; триметрексад; трипторелин; тропизетрон; туростерид; ингибиторы тирозинкиназы; тирфостины; ингибиторы UBC; убенимекс; производный от урогенитального синуса фактор ингибирования роста; антагонисты рецептора урокиназы; вапреотид; вариолин В; веларезол; верамин; вердины; вертепорфин; винорелбин; винксалтин; витаксин; ворозол; занотерон; зениплатин; циласкорб; и зиностатина стимуламер.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1 вводят в комбинации с ингибиторами контрольных точек. В одном варианте реализации используют один ингибитор контрольной точки в комбинации с лиофилизированной композицией Соединения 1 с применением способов, предложенных в настоящем документе. В другом варианте реализации используют два ингибитора контрольных точек в комбинации с лиофилизированной композицией Соединения 1 с применением способов, предложенных в настоящем документе. В другом варианте реализации используют три или более ингибиторов контрольных точек в комбинации с лиофилизированной композицией Соединения 1 с применением способов, предложенных в настоящем документе.

В данном контексте термин "ингибитор иммунной контрольной точки" или "ингибитор контрольной точки" относится к молекулам, которые полностью или частично снижают, ингибируют, препятствуют или модулируют один или более белков контрольной точки. Не ограничиваясь какой-либо конкретной теорией, белки контрольных точек регулируют активацию или функцию Т-клеток. Известны многочисленные белки контрольных точек, такие как CTLA-4 и его лиганды CD80 и CD86; и PD-1 с его лигандами PD-L1 и PD-L2 (Pardoll, *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12, 252-264). Указанные белки отвечают за костимулирующие или ингибирующие взаимодействия Т-клеточных ответов. Белки иммунной контрольной точки регулируют и поддерживают аутоотолерантность, а также продолжительность и амплитуду физиологических иммунных реакций. Ингибиторы иммунных контрольных точек включают антитела или получены из антител.

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор CTLA-4. В одном варианте реализации ингибитор CTLA-4 представляет собой анти-CTLA-4 антитело. Примеры анти-CTLA-4 антител включают, но не ограничиваются ими, антитела, описанные в патентах США № 5811097; 5811097; 5855887; 6051227; 6207157; 6682736; 6984720 и 7605238, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки. В одном варианте реализации анти-CTLA-4 антитело представляет собой тремелимуаб (также известный как тицилимуаб или CP-675206). В другом варианте реализации анти-CTLA-4 антитело представляет собой ипилимуаб (также известный как MDX-010 или MDX-101). Ипилимуаб представляет собой полное человеческое моноклональное IgG антитело, которое связывается с CTLA-4. Ипилимуаб доступен в продаже под торговым названием Yervoy™.

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор PD-1/PD-L1. Примеры ингибиторов PD-1/PD-L1 включают, но не ограничиваются ими, ингибиторы, описанные в патентах США № 7488802; 7943743; 8008449; 8168757; 8217149 и в публикациях патентных заявок РСТ № WO 2003042402, WO 2008156712, WO 2010089411, WO 2010036959, WO 2011066342, WO 2011159877, WO 2011082400 и WO 2011161699, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор PD-1. В одном варианте реализации ингибитор PD-1 представляет собой анти-PD-1 антитело. В одном варианте реализации анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб (также известный как ONO-4538, BMS-936558 или MDX1106) или пембролизумаб (также известный как MK-3475, SCH 900475 или ламбролизумаб). В одном варианте реализации анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб. Ниволумаб представляет собой человеческое IgG4 анти-PD-1 моноклональное антитело и доступно в продаже под

торговым названием Opdivo™. В другом варианте реализации анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное IgG4 антитело, выпускаемое под торговым названием Keytruda™. В другом варианте реализации анти-PD-1 антитело представляет собой CT-011, гуманизированное антитело. CT-011, вводимый отдельно, не вызывает ответ при лечении острого миелоидного лейкоза (AML) в состоянии рецидива. В другом варианте реализации анти-PD-1 антитело представляет собой AMP-224, гибридный белок.

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор PD-L1. В одном варианте реализации ингибитор PD-L1 представляет собой анти-PD-L1 антитело. В одном варианте реализации анти-PD-L1 антитело представляет собой MEDI4736 (дурвалумаб). В другом варианте реализации анти-PD-L1 антитело представляет собой BMS-936559 (также известный как MDX-1105-01). В другом варианте реализации ингибитор PD-L1 представляет собой атезолизумаб (также известный как MPDL3280A и Tecentriq®).

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор PD-L2. В одном варианте реализации ингибитор PD-L2 представляет собой анти-PD-L2 антитело. В одном варианте реализации анти-PD-L2 антитело представляет собой gHIgM12B7A.

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор гена активации лимфоцитов 3 (LAG-3). В одном варианте реализации ингибитор LAG-3 представляет собой IMP321, растворимый гибридный белок Ig (Brignone et al., J.Immunol., 2007, 179, 4202-4211). В другом варианте реализации ингибитор LAG-3 представляет собой BMS-986016.

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор B7. В одном варианте реализации ингибитор B7 представляет собой ингибитор B7-H3 или ингибитор B7-H4. В одном варианте реализации ингибитор B7-H3 представляет собой MGA271, анти-B7-H3 антитело (Loo et al., Clin. Cancer Res., 2012, 3834).

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор TIM3 (домена иммуноглобулина Т-клеток и муцинового домена 3) (Fourcade et al., J. Exp. Med., 2010, 207, 2175-86; Sakuishi et al., J. Exp. Med., 2010, 207, 2187-94).

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой агонист OX40 (CD134). В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой анти-OX40 антитело. В одном варианте реализации анти-OX40 антитело представляет собой анти-OX-40. В другом варианте реализации анти-OX40 антитело представляет собой MEDI6469.

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой агонист GITR. В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой анти-GITR антитело. В одном варианте реализации анти-GITR антитело представляет собой TRX518.

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой агонист CD137. В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой анти-CD137 антитело. В одном варианте реализации анти-CD137 антитело представляет собой урелумаб. В другом варианте реализации анти-CD137 антитело представляет собой PF-05082566.

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой агонист CD40. В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой анти-CD40 антитело. В одном варианте реализации анти-CD40 антитело представляет собой CF-870893.

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой рекомбинантный человеческий интерлейкин-15 (rhIL-15).

В одном варианте реализации ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор IDO. В одном варианте реализации ингибитор IDO представляет собой INCB024360. В другом варианте реализации ингибитор IDO представляет собой индоксимод.

В некоторых вариантах реализации комбинированные терапии, предложенные в настоящем документе, включают два или более ингибиторов контрольных точек, описанных в настоящем документе (включая ингибиторы конечной точки одного или разных классов). Кроме того, комбинированные терапии, описанные в настоящем документе, можно использовать в комбинации со вторыми активными агентами, описанными в настоящем документе, если это уместно для лечения заболеваний, описанных в данном документе, и известно в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации Соединение 1 можно использовать в комбинации с одной или более иммунными клетками, экспрессирующими один или более химерных антигенных рецепторов (CAR) на своей поверхности (например, модифицированные иммунные клетки). В целом, CAR содержат внеклеточный домен из первого белка, например, антиген-связывающего белка, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах реализации после связывания внеклеточного домена с белком-мишенью, таким как опухолеассоциированный антиген (ТАА) или опухолеспецифический антиген (TSA), через внутриклеточный сигнальный домен создается сигнал, который активирует иммунную клетку, например, для направленного воздействия и уничтожения клетки, экспрессирующей белок-мишень.

Внеклеточные домены: внеклеточные домены CAR связываются с целевым антигеном. В некото-

рых вариантах реализации внеклеточный домен CAR содержит рецептор или часть рецептора, которая связывается с указанным антигеном. В некоторых вариантах реализации внеклеточный домен содержит или представляет собой антитело или его антиген-связывающую часть. В конкретных вариантах реализации внеклеточный домен содержит или представляет собой одноцепочечный домен Fv (scFv).

Одноцепочечный домен Fv может содержать, например,  $V_L$ , связанный с  $V_H$  гибким линкером, при этом указанные  $V_L$  и  $V_H$  происходят из антитела, который связывается с указанным антигеном.

В некоторых вариантах реализации антиген, распознаваемый внеклеточным доменом полипептида, описанного в настоящем документе, представляет собой опухолеассоциированный антиген (ТАА) или опухолеспецифический антиген (TSA). В различных конкретных вариантах реализации опухолеассоциированный антиген или опухолеспецифический антиген представляет собой, без ограничения, Her2, антиген стволовых клеток предстательной железы (PSCA), альфа-фетопrotein (AFP), карциноэмбриональный антиген (CEA), раковый антиген-125 (CA-125), CA19-9, калретицин, MUC-1, антиген созревания В-клеток (BCMA), эпителиальный мембранный белок (EMA), эпителиальный опухолевый антиген (ETA), тирозиназу, меланома-24-ассоциированный антиген (MAGE), CD19, CD22, CD27, CD30, CD34, CD45, CD70, CD99, CD117, EGFRvIII (эпителиальный фактор роста, вариант III), мезотелин, PAP (простатическая кислая фосфатаза), простеин, TARP (альтернативный белок рамки считывания гамма-рецептора Т-клеток), Trp-r8, STEAPI (эпителиальный антиген простаты 1 с шестью трансмембранными доменами), хромогранин, цитокератин, десмин, глиофибрилярный кислый белок (GFAP), белковую жидкость при обширных кистозных болезнях-15 (GCDFP-15), антиген HMB-45, белок мелан-А (антиген меланомы, распознаваемый Т-лимфоцитами; MART-I), мио-D1, мышечно-специфический актин (MSA), нейрофиламент, нейрон-специфическую енолазу (NSE), плацентарную щелочную фосфатазу, синаптофизин, тиреоглобулин, тиреоидный фактор транскрипции-1, димерную форму изоэнзима пируваткиназы типа M2 (опухолевый M2-PK), патологический белок gas или патологический белок p53. В некоторых вариантах реализации ТАА или TSA, распознаваемый внеклеточным доменом CAR, представляет собой интегрин  $\alpha v \beta 3$  (CD61), галактин или Ral-B.

В некоторых вариантах реализации ТАА или TSA, распознаваемый внеклеточным доменом CAR, представляет собой антиген рака яичек (CT), например, BAGE, CAGE, CTAGE, FATE, GAGE, HCA661, HOM-TES-85, MAGEA, MAGEB, MAGEC, NA88, NY-ESO-1, NY-SAR-35, OY-TES-1, SPANXBI, SPA17, SSX, SYCPI или TPTE.

В некоторых вариантах реализации ТАА или TSA, распознаваемый внеклеточным доменом CAR, представляет собой углевод или ганглиозид, например, fuc-GMI, GM2 (иммуногенный онкоэмбриональный антиген-1; OFA-I-1); GD2 (OFA-I-2), GM3, GD3 и т.п.

В некоторых других вариантах реализации ТАА или TSA, распознаваемый внеклеточным доменом CAR, представляет собой альфа-актинин-4, Bage-I, BCR-ABL, гибридный белок Bcr-Abl, бета-катенин, CA 125, CA 15-3 (CA 27.29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, Casp-8, cdc27, cdk4, cdkn2a, CEA, coa-I, гибридный белок dek-can, EBNA, EF2, антигены вируса Эпштейна-Барра, гибридный белок ETV6-AML1, HLA-A2, HLA-A11, hsp70-2, KIAA0205, Mart2, Mum-1, 2 и 3 нео-PAP, миозин I класса, OS-9, гибридный белок pml-RAR $\alpha$ , PTPRK, K-ras, N-ras, триозофосфатизомераза, Gage 3,4,5,6,7, GnTV, Herv-K-mel, Lage-1, NA-88, NY-Eso-1/Lage-2, SP17, SSX-2, TRP2-Int2, gp100 (Pmel17), тирозиназу, TRP-1, TRP-2, MAGE-1, MAGE-3, RAGE, GAGE-1, GAGE-2, p15(58), RAGE, SCP-1, Hom/Mel-40, PRAME, p53, HRas, HER-2/neu, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, антигены вируса папилломы человека (HPV) E6 и E7, TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, nm-23H1, PSA, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, 13-катенин, Mum-1, p16, TAGE, PSMA, CT7, теломеразу, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, 13HCG, BCA225, BTAA, CD68/KP1, C0-029, FGF-5, G250, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB\70K, NY-C0-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90, TAAL6, TAG72, TLP или TPS.

В различных конкретных вариантах реализации опухолеассоциированный антиген или опухолеспецифический антиген представляет собой AML-связанные опухолевые антигены, описанные в публикации Anguille et al., Leukemia (2012), 26, 2186-2196.

Другие опухолеассоциированные и опухолеспецифические антигены известны специалистам в данной области техники.

Рецепторы, антитела и scFvs, которые связываются с TSA и ТАА, подходящие при конструировании химерных антигенных рецепторов, известны в данной области техники, как и нуклеотидные последовательности, которые их кодируют.

В некоторых конкретных вариантах реализации антиген, распознаваемый внеклеточным доменом химерного антигенного рецептора, представляет собой антиген, который обычно не рассматривают как TSA или ТАА, но который тем не менее связан с опухолевыми клетками или повреждением, вызванным опухолью. В некоторых вариантах реализации антиген представляет собой, например, фактор роста, цитокин или интерлейкин, например фактор роста, цитокин или интерлейкин, связанный с ангиогенезом или васкулогенезом. Такие факторы роста, цитокины или интерлейкины могут включать, например, фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), фактор роста из

тромбоцитов (PDGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF) или интерлейкин-8 (IL-8). Опухоли также могут создавать гипоксическую среду вблизи опухоли. Таким образом, в других конкретных вариантах реализации антиген представляет собой фактор, ассоциированный с гипоксией, например, HIF-1 $\alpha$ , HIF-1 $\beta$ , HIF-2 $\alpha$ , HIF-2 $\beta$ , HIF-3 $\alpha$  или HIF-3 $\beta$ .

Опухоли также могут вызывать локализованное повреждение нормальной ткани, что приводит к высвобождению молекул, известных как молекулярные структуры, ассоциированные с повреждением (DAMP; также известные как алармины). Таким образом, в некоторых других конкретных вариантах реализации антиген представляет собой DAMP, например, белок теплового шока, хроматин-ассоциированный белок box-1 группы с высокой подвижностью (HMGB 1), S100A8 (MRP8, калгранулин A), S100A9 (MRP14, калгранулин B), сывороточный амилоид A (SAA) или может представлять собой дезоксирибонуклеиновую кислоту, аденозинтрифосфат, мочевую кислоту или гепаринсульфат.

Трансмембранный домен: в некоторых вариантах реализации внеклеточный домен CAR соединен с трансмембранным доменом полипептида линкером, спейсером или шарнирной полипептидной последовательностью, например последовательностью из CD28 или последовательностью из CTLA4. Трансмембранный домен может быть получен или образован из трансмембранного домена любого трансмембранного белка, и может содержать весь или часть такого трансмембранного домена. В конкретных вариантах реализации трансмембранный домен может быть получен или образован, например, из CD8, CD16, рецептора цитокина, рецептора интерлейкина или рецептора фактора роста или т.п.

Внутриклеточные сигнальные домены: в некоторых вариантах реализации внутриклеточный домен CAR представляет собой или содержит внутриклеточный домен или мотив белка, который экспрессируется на поверхности Т-клеток и запускает активацию и/или пролиферацию указанных Т-клеток. Такой домен или мотив может передавать первичный антиген-связывающий сигнал, который необходим для активации Т-лимфоцита в ответ на связывание антигена с внеклеточной частью CAR. Как правило, такой домен или мотив содержит или представляет собой ITAM (иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив). ITAM-содержащие полипептиды, подходящие для CAR, включают, например,  $\zeta$ -цепь CD3 (CD3 $\zeta$ ) или ее ITAM-содержащие части. В конкретном варианте реализации внутриклеточный домен представляет собой внутриклеточный сигнальный домен CD3 $\zeta$ . В других конкретных вариантах реализации внутриклеточный домен образован из цепи рецептора лимфоцита, комплексного белка TCR/CD3, субъединицы рецептора  $\gamma$  или субъединицы рецептора IL-2. В некоторых вариантах реализации CAR дополнительно содержит один или более костимулирующих доменов или мотивов, например, в составе внутриклеточного домена полипептида. Один или более костимулирующих доменов или мотивов могут представлять собой или могут содержать одну или более последовательностей костимулирующего полипептида CD27, последовательностей костимулирующего полипептида CD28, последовательностей костимулирующего полипептида OX40 (CD134), последовательностей костимулирующего полипептида 4-1BB (CD137) или последовательностей индуцибельного костимулирующего Т-клетки (ICOS) полипептида, или другой костимулирующий домен или мотив, или любую их комбинацию.

CAR также может содержать мотив выживания Т-клеток. Мотив выживания Т-клеток может представлять собой любую полипептидную последовательность или мотив, который способствует выживанию Т-лимфоцита после стимуляции антигеном. В некоторых вариантах реализации мотив выживания Т-клеток представляет собой или получен из CD3, CD28, внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-7 (IL-7R), внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-12, внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-15, внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-21 или внутриклеточного сигнального домена рецептора трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ).

Модифицированные иммунные клетки, экспрессирующие CAR, могут быть, например, Т-лимфоцитами (Т-клетки, например, Т-клетки CD4 $^{+}$  или Т-клетки CD8 $^{+}$ ), цитотоксическими лимфоцитами (CTL) или природными клетками-киллерами (NK). Т-лимфоциты, используемые в композициях и способах, предложенных в настоящем документе, могут быть нативными Т-лимфоцитами или МНС-ограниченными Т-лимфоцитами. В некоторых вариантах реализации Т-лимфоциты представляют собой лимфоциты, инфильтрующие опухоль (TIL). В некоторых вариантах реализации Т-лимфоциты выделены из биопсии опухоли или выращены из Т-лимфоцитов, выделенных из биопсии опухоли. В некоторых других вариантах реализации Т-клетки выделены или выращены из Т-лимфоцитов, выделенных из периферической крови, пуповинной крови или лимфы. Иммунные клетки, пригодные для создания модифицированных иммунных клеток, экспрессирующих CAR, можно выделять с применением общепринятых стандартных методов, например, посредством сбора крови с последующим аферезом и необязательно антитело-опосредованным выделением или сортировкой клеток.

Модифицированные иммунные клетки предпочтительно являются аутологичными к индивидууму, которому будут введены модифицированные иммунные клетки. В некоторых других вариантах реализации модифицированные иммунные клетки являются аллогенными к индивидууму, которому будут введены модифицированные иммунные клетки. При использовании аллогенных Т-лимфоцитов или NK клеток для получения модифицированных Т-лимфоцитов, предпочтительно выбирать Т-лимфоциты или NK клетки, которые будут снижать вероятность болезни "трансплантат против хозяина" (GVHD) у индиви-

дуума. Например, в некоторых вариантах реализации выбирают вирус-специфические Т-лимфоциты для получения модифицированных Т-лимфоцитов; такие лимфоциты предположительно обладают значительно сниженной естественной способностью связываться и, следовательно, активироваться любыми антигенами реципиента. В некоторых вариантах реализации реципиент-опосредованное отторжение аллогенных Т-лимфоцитов может быть снижено посредством совместного введения хозяину одного или более иммунодепрессивных агентов, например, циклоспорина, такролимуса, сиролимуса, циклофосфамида или т.п.

Т-лимфоциты, например, немодифицированные Т-лимфоциты или Т-лимфоциты, экспрессирующие CD3 и CD28, или содержащие полипептид, который содержит сигнальный домен CD3 $\zeta$  и костимулирующий домен CD28, можно выращивать с применением антител к CD3 и CD28, например антител, прикрепленных к гранулам; см., например, патенты США № 5948893; 6534055; 6352694; 6692964; 6887466; и 6905681.

Модифицированные иммунные клетки, например, модифицированные Т-лимфоциты могут необязательно содержать «суицидальный ген» или «защитный выключатель», который обеспечивает возможность уничтожения по существу всех модифицированных иммунных клеток в случае необходимости. Например, модифицированные Т-лимфоциты, в некоторых вариантах реализации, могут содержать ген тимидинкиназы HSV (HSV-TK), который вызывает гибель модифицированных Т-лимфоцитов при введении в контакт с ганцикловиром. В другом варианте реализации модифицированные Т-лимфоциты содержат индуцибельную каспазу, например, индуцибельную каспазу 9 (icaspase9), например, гибридный белок между каспазой 9 и связывающим белком FK506 человека, что обеспечивает возможность димеризации с применением специфических низкомолекулярных фармацевтических препаратов. См. Straathof et al., Blood 105(11): 4247-4254 (2005).

Конкретные вторые активные агенты, особенно подходящие для применения в предложенных способах или композициях, включают, но не ограничиваются ими, ритуксимаб, облимерсен (Genasense®), ремикад, доцетаксел, цеlexоксиб, мелфалан, дексаметазон (Decadron®), стероиды, гемцитабин, цисплатин, темозоломид, этопозид, циклофосфамид, темодар, карбоплатин, прокарбазин, глиадел, тамоксифен, топотекан, метотрексат, Arisa®, таксол, таксотер, фторурацил, лейковорин, иринотекан, кселода, интерферон-альфа, пегилированный интерферон-альфа (например, PEG INTRON-A), капецитабин, цисплатин, тиотепа, флударабин, карбоплатин, липосомальный даунорубин, Ага-С, доцетаксел, паклитаксел, винбластин, IL-2, GM-CSF, дакарбазин, винорелбин, золендроновую кислоту, пальмитонат, биаксин, бусульфат, преднизон, бисфосфонат, триоксид мышьяка, винкристин, доксорубин (Doxil®), паклитаксел, ганцикловир, адриамицин, эстрамустина сульфат натрия (Emscyt®), сулидак и этопозид.

В некоторых вариантах реализации способов, предложенных в настоящем документе, применение второго активного агента в комбинации с лиофилизированной композицией Соединения 1, предложенной в настоящем документе, может быть модифицированным или отсроченным во время или вскоре после введения лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в соответствии с решением практикующего специалиста в данной области техники. В некоторых вариантах реализации субъекты, которым вводили лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, отдельно или в комбинации с другими терапевтическими средствами, может получать поддерживающую терапию, включая противорвотные средства, миелоидные факторы роста и переливание тромбоцитов, если это уместно. В некоторых вариантах реализации субъектам, которым вводили лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, можно вводить фактор роста в качестве второго активного агента в соответствии с решением практикующего специалиста в данной области техники. В некоторых вариантах реализации предложено введение лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в комбинации с эритропоэтином или дарбепоэтином (Aranesp).

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят с гемцитабином, цисплатином, 5-фторурацилом, митомицином, метотрексатом, винбластином, доксорубицином, карбоплатином, тиотепой, паклитакселем или доцетакселем пациентам с местнораспространенным или метастатическим переходо-клеточным раком мочевого пузыря.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации со вторым активным ингредиентом, как указано ниже: темозоломид педиатрическим пациентам с рецидивирующими или прогрессирующими опухолями головного мозга или рецидивирующей нейробластомой; цеlexоксиб, этопозид и циклофосфамид для рецидивирующего или прогрессирующего рака ЦНС; темодар пациентам с рецидивирующей или прогрессирующей менингиомой, злокачественной менингиомой, гемангиоперицитомой, множественными метастазами в головной мозг, рецидивирующими опухолями головного мозга или вновь диагностированной мультиформной глиобластомой; иринотекан пациентам с рецидивирующей глиобластомой; карбоплатин педиатрическим пациентам с глиомой ствола головного мозга; прокарбазин педиатрическим пациентам с прогрессирующей злокачественной глиомой; циклофосфамид пациентам со злокачественными опухоля-



ми головного мозга с неблагоприятным прогнозом; Gliadel® для рецидивирующей глиомы с высокой степенью злокачественности; темозоломид и тамоксифен для анапластической астроцитомы; или топотекан для глиомы, глиобластомы, анапластической астроцитомы или анапластической олигодендроглиомы.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят с метотрексатом, циклофосфамидом, 5-фторурацилом, таксаном, эверолимусом, абраксаном, лапатинибом, герцептином, памидронатом динатрия, мезилатом эрибулина, эверолимусом, гемцитабином, палбоциклибом, иксабепилоном, кадсила, пертузумабом, теотепа, ингибиторами ароматазы, эксеместаном, селективными модуляторами эстрогена, антагонистами рецептора эстрогена, антрациклинами, эмтансином и/или пексидартинибом пациентам с метастатическим раком молочной железы.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят с темозоломидом, доксорубицином (адриамицин), фторурацилом (Adrucil, 5-фторурацил) или стрептозоцином (Zanosar) пациентам с нейроэндокринными опухолями.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят с метотрексатом, гемцитабином, цисплатином, цетоксимабом, 5-фторурацилом, блеомицином, доцетакселом или карбоплатином пациентам с рецидивирующим или метастатическим раком головы или шеи.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят с гемцитабином, абраксаном, 5-фторурацилом, афинитором, иринотеканом, митомицином С, сунитинибом или тарцева пациента с раком поджелудочной железы.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с раком толстой кишки в комбинации с ARISA®, авастатином, оксалиплатином, 5-фторурацилом, иринотеканом, капецитабином, цетуксимабом, рамуцирумабом, панитумомабом, бевацизумабом, лейковорином кальция, лонсурфом, регорафенибом, зив-афлиберцептом, таксолом и/или таксотером.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят с капецитабином и/или вемурафенибом пациентам с рефрактерным раком толстой и прямой кишок или пациентам с неудачной терапией первой линии или низкой эффективностью лечения аденокарциномы толстой или прямой кишки.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с фторурацилом, лейковорином и иринотеканом пациентам с раком толстой и прямой кишок степени C и D по Дьюку, или пациентам, которые ранее проходили лечение метастатического рака толстой и прямой кишок.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациента с рефрактерным раком толстой и прямой кишок в комбинации с капецитабином, кселода и/или иринотеканом.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят с капецитабином и иринотеканом пациентам с рефрактерным раком толстой и прямой кишок или пациентам с нерезектабельной или метастатической карциномой толстой и прямой кишок.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят отдельно или в комбинации в интерфероном-альфа или капецитабином пациентам с нерезектабельной или метастатической гепатоцеллюлярной карциномой; или с цисплатином и тиотепа, или с тозилатом сорафениба пациентам с первичным или метастатическим раком печени.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с доксорубицином, паклитакселом, винбластином или пегилированным интерфероном-альфа пациентам с саркомой Капоши.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с триоксидом мышьяка, флударабином, карбоплатином, даунорубицином, циклофосфамидом, цитарабином, доксорубицином, идарубицином, гидрохлоридом митоксантрона, тиогуанином, винкристином и/или топотеканом пациентам с острым миелоидным лейкозом, включая рефрактерный или рецидивирующий острый миелоидный лейкоз, или острый миелоидный лейкоз с высокой степенью риска.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с лимосомальным даунорубицином, топотеканом и/или цитарабином пациента с острым миелобластным лейкозом с неблагоприятным кариотипом.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с метотрексатом, гидрохлоридом мехлоретамина, дималеатом афатиниба, пеметрекседом, бевацизумабом, карбоплатином, цисплатином, церитинибом, кри-



зотинибом, рамуцирумабом, пембролизумабом, доцетакселом, тартратом винорелбина, гемцитабином, абраксаном, эрлотинибом, гефтинибом и/или иринотеканом пациентам с немелкоклеточным раком легких.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с карбоплатином и иринотеканом пациентам с немелкоклеточным раком легких.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят с доцетаксолом пациентам с немелкоклеточным раком легких, которые ранее проходили лечение с карбо/этопозидом и лучевой терапией.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с карбоплатином и/или таксотером, или в комбинации с карбоплатином, паклитакселом и/или торакальной лучевой терапией пациентам с немелкоклеточным раком легких.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с таксотером пациентам с немелкоклеточным раком легких IIIB или IV стадии.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с облимерсеном (Genasense®), метотрексатом, гидрохлоридом мехлоретамина, этопозидом, топотеканом или доксорубицином пациентам с мелкоклеточным раком легких.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с ABT-737 (Abbott Laboratories) и/или обатоклаксом (GX15-070) пациентам с лимфомой и другими гематологическими раковыми заболеваниями.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят отдельно или в комбинации со вторым активным ингредиентом, таким как винбластин или адцетрис, флударабин, амбохлорин, беценум, блеомицин, брентуксимаба ведотин, кармустином хлорамбуцил, циклофосфамид, дакарбазин, доксорубин, ломустин, матулан, гидрохлорид мехлоретамина, преднизон, гидрохлорид прокарбазина или винкристина, пациентам с различными типами лимфомы, включая, но не ограничиваясь ими, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, кожную Т-клеточную лимфому, кожную В-клеточную лимфому, диффузную В-крупноклеточную лимфому или рецидивирующую или рефрактерную низкодифференцированную фолликулярную лимфому.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации с таксотером, дабрафенибом, имлигином, ипилимумабом, пембролизумабом, ниволумабом, траметинибом, вемурафенибом, талимогеном лагерпарепвек, IL-2, IFN, GM-CSF и/или дакарбазином пациентам с различными типами или стадиями меланомы.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят отдельно или в комбинации с винорелбином пациентам со злокачественной мезотелиомой или IIIB стадией немелкоклеточного рака легких с плевральными имплантатами, или с синдромом мезотелиомы со злокачественным плевральным выпотом.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с различными типами или стадиями множественной миеломы в комбинации с дексаметазоном, золедроновой кислотой, пальмитроном, GM-CSF, биаксином, винбластином, мелфаланом, бусульфаном, циклофосфамидом, IFN, преднизолом, бисфосфонатом, целекоксибом, триоксидом мышьяка, PEG INTRON-A, винкристином, беценумом, бортезомибом, карфилзомибом, доксорубицином, панобиноостатом, леналидомидом, помалидомидом, талидомидом, мазобилом или их комбинацией.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с различными типами или стадиями множественной миеломы в комбинации с химерным антигенным рецептором (CAR) Т-клеток.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломой в комбинации с доксорубицином (Doxil®), винкристином и/или дексаметазоном (Decadron®).

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с различными типами или стадиями рака яичников, например, с перitoneальной карциномой, папиллярной серозной карциномой, рефрактерным раком яичников или рецидивирующим раком яичников, в комбинации с таксолом, карбоплатином, доксорубицином, гемцитабином, цисплатином, кселода, паклитакселом, дексаметазоном, авастинном, циклофосфамидом, топотеканом, олапарибом, тиотепа или их комбинацией.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с различными типами или стадиями рака предстательной

железы, в комбинации с кселода, 5 FU/LV, гемцитабином, иринотеканом с гемцитабином, циклофосфамидом, винкристином, дексаметазоном, GM-CSF, цеlexоксидом, таксотером, ганцикловиром, паклитакселем, адриамицином, доцетакселем, эстрамустином, Emscyl, дендероном, зитига, бикалутамидом, кабазитакселем, дегареликсом, энзабутамидом, золадексом, ацетатом лейпролида, гидрохлоридом митоксантрона, преднизолом, сипулейцел-Т, дихлоридом радия 223 или их комбинацией.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациенту с различными типами или стадиями почечно-клеточного рака, в комбинации с капецитабином, IFN, тамоксифеном, IL-2, GM-CSF, Celebrex® или их комбинацией.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с различными типами или стадиями гинекологического рака, рака матки или саркомы мягких тканей в комбинации с IFN, дактиномицином, доксорубицином, мезилатом иматиниба, гидрохлоридом пазопаниба, трабектедином, ингибитором COX-2, таким как Celebrex®, и/или сулиндаком.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациенту с различными типами или стадиями солидных опухолей в комбинации с целебрексом, этопозидом, циклофосфамидом, доцетакселем, апецитабином, IFN, тамоксифеном, IL-2, GM-CSF или их комбинацией.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам со склеродермией или кожным васкулитом в комбинации с целебрексом, этопозидом, циклофосфамидом, доцетакселем, апецитабином, IFN, тамоксифеном, IL-2, GM-CSF или их комбинацией.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с MDS в комбинации с азациитидином, цитарабином, даунорубицином, децитабином, идарубицином, леналидомидом или их комбинацией.

В настоящем документе также предусмотрен способ повышения дозы противоракового лекарства или агента, которую можно безопасно и эффективно вводить пациенту, который включает введение указанному пациенту (например, человеку) лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе. Пациенты, для которых указанный способ может быть полезен, представляют собой пациентов, которые вероятно страдают от неблагоприятного эффекта, связанного с противораковыми лекарствами для лечения определенного рака кожи, подкожной ткани, лимфатических узлов, головного мозга, легких, печени, костей, кишечника, толстой кишки, сердца, поджелудочной железы, надпочечников, почек, простаты, молочной железы, толстой и прямой кишки или их комбинации. Введение лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, облегчает или уменьшает неблагоприятные эффекты, которые имеют такую тяжесть, которая в противном случае ограничивает количество противоракового лекарства.

В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят ежедневно в количестве от примерно 0,1 до примерно 150 мг, от примерно 1 до примерно 50 мг, от примерно 2 до примерно 25 мг или от примерно 1 до примерно 10 мг до, во время или после возникновения неблагоприятного эффекта, связанного с введением противоракового лекарства пациенту. В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в комбинации со специфическими агентами, такими как гепарин, аспирин, кумадин или G-CSF, для предупреждения неблагоприятных эффектов, связанных с противораковыми лекарствами, таких как, но не ограничиваясь этим, нейтропения или тромбоцитопения.

В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с заболеваниями и расстройствами, связанными или характеризующимися нежелательным ангиогенезом, в комбинации с дополнительными активными ингредиентами, включая, но не ограничиваясь ими, противораковые лекарства, противовоспалительные средства, антигистамины, антибиотики и стероиды.

В другом варианте реализации в настоящем документе предусмотрен способ лечения, предупреждения и/или сдерживания развития рака, который включает введение лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в сочетании (например, до, во время или после) со стандартной терапией, включая, но не ограничиваясь этим, операцию, иммунотерапию, биологическую терапию, лучевую терапию или другую немедикаментозную терапию, используемую в настоящее время для лечения, предупреждения и/или сдерживания развития рака. Комбинированное применение соединения, предложенного в данном документе, и традиционной терапии может обеспечивать уникальную схему лечения, которая является неожиданно эффективной у некоторых пациентов. Не ограничиваясь теорией, полагают, что лиофилизированная композиция Соединения 1, предложенная в настоящем документе, может обеспечивать аддитивный или синергетический эффект при параллельном введении с традиционной терапией.

Как описано в данном документе, предусмотрен способ уменьшения, лечения и/или предупреждения

ния неблагоприятных или нежелательных эффектов, связанных с традиционной терапией, включая, но не ограничиваясь этим, операцию, химиотерапию, лучевую терапию, гормональную терапию, биологическую терапию и иммунотерапию. Лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, и другой активный ингредиент можно вводить пациенту до, во время или после возникновения неблагоприятного эффекта, связанного с традиционной терапией.

В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают введение добавок кальция, кальцитриола и витамина D с лиофилизированной композицией Соединения 1. В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают введение добавок кальция, кальцитриола и витамина D до лечения с применением лиофилизированной композиции Соединения 1.

В некоторых вариантах реализации добавку кальция вводят для доставки по меньшей мере 1200 мг элементарного кальция в сутки, которую вводят дробными дозами. В некоторых вариантах реализации добавку кальция вводят в виде карбоната кальция в дозе 500 мг, которую вводят три раза в сутки перорально (PO).

В некоторых вариантах реализации добавку кальцитриола вводят для доставки 0,25 мкг кальцитриола (PO), один раз в сутки.

В некоторых вариантах реализации добавку витамина D вводят для доставки от примерно 500 МЕ до примерно 5000 МЕ витамина D, один раз в сутки. В некоторых вариантах реализации добавку витамина D вводят для доставки примерно 1000 МЕ витамина D, один раз в сутки. В некоторых вариантах реализации добавку витамина D вводят для доставки примерно 50000 МЕ витамина D, один раз в неделю. В некоторых вариантах реализации добавку витамина D вводят для доставки примерно 1000 МЕ витамина D2 или D3, один раз в сутки. В некоторых вариантах реализации добавку витамина D вводят для доставки примерно 50000 МЕ витамина D2 или D3, один раз в неделю.

В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, и доксетаксол вводят пациентам с немелкоклеточным раком легких, которые ранее проходили лечение с карбо/VP 16 и лучевой терапией.

#### **Применение с трансплантационной терапией**

Лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, можно использовать для снижения риска болезни "трансплантат против хозяина" (GVHD). Таким образом, в настоящем документе предусмотрен способ лечения, предупреждения и/или сдерживания развития рака, который включает введение лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в сочетании с трансплантационной терапией.

Специалистам в данной области техники известно, что лечение рака зачастую базируется на стадии и механизме указанного заболевания. Например, поскольку на некоторых стадиях рака неизбежно развивается лейкоэмическая трансформация, может потребоваться трансплантация стволовых клеток периферической крови, препарата гематопозитических стволовых клеток или костного мозга. Комбинированное применение лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, и трансплантационной терапии обеспечивают уникальную и неожиданную синергию. В частности, лиофилизированная композиция Соединения 1, предложенная в настоящем документе, демонстрирует иммуномодулирующую активность, которая может обеспечивать аддитивный или синергетический эффект у онкологических пациентов при параллельном введении с трансплантационной терапией.

Лиофилизированная композиция Соединения 1, предложенная в настоящем документе, может действовать в комбинации с трансплантационной терапией, снижая осложнения, связанные с инвазивной процедурой трансплантации, и риск GVHD. В настоящем документе предусмотрен способ лечения, предупреждения и/или сдерживания развития рака, который включает введение пациенту (например, человеку) лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, до, во время или после трансплантации пуповинной крови, плацентарной крови, стволовых клеток периферической крови, препарата гематопозитических стволовых клеток или костного мозга. Некоторые примеры стволовых клеток, подходящих для применения в способах, предложенных в данном документе, описаны в патенте США № 7498171, полное содержание которого включено в данный документ посредством ссылки.

В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациенту с острым миелоидным лейкозом до, во время или после трансплантации.

В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с множественной миеломой до, во время или после трансплантации аутологичных клеток-предшественниц периферической крови.

В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят пациентам с NHL (например, DLBCL) до, во время или после трансплантации аутологичных клеток-предшественниц периферической крови.

#### **Циклическая терапия**

В некоторых вариантах реализации профилактические или терапевтические агенты, предложенные

в настоящем документе, вводят пациенту циклически. Циклическая терапия включает введение активного агента в течение определенного периода времени, с последующим периодом отдыха, и повторение указанного последовательного введения. Циклическая терапия может снижать развитие резистентности к одному или более терапевтическим средствам, исключать или уменьшать побочные эффекты одного или более терапевтических средств и/или улучшать эффективность лечения.

Следовательно, в некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят ежедневно в виде однократной или дробных доз в течение цикла от четырех до шести недель с периодом отдыха, составляющим примерно одну или две недели. В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят ежедневно в виде однократной или дробных доз в течение от одного до десяти последовательных дней 28-дневного цикла, с последующим периодом отдыха без введения в течение остальных дней 28-дневного цикла. Циклический способ дополнительно обеспечивает возможность увеличения частоты, количества и продолжительности циклов введения доз. Таким образом, в некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предложено введение лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, в течение большего количества циклов, чем при отдельном введении. В некоторых вариантах реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят в течение большего количества циклов, чем обычное количество циклов, вызывающее дозозамещающую токсичность у пациента, которому не вводят второй активный ингредиент.

В одном варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят ежедневно и непрерывно в течение трех или четырех недель в дозе от примерно 0,1 до примерно 150 мг/сутки, с последующим периодом отдыха в течение одной или двух недель.

В другом варианте реализации лиофилизированную композицию Соединения 1, предложенную в настоящем документе, вводят внутривенно, а второй активный ингредиент вводят перорально, при этом введение лиофилизированной композиции Соединения 1 осуществляют за 30-60 минут до введения второго активного ингредиента, в течение цикла от четырех до шести недель. В некоторых вариантах реализации комбинацию лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, и второго активного ингредиента вводят посредством внутривенной инфузии в течение примерно 90 минут на протяжении каждого цикла. В некоторых вариантах реализации один цикл включает введение от примерно 0,1 до примерно 150 мг/сутки лиофилизированной композиции Соединения 1, предложенной в настоящем документе, и от примерно 50 до примерно 200 мг/м<sup>2</sup>/сутки второго активного ингредиента, ежедневно в течение трех-четырех недель, с последующим периодом отдыха в течение одной или двух недель. В некоторых вариантах реализации количество циклов, в течение которых пациенту вводят комбинированное лечение, составляет от примерно одного до примерно 24 циклов, от примерно двух до примерно 16 циклов или от примерно четырех до примерно трех циклов.

#### 6.6.4 Категория пациентов

В некоторых вариантах реализации способов, предложенных в настоящем документе, субъектом является животное, предпочтительно млекопитающее, более предпочтительно примат, не являющийся человеком. В конкретных вариантах реализации субъектом является человек. Субъект может быть мужского или женского пола.

Особенно подходящие субъекты для способов, предложенных в настоящем документе, включают онкологические пациенты, например люди, у которых диагностирован лейкоз, включая острый миелоидный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз и хронический миелогенный лейкоз. В некоторых вариантах реализации у субъекта не был диагностирован острый промиелоцитарный лейкоз.

В некоторых вариантах реализации у субъекта наблюдают повышенное содержание бластов. В некоторых вариантах реализации у субъекта наблюдают популяцию бластов, составляющую по меньшей мере 10%. В некоторых вариантах реализации у субъекта наблюдают популяцию бластов от 10 до 15%. В некоторых вариантах реализации у субъекта наблюдают популяцию бластов, составляющую по меньшей мере 15%. В некоторых вариантах реализации у субъекта наблюдают популяцию бластов от 15 до 20%. В некоторых вариантах реализации у субъекта наблюдают популяцию бластов, составляющую по меньшей мере 20%. В некоторых вариантах реализации у субъекта наблюдают популяцию бластов примерно 10-15%, примерно 15-20% или примерно 20-25%. В других вариантах реализации у субъекта наблюдают популяцию бластов менее 10%. В контексте способов, описанных в настоящем документе, подходящие субъекты, имеющие популяцию бластов менее 10%, включают субъектов, которые по какой-либо причине, в соответствии с решением практикующего специалиста в данной области техники, нуждаются в лечении с применением соединения, предложенного в настоящем документе, отдельно или в комбинации со вторым активным агентом.

В некоторых вариантах реализации субъекта лечат на основании оценки функционального статуса Восточной объединенной группы онкологов (ECOG) субъекта с лейкозом. Функциональный статус по ECOG можно оценить по шкале от 0 до 5, где 0 означает бессимптомный; 1 означает симптоматический,

но полностью амбулаторный; 2 означает симптоматический и постельный режим <50% в сутки; 3 означает симптоматический и постельный режим >50% в сутки, но не прикованный к постели; 4 означает лежащий и 5 означает смерть. В некоторых вариантах реализации субъект имеет балл функционального статуса по ECOG 0 или 1. В некоторых вариантах реализации субъект имеет балл функционального статуса по ECOG 0. В некоторых вариантах реализации субъект имеет балл функционального статуса по ECOG 1. В других вариантах реализации субъект имеет балл функционального статуса по ECOG 2.

В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают лечение субъектов, которые ранее не проходили лечение лейкоза. В некоторых вариантах реализации субъект не подвергался трансплантации аллогенного костного мозга. В некоторых вариантах реализации субъект не подвергался трансплантации стволовых клеток. В некоторых вариантах реализации субъект не проходил лечение с гидроксимочевинной. В некоторых вариантах реализации субъект не проходил лечение какими-либо экспериментальными препаратами для лечения лейкоза. В некоторых вариантах реализации субъект не проходил лечение системными глюкокортикоидами.

В других вариантах реализации указанные способы включают лечение субъектов, ранее проходивших лечение или проходящих в настоящее время лечение лейкоза. Например, субъект мог ранее подвергаться лечению или в настоящее время проходит лечение лейкоза по стандартной схеме. Субъект мог ранее проходить стандартную схему лечения лейкоза, известную практикующему специалисту в данной области техники. В некоторых вариантах реализации субъект ранее проходил лечение с применением по меньшей мере одной индукционной/реиндукционной или закрепляющей схемы лечения AML. В некоторых вариантах реализации субъект подвергался трансплантации аутологичного костного мозга или трансплантации стволовых клеток в составе закрепляющей схемы. В некоторых вариантах реализации трансплантацию костного мозга или стволовых клеток проводили по меньшей мере за 3 месяца до лечения в соответствии со способами, предложенными в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации субъект проходил лечение с применением гидроксимочевинной. В некоторых вариантах реализации лечение с гидроксимочевинной проводили не позже чем за 24 ч до лечения в соответствии со способами, предложенными в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации субъект ранее проходил индукционную или закрепляющую терапию с цитарабином (Ara-C). В некоторых вариантах реализации субъект проходил лечение с системными глюкокортикостероидами. В некоторых вариантах реализации лечение с глюкокортикостероидами проводили не позже чем за 24 ч до начала лечения в соответствии со способами, описанными в настоящем документе. В других вариантах реализации указанные способы предусматривают лечение субъектов, которых ранее лечили от рака, но которые не восприимчивы к стандартной терапии.

Также предусмотрены способы лечения субъектов с рецидивирующим или рефрактерным лейкозом. В некоторых вариантах реализации у субъекта диагностирован рецидивирующий или рефрактерный подтип AML, по определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Рецидивирующее или рефрактерное заболевание может быть *de novo* AML или вторичным AML, например, связанным с лечением AML (t-AML).

В некоторых вариантах реализации способы, предложенные в настоящем документе, используют для лечения лейкозов, устойчивых к лекарствам, таких как хронический миелогенный лейкоз (CML). Так, лечение с применением соединения, предложенного в настоящем документе, может обеспечивать альтернативу для пациентов, не отвечающих на другие способы лечения. В некоторых вариантах реализации указанные другие способы лечения включают лечение с применением Gleevec® (мезилат иматиниба). В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы лечения хронического миелогенного лейкоза, положительного по хромосоме "Philadelphia" (Ph+CML). В некоторых вариантах реализации в настоящем документе предложены способы лечения хронического миелогенного лейкоза, положительного по хромосоме "Philadelphia" (Ph+CML), устойчивого к лечению с применением Gleevec® (мезилат иматиниба).

Также предусмотрены способы лечения субъекта, независимо от возраста субъекта, хотя некоторые заболевания или расстройства более распространены в определенных возрастных группах. В некоторых вариантах реализации возраст субъекта составляет по меньшей мере 18 лет. В некоторых вариантах реализации возраст субъекта составляет более 18, 25, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 или 70 лет. В других вариантах реализации возраст субъекта составляет менее 65 лет. В некоторых вариантах реализации возраст субъекта составляет менее 18 лет. В некоторых вариантах реализации возраст субъекта составляет менее 18, 15, 12, 10, 9, 8 или 7 лет.

В некоторых вариантах реализации указанные способы могут находить применение у субъектов возрастом по меньшей мере 50 лет, хотя указанные способы могут быть эффективными и для более молодых субъектов. В другом варианте реализации возраст субъектов составляет по меньшей мере 55, по меньшей мере 60, по меньшей мере 65 и по меньшей мере 70 лет. В другом варианте реализации субъект имеет неблагоприятную цитогенетику. "Неблагоприятную цитогенетику" определяют как любой недиплоидный кариотип, или более или ровно 3 хромосомные аномалии. В другом варианте реализации возраст субъектов составляет по меньшей мере 60 лет, и указанные субъекты имеют неблагоприятную цито-

генетику. В другом варианте реализации возраст субъектов составляет 60-65 лет и указанные субъекты имеют неблагоприятную цитогенетику. В другом варианте реализации возраст субъектов составляет 65-70 лет и указанные субъекты имеют неблагоприятную цитогенетику.

В некоторых вариантах реализации субъекты, проходящие лечение, не имеют анамнеза инфаркта миокарда в течение трех месяцев до начала лечения в соответствии со способами, предложенными в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации субъект не имеет анамнеза острого нарушения мозгового кровообращения или временного ишемического приступа в течение трех месяцев до начала лечения в соответствии со способами, предложенными в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации субъект не испытывал тромбоэмболическое событие, включая тромбоз глубоких вен или легочную эмболию, в течение 28 дней до начала лечения в соответствии со способами, предложенными в настоящем документе. В других вариантах реализации субъект не испытывал или не испытывает неконтролируемую диссеминированную внутрисосудистую коагуляцию.

Поскольку онкологические пациенты имеют различные клинические проявления и различные клинические исходы, то лечение, обеспечиваемое пациенту, может варьироваться, в зависимости от его/ее прогноза. Специалисты в данной области техники могут легко, без излишних экспериментов, определить конкретные вторичные агенты, типы хирургических операций и типы немедикаментозной стандартной терапии, которые можно эффективно использовать для лечения конкретного онкологического субъекта.

Следует понимать, что в настоящем документе предусмотрена каждая подходящая комбинация соединений, предложенных в настоящем документе, с одним или более их вышеупомянутых соединений и необязательно с одним или более дополнительными фармакологически активными веществами.

#### 5.8 Оценка активности

Доступны стандартные физиологические, фармакологические и биохимические способы испытания соединений для определения тех, которые обладают требуемой антипролиферативной активностью.

Такие анализы включают, например, биохимические анализы, такие как анализы связывания, анализы включения радиоактивной метки, а также различных клеточные анализы, включая анализ пролиферации клеток KG-1, описанный в разделе "Примеры".

Варианты реализации, предложенные в настоящем документе, могут быть более понятными со ссылкой на следующие примеры. Указанные примеры являются иллюстрацией фармацевтических композиций и лекарственных форм, предложенных в настоящем документе, но никоим образом не являются ограничивающими.

#### Примеры

Следующие примеры приведены с целью иллюстрации, а не для ограничения. В описании и примерах использованы следующие сокращения.

SWFI - стерильная вода для инъекций

WFI - вода для инъекций

D5W - 5% раствор декстрозы в воде

HP $\beta$ CD - гидроксипропил-бета-циклодекстрин

SBE $\beta$ CD - натриевая соль сульфобутилового эфира  $\beta$ -циклодекстрина

TBA - трет-бутиловый спирт

DMA - диметилацетамид

HAS - альбумин сыворотки человека

FDM - микроскоп с сушкой замораживанием

СЭМ - сканирующий электронный микроскоп

НТ-ДСК - низкотемпературная дифференциальная сканирующая калориметрия

ДСК - дифференциальная сканирующая калориметрия

ДСП - динамическая сорбция паров

ТГА - термогравиметрический анализ

ГХ - газовая хроматография

KF - Карла Фишера

"Соединение 1, Форма С" или "Форма С", или "АФИ" в приведенных примерах относится к полиморфной форме С 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида. "Соединение 1, Форма А" или "Форма А" в приведенных примерах относится к полиморфной форме А 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида. Физические и химические свойства 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида представлены в табл. 1.

Таблица 1. Обобщение физических и химических свойств 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида

Структура	
Молекулярная формула	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> ClF <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
Молекулярная масса	461,85
Log D	cLogP=2,18 (Log D не измеряли вследствие растворимости)
pKa	срKa=10,66 (не измеряли вследствие низкой стабильности при pH более 7)
Температура плавления	234°C (Форма С)
Внешний вид	Белый порошок
Растворимость	Практически нерастворим в воде (≤1 мкг/мл в диапазоне pH 1–8)
Стабильность твердого состояния	Лекарственное вещество физически стабильно при всех условиях хранения.
Стабильность раствора	Лекарственное вещество не стабильно в растворе при pH 5,0 или более. Гидролиз является основным направлением разложения.
Гигроскопичность	Не гигроскопичен
Фармацевтическая форма	кристаллический; безводный; пять полиморфных форм (Форма С является наиболее стабильной формой)

## Пример 1. Первый отбор композиций

Вследствие слабой растворимости в воде Соединения 1, Формы С, для солюбилизации лекарственного соединения в растворе необходимо использовать систему соразтворителей перед лиофилизацией. Некоторые солюбилизующие агенты и растворители, которые рассматривали в данном примере, включают гидрокси-пропил-бета-циклодекстрин (HPβCD), натриевую соль сульфобутилового эфира β-циклодекстрина (SBEβCD; Captisol®), трет-бутиловый спирт (ТВА) и диметилацетамид (DMA). Определяли растворимость Соединения 1, Формы А в различных системах соразтворителей и заносили в табл. 2.

Таблица 2

Носитель	Форма С (мг/мл)	Форма А (мг/мл)
5% HP- $\beta$ -CD	НТ	0,03
10% HP- $\beta$ -CD	НТ	0,06
20% HP- $\beta$ -CD	НТ	0,15
5% Captisol®	НТ	0,03
10% Captisol®	НТ	0,06
20% Captisol®	0,10	0,13
30% Captisol®	0,19	0,30
40% Captisol®	НТ	0,32
ТВА	НТ	0,06
DMA	<166, >125	НТ
20:80 ТВА/буфер с pH 4,5	НТ	0,01
40:60 ТВА/буфер с pH 4,5	НТ	0,19
60:40 ТВА/буфер с pH 4,5	0,29	0,39
70:30 ТВА/буфер с pH 4,5	0,31	0,42
80:20 ТВА/буфер с pH 4,5	0,33	0,47
90:10 ТВА/буфер с pH 4,5	0,23	0,35
80% ТВА/15% буфера с pH 4,5/5% DMA	0,47	НТ
80% ТВА/10% буфера с pH 4,5/10% DMA	0,58	НТ
70% ТВА/25% буфера с pH 4,5/5% DMA	0,47	НТ
70% ТВА/20% буфера с pH 4,5/10% DMA	0,66	НТ

Было обнаружено, что HP $\beta$ CD и SBE $\beta$ CD оказывают сопоставимый солюбилизирующий эффект на Форму А в диапазоне концентраций 5-20%. При повышении концентрации SBE $\beta$ CD с 30% до 40% улучшение растворимости лекарства было весьма ограниченным. Было также обнаружено, что растворимость лекарства достигала максимума при соотношении ТВА/вода 80:20. Проводили измерения растворимости Формы С в выбранных системах соразтворителей и также записывали результаты в табл. 2.

В первом отборе композиций рассматривали различные комбинации растворителей и вспомогательных веществ, которые обеспечивают среду для надлежащей растворимости и стабильности лекарства в процессе лиофилизации и хранения готового продукта. Использовали 20 мМ цитратный буферный раствор с pH 4,5 в качестве водной фазы, при этом учитывали, что лекарственное соединение подвергается гидролизному разложению в растворах с pH 5 или выше. При целевом содержании лекарства 2 мг/флакон и максимальном объеме наполнения 8 мл во флаконе объемом 20 см<sup>3</sup>, минимально возможная концентрация лекарства в нерасфасованном растворе составляла 0,25 мг/мл. Как показано в табл. 2, АФИ имел наибольшую растворимость 0,33 мг/мл в смеси 80:20 ТВА/буфер с pH 4,5. Однако растворимость многих традиционно используемых объемобразующих агентов, таких как маннит, сахароза и глицин, существенно ограничена в растворе ТВА с концентрацией 70% об./об. или более. Для обеспечения баланса растворимости АФИ и вспомогательных веществ в нерасфасованном растворе в качестве исходной точки для первого отбора использовали смесь 60:40 ТВА/цитратный буфер с pH 4,5.

В первом эксперименте отбора композиций получали семь прототипных композиций с различными вспомогательными веществами: маннит, сахароза, Plasdane C17, Captisol®, пролин и глицин.

В табл. 3 представлены составы указанных композиций для семи подпартий первого отбора.



Таблица 3

№ композиции	I	II	III	IV	V	VI	VII
АФИ (мг/мл)	0,24	0,24	0,28	0,24	0,24	0,24	0,26
Маннит (мг/мл)	21		25		21		
Plasdone C17 (мг/мл)		17					
Сахароза (мг/мл)				25			
Глицин (мг/мл)				17			19
ПЭГ 300 (мг/мл)					4		
Captisol® (мг/мл)						17	
Пролин (мг/мл)							7
ТВА (% об./об.)	60	68,6	55,7	58,1	60	59,6	56,9
20 мМ цитратный буфер (% об./об.)	40	31,4	39,3		40		
DMA (% об./об.)			4,9				1,6
Очищенная вода (% об./об.)				39,7		39,7	39
0,1 н. HCl (% об./об.)				2,2		0,3	2,5
0,1 н. NaOH (% об./об.)						0,4	

В композициях I, II и V вспомогательные вещества сначала растворяли в 20 мМ цитратном буферном растворе (рН=4,7), затем смешивали с ТВА. Затем АФИ растворяли в смеси ТВА/буфер. В композициях IV и VI вспомогательные вещества растворяли в очищенной воде, затем регулировали рН с помощью HCl и добавляли ТВА. Затем напрямую растворяли лекарство в смеси ТВА/вода. В композициях III и VII АФИ сначала растворяли в небольшом количестве DMA, а затем добавляли к раствору ТВА/буфер или ТВА/вода. Наблюдали, что раствор становился мутным после добавления ТВА в композициях IV и VII. Сделали предположение, что глицин в указанных композициях мог достичь своего предела растворимости в растворе ТВА/вода.

Значения рН нерасфасованного раствора на каждой стадии получения измеряли и записывали в табл. 4.

Таблица 4

Подпартия (№ композиции)	I	II	III	IV	V	VI	VII
рН вспомогательных веществ в воде или буфере	4,8	4,8	4,7	6,2 доводили до 4,5	4,8	5,0 доводили до 4,5	6,2 доводили до 4,5
рН вспомогательных веществ после добавления ТВА	5,7	6,1	5,6	5,0	5,8	5,2	4,9
рН после добавления АФИ	5,8	6,1	5,9	5,0	5,8	5,2	5,0
Конечный рН (перед фильтрованием)	5,8	6,1	5,9	5,0	5,8	5,2	5,0
Конечный рН (после фильтрования)	5,8	6,1	5,9	5,0	5,6	5,3	5,1
После восстановления	4,9	5,0	5,0	4,7	5,0	7,7	4,6

Добавление АФИ и фильтрование не влияли на рН раствора. Добавление ТВА к раствору вызывало значительное увеличение значения рН, которое не может отражать истинный рН раствора вследствие присутствия органического растворителя, которое зачастую препятствует измерению проб с помощью рН-метра. Значения рН растворов после восстановления очищенной водой сохранялись на уровне 5,0 или

менее, за исключением композиции VI. Обобщенный и консервативный цикл лиофилизации применяли в отношении всех семи отобранных композиций, и технологические параметры каждой стадии сушки замораживанием описаны в табл. 5.

Таблица 5

Стадия	Температура полки, настройка (°C)	Время пропитки (часы)	Скорость изменения (°C/час)	Настройка давления
Загрузка продукта/замораживание	5	2	30	вакуум. до 12 psi абс. давления для изоляции камеры от воздуха
Замораживание	-50	3	30	
Первичная сушка	-28	21	30	60 мкм
Вторичная сушка	25	6		
Укупоривание	25			14,7 psi абс. давления

Все семь композиций демонстрировали приемлемый внешний вид осадка после лиофилизации. Количественный анализ и чистоту лиофилизированных осадков измеряли с помощью ВЭЖХ, а содержание влаги в каждой композиции измеряли методом Карла Фишера. Результаты представлены в табл. 6.

Таблица 6

Подпартия (№ композиции)	I	II	III	IV	V	VI	VII
Чистота (% площади)	99,3	71,7	99,3	99,2	99,4	99,2	84,6
Количественный анализ (% ЖХ)	95,4	93,9	95,9	112,1	108,3	106,5	78,3
Содержание влаги (% мас./мас.)	-0,09	0,30	0,04	1,27	0,03	0,16	0,21

Композицию VII исключали на основании низких значений количественного анализа и чистоты, что свидетельствует о том, что глицин и пролин не могут быть использованы в качестве подходящих стабилизаторов в процессе лиофилизации. Композиция II демонстрировала низкую чистоту вследствие многих интерферирующих пиков полимерного вспомогательного вещества на хроматограмме ВЭЖХ. Ее оставляли для исследования в следующем эксперименте.

На основании первого отбора сделано несколько ключевых наблюдений:

Изменение pH с помощью HCl и/или NaOH демонстрирует ограниченную буферную емкость и дополнительное колебание pH в указанном процессе. Применение цитратного буфера обеспечивает более постоянный и надежный контроль pH.

Первоначальное растворение лекарственного вещества в DMA, с последующим добавлением предварительной смеси АФИ/DMA в соответствующий раствор ТВА/буфер способствует первоначальному растворению лекарственного вещества, что обеспечивает возможность получения более высокой концентрации лекарства и более низкой концентрации ТВА в готовом нерасфасованном растворе.

Композиция VI, композиция, содержащая Captisol®, была пригодна для восстановления очищенной водой или только D5W в концентрации 0,24-0,5 мг/мл. Для полного восстановления всех остальных композиций потребовались некоторые соразстворители, такие как этанол или ПЭГ 300.

Пример 2. Второй отбор композиций

Предварительные результаты, полученные в первом отборе, подтвердили возможность лиофилизации лекарственного соединения. Второй отбор композиций предназначен для оценки физической и химической стабильности нескольких прототипных композиций и для выбора главных композиций-кандидатов. Использовали такой же обобщенный цикл лиофилизации, как в первом отборе. Во всех композициях использовали 20 мМ цитратный буфер с pH 4,5, за исключением одной композиции, содержащей глицин (композиция XIV). Сначала АФИ растворяли в DMA в концентрации 40 мг/мл. Затем предварительную смесь АФИ/DMA добавляли к раствору ТВА/буфера, содержащему вспомогательные вещества. Dexolve и Kleptose® HPB представляют собой два производных циклодекстринов, которые имеют такие же физические и химические свойства, как Captisol®. Их включали в композиции VIII, IX и X в

качестве альтернативы реагенту Captisol®. Маннит, Plasdone, сахароза и глицин демонстрировали приемлемые характеристики композиций в первом отборе, и поэтому их продолжали оценивать во втором отборе. Содержание вспомогательного вещества эмпирически подбирали для получения прозрачного и бесцветного нерасфасованного раствора. Композицию XI, композицию, содержащую альбумин сыворотки человека (HSA), исключали в процессе получения вследствие неполного растворения АФИ. Состав семи подпартий указанных композиций представлен в табл. 7.

Таблица 7

№ композиции	VIII	IX	X	XII	XIII	XIV	XV
АФИ (мг/мл)	0,28	0,24	0,3	0,3	0,3	0,28	0,28
Маннит (мг/мл)							12
Plasdone C17 (мг/мл)				13,3			
Сахароза (мг/мл)					13,3	12	
Глицин (мг/мл)						6,1	
ПЭГ 300 (мг/мл)			6,6				
Dexolve (мг/мл)	24,5						
Kleptose® (мг/мл)		21,5	13,3				
ТВА (% об./об.)	50,4	56,6	46,3	46,3	46,3	50,4	50,4
20 мМ цитратный буфер (% об./об.)	49	42,9	53	53	53		49
DMA (% об./об.)	0,7	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Очищенная вода (% об./об.)						49*	

Объем наполнения каждого флакона составлял примерно 2,5-3 мл для обеспечения содержания лекарства 0,75-0,77 мг/флакон. Общее содержание твердого вещества в лиофилизированных осадках составляло от 40 до 75 мг на флакон. Как показано в табл. 8, значения pH нерасфасованных растворов после восстановления сохранялись на уровне около 4,5, который поддерживает буферную емкость композиции.

Таблица 8

Подпартия (№ композиции)	VIII	IX	X	XII	XIII	XIV	XV
pH вспомогательных веществ в воде или в буфере и ТВА	4,6	4,7	4,7	4,8	4,8	4,6	4,7
pH после добавления АФИ и ТВА	5,2	5,5	5,2	5,2	5,3	4,7	5,3
Конечный pH (после фильтрования)	5,1	5,6	5,4	5,4	5,4	4,9	5,3
pH после восстановления	4,5	4,6	4,5	4,5	4,5	4,4	4,5

Полностью описывали физические структуры семи композиций после лиофилизации, и результаты представлены в табл. 9.

Таблица 9

Композиция	<b>viii</b>	<b>ix</b>	<b>x</b>	<b>xii</b>
Цвет	Белый, однородный	Белый, однородный	Белый, однородный	Белый, однородный
Структура	Плотный	Плотный	Пористый	Порошок
Высота наполнения	9 мм	8 мм	5 мм	5 мм
Высота осадка	4 мм	6 мм	3 мм	н/о
Боковая усадка	2 мм, однородная	1 мм, однородная	2 мм	н/о
Верхняя поверхность	Матовая	Блестящая	Матовая/ блестящая	н/о
Боковая поверхность	Матовая	Матовая	Матовая	н/о
Топография	Текстурирова нная, вогнутая	Текстурирова нная, вогнутая	Текстурирован ная, вогнутая	н/о
При переворачива нии	Осадок остается целым и падает на верх флакона.	Осадок остается целым и налипает на дно флакона.	Осадок остается по большой части целым, и отпадают небольшие крошки.	н/о
При встряхивании	Осадок разламывается на куски.	Осадок падает на верх флакона и остается целым	Осадок разламывается на куски.	н/о порошок
Остаточный материал	Минимальный; внизу с бороздками	Минимальный; внизу с бороздками	Минимальный	Минимальный

Композиции VIII, XIX и XV демонстрируют эстетичный внешний вид осадка, а композиции X, XII, XIII и XIV не сохраняют хорошую структуру осадка, с разрушенными или потрескавшимися крошками порошка во флаконе.

Все лиофилизированные образцы испытывали на стабильность в условиях 25°C/60% ОВ и 40°C/75% ОВ. Данные количественного анализа и чистоты для каждой композиции представлены в табл. 10. Полученные результаты свидетельствуют о том, что все композиции во втором отборе оставались химически стабильными в течение по меньшей мере 1 месяца в условиях долговременного испытания и ускоренного испытания стабильности.

Таблица 10

Композиция		VIII	IX	X	XII	XIII	XIV	XV
Первоначальная	Чистота (% площади)	97,8	98,5	99,5	98,7	98,2	98,5	99,0
	Количественный анализ (% ЖХ)	93,5	92,1	90,7	92,0	95,2	96,1	103,9
40°C/75% ОВ 1 неделя	Чистота (% площади)	97,8	98,6	99,3	98,8	98,4	98,7	99,2
	Количественный анализ (% ЖХ)	93,5	93,4	92,0	93,3	97,3	100,0	105,2
40°C/75% ОВ 2 недели	Чистота (% площади)	97,9	98,5	99,3	98,8	98,2	98,7	99,1
	Количественный анализ (% ЖХ)	96,1	96,1	93,3	96,0	93,3	93,5	102,6
40°C/75% ОВ 4 недели	Чистота (% площади)	97,8	98,6	99,1	98,9	98,4	98,9	99,2
	Количественный анализ (% ЖХ)	97,4	96,1	97,3	96,0	94,7	90,9	106,5
25°C/60% ОВ 2 недели	Чистота (% площади)	97,9	98,5	99,3	98,8	98,2	98,6	99,1
	Количественный анализ (% ЖХ)	96,1	96,1	93,3	96,0	90,7	97,4	102,6
25°C/60% ОВ 4 недели	Чистота (% площади)	97,8	98,6	99,4	98,8	98,2	98,7	99,2
	Количественный анализ (% ЖХ)	97,4	96,1	93,3	96,0	93,3	101,3	106,5

Физическую стабильность семи композиций определяли с помощью РПД. Результаты представлены на фиг. 30А, 30В и 30С. Для исходных образцов все композиции демонстрировали аморфные формы, за исключением композиций XIV и XV. Дополнительное сканирование подтвердило, что пики композиции XIV соответствуют  $\beta$ -форме глицина, а пики композиции XV соответствуют смешанной  $\alpha$ -форме и  $\delta$ -форме маннита. После хранения образцов для испытания стабильности при 25°C/60% ОВ в течение 1 месяца, наблюдали несколько небольших пиков сахарозы, появившихся на профиле РПД композиции XIV, помимо пиков глицина, и пики сахарозы также появились на диаграммах РПД образца композиции XIII. Подобные, но более выраженные изменения диаграмм РПД наблюдали в образцах композиций XIII и XIV через 1 месяц испытания стабильности при 40°C/75% ОВ. В то же время пара образцов композиций XIII и XIV после одного месяца хранения при 40°C/75% ОВ демонстрировала изменение цвета с грязновато-белого на желтоватый, и лиофилизированные порошки становились липкими.

Проводили испытание восстановления для каждой композиции, используя четыре различных разбавителя, а именно воду, D5W, 50% об./об. раствор этанола и 50% об./об. ПЭГ 300 в растворе D5W. Проверили время встряхивания, необходимое для полного растворения, и физический внешний вид восстановленного раствора. Результаты представлены в табл. 11.

Таблица 11

Подпартия	Очищенная вода (3 мл)	D5W (2 мл)	50:50 этанол/вода (4 мл)	50:50 ПЭГ 300/D5W (2 мл)
Композиция VIII	20 с п/б; становилась	20 с п/б; становилась	30 с, п/б	30 с, п/б
	мутной через 2 часа	мутной через 2 часа		
Композиция IX	40 с п/б; становилась мутной через 2 часа	40 с п/б; становилась мутной через 2 часа	30 с, п/б	30 с, п/б
Композиция X	40 с п/б; становилась мутной через 2 часа	40 с п/б; становилась мутной через 2 часа	30 с, п/б	30 с, п/б
Композиция XII	>25 мин. Немного мутная	>25 мин. Немного мутная	30 с, п/б	30 с, п/б
Композиция XIII	>25 мин. Немного мутная	>25 мин. Немного мутная	30 с, п/б	30 с, п/б
Композиция XIV	>25 мин. Немного мутная	>25 мин. Немного мутная	30 с, п/б	30 с, п/б
Композиция XV	>25 мин. Немного мутная	>25 мин. Немного мутная	30 с, п/б	30 с, п/б

Композицию VIII, композиция на основе Dexolve, можно было восстановить до прозрачного и бесцветного (п/б) раствора с использованием 2-3 мл только очищенной воды или D5W за 20 с. Композиции IX и X композиции на основе Kleptose®, также можно было восстановить в 2-3 мл только очищенной воды или D5W, но для полного восстановления потребовалось 40-60 с. Восстановленные растворы всех трех композиций становились мутными через 2 ч, что свидетельствует о том, что для достижения более продолжительной стабильности после вскрытия упаковки, до выпадения лекарства в осадок из раствора может потребоваться больший объем разбавителя для восстановления.

Остальные четыре композиции было невозможно восстановить с использованием такого же объема только очищенной воды или D5W. При использовании раствора 50:50 этанол/вода или раствора 50:50 ПЭГ 300/D5W в качестве разбавителя для восстановления, все семь композиций можно было восстановить с использованием 2 мл разбавителя за 30 с. Поскольку разбавитель, не содержащий органического растворителя, является более предпочтительным с точки зрения простоты составления препарата и переносимости вспомогательного вещества, то композиции на основе Dexolve или Kleptose® являются преимущественными по сравнению с другими композициями-кандидатами.

Содержание влаги в лиофилизированном образце может оказывать существенное влияние на его физическую и химическую стабильность. Содержание воды в каждом лиофилизированном образце измеряли методом Карла Фишера. Как показано в табл. 12, содержание воды во всех композициях составляло менее 0,5%, за исключением композиции XIV, которая имела содержание воды 1,25%.

Таблица 12

№ композиции	Остаточная вода по KF (% мас./мас.)	Потеря массы по ТГА (% мас./мас.)	Первое (наименьшее) термическое событие (пик, °C)
Композиция VIII	0,50	3,07 (потеря 1) 4,21 (потеря 2) 7,28 (всего)	120,8
Композиция IX	0,04	11,4	93,7
Композиция X	-0,09	2,79	86,5
Композиция XII	0,08	6,04	80,8
Композиция XIII	-0,17	2,98	н/д
Композиция XIV	1,25	6,74	47,3
Композиция XV	0,14	3,07 (потеря 1) 2,02 (потеря 2) 5,09 (всего)	(46,8 экзо) 179,1

Общую потерю массы каждого лиофилизированного образца при нагревании от комнатной температуры до 200°C определяли с помощью измерений ТГА. С учетом низкого содержания воды в каждом образце, как показано в измерении методом Карла Фишера, большая часть потери массы относится к остаточному растворителю, содержащемуся в лиофилизированном осадке. В табл. 12 показано, что потеря массы для всех композиций составляла от 2,8 до 11,4%, что свидетельствует о том, что большинство лиофилизированных образцов содержали относительно высокое количество остаточных растворителей. Остаточное содержание растворителя в готовых лекарственных продуктах может вызывать серьезные проблемы токсичности и, следовательно, его необходимо тщательно контролировать в соответствии с предписанием Q3C ICH. С учетом этого разрабатывали метод ГХ для количественного определения содержания остаточного растворителя в лиофилизированных композициях для дальнейшей исследовательской работы. На каждом образце также проводили измерения ДСК для описания термического ответа лиофилизированного материала. Наименьшая пиковая температура первого эндотермического события, определенная по профилю ДСК, отражает температуру стеклования аморфного вещества. Композиции VIII, IX и XV демонстрировали относительно более высокую температуру стеклования, чем другие композиции. Соответственно, указанные три композиции также демонстрируют лучший внешний вид и целостность осадка, чем другие. Композиции XIII и XIV имели наименьшие температуры стеклования среди семи проверенных композиций, что частично объясняет их слабую физическую стабильность, наблюдаемую в испытании стабильности с ускоренными условиями.

#### Пример 3. Третий отбор композиций

Поскольку целостность осадка семи композиций во втором отборе не была столь высокой, как можно было ожидать, то содержание объемобразующего агента в указанных композициях увеличивали для облегчения стабилизации структуры осадка в процессе цикла лиофилизации. Для того, чтобы концентрация объемобразующих агентов достигла 50 мг/мл, было установлено, что концентрацию ТВА в нерасфасованном растворе следует поддерживать на уровне 55% об./об. или менее. Новую партию материала АФИ растворяли в DMA в концентрации 60 мг/мл, а затем добавляли к 50% раствору ТВА в цитратном буферном растворе. Концентрацию лекарства в конечном нерасфасованном растворе можно увеличить с предыдущих 0,3 мг/мл до 1 мг/мл с увеличением соотношения АФИ/концентрат DMA. В третьем отборе, для достижения требуемого содержания лекарства 2 мг/флакон, концентрацию лекарства в конечном нерасфасованном растворе устанавливали на 0,5 мг/мл, что соответствует объему наполнения флакона 4 мл. Композиции XVI-XXII содержали такие же объемобразующие агент, как в предыдущем отборе, но с более высокой концентрацией объемобразующего агента, составляющей 50 мг/мл. В композиции XXIII использовали комбинацию Captisol® и Plasdane C17 в качестве объемобразующих агентов для проверки того, усиливает ли добавление полимера растворимость лекарственного соединения, так чтобы можно было достичь такой же концентрации лекарства при более низком содержании ТВА, составляющей 30% об./об. вместо 50% об./об. В табл. 13 представлены составы указанных композиций в нерасфасованных растворах третьего отбора.



Таблица 13

№ композиции	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI	XXII*	XXIII
АФИ (мг/мл)	0,5							
Маннит (мг/мл)					50			
Plasdone C17 (мг/мл)				50				5
Сахароза (мг/мл)						50	35	
Глицин (мг/мл)							15	
Captisol® (мг/мл)		50						45
Dexolve (мг/мл)	50							
Kleptose® (мг/мл)			50					
ТВА (%) об./об.)	49,58							29,75
Цитратный буфер (%) об./об.)	49,58							69,42
DMA (%) об./об.)	0,83							

\*: pH изменяли с помощью HCl, а не цитратного буфера

Значения pH конечных нерасфасованных растворов и растворов после восстановления для всех проверенных композиций поддерживали на уровне ниже 5,0, как показано в табл. 14.

Таблица 14

Подпар- тия	Компо- зиция XVI	Компо- зиция XVII	Компо- зиция XVIII	Компо- зиция XIX	Компо- зиция XX	Компо- зиция XXI	Компо- зиция XXII	Компо- зиция XXIII
pH вспомога- тельных веществ в 50% об./об. растворе ТВА/вода	4,6	4,7	5,0	5,0	5,0	5,0	4,3	4,5
Конечный pH, включая АФИ (после фильтров- ания)	4,9	4,9	5,2	5,2	5,1	5,1	4,4	4,7
После восстано- вления	4,3	4,3	4,2	4,3	4,1	4,3	3,9	4,3

В данном исследовании использовали такой же обобщенный цикл лиофилизации, как в первом отборе. Полностью описывали физические структуры восьми лиофилизированных композиций, и результаты представлены в табл. 15.

Таблица 15

Характеристика	Композиция XVI	Композиция XVII	Композиция XVIII	Композиция XIX
Цвет	Белый, однородный	Белый, однородный	Белый, однородный	Белый, однородный
Структура	Плотный	Плотный	Плотный	Плотный
Высота наполнения	8 мм	8 мм	8 мм	8 мм
Высота осадка	3–5 мм	4–5 мм	6–8 мм	3–6 мм
Боковая усадка	3 мм, однородная	2 мм, однородная	1 мм, однородная	2 мм, однородная
Верхняя поверхность	Матовая	Матовая	Матовая с блестящей пленкой	Матовая и блестящая
Боковая поверхность	Матовая	Матовая	Матовая, с небольшим сползанием к краям	Матовая, с небольшим сползанием к краям
Топография	Текстурированная, вогнутая у краев, множество пиков	Текстурированная, вогнутая у краев, множество пиков	Текстурированная, вогнутая у краев, 2/3 поверхности имеет блестящую пленку	Текстурированная, вогнутая у краев, поверхность немного пористая
При переворачивании	Осадок остается целым и падает на верх флакона.	Осадок остается целым и падает на верх флакона.	Осадок остается целым и падает на верх флакона.	Осадок остается целым и падает на верх флакона.
При встряхивании	Осадок падает на верх флакона,	Осадок падает на верх флакона и	Осадок падает на верх флакона и разрушается на	Осадок падает на верх флакона,

	отпадают небольшие кусочки.	разрушается на кусочки.	кусочки.	отпадают небольшие кусочки.
Остаточный материал	Минимальный	Минимальный	Минимальный	Минимальный
<b>Характеристи ка</b>	<b>Композиция XX</b>	<b>Композиция XXI</b>	<b>Композиция XXII</b>	<b>Композиция XXIII</b>
Цвет	Белый, однородный	Белый, однородный	Белый, однородный	Белый, однородный
Структура	Плотный	Плотный	Пористый	Плотный
Высота наполнения	8 мм	8 мм	8 мм	8 мм
Высота осадка	7-8 мм	4-5 мм	3-4 мм	3-5 мм
Боковая усадка	2 мм, однородная	2 мм, однородная	н/д	2 мм, однородная
Верхняя поверхность	Матовая и блестящая	Матовая и блестящая	Матовая	Матовая и блестящая
Боковая поверхность	Матовая, с небольшим сползанием к краям.	Матовая, с небольшим сползанием к краям	Матовая	Матовая
Топография	Текстуриров анная, вогнутая у краев, множество пиков	Текстурирова нная, вогнутая у краев, множество пиков	Текстурированн ая	Гладкая, вогнутая вдоль краев, ½ поверхности имеет пленку.
При переворачива нии	Осадок остается целым и падает на верх флакона.	Осадок остается целым и падает на верх флакона.	Осадок остается целым и падает на верх флакона.	Осадок остается целым и падает на верх флакона.
При встряхивании	Осадок падает на верх	Осадок падает на верх флакона	Осадок падает на верх флакона и	Осадок падает на верх
	флакона и превращаетс я в порошок	и разрушается на кусочки	превращается в порошок	флакона, отпадает небольшое количество.
Остаточный материал	Значительны й	Минимальный	Минимальный	Минимальный

С увеличением содержания объемобразующих агентов, все полученные композиции демонстрировали приемлемый внешний вид осадка, за исключением композиции XXII, которая содержала сахарозу и глицин. Такое наблюдение согласуется с тем, что наблюдали в композиции XIV, которая содержала меньшее количество сахарозы и глицина. Вследствие недостаточной целостности осадка и ухудшенной физической стабильности, наблюдаемой во втором отборе, композиции, содержащие сахарозу и/или глицин, исключали из исследования.

Характеристики восстановления указанных восьми композиций в третьем отборе согласовались с наблюдениями во втором отборе. Композиции XVI, XVII, XVIII, композиции на основе циклодекстрина, были единственными тремя композициями, которые можно было восстановить только очищенной водой или D5W. Для полного растворения всех остальных композиций, включая композицию XXIII, потребовался совместный соразтворитель-разбавитель. Неожиданно было обнаружено, что несмотря на содер-

жание Captisol®, растворимость лекарства в композиции XXIII была скорее ограничена, чем усилена вследствие присутствия Plasdone. Поэтому композицию XXIII исключили из отбора.

Результаты анализа Карла Фишера, ДСК и ТГА представлены в табл. 16.

Таблица 16

Подпартия	Остаточная вода по KF (% мас./мас.), 2 флакона	Потеря массы по ТГА (% мас./мас.)	Первое (наименьшее) термическое событие по ДСК (пик, °C)
Композиция	0,11, 0,03	2,42 (потеря 1)	112,7
XVI		3,68 (потеря 2) 6,10 (всего)	
Композиция XVII	0,18, 0,06	2,96 (потеря 1) 5,05 (потеря 2) 8,01 (всего)	126,5
Композиция XVIII	0,08, 0,00	1,61 (потеря 1) 9,29 (потеря 2) 10,90 (всего)	89,6
Композиция XIX	0,11, 0,02	1,81 (потеря 1) 6,60 (потеря 2) 3,55 (потеря 3) 11,96 (всего)	95,0
Композиция XX	0,15, 0,30	1,41 (потеря 1) 0,21 (потеря 2) 1,62 (всего)	98,5
Композиция XXI	0,03, 0,05	1,82 (потеря 1) 0,78 (потеря 2) 2,75 (потеря 3) 2,46 (потеря 4) 7,81 (всего)	64,6
Композиция XXII	0,23, 0,33	н/д	58,7
Композиция XXIII	0,41, 0,28	2,09 (потеря 1) 5,37 (потеря 2) 7,46 (всего)	105

Содержание воды, определенное методом Карла Фишера, свидетельствует о том, что все композиции содержали менее 0,5% воды. Однако результаты ТГА демонстрируют, что потеря массы каждой композиции при нагревании варьировалась в широком диапазоне, что, главным образом, обусловлено высоким содержанием остаточного растворителя в лиофилизированных осадках. Композиции XVIII и XIX содержали относительно более высокое количество остаточного растворителя, чем другие композиции, вероятно вследствие склонности молекул растворителя связываться с сахарным кольцом циклодекстрина и полимерной цепью повидона.

Композиция XX, композиция на основе маннита, содержала наименьшее количество остаточного растворителя, 1,6%. В табл. 17 представлено содержание остаточных растворителей выбранных композиций, проверенных в третьем отборе.

Таблица 17

Композиция	ТВА (мг/флакон)	DMA (мг/флакон)
Композиция XVI (Dexolve)	1,4	11,0
Композиция XVII (Captisol®)	9,0	19,1
Композиция XVIII (Kleptose®)	11,7	11,0
Композиция XX (маннит)	0,12	3,18

По завершении третьего отбора композиций, композиция на основе Captisol® или Dexolve стала главным кандидатом благодаря высокой физической и химической стабильности, а также быстрому и простому восстановлению. Композицию на основе Kleptose® рассматривали в качестве альтернативного варианта, поскольку она демонстрировала характеристики, подобные характеристикам композиции на основе Captisol®. Композицию на основе маннита также считали перспективной благодаря превосходной структуре осадка и минимальному содержанию остаточного растворителя среди всех проверенных композиций.

На вышеуказанных четырех основных композициях проводили испытание ГХ для определения более точного количества остаточного растворителя в каждом отдельном флаконе. Таким образом, следующий цикл отбора композиций был ориентирован на снижение содержания растворителя, использованного в первоначальном нерасфасованном растворе. В качестве единственного объемообразующего агента в данном отборе использовали Dexolve, если лекарство имеет сравнимую растворимость в растворах Captisol®, Dexolve или Kleptose®.

#### Пример 4. Четвертый отбор композиций

Вся предыдущая работа по разработке композиций была направлена на содержание лекарства 2 мг/флакон. Была достигнута концентрация лекарства 0,5 мг/мл при первоначальном растворении АФИ в DMA в концентрации 60 мг/мл, с последующим добавлением концентрации DMA в смеси 50:50 ТВА/цитратный буферный раствор. Для минимизации содержания остаточного растворителя в готовом лиофилизированном лекарственном продукте, рассматривали несколько подходов:

- 1) Снижение первоначального количества ТВА может приводить к снижению остаточного ТВА.
- 2) Снижение первоначального количества DMA может приводить к снижению остаточного DMA.
- 3) Снижение первоначального количества циклодекстрина может уменьшать удержание растворителя в указанном вспомогательном веществе.
- 4) Оптимизация параметров сушки замораживанием может облегчать удаление растворителей в процессах сублимации и десорбции.

Для снижения первоначального количества ТВА в композиции, проводили небольшое исследование для оценки растворимости АФИ при различных концентрациях ТВА в основных композициях на основе Dexolve. АФИ растворяли в DMA в концентрации 50 мг/мл, а затем добавляли к раствору, содержащему Dexolve, цитратный буфер и ТВА. В табл. 18 представлены составы композиций в испытании растворимости.

Таблица 18

Композиция	XIV	XV	XVI
АФИ (мг/мл)	0,5 (добавляли в виде 50 мг/мл раствора в DMA)		
Dexolve-7 (мг/мл)	50		
20 мМ цитратный буфер (% об./об.)	80	70	60
ТВА (% об./об.)	20	30	40

Наблюдали, что прозрачный раствор не может быть получен при содержании ТВА 30% об./об. или менее. Это означает, что для сохранения концентрации лекарства в нерасфасованном растворе на уровне 0,5 мг/мл необходимо минимум 35-40% об./об. ТВА. При снижении также уровня DMA и/или Dexolve необходимо еще большее количество ТВА. Возможность снижения уровня ТВА до значения ниже 50% об./об., использованного в третьем отборе, слишком мала. Поэтому в четвертом отборе было принято решение снизить требуемую концентрацию лекарства для достижения более низкого содержания растворителя. Учитывая максимальный объем наполнения 8 мл для флакона объемом 20 см<sup>3</sup> и содержание лекарства 1 мг/флакон вместо 2 мг/флакон, минимальная концентрация лекарства в композиции должна составлять 0,125 мг/мл.

Состав нерасфасованного раствора для пяти композиций в четвертом отборе представлен в табл. 19.

Таблица 19

Композиция	XXVII	XXVIII	XXIX	XXX	XXXI
АФИ (мг/мл)	0,125	0,125	0,125	0,25	0,40
Dexolve-7 (мг/мл)	20				
20 мМ цитратный буфер (% об./об.)	100	75	75	70	65
ТВА (% об./об.)	н/о	25	25	30	35
DMA (% об./об.)	0,25	0,25	н/о	0,50	0,79
Объем наполнения (мл/флакон)	8,24	8,24	8,24	4,12	2,5
Общее содержание твердого вещества (мг/флакон)	203	194	194	74	68

Композиции XXVII, XXVIII и XXIX получали с концентрацией лекарства 0,125 мг/мл. Композиция XXVII не содержала ТВА, а композиции XXVIII и XXIX содержали 25% об./об. ТВА. Композиция XXIX не содержала DMA, а в композиции XXVII и XXVIII лекарство добавляли в виде 50 мг/мл раствора в DMA. Композиции XXX и XXXI имели относительно более высокое содержание ТВА, 30% об./об. и 35% об./об. соответственно. В результате в них можно было достичь более высокую концентрацию лекарства, 0,25 и 0,40 мг/мл соответственно. На основании результатов первого отбора, композиция, содержащая Captisol® в концентрации 17 мг/мл, демонстрировала приемлемую структуру осадка. Поэтому в новом отборе использовали Dexolve в концентрации 20 мг/мл вместо 50 мг/мл для устранения склонности к удерживанию растворителя. В цикле лиофилизации четвертого отбора, все параметры цикла сохраняли такими же, как в предыдущих исследованиях, за исключением вторичной сушки. Температуру полки на стадии вторичной сушки повышали с 25 до 40°C, а время сушки увеличивали с 6 до 12 ч.

Все пять композиций демонстрировали качественный осадок после сушки замораживанием, при этом композиция XXVII демонстрировала наиболее эстетичный внешний вид осадка. После восстановления с использованием 4 мл D5W, наблюдали выпадение лекарства в осадок во флаконе Rx30 по истечении 60 мин. Другие композиции после восстановления оставались прозрачными растворами в течение по меньшей мере 3 ч, по результатам визуального осмотра.

Потеря массы лиофилизированных образцов, измеренная с помощью ТГА, была снижена в большей степени, по сравнению с предыдущими партиями. Соответственно, остаточное содержание растворителя в каждой композиции, измеренное методом ГХ, также было снижено, как показано в табл. 20.

Таблица 20

Композиция	ТВА (мг/флакон)	DMA (мг/флакон)	Потеря массы по ТГА (% мас./мас.)
XXVII	0,05	11,34	1,55
XXVIII	8,81	8,18	
XXIX	4,67	н/о	3,99
XXX	3,01	4,69	
XXXI	2,25	2,86	2,17

Содержание ТВА и содержание DMA снижались при уменьшении общего содержания твердого вещества в лиофилизированном осадке.

Сделано предположение, что меньшее содержание твердого вещества приводит к уменьшению толщины осадка, что обеспечивает более высокую эффективность теплопереноса для удаления растворителя из осадка. Незначительное количество ТВА, обнаруженное в композиции XXVII, предположительно обусловлено перекрестным загрязнением. Поскольку композиция, не содержащая ТВА, является наиболее предпочтительной с точки зрения токсикологии и нормативов, то композицию XXVII рассматривали как главную композицию для исследования на следующей стадии разработки композиции. Композицию XXXI считали перспективной наряду с композицией XX, композицией на основе маннита. В процессе получения композиции Dexolve вызывал некоторые проблемы качества, такие как присутствие неизвестных волокон и крупных окрашенных частиц. Кроме того, несмотря на его совместимые физические и химические свойства с Captisol®, его не использовали ни в одном одобренном FDA лекарственном продукте для IV введения, что является возможным правовым препятствием для его применения в клиническом исследовании. Поэтому в дальнейшей исследовательской работе вместо него использовали Captisol® и Kleptose®.

На основании отбора композиций выбирали четыре композиции в качестве основных кандидатов для дальнейшей технологической разработки. Указанные четыре композиции представлены в табл. 21.

Таблица 21

	Композиция IA	Композиция IC	Композиция II	Композиция III
АФИ (мг/мл) *	0,125	0,125	0,40	0,50
Вспомогательные вещества	Captisol® (30 мг/мл)	Kleptose® (30 мг/мл)	Captisol® (20 мг/мл)	Маннит (50 мг/мл)
Цитратный буфер (% об./об.)	100	100	60	50
ТВА (% об./об.)	0	0	40	50

Содержание циклодекстрина в двух композициях, не содержащих ТВА, в композициях IA и IC, увеличивали с 20 до 30 мг/мл с получением некоторой маржи растворимости, поскольку содержание растворителя DMA в нерасфасованном растворе необходимо дополнительно уменьшать при разработке процесса. Две другие композиции, II и III, содержали 40-50% ТВА для обеспечения более высокого содержания лекарства, чем композиции, не содержащие ТВА.

#### Пример 5. Термический анализ лиофилизированных композиций

Перед началом опытно-технической разработки проводили серию низкотемпературных термических анализов на каждой из четырех основных композиций, перечисленных в табл. 21, для определения физических и химических характеристик указанных композиций в процессе сушки замораживанием. (ER) вещество охлаждали и нагревали в измерении электрического сопротивления со средней контролируемой скоростью и использовали отклонение сопротивления для определения температуры начала фазового перехода при нагревании. При исследовании под микроскопом с сушкой замораживанием (FDM) вещество охлаждали и нагревали в измерительной ячейке на стадии сушки замораживанием с контролируемой температурой. Изменения замороженных и высушенных частей образца во время фазового перехода визуально наблюдали под микроскопом и записывали температуру начала. В методе низкотемпературной дифференциальной сканирующей калориметрии (НТ-ДСК) образец охлаждали сначала до полного замораживания, а затем нагревали с модулированной скоростью нагревания. По результирующему обратному тепловому потоку обнаруживали событие стеклования. Определяли минимальную температуру замораживания, необходимую для полного затвердевания при замораживании, температуру фазового перехода при нагревании и температуру, при которой с помощью FDM наблюдали первую пору в замороженном материале при нагревании, и результаты представлены в табл. 22.

Таблица 22

	Темпе- ратура заморажи- вания (FDM)	Темпе- ратура заморажива- ния (ER)	Темпе- ратура фазового перехода (ER)	Темпе- ратура стекло- вания (НТ-ДСК)	Темпе- ратура образования первой поры при нагревании (FDM)	Темпе- ратура продук- та диап- азон
Композиция IA	-21,2°C	-26°C	-27 °C	-36,6°C	-30°C	от -32 до - 34°C
Композиция IC	-22,9 °C	-12°C	-12°C	-20,4 °C	-13,6 °C	от -16 до - 18°C
Композиция III	-22,1°C	-20 °C	-20 °C	-34,9°C (экзотер- ма)	-41,2°C	от -44 до - 46°C
Композиция III	-21,2°C	-20 °C	-17 °C	-33,5°C (эндотер- ма)	-32°C	от -36 до - 38°C

В целом, результаты ER приведены лишь для справки, и они не являются специфическими, как результаты FDM или НТ-ДСК. Визуальные результаты, полученные с помощью FDM, предположительно наиболее четко отображают происходящее во флаконе. Затем определяли рекомендованный диапазон температуры продукта во время первичной сушки для полной сублимации с сохранением структуры осадка и без разрушения. В некоторых случаях продукт может оставаться стабильным, если температура продукта немного превышает температуру стеклования. Обычно продукт поддерживают при температуре на 2-3°C от температуры образования первой поры, которую считают отображающей температуру разрушения лиофилизированного осадка, для обеспечения некоторой безопасной маржи. Для композиции III на основе маннита, результаты НТ-ДСК демонстрировали экзотермическое событие при сканиро-



вании со скоростью 2°C/мин, которое не наблюдали при сканировании со скоростью 10°C/мин. Это позволяет предположить, что данное событие зависит от скорости нагревания. Для указанной композиции может иметь преимущество стадия отжига перед основной сушкой для обеспечения эффективной кристаллизации кристаллического объемообразующего агента маннита. Результаты термического анализа, особенно рекомендованный диапазон температуры продукта для первичной сушки, использовали в качестве эталона при дальнейшей опытно-технической разработке.

#### Пример 6. Разработка процесса лиофилизации

Процесс лиофилизации может состоять из трех стадий: замораживание, первичная сушка и вторичная сушка. Жидкую композицию превращают в лиофилизированную порошковую форму посредством заморозки с полным затвердеванием на стадии замораживания, сублимации льда и растворителей при первичной сушке, и десорбции остаточной влаги и растворителей при вторичной сушке. Температура на полке и давление в камере при первичной сушке и вторичной сушке являются важнейшими технологическими параметрами, которые существенно влияют на качество готового лекарственного продукта. Проводили пять опытно-конструкторских разработок для изучения влияния каждого ключевого технологического процесса на качество готового лиофилизированного продукта. Проводили серию испытаний готового лекарственного продукта. Внешний вид и структуру осадка оценивали посредством визуального осмотра. Восстановленный раствор оценивали посредством визуального осмотра и измерения pH. Содержание влаги в лиофилизированном осадке измеряли методом Карла Фишера. Физико-химические характеристики высушенного осадка при повышенных температурах измеряли методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и термогравиметрическим анализом (ТГА). Содержание остаточного растворителя определяли методом газовой хроматографии (ГХ). Количественный анализ и чистоту определяли с помощью ВЭЖХ.

#### Пример 7. Влияние температуры полки на первичную сушку готовых продуктов

Задача данного исследования заключалась в оценке влияния температуры полки на температуру продукта во время первичной сушки. Температуру полки постепенно повышали с -34°C до -16°C при постоянном давлении в камере 60 мТорр в течение всей первичной сушки. Составляли четыре основные композиции, описанные в табл. 21, наполняли ими стеклянные флаконы объемом 20 мл и лиофилизировали при требуемом содержании лекарства 1 мг/флакон. Параметры цикла отображены в табл. 23.

Таблица 23

Стадия	Температура полки, настройка (°C)	Время пропитки (часы)	Скорость изменения (°C/час)	Настройка давления
Загрузка продукта/замораживание	5	2	30	вакуум. до 12 psi абс. давления для изоляции камеры от воздуха
Замораживание	-50	3	30	60 мкм
Отжиг	-18	3	30	
Замораживание	-50	3	30	
Первичная сушка	-34	1,5	30	
	-31	1,2		
	-28	1,0		
	-25	1,0		
	-22	0,8		
	-19	1,3		
	-16	77,6		
Вторичная сушка	40	12,1		
Укупоривание	40			14,7 psi абс. давления

Во время первичной сушки наблюдали, что температура продукта каждой композиции увеличивалась в среднем на 0,8-1,4°C при повышении температуры полки на каждые 3°C. Изменение температуры продукта было более выраженным в композициях II и III, чем в композициях IA и IC. Температура разрушения продукта, определяемая как температура продукта, при которой прекращается сублимация льда, составляла 35,9, 34,8, -40,7 и -40,1°C для композиций IA, IC, II и III соответственно. Температура разрушения всех четырех композиций, за исключением композиции II, была ниже рекомендованного диапазона температуры продукта, полученного на основании низкотемпературного термического анализа. Это позволяет предположить, что в композиции II может происходить разрушение, а остальные три

композиции демонстрируют хорошее сохранение структуры осадка.

Готовые продукты из указанных четырех подпартий демонстрировали приемлемый внешний вид осадка с различной степенью усадки. Количественный анализ каждой подпартии был в допустимом диапазоне 95-105%. Остаточное содержание влаги во всех четырех подпартиях составляло менее 0,2%. Лиофилизированное вещество восстанавливали очищенной водой в объеме 2, 4 и 8 мл. Композиции IA, IC и II обеспечивали получение прозрачного и бесцветного раствора, который оставался физически стабильным в течение 4 ч, по результатам визуального осмотра. Композиция III была мутной, и потребовался альтернативный разбавитель, содержащий органический растворитель. pH каждого восстановленного раствора составлял 4,5-4,9. Содержание остаточного растворителя в каждой подпартии количественно определяли с помощью ГХ, и результаты представлены в табл. 24.

Таблица 24

	Композиция IA	Композиция IC	Композиция II	Композиция III
Остаточный DMA (мг/флакон)	7,64	6,37	4,74	0,58
Остаточный ТВА (мг/флакон)	0,04	0,05	2,11	0,07

В соответствии с руководством ICH, DMA рассматривали как растворитель 2 класса, и максимальное суточное употребление определяли на уровне 10,9 мг/сутки. Указанное руководство не относится к потенциальным новым лекарственным продуктам, используемым во время клинических исследовательских стадий разработки. Поэтому указанный предел DMA использовали лишь в качестве эталона. ТВА не перечислен в руководстве ICH. Максимальное суточное потребление остаточного ТВА определяли на уровне 0,15 мг/сутки. С учетом верхней дозы 2 мг/сутки, остаточное содержание DMA и ТВА в готовых продуктах должно быть ниже 5,45 мг/флакон и 0,075 мг/флакон, соответственно. Во всех композициях, за исключением композиции III, был превышен предел остаточного содержания растворителя. Поэтому проводили оптимизацию процесса для дополнительного снижения остаточного растворителя.

Пример 8. Влияние давления в камере первичной сушки на готовые продукты

Данное исследование было разработано для оценки влияния давления в камере температуру продукта в процессе первичной сушки. Давление в камере постепенно повышали с 40 до 200 мТорр с постоянной температурой на полке -34°C в течение всей первичной сушки. Параметры цикла описаны в табл. 25.

Таблица 25

Стадия	Температура полки, настройка (°C)	Время пропитки (часы)	Скорость изменения (°C/час)	Настройка давления
Загрузка продукта/ замораживание	5	2		вакуум. до 12 psi абс. давления для изоляции камеры от воздуха
			30	
Замораживание	-50	3		
			30	
Отжиг	-18	3		
			30	
Замораживание	-50	3		
			30	40 мкм
Первичная сушка	-34	5,0		50 мкм
		0,8		60 мкм
		1,0		70 мкм
		1,2		80 мкм
		0,3		90 мкм
		21,5		100 мкм
		25,4		120 мкм
		16,8		140 мкм
		5,6		160 мкм
		27,5		200 мкм
			30	200 мкм
Вторичная сушка	40	12,0		200 мкм
Укупоривание	40			14,7 psi абс. давления

В данном исследовании составляли четыре подпартии. Композиции IA, II и III были такими же, как показано в табл. 21. Единственным отличием от технологического исследования в пробеге № 1 было то, что исходную концентрацию АФИ в DMA повышали с 75 до 120 мг/мл для снижения первоначального количества DMA в нерасфасованном растворе. Композицию IC не исследовали в данном испытании, поскольку было сделано теоретическое предположение, что композиция IA, содержащая Captisol®, может демонстрировать физические и химические характеристики, сравнимые с композицией IC, композицией на основе Kleptose®. Вместо этого в план исследования добавляли Rx4, композицию на основе Captisol®, не содержащую растворителя, для оценки возможности составления нерасфасованного раствора без добавления ТВА или DMA. Для указанной композиции напрямую растворяли 0,125 мг/мл Формы С в том же 20 мМ цитратном буферном растворе с 300 мг/мл Captisol®. Наблюдали выпадение лекарства в осадок в Rx4 в процессе составления композиции, и выпавшие в осадок частицы лекарства отфильтровывали перед лиофилизацией. Позже низкое количественное значение 28,8% в лиофилизированном образце подпартии Rx4 подтвердило, что не содержащая растворителя композиция не является подходящим вариантом даже при десятикратном содержании циклодекстрина для облегчения солюбилизации лекарства. Таким образом, Rx4 не рассматривали в дальнейших исследованиях.

В процессе первичной сушки наблюдали, что температура продукта подпартии композиции IA, 2 и 3 увеличивалась в среднем на 1,1°C при увеличении давления в камере на каждые 10 мкм, с 50 до 70 мкм. При увеличении давления с 80 до 140 мкм, температура продукта увеличивалась примерно на 0,5°C на каждое приращение в 10 мкм. Температура разрушения продукта составляла -36,7 и -37,7°C для Rx2 и 3 соответственно. Температура разрушения Rx3 оставалась в пределах рекомендованного диапазона температуры продукта, позволяя предположить, что подпартия Rx3 была высушена замораживанием с сохранением и без разрушения. Напротив, температура разрушения продукта Rx2 была выше, чем рекомендованный диапазон температуры продукта. Наблюдали очевидное разрушение в нескольких флаконах с образцом Rx2. Композиция IA не подвергалась температуре разрушения, что предполагает неполную сублимацию во флаконах с указанной подпартией.

Готовые продукты из указанных четырех подпартий демонстрировали приемлемый внешний вид осадка с различной степенью усадки. Количественный анализ трех подпартий композиции IA, II и III был в допустимом диапазоне 95-100%. Содержание влаги и результаты восстановления подпартий композиций IA, II и III в испытании процесса №2 были такими же, как результаты, полученные в испытании процесса № 1. Содержание остаточного растворителя в каждой подпартии количественно определяли с помощью ГХ, и результаты представлены в табл. 26.

Таблица 26

	Композиция IA	Композиция IC	Композиция II	Композиция III
Остаточный DMA (мг/флакон)	3,71	нд	2,21	0,4
Остаточный ТВА (мг/флакон)	0,04	нд	1,63	0,03

Сниженное содержание остаточного растворителя во всех подпартиях в данном исследовании свидетельствует о том, что снижение первоначального содержания DMA в нерасфасованном растворе является эффективным подходом к минимизации остаточного содержания DMA в готовом лекарственном продукте.

#### Пример 9. Влияние давления в камере вторичной сушки на готовые продукты

Данное исследование было разработано для оценки влияния более высокого давления в камере вторичной сушки на содержание остаточного растворителя в готовых лекарственных продуктах. В данном исследовании оценивали три подпартии композиций, композиции IC, II и III. Состав каждой из указанных композиций был таким же, как указано в табл. 21. В данном исследовании для всех трех композиций АФИ растворяли в DMA в концентрации 120 мг/мл. Композицию IA исключали из данного исследования, поскольку Kleptose® считали преимущественным по сравнению с Captisol® вследствие схожих химических свойств и меньшей стоимости материала на данном этапе. На основании температурных профилей продукта, полученных в предыдущих двух технологических исследованиях, температуру полки и давление в камере первичной сушки в данном исследовании устанавливали на -22°C и 40 мкм, соответственно, для получения диапазона температуры продукта от -40 до -42°C. Такие консервативные установки обеспечивают сохранение структуры всех трех композиций без разрушения в процессе первичной сушки. В данном исследовании давление в камере вторичной сушки повышали с 40 до 600 мкм. Ожидали, что более высокое давление в камере обеспечит более насыщенную азотом среду и более эффективный теплоперенос, что может способствовать десорбции остаточных растворителей. Параметры цикла представлены в табл. 27.

Таблица 27

Стадия	Температура полки, настройка (°C)	Время пропитки (часы)	Скорость изменения (°C/час)	Настройка давления
Загрузка продукта/ замораживание	5	2		вакуум. до 12 psi абс.
			30	
Замораживание	-50	3		давления для изоляции
			30	
Отжиг	-18	3		камеры от воздуха
			30	
Замораживание	-50	3		40 мкм
			30	
Первичная сушка	-22	111		40 мкм
		4		600 мкм
			30	600 мкм
Вторичная сушка	40	12		600 мкм
Укупоривание	40			14,7 psi абс. давления

В данном исследовании температура разрушения продукта композиции IC составляла от -35,2 до -38,2°C, что гораздо ниже рекомендованного диапазона температуры продукта, составляющего от -16 до -18°C. Это означает, что есть достаточный запас для дальнейшей оптимизации цикла лиофилизации. Температура разрушения продукта композиций II и III составляла -38 и -39°C соответственно. Температура разрушения композиции II была выше рекомендованного диапазона температуры продукта, предполагая, что для предотвращения разрушения данной композиции необходимо использовать более консервативный цикл.

Готовые продукты из указанных трех подпартий демонстрировали приемлемый внешний вид осадка с различной степенью усадки. Содержание влаги и результаты восстановления подпартий IC, II и III в испытании процесса №3 были такими же, как результаты, полученные в предыдущих исследованиях. Содержание остаточного растворителя в каждой подпартии количественно определяли с помощью ГХ, и результаты представлены в табл. 28.

Таблица 28

	Композиция IA	Композиция IC	Композиция II	Композиция III
Остаточный DMA (мг/флакон)	нд	6,22	2,7	0,62
Остаточный ТВА (мг/флакон)	нд	0,11	3,3	0,05

Было показано, что содержание остаточного DMA в композиции IC все еще превышало требуемый верхний предел. Увеличение давления в камере вторичной сушки оказывает минимальное влияние на десорбцию растворителя.

Пример 10. Влияние температуры полки и времени вторичной сушки на готовые продукты

Данное исследование было разработано для оценки влияния температуры полки и времени сушки при вторичной сушке на содержание остаточного растворителя в готовом лекарственном продукте. Композицию IC выбирали в качестве основной композиции для работы благодаря ее превосходным характеристикам восстановления. В данное исследование добавляли два других варианта, композиции IC, XXXIII и XXXV, для оценки влияния вспомогательных веществ на содержание остаточного растворителя. Композиция XXXIII отличалась от IC более низким содержанием Kleptose®, 20 мг/мл. Цель заключалась в определении того, можно ли за счет снижения концентрации Kleptose® снизить содержание остаточного растворителя. В предыдущем исследовании растворимости было показано, что для композиции IC минимальная концентрация Kleptose® составляет 25 мг/мл для полного растворения лекарства в нерасфасованном растворе. Поэтому при снижении концентрации Kleptose® до 20 мг/мл в подпартии композиции XXXIII, АФИ растворяли в DMA в концентрации 60 мг/мл вместо 120 мг/мл для обеспечения

полного растворения лекарства в нерасфасованном растворе. Композиция XXXV отличалась от IC добавлением 40 мг/мл маннита. Цель заключалась в определении того, может ли присутствие маннита, который обеспечивает более кристалличную структуру лиофилизированного осадка, ускорять удаление остаточного растворителя. Состав трех указанных композиций представлен в табл. 29.

Таблица 29

	Композиция IC	Композиция XXXIII	Композиция XXXV
АФИ (мг/мл)	0,125 (добавляли в виде 120 мг/мл раствора в DMA)	0,125 (добавляли в виде 60 мг/мл раствора в DMA)	0,125 (добавляли в виде 120 мг/мл раствора в DMA)
Вспомогательные вещества	Kleptose® (30 мг/мл)	Kleptose® (20 мг/мл)	Kleptose® (30 мг/мл) Маннит (50 мг/мл)
Растворители	Цитратный буфер, pH 4,5 (100% об./об.)		

Температуру полки и давление в камере первичной сушки в данном исследовании устанавливали на -28°C и 60 мкм соответственно, обеспечивая консервативный цикл лиофилизации для всех композиций. Добавляли стадию отжига во время стадии замораживания для облегчения кристаллизации маннита в композиции XXXV. Вторичную сушку проводили при повышенной температуре полки 50°C в течение 12, 18 и 24 ч. В каждый момент времени извлекали флаконы с образцами из лиофилизатора для проверки изменения содержания остаточного растворителя с течением времени. Параметры цикла представлены в табл. 30.

Таблица 30

Стадия	Температура полки, настройка (°C)	Время пропитки (часы)	Скорость изменения (°C/час)	Настройка давления
Загрузка продукта/ замораживание	5	2		вакуум. до 12 psi абс. давления для изоляции
			30	
Замораживание	-50	3		камеры от воздуха
			30	
Отжиг	-18	3		60 мкм
			30	
Замораживание	-50	3		60 мкм
			30	
Первичная сушка	-28	104		60 мкм
			30	
Вторичная сушка	50	12, 18, 24		60 мкм
Укупоривание	50			14,7 psi абс. давления

Температура разрушения продукта составляла от -33 до -36°C при первичной сушке, что значительно ниже рекомендованного диапазона температуры продукта для композиции IC, на основании НТ-ТА. Это позволяет предположить, что предложенный цикл лиофилизации был слишком консервативным, и остается возможность повышения температуры полки и/или давления в камере первичной сушки для сокращения времени сушки в дальнейших разработках. Готовые продукты из указанных трех подпартий демонстрировали приемлемый внешний вид осадка с различной степенью усадки. Содержание остаточного растворителя в каждой подпартии количественно определяли с помощью ГХ, и результаты представлены в табл. 31.

Таблица 31

Время сушки	Композиция IC (мг/флакон)	Композиция XXXIII (мг/флакон)	Композиция XXXV (мг/флакон)
12 ч.	5,8	11,2	5,6
18 ч.	5,7	11,2	5,8
24 ч.	5,7	11,2	5,5

Было показано, что остаточное содержание DMA в композиции IC было немного снижено с 6,2 мг/флакон в испытании № 3 до 5,8 мг/флакон. Более продолжительное время сушки дольше 12 ч не оказывает влияния на удаление остаточного растворителя. Композиция XXXIII демонстрировала наибольшее остаточное содержание DMA среди всех трех подпартий, главным образом вследствие удвоенного первоначального содержания DMA по сравнению с двумя другими композициями. Композиция XXXV имела такое же содержание остаточного DMA, как композиция IC, что свидетельствует о том, что добавление маннита оказывает незначительное влияние на удаление остаточного DMA. Поскольку полученный результат продемонстрировал тесную взаимосвязь между первоначальной загрузкой DMA в нерасфасованный раствор и остаточным DMA в лиофилизированном осадке, было принято решение в следующем исследовании дополнительно снизить первоначальную загрузку DMA в композицию для уменьшения содержания остаточного растворителя.

Пример 11. Уточнение композиции и параметров процесса лиофилизации

Данное исследование было разработано для уточнения композиции и технологических параметров основной композиции IC на основании результатов предшествующего исследования процесса. Прежде всего, проводили быстрое испытание растворимости для определения максимально возможной концентрации АФИ в DMA. При растворении АФИ в DMA в концентрации 150 мг/мл и добавлении к нерасфасованному раствору, перед фильтрованием наблюдали не растворенные частицы, и после хранения в течение ночи наблюдали выпадение в осадок лекарства из нерасфасованного раствора. При растворении АФИ в DMA в концентрации 135 мг/мл и добавлении к нерасфасованному раствору, получали прозрачный и бесцветный раствор, который оставался стабильным после хранения в течение ночи. Поэтому концентрацию АФИ в растворе DMA повышали с 120 мг/мл в последнем исследовании до 135 мг/мл в новой композиции ID. Содержание других ингредиентов в композиции ID оставалось таким же, как в композиции IC, и представлено в табл. 32.

Таблица 32

	Композиция ID
АФИ (мг/мл)	0,125 (добавляли в виде 135 мг/мл раствора в DMA)
Вспомогательные вещества	Kleptose® (30 мг/мл)
Растворители	Цитратный буфер, pH 4,3

Требуемое значение pH цитратного буфера изменяли с 4,5 до 4,3 для обеспечения более надежной стабильности раствора при pH менее 4,5. Последующие испытания ВЭЖХ подтвердили, что количественный анализ и чистота отфильтрованного нерасфасованного раствора оставались стабильными, без видимого усиления разложения в пределах 8 ч (данные не показаны). Таким образом, рекомендованное время выдерживания нерасфасованного раствора при его получении составляет 8 ч при внешних атмосферных условиях.

В цикле лиофилизации температуру полки и давление камеры первичной сушки повышали до -16°C и 140 мкм соответственно для повышения скорости сублимации. Более жесткие технологические параметры обеспечивали сокращение времени первичной сушки от более 100 часов в предыдущем исследовании до примерно 60 ч. Для обеспечения некоторой маржи безопасности конечное время первичной сушки устанавливали на 70 ч. Вторичную сушку проводили при 50°C и 140 мкм в течение 12 ч. Параметры цикла описаны в табл. 33.

Таблица 33

Стадия	Температура полки, настройка (°C)	Время пропитки (часы)	Скорость изменения (°C/час)	Настройка давления
Загрузка продукта/ замораживание	5	2	30	вакуум. до 12 psi абс. давления для
Замораживание	-50	3		
			30	изоляции камеры от воздуха
Первичная сушка	-16	70		140 мкм
			30	140 мкм
Вторичная сушка	50	12		140 мкм
Укупоривание	50			14,7 psi абс. давления

Температурный профиль цикла лиофилизации представлен на фиг. 31.

Температура разрушения продукта составляла от -28 до -30°C в процессе первичной сушки, позволяя предположить, что продукт был высушен без разрушения, при этом остается возможность улучшения скорости первичной сушки при дальнейшей разработке.

Готовый продукт композиции ID демонстрировал плотный и равномерный внешний вид осадка. Содержание влаги было ниже предела обнаружения по методу Карла Фишера. Остаточное содержание DMA снизилось до 4,2 мг/флакон, что ниже требуемого верхнего предела, составляющего 5,45 мг/флакон. Полученное значение количественного анализа было неожиданно высоким, 110,8%. Установлено, что компаундирование АФИ в DMA по объему является стадией высокого риска, приводящей к высокому результату количественного анализа. Было предложено в следующих исследованиях осуществлять компаундирование по массе, а не по объему. Характеристики восстановления были сопоставимы с предыдущими образцами композиции IC. В целом, результаты испытания готового продукта считали приемлемыми для клинического исследования F1H.

#### Выводы по разработке процесса

Последовательно проводили пять технологических исследований для изучения влияния важнейших технологических параметров на качество готовых лекарственных продуктов, особенно остаточное содержание растворителя. Уточнение композиции проводили одновременно с разработкой процесса. Было обнаружено, что присутствие циклодекстрина в композиции приводит к удерживанию остаточного DMA в сухом осадке. Вторичная сушка оказывает минимальное влияние на удаление остаточного DMA. Снижение первоначальной загрузки DMA в композицию и использование более жестких параметров цикла при первичной сушке способствует снижению остаточного DMA. Композиция ID и процесс лиофилизации, определенные в последнем технологическом исследовании, были взяты для более крупной демонстрационной партии для исследования. Полная технологическая схема, включая компаундирование, сушку замораживание, фильтрование, наполнение и упаковку, представлена на фиг. 32.

#### Пример 12. Стабильность готовых лекарственных продуктов

Предварительные испытания стабильности проводили во время отбора композиций. Среди всех прототипных композиций композиция IX была наиболее близкой к композиции F1H. Композиция IC, которую исследовали под конец разработки процесса, имела точно такой же состав, как композиция F1H, за исключением содержания остаточного растворителя. В табл. 34 представлено сравнение составов композиций IX и IC в композиции F1H.



Таблица 34

№ партии	Композиция IX	Композиция IC	Композиция ID (FIN)
Форма С (мг/флакон)	0,76	1,0	1,0
Лимонная кислота, безводная, USP (мг/флакон)	6,1	17,7	17,7
Цитрат натрия, безводный, USP (мг/флакон)	8,2	17,6	17,6
Kleptose® НРВ, марка для парентерального введения (мг/флакон)	67	240	240
TBA (в рабочей среде)	Удаляют в процессе сушки	0	0
DMA, PW (в рабочей среде)*	Удаляют в процессе сушки		
<b>Всего</b>	<b>82,1</b>	<b>276,3</b>	<b>276,3</b>

Данные стабильности для композиции IX и композиции IC представлены в табл. 35.

Таблица 35

№ композиции	Чистота (% площади)		Количественный анализ (% от данных на этикетке)	
	IX	IC	IX	IC
Первоначальная	98,5	97,8	93,0	101,0
1 мес. при 40°C/75% ОВ	98,6	97,9	96,3	104,6
3 мес. при 40°C/75% ОВ	99,6	/	96,0	/
1 мес. при 25°C/60% ОВ	98,6	/	96,5	/
3 мес. при 25°C/60% ОВ	99,6	/	95,8	/

Образцы композиции IX оставались стабильными в ускоренных условиях 40°C/75% ОВ в течение трех месяцев, без очевидного усиления разложения. Аналогично, образцы композиции IC оставались стабильными в ускоренных условиях 40°C/75% ОВ в течение одного месяца. Данные стабильности в ускоренных условиях, полученные таким образом, демонстрируют весьма многообещающие результаты, указывая на то, что готовые лекарственные продукты могут иметь приемлемый срок годности в условиях хранения при комнатной температуре.

Пример 13. Стабильность восстановленных растворов после вскрытия упаковки

Испытания восстановления проводили с применением D5W или очищенной воды с различными объемами от 2 до 8 мл. Наблюдали аналогичные характеристики восстановления, независимо от типа или объема разбавителей. Измерения осмоляльности проводили на каждом восстановленном растворе, и результаты представлены в табл. 36.

Таблица 36

Объем разбавителя	2 мл	8 мл
D5W	636 ± 2 мОсм/кг	404 ± 1 мОсм/кг
Очищенная вода	283 ± 0 мОсм/кг	72 ± 1 мОсм/кг
Вода для инъекций	301 ± 0 мОсм/кг	/

Было обнаружено, что восстановление с применением 2 мл очищенной воды обеспечивает осмоляльность 283 мОсм/кг. Указанное значение очень близко к осмоляльности человеческой плазмы, составляющей 285-295 мОсм/кг, тогда как другие три восстановленных раствора демонстрировали весьма отличные значения осмоляльности. Затем то же измерение повторяли с использованием 2 мл воды для инъ-

екций (WFI), и получали значение осмоляльности 301 мОсм/кг. В результате рекомендовали 2 мл воды для инъекций в качестве разбавителя для восстановления благодаря ее физиологически изотоничным свойствам, и указанный разбавитель использовали в следующих испытаниях восстановления для оценки стабильности восстановленного раствора после вскрытия упаковки. Количественный анализ и чистоту восстановленного раствора измеряли с помощью ВЭЖХ каждые 2 ч в течение 8 ч. Результаты представлены в табл. 37.

Таблица 37

Временная точка	Количественный анализ (% ЖХ)	Чистота (% площади)	Продукт гидролиза 1 (% площади)	Продукт гидролиза 2 (% площади)
T=0	108,8	97,90	0,16	0,39
T=2 ч.	109,1	97,91	0,16	0,39
T=4 ч.	108,4	97,91	0,16	0,39
T=6 ч.	108,4	97,90	0,16	0,40
T=8 ч.	108,5	97,89	0,17	0,40

Данные стабильности после вскрытия упаковки показали, что раствор указанной композиции при восстановлении оставался стабильным в течение 8 ч при комнатной температуре. В то же время не наблюдали выпадения лекарства в осадок после хранения в течение ночи при комнатной температуре, по результатам визуального осмотра, что свидетельствует о физической стабильности восстановленного раствора.

На основании вышеупомянутых результатов стабильности предложена методика восстановления, описанная ниже.

Восстановление каждого флакона с использованием 2 мл стерильной воды для инъекций. Осторожное встряхивание или вращение флакона до полного растворения твердого вещества. Полученный раствор содержит Форму С в концентрации 0,50 мг/мл. Раствор должен быть прозрачным и бесцветным. Восстановленный раствор остается стабильным во флаконе при комнатной температуре в течение 8 ч. Перед введением необходимо визуально осмотреть раствор на наличие частиц и изменение цвета. Осуществление набора необходимого количества раствора Формы С для доставки требуемой дозы.

Варианты реализации, описанные выше, являются исключительно иллюстративными, и специалистам в данной области техники понятны, или они могут установить на основе не более чем стандартного проведения экспериментов, многочисленные эквиваленты конкретных соединений, материалов и процедур. Все такие эквиваленты входят в объем настоящего изобретения и предусмотрены прилагаемой формулой изобретения.

Композиция согласно настоящему изобретению предназначена для применения в медицине.

Композиции согласно настоящему изобретению предназначены для применения в способах лечения, предложенных в настоящем документе.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Лиофилизованная композиция, содержащая

Соединение 1 (2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамид), или его стереоизомер, или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф, цитратный буфер в количестве от примерно 5 до примерно 25% относительно общей массы лиофилизованной композиции и объемообразующий агент.

2. Лиофилизованная композиция по п.1, отличающаяся тем, что Соединение 1 содержит твердую форму (2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида), выбранную из твердых форм А, В, С и Е, которые характеризуются диаграммой рентгеновской порошковой дифракции в соответствии с фиг. 1-26.

3. Лиофилизованная композиция по п.1, отличающаяся тем, что Соединение 1 содержит аморфную форму (2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида).

4. Лиофилизованная композиция по любому из пп.1-3, отличающаяся тем, что Соединение 1 присутствует в количестве от примерно 0,1 до примерно 2% относительно общей массы лиофилизованной композиции.

5. Лиофилизованная композиция по любому из пп.1-4, отличающаяся тем, что Соединение 1 присутствует в количестве от примерно 0,1 до примерно 1% относительно общей массы лиофилизованной композиции.

6. Лиофилизованная композиция по любому из пп.1-5, отличающаяся тем, что Соединение 1 присутствует в количестве примерно 0,36% относительно общей массы лиофилизованной композиции.

7. Лиофилизованная композиция по любому из пп.1-6, отличающаяся тем, что цитратный буфер

содержит безводную лимонную кислоту и безводный цитрат натрия.

8. Лиофилизированная композиция по п.7, отличающаяся тем, что безводная лимонная кислота присутствует в количестве от примерно 2 до примерно 10% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

9. Лиофилизированная композиция по п.7 или 8, отличающаяся тем, что безводная лимонная кислота присутствует в количестве от примерно 5 до примерно 8% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

10. Лиофилизированная композиция по любому из пп.7-9, отличающаяся тем, что безводная лимонная кислота присутствует в количестве от примерно 6 до примерно 8% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

11. Лиофилизированная композиция по п.7, отличающаяся тем, что безводная лимонная кислота присутствует в количестве примерно 6,41% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

12. Лиофилизированная композиция по п.8, отличающаяся тем, что безводный цитрат натрия присутствует в количестве от примерно 2 до примерно 15% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

13. Лиофилизированная композиция по п.7 или 12, отличающаяся тем, что безводный цитрат натрия присутствует в количестве от примерно 4 до примерно 10% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

14. Лиофилизированная композиция по п.12 или 13, отличающаяся тем, что безводный цитрат натрия присутствует в количестве примерно 6,37% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

15. Лиофилизированная композиция по любому из пп.1-14, отличающаяся тем, что объемообразующий агент выбран из маннита, сульфобутилового эфира  $\beta$ -циклодекстрина,  $\beta$ -циклодекстрина, гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина и метилированного  $\beta$ -циклодекстрина.

16. Лиофилизированная композиция по любому из пп.1-15, отличающаяся тем, что объемообразующий агент представляет собой гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин.

17. Лиофилизированная композиция по любому из пп.1-16, отличающаяся тем, что объемообразующий агент присутствует в количестве от примерно 70 до примерно 95% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

18. Лиофилизированная композиция по любому из пп.1-17, отличающаяся тем, что объемообразующий агент присутствует в количестве от примерно 80 до примерно 90% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

19. Лиофилизированная композиция по любому из пп.1-18, отличающаяся тем, что гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин присутствует в количестве от примерно 80 до примерно 90% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

20. Лиофилизированная композиция по любому из пп.1-19, отличающаяся тем, что гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин присутствует в количестве примерно 86,86% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

21. Лиофилизированная композиция по любому из пп.8-20, отличающаяся тем, что Соединение 1 присутствует в количестве от примерно 0,1 до примерно 1%, безводная лимонная кислота присутствует в количестве от примерно 6 до примерно 8%, безводный цитрат натрия присутствует в количестве от примерно 4 до примерно 10% и объемообразующий агент присутствует в количестве от примерно 70 до примерно 95% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

22. Лиофилизированная композиция по п.21, отличающаяся тем, что Соединение 1 присутствует в количестве примерно 0,36%, безводная лимонная кислота присутствует в количестве примерно 6,41%, безводный цитрат натрия присутствует в количестве 6,37% и объемообразующий агент представляет собой гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин, присутствующий в количестве примерно 86,86% относительно общей массы лиофилизированной композиции.

23. Восстановленная композиция, полученная из лиофилизированной композиции по любому из пп.1-22, содержащая разбавитель.

24. Восстановленная композиция по п.23, отличающаяся тем, что разбавителем является вода.

25. Восстановленная водная композиция по п.24, отличающаяся тем, что Соединение 1 присутствует в количестве от примерно 0,1 до 1 мг/мл.

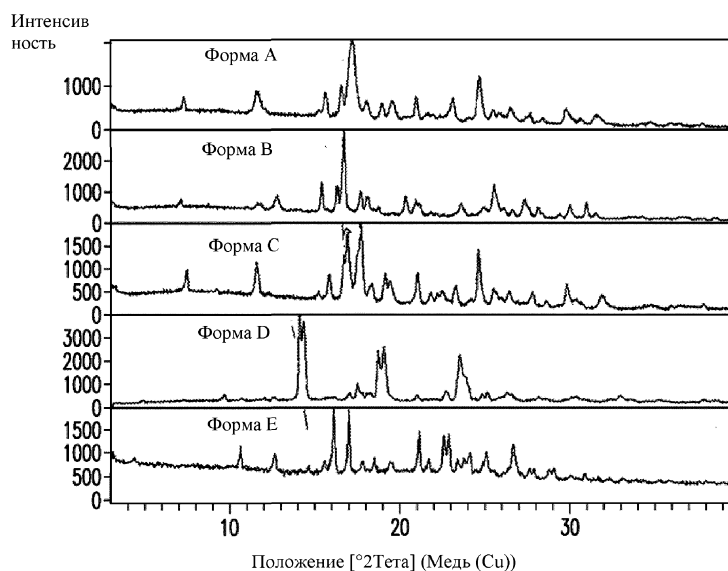
26. Восстановленная водная композиция по п.24 или 25, отличающаяся тем, что Соединение 1 присутствует в количестве примерно 0,5 мг/мл.

27. Восстановленная водная композиция по любому из пп.25, 26, отличающаяся тем, что водная композиция имеет pH от примерно 4 до примерно 5.

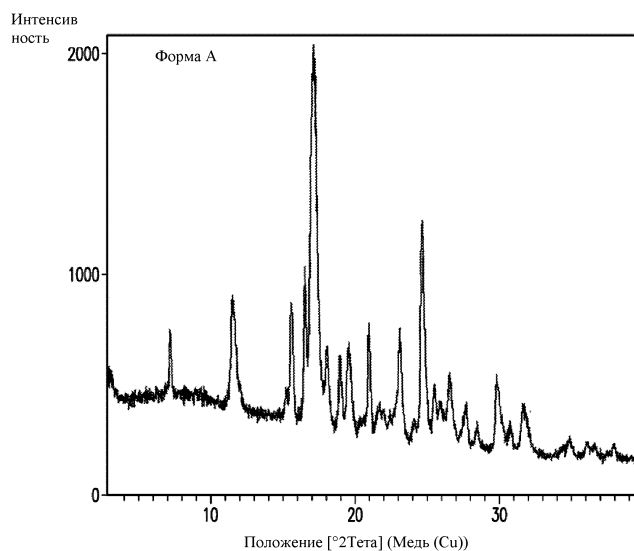
28. Восстановленная водная композиция по любому из пп.25, 26, отличающаяся тем, что водная композиция имеет pH примерно 4,3.

29. Способ лечения рака, включающий введение млекопитающему, страдающему от рака, лиофилизированной композиции по любому из пп.1-22 или водной композиции по любому из пп.25-28.

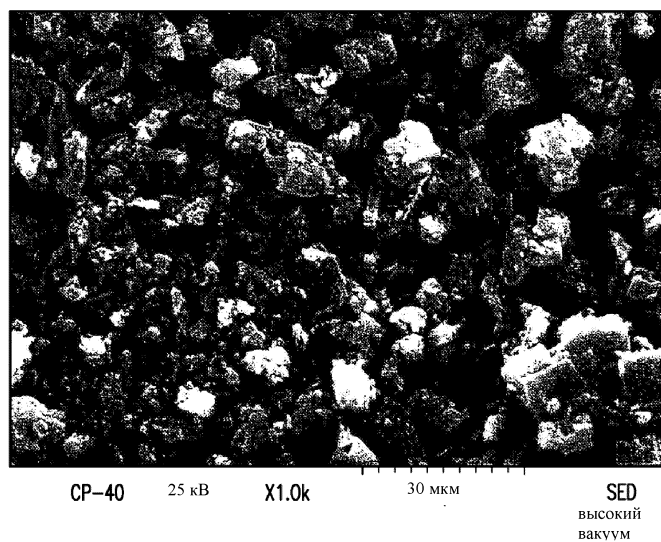
30. Способ по п.29, включающий внутривенное введение водной композиции по любому из пп.25-28.
31. Способ по п.29, отличающийся тем, что рак представляет собой лейкоз.
32. Способ по п.31, отличающийся тем, что лейкоз представляет собой хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз или острый миелоидный лейкоз.
33. Способ по п.32, отличающийся тем, что лейкоз представляет собой острый миелоидный лейкоз.
34. Способ по п.33, отличающийся тем, что лейкоз является рецидивирующим, рефрактерным или устойчивым к традиционной терапии.
35. Способ по п.34, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества второго активного агента или поддерживающую терапию.
36. Способ по п.35, отличающийся тем, что второй активный агент представляет собой терапевтическое антитело, которое специфически связывается с раковым антигеном, гематопозитический фактор роста, цитокин, противораковый агент, антибиотик, ингибитор соx-2, иммуномодулирующий агент, иммунодепрессивный агент, кортикостероид или их фармакологически активный мутант.
37. Применение композиции по любому из пп.1-27 в способе лечения рака по любому из пп.29-34.
38. Способ получения лиофилизированной композиции по п.1, включающий растворение объемообразующего агента и Соединения 1 в буферном растворе с получением раствора и лиофилизацию полученного раствора с получением порошка.



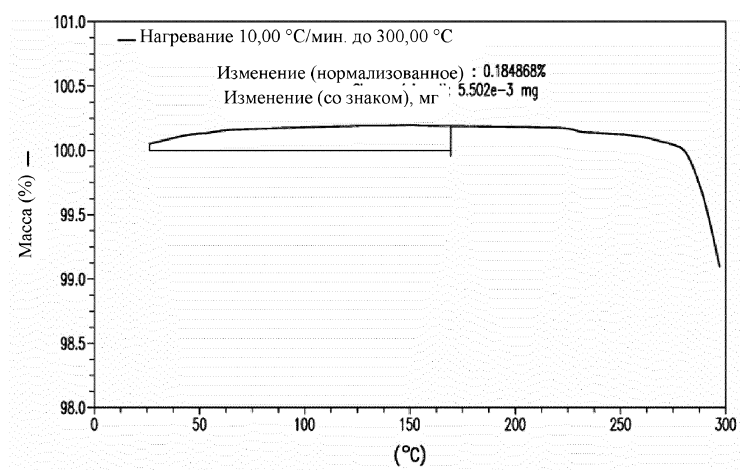
Фиг. 1



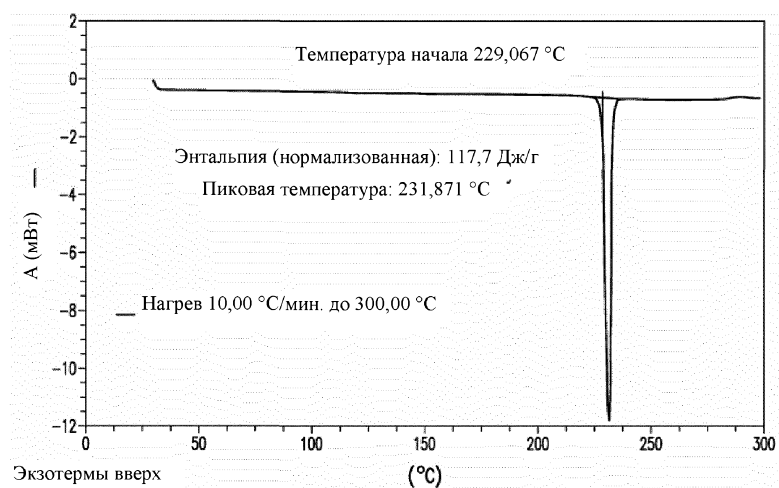
Фиг. 2



Фиг. 3

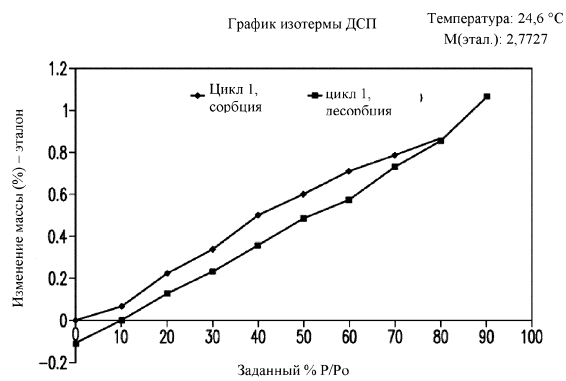


Фиг. 4



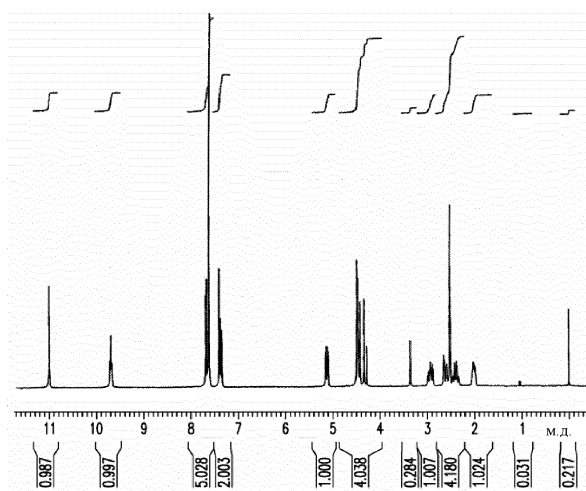
Фиг. 5

037508

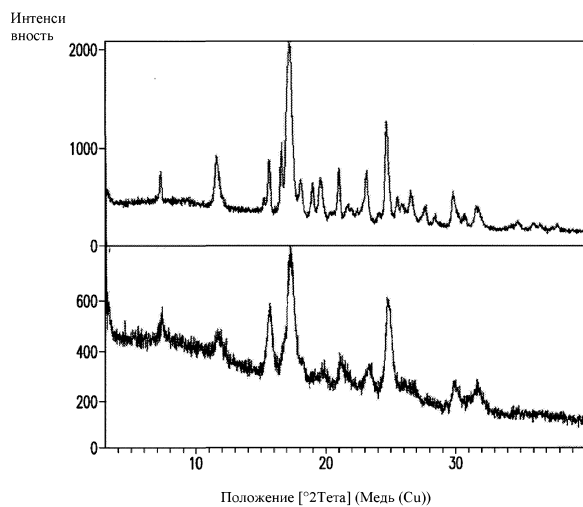


Цикл 1	Заданный % P/Po	Изменение массы, % - эталон		
		Сорбция	десорбция	гистерезис
	0.0	-0.004	-0.111	
	10.0	0.063	-0.002	-0.066
	20.0	0.221	0.126	-0.094
	30.0	0.339	0.231	-0.108
	40.0	0.509	0.360	-0.149
	50.0	0.614	0.496	-0.118
	60.0	0.726	0.586	-0.139
	70.0	0.808	0.751	-0.057
	80.0	0.887	0.880	-0.007
	90.0	1.099	1.099	

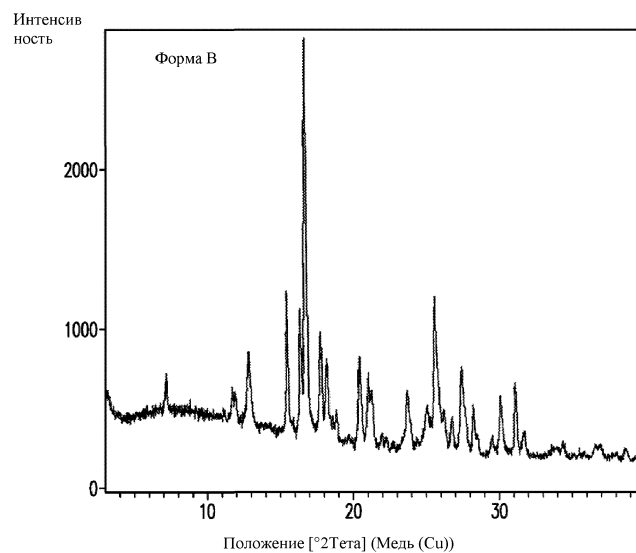
Фиг. 6



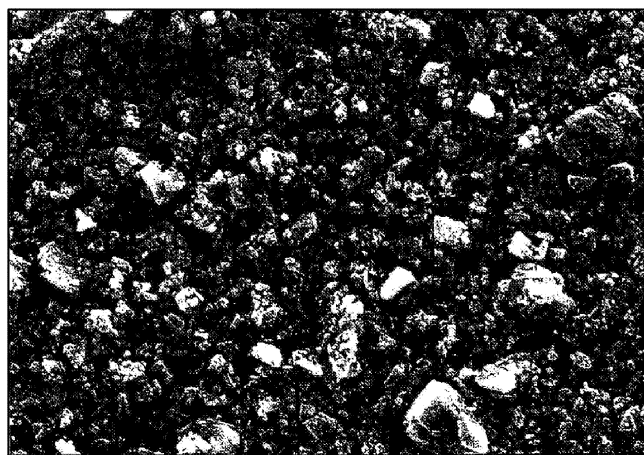
Фиг. 7



Фиг. 8

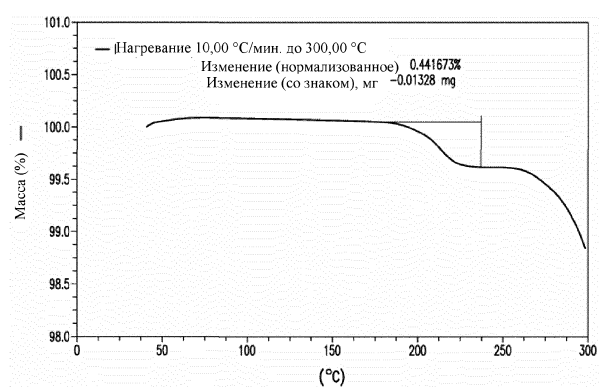


Фиг. 9

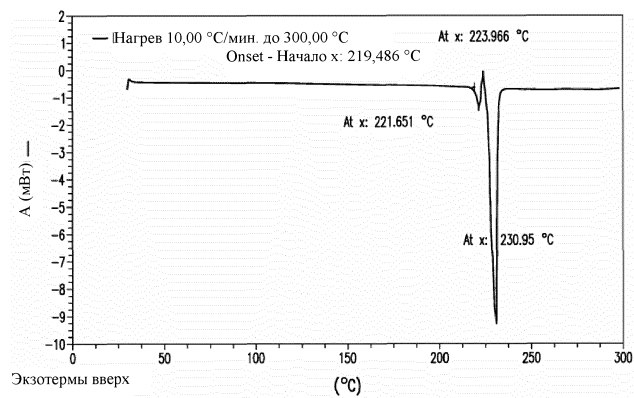


CP-40 25 кВ x1.0k 30 мкм SED  
высокий вакуум

Фиг. 10

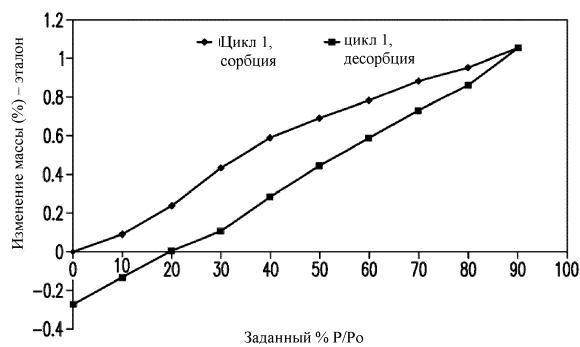


Фиг. 11



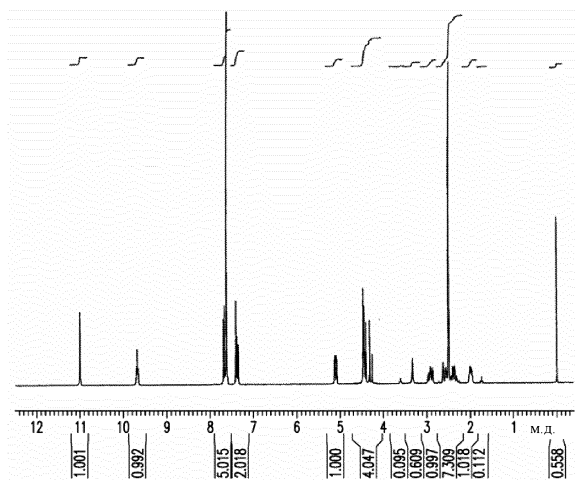
Фиг. 12

График изотермы ДСП      Температура: 25,0 °C  
М(этал.) : 2,5895



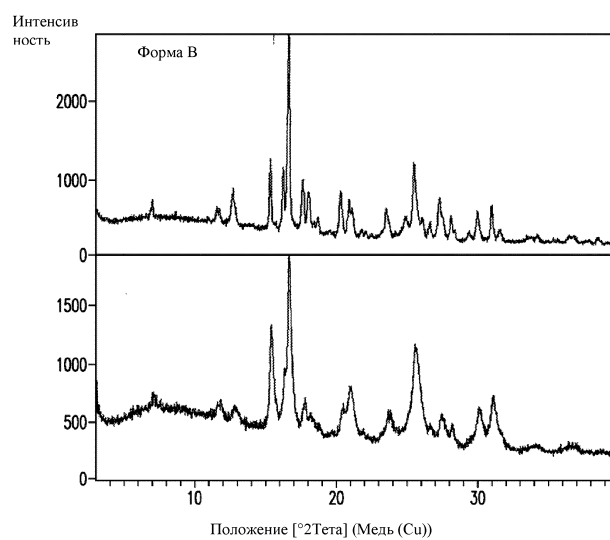
	Заданный % P/P0	Изменение массы, % - эталон		
		Сорбция	десорбция	гистерезис
Цикл 1	0.0	0.000	-0.270	
	10.0	0.093	-0.120	-0.213
	20.0	0.241	0.009	-0.232
	30.0	0.439	0.112	-0.327
	40.0	0.595	0.292	-0.303
	50.0	0.700	0.456	-0.244
	60.0	0.798	0.599	-0.198
	70.0	0.903	0.748	-0.154
	80.0	0.977	0.886	-0.091
	90.0	1.085	1.085	

Фиг. 13

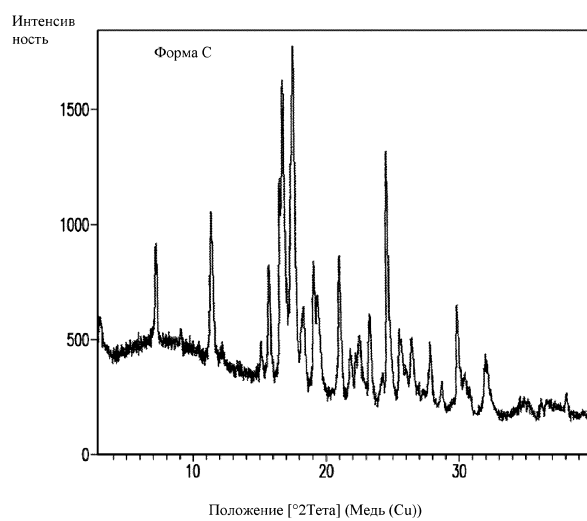


Фиг. 14

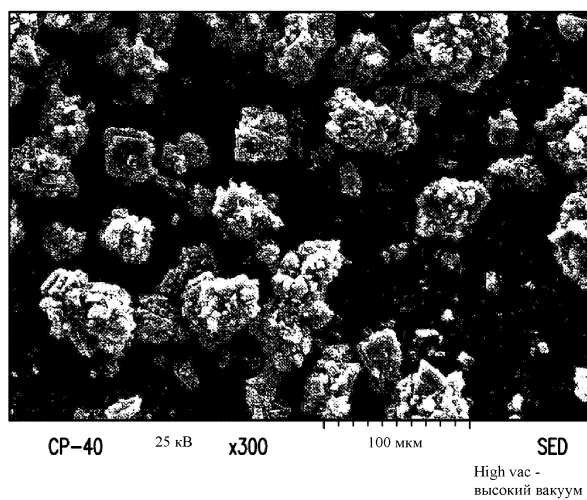




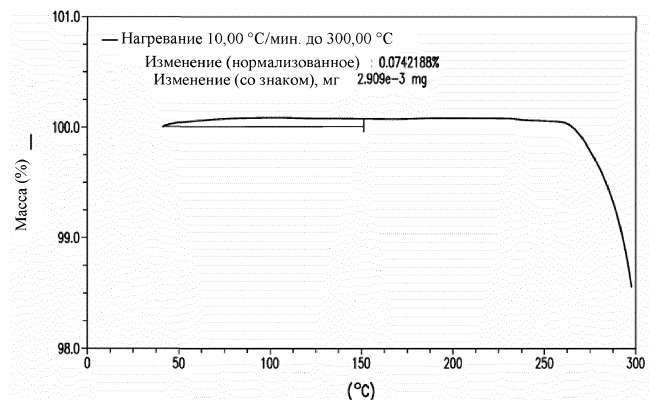
Фиг. 15



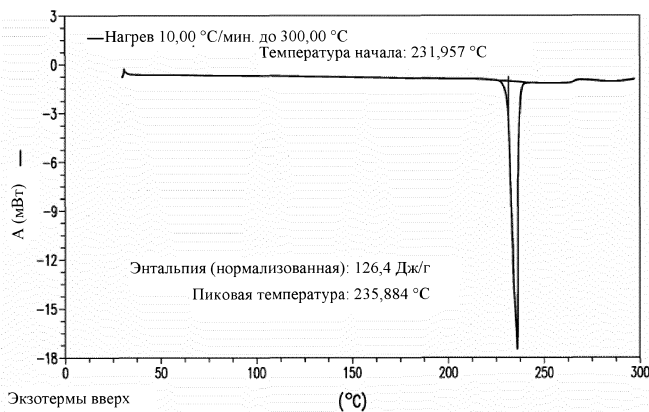
Фиг. 16



Фиг. 17

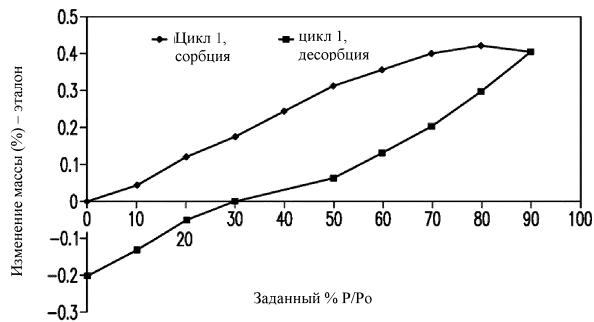


Фиг. 18



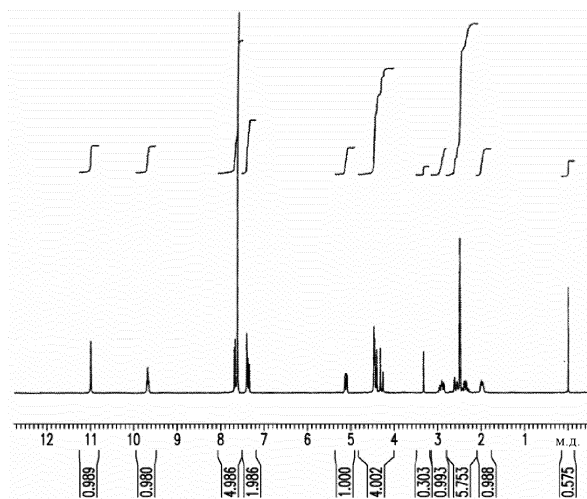
Фиг. 19

График изотермы ДСП      Температура: 25,3 °C  
M(этал.) 6,0684

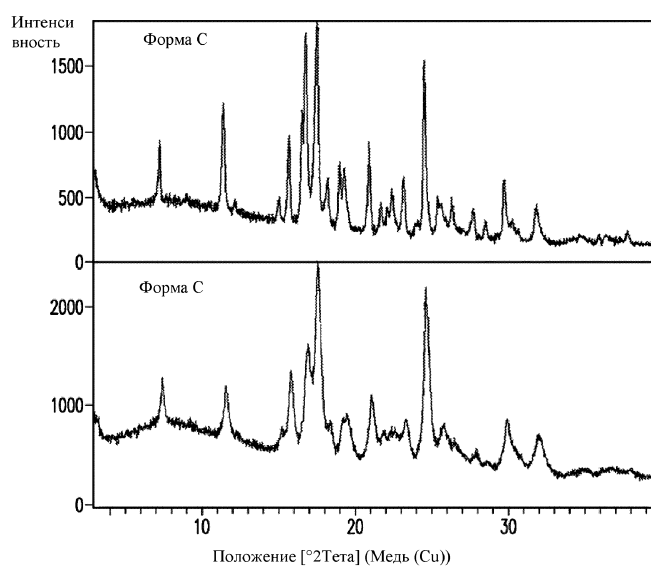


Цикл 1	Заданный % P/P0	Изменение массы, % - эталон		
		Сорбция	десорбция	гистерезис
	0.0	-0.0020	-0.2070	
	10.0	0.0409	-0.1368	-0.1776
	20.0	0.1186	0.0547	-0.1734
	30.0	0.1730	0.0049	-0.1780
	40.0	0.2409	0.0395	-0.2805
	50.0	0.3114	0.0606	-0.2508
	60.0	0.3559	0.1305	-0.2254
	70.0	0.4014	0.2027	-0.1987
	80.0	0.4235	0.2983	-0.1252
	90.0	0.4087	0.4087	

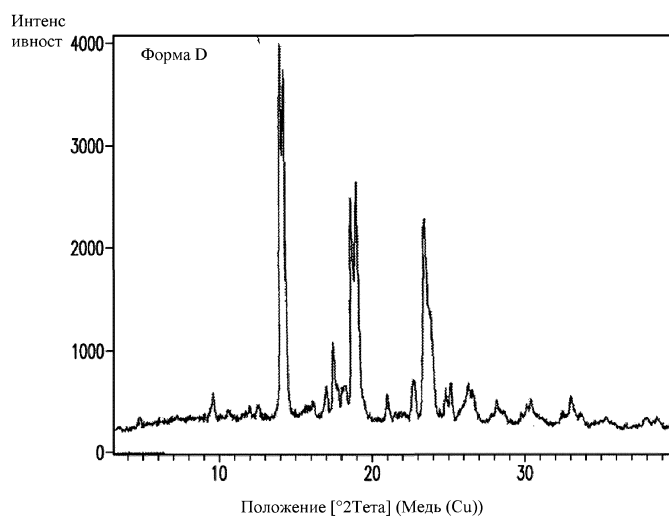
Фиг. 20



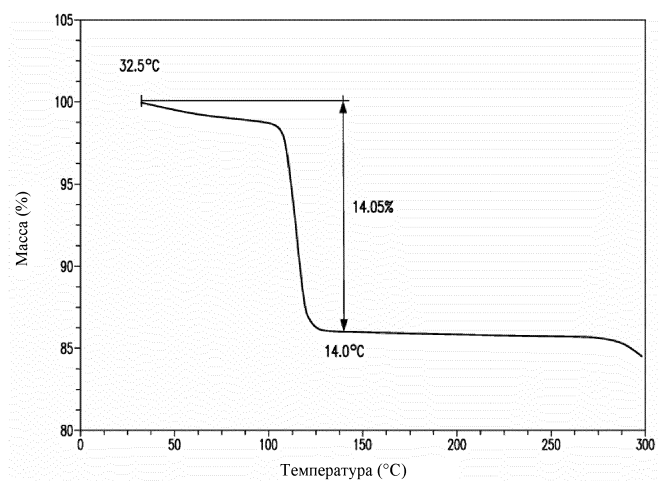
Фиг. 21



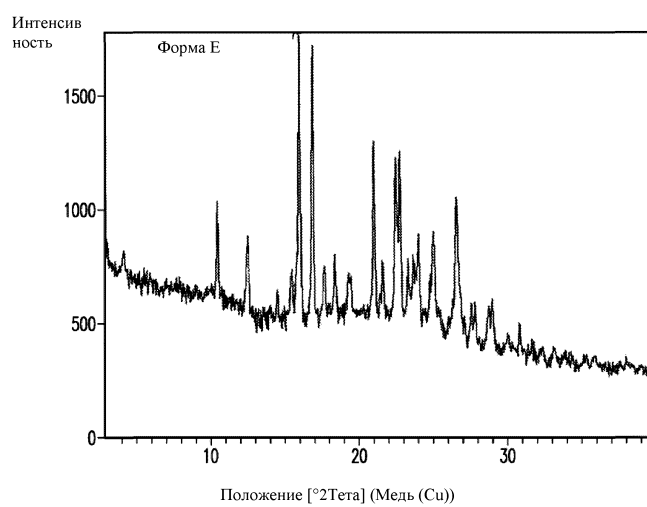
Фиг. 22



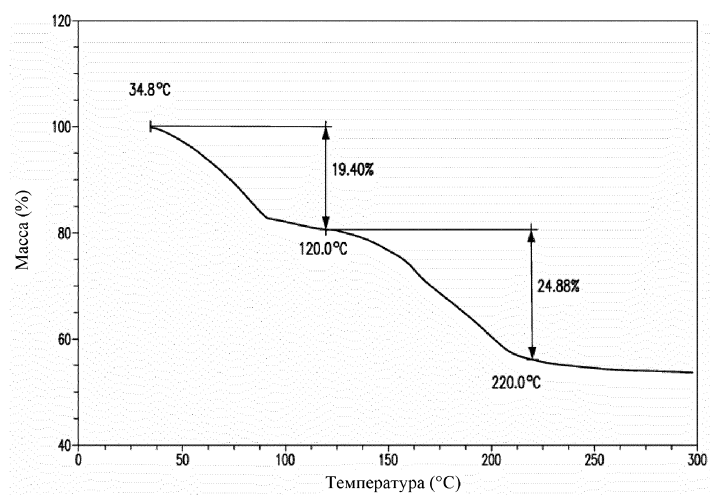
Фиг. 23



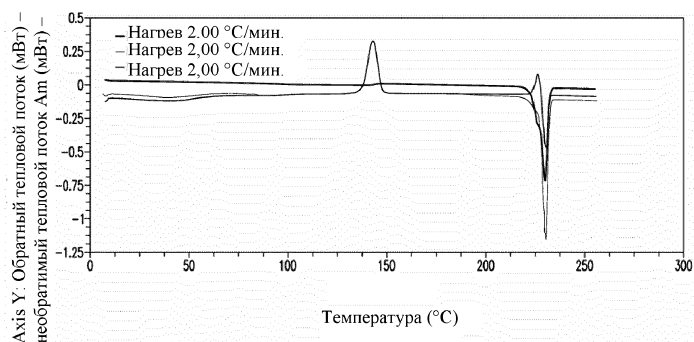
Фиг. 24



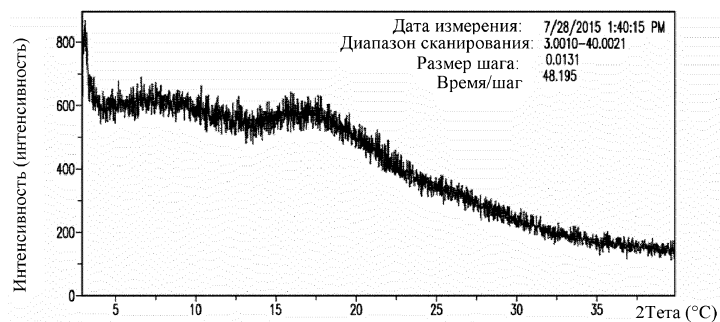
Фиг. 25



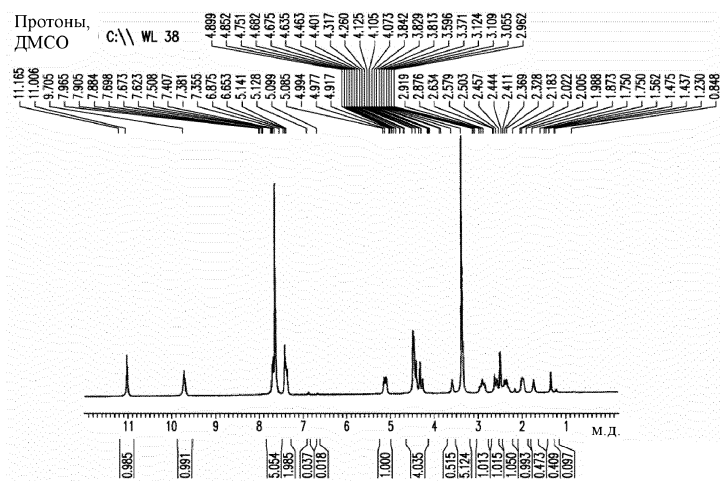
Фиг. 26



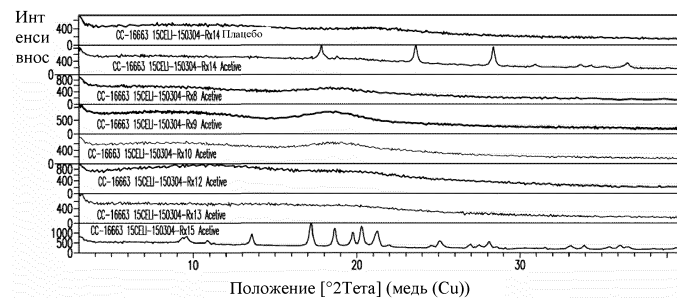
Фиг. 27

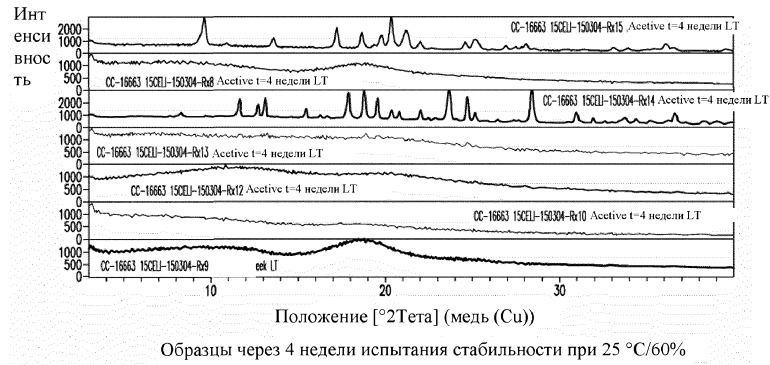


Фиг. 28

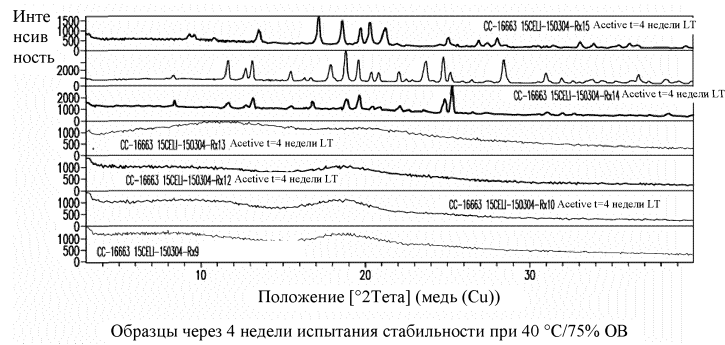


Фиг. 29

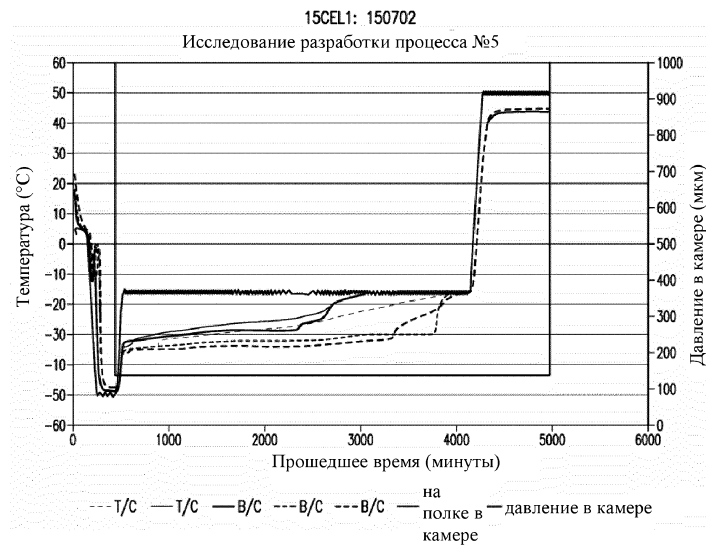
Исходное  
Фиг. 30А



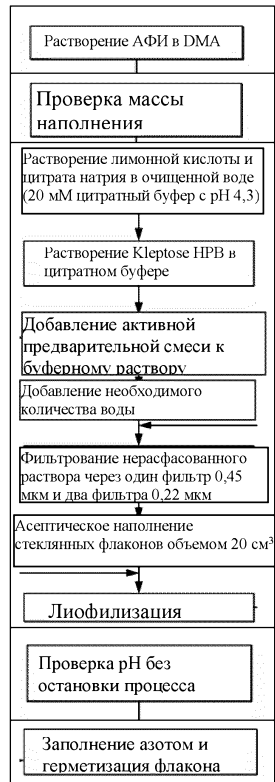
Фиг. 30В



Фиг. 30С



Фиг. 31



Фиг. 32

