

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040996**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.08.29

(21) Номер заявки
202192722

(22) Дата подачи заявки
2021.11.02

(51) Int. Cl. **C07D 403/04** (2006.01)
C07C 303/32 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **δ-КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ФОРМА ОСИМЕРТИНИБА МЕЗИЛАТА, СПОСОБ ЕЁ ПОЛУЧЕНИЯ (ВАРИАНТЫ) И ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

(43) **2022.08.04**

(96) **2021000115 (RU) 2021.11.02**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"АКСЕЛЬФАРМ" (RU)**

(72) Изобретатель:
**Иванов Андрей Сергеевич, Скорняков
Юрий Владимирович, Торчинов
Георгий Юрьевич (RU)**

(74) Представитель:
Иванов А.С. (RU)

(56) EA-B-029488

CN-A-106699736

CN-A-111303124

MINO R. CAIRA, Crystalline polymorphism of organic compounds, TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, 1998, Vol. 198, p. 164-204 с. 165

STEPHEN BYRN et al, Pharmaceutical Solids: a strategic approach to regulatory Considerations, PHARMACEUTICAL RESEARCH, 1995, Vol.12, No. 7, p. 945-954 с.946, раздел "POLYMORPHS"

(57) Изобретение относится к новой, неизвестной ранее δ-кристаллической форме осимертиниба мезилата, способу ее получения и применению в фармацевтических композициях, которые могут быть использованы для лечения онкологических заболеваний. Техническим результатом является создание новой δ-кристаллической формы осимертиниба мезилата, обладающей улучшенной биологической доступностью и терапевтической эффективностью, по сравнению с известной кристаллической формой В при лечении опухолевых заболеваний. δ-кристаллическая форма осимертиниба мезилата характеризуется максимумами при 16,32; 18,76; 33,04 ±0,2 град. угла 2θ в спектре порошковой рентгеновской дифракции, полученном с использованием излучения с длиной волны 1,54056 Å. Способ получения δ-кристаллической формы осимертиниба мезилата включает охлаждение водного раствора осимертиниба мезилата со скоростью 10±5 град./мин, а после кристаллизации - охлаждение жидким азотом; последующую сублимационную сушку полученного замороженного раствора при температурах на конденсаторе от -50 до приблизительно -56°C, а на продукте - от -196 до +30°C, и остаточном давлении в камере от 8·10⁻² до 5·10⁻² мм рт. ст.

040996 B1

040996

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к новой, неизвестной ранее δ -кристаллической форме N-(2-{2-диметиламиноэтил-метиламино}-4-метокси-5-[[4-(1-метилиндолил)пиримидин-2-ил]амино}фенил)проп-2-енамида мезилата (далее осимертиниба мезилат; международное непатентованное название - осимертиниб), способу ее получения и применению в фармацевтических композициях, которые могут быть использованы для лечения онкологических заболеваний.

Сведения о предшествующем уровне техники

Полиморфизм представляет собой способность одного и того же химического соединения существовать в разных кристаллических формах. Разные полиморфы характеризуются различным взаиморасположением атомов внутри элементарной ячейки, что оказывает влияние на многие физико-химические свойства вещества, такие как температура плавления, плотность, твердость, стабильность, растворимость, скорость растворения, гигроскопичность. Различают полиморфизм упаковки, конформационный полиморфизм. Последний связан с тем, что молекулы вещества находятся в разных конформациях. Отдельным видом полиморфизма считается политипия, под которой понимают изменение в структуре путем небольшого смещения слоев, приводящего к увеличению периодичности в направлении перпендикулярном слоям. Под псевдополиморфизмом принято понимать изменение кристаллической структуры, вызванное образованием сольватов (гидратов).

Разные полиморфы лекарственных веществ не только отличаются физическими свойствами, но также могут демонстрировать различную фармакокинетику и фармакодинамику у человека и животных при пероральном введении. В редких случаях полиморфы лекарственного соединения могут вообще не проявлять терапевтической эффективности. Показательным примером такого случая является ритонавир [J. Bauer, et al. Ritonavir: An Extraordinary Example of Conformational Polymorphism. Pharm. Res., 2001, 18 (6), 859-866]. Иногда использование новых полиморфов позволяет усовершенствовать технологические свойства субстанций. Так, парацетамол в своей термодинамически стабильной кристаллической форме I был известен тем, что обладал плохой прессуемостью и сыпучестью, и требовал использования большого количества вспомогательных ингредиентов для придания ему подходящих механических свойств для производства таблетированного лекарственного препарата. Применение метастабильной кристаллической формы II позволило решить проблему плохой прессуемости и сыпучести без использования эксципиентов. При этом было показано, что трансформация формы II в форму I, происходящая в готовых таблетках в процессе их хранения, не сказывается на биодоступности лекарства [P.D. Martino et al. A new pure paracetamol for direct compression: The orthorhombic form. Int. J. Pharmaceutics, 1996, 128, 1-8, 859-866].

Следует отметить, что обнаружение нового полиморфа с полезными свойствами для известного химического соединения далеко не всегда является итогом рутинной оптимизации условий кристаллизации путем последовательного перебора ряда условий, растворителей и т.д. либо с применением математически обоснованных методов оптимизации эксперимента, а представляет собой результат творческого труда исследователей, приводящего к неожиданным и неочевидным результатам. В противном случае, все возможные полиморфы устанавливались бы входе первичного полиморфного скрининга, который проводится на ранних этапах разработки лекарственного препарата. Выполнение данной задачи может считаться важным научным и техническим достижением.

Известное противоопухолевое вещество осимертиниб является ингибитором тирозинкиназы. Это необратимый ингибитор тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), эффективный при наличии сенсбилизирующих мутаций гена EGFR и мутации T790M, связанной с развитием резистентности к ингибиторам киназы.

В исследованиях *in vitro* было продемонстрировано, что осимертиниб обладает высокой активностью и ингибирующим действием в отношении EGFR во всех клинически значимых клеточных линиях немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), несущих сенсбилизирующие мутации EGFR и мутацию резистентности T790M. Это приводит к подавлению клеточного роста, при этом значительно меньшая активность наблюдается в отношении клеточных линий, имеющих дикий тип EGFR. *In vivo* пероральный прием осимертиниба сопровождается уменьшением размера опухоли как в ксенографтах НМРЛ с активирующими мутациями EGFR и мутацией T790M, так и в моделях опухолей легкого у трансгенных мышей.

После приема внутрь, медиана времени достижения максимальной концентрации осимертиниба в плазме ($\min$ - $\max$) $t_{\max}$ высоко вариабельно и составляет 6 (3-24) ч, а у некоторых больных максимальные концентрации достигались в течение первых 24 ч. Абсолютная биодоступность не определялась. Согласно данным клинического фармакокинетического исследования у пациентов, получавших препарат в дозе 80 мг, прием пищи не оказывает клинически значимого влияния на биодоступность осимертиниба. [Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Тагриссо, таблетки, покрытые пленочной оболочкой ЛП-004491-180717, далее ИМП "Тагриссо"].

Известно противоопухолевое средство из класса тирозинкиназ "Тагриссо", выпускаемое в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой. Согласно ИМП "Тагриссо" препарат содержит следующие компоненты:

осимертиниба мезилат;
маннитол;
целлюлоза микрокристаллическая;
гипролоза с низкой степенью замещения;
натрия стеарилфумарат.

Согласно ИМП "Тагриссо" применяется при местно-распространенном или метастатическом немелкоклеточном раке легкого с мутацией T790M в гене рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) у взрослых пациентов.

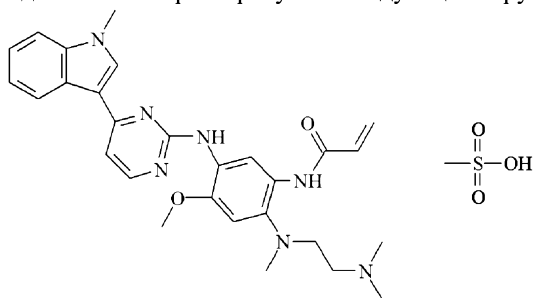
Относительно хорошая растворимость осимертиниба мезилата в физиологических средах в сочетании с его низкой способностью проникать через биологические мембраны, позволяет отнести данное вещество к третьему классу согласно биофармацевтической классификации [D.L. Hughes. Patent Review of Manufacturing Routes to Oncology Drugs: Carfilzomib, Osimertinib, and Venetoclax. Org. Process Res. Dev., 2016, 20 (12), 2028-2042]. В евразийском патенте ЕА 029488 В (опубл. 30.04.2018, МПК: C07D 403/04; C07D 471/04; A61K 31/506; A61P 35/00) раскрываются кристаллические формы осимертиниба основания и его мезилатной соли, а также способы их химического синтеза и биологические испытания полученных соединений. Структура соединений охарактеризована при помощи рентгенофазового анализа (табл. 1), дифференциальной сканирующей калориметрии. В патенте описаны две кристаллические формы мезилатной соли осимертиниба. Кристаллическая форма А осимертиниба мезилата на термограмме ДСК имеет эндотерму плавления с началом при 258,8°C и пиком при 262,0°C, тогда как кристаллическая форма В на термограмме ДСК имеет эндотерму плавления с началом при 245,0°C и пиком при 246,5°C.

В патентной заявке Китая CN 106699736 А (опубл. 24.05.2017, МПК: A61K 31/506; A61P 35/00; C07C 303/32; C07C 309/04 и C07D 403/04) описана кристаллическая форма γ осимертиниба мезилата, использование ее в фармацевтических композициях и применение для лечения опухолевых заболеваний. Для кристаллической формы у на термограмме ДСК наблюдается эндотермический пик при температуре 252,2°C. Кристалличность структуры подтверждена данными рентгенофазового анализа (см. табл. 6).

Сущность изобретения

Изобретение относится к новой, неизвестной ранее, δ-кристаллической форме N-(2-{2-диметиламиноэтил-метиламино}-4-метокси-5-{[4-(1-метилиндол-3-ил)пиримидин-2-ил]амино}фенил)проп-2-енамида мезилата (осимертиниба мезилата), способу ее получения и применению для лечения онкологических заболеваний.

N-(2-{2-диметиламиноэтил-метиламино}-4-метокси-5-{[4-(1-метилиндол-3-ил)пиримидин-2-ил]амино}фенил)проп-2-енамида мезилат характеризуется следующей структурной формулой:



Брутто-формулой: $C_{29}H_{37}N_7O_5S$.

Молекулярной массой: 595,72 (в виде осимертиниба мезилата).

Заявленная группа изобретений направлена на решение актуальной задачи расширения арсенала известных полиморфных форм осимертиниба мезилата, которые могут быть использованы для лечения онкологических заболеваний. Данная задача решается путем создания новой δ-кристаллической формы N-(2-{2-диметиламиноэтил-метиламино}-4-метокси-5-{[4-(1-метилиндол-3-ил)пиримидин-2-ил]амино}фенил)проп-2-енамида мезилата.

Техническим результатом заявленной группы изобретений является создание новой δ-кристаллической формы N-(2-{2-диметиламиноэтил-метиламино}-4-метокси-5-{[4-(1-метилиндол-3-ил)пиримидин-2-ил]амино}фенил)проп-2-енамида мезилата, обладающей улучшенной биологической доступностью и терапевтической эффективностью, по сравнению с известной кристаллической формой В при лечении опухолевых заболеваний.

Новая δ-кристаллическая форма осимертиниба мезилата по изобретению характеризуются набором основных максимумов в спектре порошковой рентгеновской дифракции: 16,32; 18,76; 33,04 ± 0,2 град. угла 2θ и набором дополнительных максимумов: 10,34; 17,14; 19,34; 19,70; 20,78; 22,74 ± 0,2 град. угла 2θ. Для образца δ-кристаллического осимертиниба мезилата на термограмме дифференциальной сканирующей калориметрии при скорости нагрева 10 град./мин. наблюдаются следующие тепловые эффекты: 163,4°C (экзотермический), 243,5°C (плавление, эндотермический). При этом для исходной кристаллической

ской формы В методом ДСК была определена температура плавления 247,7°C, что согласуется с литературными данными для температуры плавления формы В, составляющей 245°C (начало плавления) [евразийский патент № 029488 В, фиг. 21].

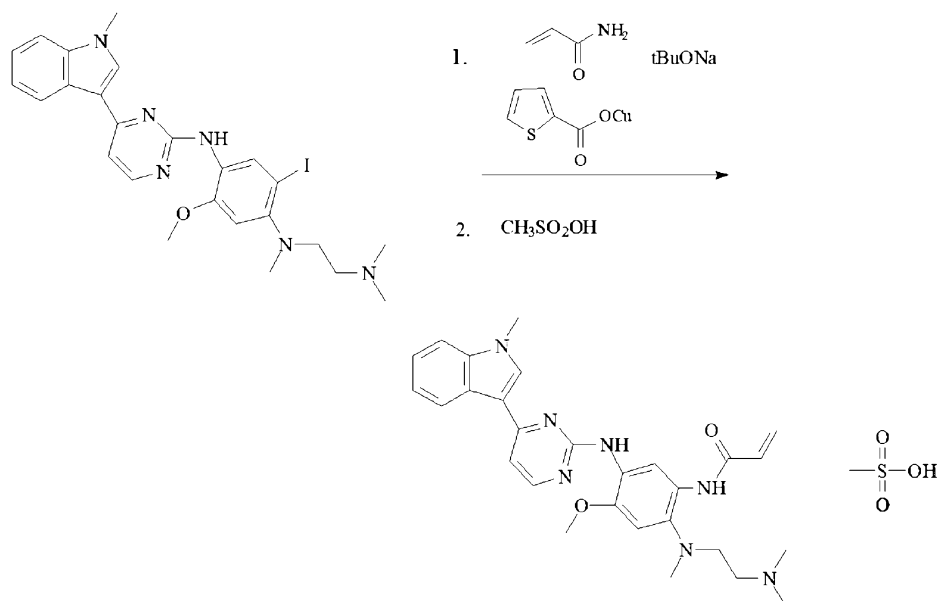
Поскольку координаты экстремума на кривой ДСК существенно зависят от конструкции прибора и условий проведения эксперимента, во всех случаях в качестве температуры фазового перехода принималась температура, соответствующая точке пересечения экстраполированной в область пика базовой линии графика с касательной к точке перегиба на левом плече кривой (Tonset).

Для сравнения основных характеристик δ -кристаллической формы осимертиниба, таких как биодоступность, стабильность, гигроскопичность, в качестве объекта сравнения нами была выбрана полиморфная форма В, описанная в патенте ЕА 024421 В1. Различия кристаллических форм показаны в соответствующих примерах.

Для δ -кристаллического осимертиниба мезилата по настоящему изобретению было обнаружено, что он остается фазово-стабильным в течение, как минимум, 12 месяцев хранения при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $60 \pm 5\%$ (см. пример 7). Для готового лекарственного средства, содержащего кристаллическую форму δ осимертиниба мезилата по изобретению, была показана стабильность в течение 12 месяцев (см. пример 8).

Испытания на животных показывают, что δ -кристаллический осимертиниба мезилат по изобретению, характеризующийся указанными выше параметрами кристаллической решетки, а также термическими эффектами, наблюдаемыми в условиях ДСК, и полученный предложенными в настоящем изобретении способами, обладает улучшенной биологической доступностью и терапевтической эффективностью при лечении опухолевых заболеваний, чем известная кристаллическая форма В, полученная по примеру 4.

При изучении подходов к синтезу осимертиниба мезилата авторами был разработан способ, согласно которому осимертиниб образуется при взаимодействии N^1 -(2-(диметиламино)этил)-2-иод-5-метокси- N^1 -метил- N^4 -(4-(1-метил-1Н-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,4-диамина и акриламида в присутствии подходящего стерически затрудненного основания и субстехиометрического количества тиофен-2-карбоксилата меди(I) в среде диметилсульфоксида, с последующим превращением полученного продукта в кислотно-аддитивную соль с метансульфоновой кислотой. Предполагается, что тиофен-2-карбоксилат меди(I) является катализатором реакции кросс-сочетания, позволяющей вводить акрилоилламидный фрагмент в бензольное кольцо.



В качестве подходящего стерически затрудненного основания могут быть использованы такие вещества, как трет-бутилат натрия, трет-амилат натрия или другие аналогичные вещества, известные специалистам в области органического синтеза. Предлагаемый авторами подход к синтезу осимертиниба мезилата расширяет арсенал известных способов синтеза этого соединения и позволяет обойтись без таких коррозионно-опасных реагентов, как акрилоилхлорид и β -пропионилхлорид, которые обычно применяются для введения акрилоильного фрагмента при синтезе данного вещества.

В одном варианте осуществления способа получения δ -кристаллической формы осимертиниба мезилата указанную форму получают методом лиофильной сушки водного раствора осимертиниба мезилата, замороженного сначала при помощи сухого льда, а затем - жидкого азота. Лيوфильную сушку проводят при температурах на конденсаторе от -50 до -56°C , на продукте от -196 до $+30^\circ\text{C}$, и остаточном давлении в камере от $8 \cdot 10^{-2}$ до $5 \cdot 10^{-2}$ мм рт. ст. Учитывая невысокую растворимость осимертиниба мезилата в воде, данный метод сопряжен с необходимостью лиофилизировать большие объемы водного раствора.

В ходе дальнейших экспериментов с полученной вышеописанным способом δ -кристаллической формой осимертиниба мезилата авторами было неожиданно обнаружено, что добавление указанной формы при перекристаллизации осимертиниба мезилата из этилового спирта приводит к кристаллизации очищенного осимертиниба мезилата в виде δ -модификации. Отличительной особенностью данного варианта способа получения является хорошая масштабируемость и возможность применения для крупномасштабного синтеза (см. примеры 3а, b).

В дополнительном варианте осуществления изобретения основание осимертиниба получают реакцией кросс-сочетания N-(2-(диметиламино)этил)-2-иод-5-метокси-N¹-метил-N⁴-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,4-диамина с акриламидом, протекающей в присутствии трет-бутилата натрия и субстехиометрического количества тиофенкарбоксилата меди(I) в среде диметилсульфоксида. Осимертиниба мезилат получают путем обработки основания осимертиниба метансульфонокислотой в этаноле.

Перечень фигур, чертежей и иных материалов

Для пояснения сущности заявляемого технического решения к описанию приложены фиг. 1-7.

На фиг. 1 приведена термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллического осимертиниба мезилата формы δ , полученного по примеру 2.

На фиг. 2 приведена термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии известной кристаллической формы В осимертиниба мезилата.

На фиг. 3 приведена порошковая дифрактограмма кристаллического осимертиниба мезилата формы δ , полученного по примеру 2.

На фиг. 4 приведена порошковая дифрактограмма кристаллической формы В осимертиниба мезилата, полученного по примеру 4.

На фиг. 5 приведен спектр ¹H ЯМР δ -кристаллического осимертиниба мезилата, полученного по примеру 1а, зарегистрированный на частоте 600 МГц в дейтерированном метаноле (CD₃OD).

На фиг. 6 приведен спектр ¹³C ЯМР кристаллического осимертиниба мезилата, полученного по примеру 2, зарегистрированный на частоте 150 МГц в дейтерированном метаноле (CD₃OD).

На фиг. 7 приведен график сравнения терапевтической эффективности осимертиниба мезилата. Группа 1 - введение кристаллического осимертиниба мезилата по примеру 2, группа 2 - введение кристаллического осимертиниба мезилата по примеру 3а, группа 3 - введение известной кристаллической формы В осимертиниба мезилата по примеру 4, группа 4, контроль - введение раствора без активного ингредиента.

Осуществление изобретения

Физико-химический анализ δ -кристаллического осимертиниба мезилата был осуществлен методом ядерной магнитной спектроскопии ¹H ЯМР, ¹³C ЯМР, ВЭЖХ, ГЖХ и рентгенофазовым анализом. Спектры ¹H и ¹³C ЯМР были зарегистрированы в насыщенном растворе в дейтерированном метаноле (CD₃OD) на ЯМР-спектрометре высокого разрешения Bruker AVANCE 600 на рабочих частотах 600 и 150 МГц соответственно.

Рентгенофазовый анализ (РФА) проводили на рентгеновском дифрактометре Rigaku D/MAX-2500 (Rigaku, Япония) в излучении Cu-K α ($\lambda=1,54056$ Å). Содержание воды анализировалось на автоматическом титраторе C20D, MettlerToledo (Швейцария).

Термоаналитические исследования проводили на приборе NETZSCH DSC 204 F1. Измерительную систему калибровали согласно норме ISO 11357-1 по параметрам фазовых переходов стандартных веществ (C₆H₁₂, Hg, бензойная кислота, Ga, KNO₃, In, Sn, Bi, CsCl, чистота 99,99%). Систематическая ошибка температурной калибровки (определена по In) составляет 0,1°. Образцы тестировали в стандартных алюминиевых ячейках (V=56 мм³, d=6 мм), завальцованных крышкой с отверстием (отношение площади дна ячейки к площади отверстия составляло порядка 40) в потоке (40 мл/мин) азота (ВЧ) при скорости нагревания 10°/мин.

Возможность осуществления заявленной группы изобретений иллюстрируется следующими примерами, но не ограничивается только ими.

Пример 1а. Синтез N-(2-{2-диметиламиноэтил-метиламино}-4-метокси-5-{[4-(1-метилиндол-3-ил)пиримидин-2-ил]амино}фенил)проп-2-енамида мезилата.

N⁴-(2-(диметиламино)этил)-2-метокси-N⁴-метил-N¹-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,4-диамин получили согласно способу, раскрытому в патенте Китая CN108658943, примере 1(3). В 50 мл хлористого метилена растворили 7,0 г N⁴-(2-(диметиламино)этил)-2-метокси-N⁴-метил-N¹-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,4-диамина, при перемешивании добавили 2,4 г кристаллического йода, 2,1 г иодата калия, 30 мл воды и 0,1 г N бензилтриэтиламмония хлорида (CAS: 56-37-1). Реакцию проводили в течение 12 ч при кипячении с обратным холодильником. Реакционную массу охлаждали до комнатной температуры и добавили 30,0 мл воды. Органический слой отделили и промывали водой 3×50,0 мл. Растворитель удаляли в вакууме на роторном испарителе и высушивали до постоянной массы. Получали 5,5 г N¹-(2-(диметиламино)этил)-2-иод-5-метокси-N¹-метил-N⁴-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,4-диамина (выход 61%) в виде белых кристаллов.

Смешивали 5,0 г N¹-(2-(диметиламино)этил)-2-иод-5-метокси-N¹-метил-N⁴-(4-(1-метил-1H-индол-3-

ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,4-диамина, 0,64 г акриламида, 0,86 г трет-бутилата натрия и 0,85 г тиофен-2-карбоксилата меди(I) в 50 мл диметилсульфоксида. Смесь нагревали до 100°C и перемешивали при этой температуре в течение 6 ч. Реакционную массу охлаждали до комнатной температуры и смешивали со 100 мл насыщенного раствора хлористого аммония. Образовавшуюся смесь экстрагировали 200 мл этилацетата. Верхний (органический) слой отделяли, промывали водой 3×150 мл. Растворитель удаляли в вакууме до постоянной массы. Полученное основание осимертиниба растворяли в 100 мл 95%-го этанола при нагревании и прибавляли 0,86 г метансульфокислоты. Полученную смесь перемешивали в течение 20 мин. Растворитель удаляли в вакууме на ротаторном испарителе. Осадок промывали 3×100 мл очищенной водой на фильтре Шотта и высушивали в вакууме при температуре 40°C до постоянной массы. Получали 3,47 г осимертиниба мезилата (выход 65%). Структура полученного соединения была подтверждена при помощи ¹H ЯМР спектроскопии (фиг. 5).

Пример 1b. Синтез N-(2-{2-диметиламиноэтил-метиламино}-4-метокси-5-{[4-(1-метилиндол-3-ил)пиримидин-2-ил]амино}фенил)проп-2-енамида мезилата.

Синтез проводят аналогично примеру 1a за исключением того, что вместо трет-бутилата натрия используют эквивалентное количество трет-амилата натрия. Выход осимертиниба мезилата составил 60%.

Пример 2. Получение δ-кристаллического осимертиниба мезилата.

100 мл водного 0,3%-ного раствора N-[2-[2-диметиламиноэтил(метил)амино]-4-метокси-5-{[4-(1-метилиндол-3-ил)пиримидин-2-ил]амино}фенил]проп-2-енамида мезилата поместили в емкость из коррозионно-стойкой нержавеющей стали и погрузили в смесь сухого льда и ацетона (температура бани не ниже -78°C), охлаждая со скоростью 10±5 град./мин. После кристаллизации емкость охлаждали жидким азотом (температура -196°C). Полученный замороженный продукт на поддоне перенесли в сублимационную камеру и подвергли сублимационной сушке в течение примерно 22 ч при температурах на конденсаторе от -50 до -56°C, на продукте от -196 до +30°C и остаточном давлении в камере от 8·10⁻² до 5·10⁻² мм рт. ст. Получили 0,26 г (выход 87%) кристаллического осимертиниба мезилата в виде легкого мелкокристаллического порошка. Сохранность молекулярной структуры полученного соединения была подтверждена при помощи ¹³C ЯМР спектроскопии (фиг. 6).

Пример 3a. Получение δ-кристаллического осимертиниба мезилата.

100,0 г сырьевого осимертиниба мезилата (полученного по примеру 1a) в 200 мл 95 %-го этилового спирта доводили до кипения при перемешивании. После полного растворения осадка, раствор охлаждали со скоростью приблизительно 1 град./мин. При достижении раствором температуры 35-40°C, в него вносили тремя равными порциями затравку δ-кристаллического осимертиниба мезилата, полученного по примеру 2. Охлаждение продолжали с той же скоростью до температуры 0±2°C и перемешивали в течение примерно 4 ч при этой температуре. Полученный осадок отфильтровывали на пористом фильтре Шотта (S3), промывали 3×100 мл охлажденным этиловым спиртом и высушивали под вакуумом при температуре 40±2°C до постоянной массы. Получали 94,6 г δ-кристаллического осимертиниба мезилата (выход 95%). Характерные сигналы на дифрактограмме полученного продукта совпадали с характерными сигналами на дифрактограмме вещества, полученного по примеру 2.

Пример 3b. Получение δ-кристаллического осимертиниба мезилата (масштабирование).

δ-кристаллический осимертиниба мезилат получали по способу, описанному в примере 3a, с использованием 10-тикратного масштабирования всех использованных веществ. Получали 956,0 г δ-кристаллического осимертиниба мезилата (выход 96%). Дифрактограммы продукта совпадали с дифрактограммой для вещества, полученного по примеру 2.

Пример 4. Получение кристаллического осимертиниба мезилата формы В известным способом (патент ЕА 029488 В, пример 28А, процедура 1).

В круглодонной колбе смешивали 5,00 г N-[2-[2-диметиламиноэтил(метил)амино]-4-метокси-5-{[4-(1-метилиндол-3-ил)пиримидин-2-ил]амино}фенил]проп-2-енамида, растворенного в смеси 35,00 мл этанола и 15,00 мл этилацетата, и 0,893 г метансульфоновой кислоты в 10,00 мл этилацетата. Полученную суспензию перемешивали в течение 1,5 ч при температуре 70°C. Выпавший осадок отфильтровывали на пористом фильтре Шотта (S3) и высушивали в вакууме при температуре 80°C до постоянной массы. Получали 4,8 г (93,5%) кристаллической формы В осимертиниба мезилата. Спектр порошковой рентгеновской дифракции полностью совпадал со спектром порошковой рентгеновской дифракции, приведенным в патенте ЕА 024421 В1 (фиг. 4).

Пример 5. Определение остаточных органических растворителей в субстанции кристаллического осимертиниба мезилата.

Для образцов кристаллического осимертиниба мезилата по изобретению остаточные органические растворители определяют методом газовой хроматографии в соответствии с ГФ РФ (ОФС.1.1.0008.15 "Остаточные органические растворители", ОФС.1.2.1.2.0004.15 "Газовая хроматография", ОФС.1.2.1.2.0001.15 "Хроматография") на газовом хроматографе с программированием температуры, снабженном пламенно-ионизационным детектором GC-2010 Plus, Shimadzu (Япония) и автоматическим устройством для анализа равновесной паровой фазы типа "Headspace", AOC-5000 Plus, Shimadzu (Швейцария).

Таблица 1. Данные об остаточных органических растворителях в субстанции

кристаллического осимертиниба мезилата	Кристаллический осимертиниба мезилат по примеру 2	Кристаллический осимертиниба мезилат по примеру 3а	Кристаллический осимертиниба мезилат по примеру 4	Предельное содержание с учётом требований ГФ РФ XIII
Этилацетат	Не обнаружен	0,2%	0,1%	0,5%
Этанол	0,3%	0,4%	0,2%	0,5%
Ацетонитрил	Не обнаружен	Не обнаружен	Не обнаружен	0,0041%
Метанол	0,01%	Не обнаружен	0,01%	0,3%

Хроматографические условия:

капиллярная кварцевая колонка размером 60 м × 0,32 мм, с нанесенной неподвижной фазой макрогол 20000 с толщиной слоя 1 мкм ("Stabilwax", кат. № 10657, "Restek", США или аналогичная);

температура колонки - градиентный режим: 40°C (5 мин)→10°C/мин→150°C (0 мин)→25°C/мин→200°C (6 мин);

температура инжектора - 200°C;

детектор - пламенно-ионизационный (ПИД);

температура детектора - 230°C;

скорость подачи воздуха для ПИД - 300 мл/мин*;

скорость подачи водорода для ПИД - 30 мл/мин*;

газ-носитель - гелий;

линейная скорость газа-носителя - 30 см/с;

деление потока - 1:10;

обдув септы - 3 мл/мин;

время хроматографирования - 24,0 мин.

Пример 6. Получение готового лекарственного средства в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой на основе кристаллического осимертиниба мезилата, 40 мг.

Отвешивают на весах и развешивают в индивидуальные маркированные пакеты:

кристаллический осимертиниба мезилат по примерам 2, 3а, 4 - 95,4 г (в пересчете на осимертиниб 80,0 г);

маннитол (Parteck M 200, производства Merck, Германия) - 294,0 г; микрокристаллическая целлюлоза (VIVAPUR 101, производства JRS PHARMA, Германия) - 75,0 г;

гипролоза с низкой степенью замещения (Methogel K100 Premium LVCR Hydroxypropyl Methylcellulose, Dow Chemical Company, США) - 25,0 г;

натрия стеарилфумарат (PRUV®, JRS PHARMA GmbH & Co, Финляндия) - 10,0 г.

Оболочка таблетки: поливиниловый спирт - 10,0 г; титана диоксид - 5,96 г; макрогол 3350 - 5,06 г; тальк - 3,70 г; краситель железа оксид желтый, краситель железа оксид красный, краситель оксида железа черный.

В смеситель загружают осимертиниба мезилат, маннитол, микрокристаллическую целлюлозу, гипролозу с низкой степенью замещения и перемешивают в течение 20 мин при скорости 20±1 об/мин. Затем добавляют натрия стеарилфумарат и перемешивают в течение 10 мин со скоростью 20±1 об/мин. Полученную смесь загружают в роликовый компактор, гранулируют, затем просеивают на ситах и перемешивают в течение 10 мин. В смеситель добавляют полученные сухие гранулы и натрия стеарилфумарат, перемешивают дополнительно. Полученную массу для таблетирования выгружают в сборник для таблет-массы. Процесс таблетирования осуществляют на роторном таблет-прессе с обеспыливателем.

Готовят водную суспензию для покрытия таблеток оболочкой из компонентов - поливиниловый спирт, диоксид титана, макрогол, тальк, краситель оксид железа желтый, краситель оксид железа красный, краситель оксид железа черный. Покрытие таблеток-ядер пленочной оболочкой проводят в установке для тонкослойного покрытия. Процесс нанесения суспензии продолжают до тех пор, пока не будет достигнута требуемая средняя масса таблетки - 262 мг ±5%

Пример 7. Исследование фазовой стабильности образцов δ-кристаллического осимертиниба мезилата.

Стабильность образцов осимертиниба мезилата, полученных по примерам 2, 3а и 3б была подтверждена отсутствием смещения за пределами доверительного интервала ±0,2° или возникновения дополнительных пиков в спектре порошковой рентгеновской дифракции после 12 месяцев хранения при температуре 25±2°C и относительной влажности 60±5%.

Пример 8. Испытания стабильности препарата, содержащего δ -кристаллический осимертиниба мезилат, 80 мг.

Ускоренные испытания стабильности препарата проводились в течение 12 месяцев при температуре $40\pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $75\pm 5\%$. На основании результатов изучения стабильности подтвержден срок годности лекарственного препарата в течение, как минимум, 24 месяцев.

Таблица 2. Данные о стабильности лекарственного препарата, содержащего 80 мг кристаллического осимертиниба мезилата по примеру 2

Показатель	Нормативные требования	0 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.
Подлинность	Время удерживания основного пика на хроматограмме	Соот.	Соот.	Соот.	Соот.
Растворение	Не менее 75% осимертиниба мезилата должно высвободиться в среду растворения через 30 минут	97,0	95,2	95,0	93,3
Сумма примесей	Не более 1,0%	0,3	0,3	0,4	0,6
Количественное определение	Содержание осимертиниба мезилата ($\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_7\text{O}_5\text{S}$) в таблетке должно быть от 72,0 до 88,0 мг (от 95,0% до 105,0% от заявленного количества)	80,10	78,93	78,46	78,31

Таблица 3. Данные о стабильности лекарственного препарата, содержащего 80 мг кристаллического осимертиниба мезилата по примеру 3а

Показатель	Нормативные требования	0 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.
Подлинность	Время удерживания основного пика на хроматограмме	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Растворение	Не менее 75% осимертиниба мезилата должно высвободиться в среду растворения через 30 минут	98,0	96,7	98,1	97,3
Сумма примесей	Не более 1,0%	0,3	0,4	0,5	0,5
Количественное определение	Содержание осимертиниба мезилата ($\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_7\text{O}_5\text{S}$) в таблетке должно быть от 72,0 до 88,0 мг (от 95,0% до 105,0% от заявленного количества)	80,49	79,89	78,99	78,53

Таблица 4. Данные о стабильности лекарственного препарата, содержащего 80 мг кристаллического осимертиниба мезилата по примеру 3б

Показатель	Нормативные требования	0 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.
Подлинность	Время удерживания основного пика на хроматограмме	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Растворение	Не менее 75% осимертиниба мезилата должно высвободиться в среду растворения через 30 минут	97,9	95,6	93,7	93,6
Сумма примесей	Не более 1,0%	0,4	0,5	0,6	0,7
Количественное определение	Содержание осимертиниба мезилата ($\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_7\text{O}_5\text{S}$) в таблетке должно быть от 72,0 до 88,0 мг (от 95,0% до 105,0% от заявленного количества)	81,30	79,97	79,33	78,95

Пример 9. Исследование фармакокинетики кристаллического осимертиниба мезилата *in vivo* у крыс.

Крысы-самцы Хан-Вистар весом 180-200 г содержались в стандартных лабораторных условиях при температуре $22\pm 3^\circ\text{C}$ и относительной влажности $45\pm 5\%$. Животные имели свободный доступ к еде и воде. Крысы были разделены на 3 группы по 12 особей в каждой. Первая группа получала δ -кристаллический осимертиниба мезилат по примеру 2, вторая группа получала δ -кристаллический осимертиниба мезилат по примеру 3а, третья группа - осимертиниба мезилат известной кристаллической формы В по примеру 4.

Образцы крови отбирались через катетер в яремной вене (200 мкл) через 0, 0,083 (только для внутривенного введения), 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 24; 48; 72 и 96 ч после введения препарата и помещались в капилляры с гепарином. Плазма центрифугировалась при комнатной температуре, затем хранилась при температуре -80°C. Образцы плазмы анализировались при помощи ВЭЖХ для определения концентрации осимертиниба.

Осимертиниба мезилат вводился однократно перорально через желудочно-кишечный зонд в дозировке 10 мг/кг в виде суспензии в 0,5% растворе гидроксипропилметилцеллюлозы. Для сравнения осимертиниба мезилат вводился внутривенно в дозировке 2 мг/кг в виде водного раствора с добавлением нитратного буфера. Для внутривенного введения были получены следующие фармакокинетические параметры: $T_{max}=0,0083$ ч; $AUC_{(0 \rightarrow \infty)}=1360$ нмоль*ч/л.

Таблица 5. Данные фармакокинетики кристаллического осимертиниба мезилата in vivo у крыс*

Параметр	Кристаллический осимертиниба мезилат, форма δ по примеру 2	Кристаллический осимертиниба мезилат, форма δ по примеру 3а	Кристаллический осимертиниба мезилат, форма В по примеру 4
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$, (нмоль*ч/л)	2271	2176	1577
C_{max} (нмоль/л)	172	167	135
t_{max} (ч)	3,5	3,9	4,6
Биодоступность, %	33,4	32,0	23,2

$$\text{Биодоступность} = \left(\frac{AUC_x \times D_{вв}}{AUC_{вв} \times D_x} \right) \times 100 \%,$$

где AUC_x - площадь под кривой концентрация - время после перорального введения;

$AUC_{вв}$ - площадь под кривой концентрация - время после внутривенного введения;

D_x - дозировка препарата для перорального введения;

$D_{вв}$ - дозировка препарата для внутривенного введения.

* Различия можно считать статистически достоверными ($p \leq 0,05$).

Пример 10. Исследование терапевтической эффективности кристаллического осимертиниба мезилата.

Для исследования терапевтической эффективности кристаллического осимертиниба мезилата использовались иммунодефицитные голые мыши в возрасте 6 недель. Животным в левый бок подкожно вводилось 1×10^7 клеток немелкоклеточного рака легкого H2073-SVD в виде суспензии в 100 мкл Матригеля. Размер опухоли измерялся дважды в неделю с помощью штангенциркуля и рассчитывался по формуле $(L \times D^2)/2$, где L - самый большой диаметр опухоли (см), а D - самый короткий диаметр (см).

Мыши были разделены на 4 группы, по 12 особей в каждой. Первая группа получала лечение δ-кристаллическим осимертинибом мезилатом по примеру 2; вторая группа - δ-кристаллическим осимертинибом мезилатом по примеру 3а; третья - осимертинибом мезилатом известной кристаллической формы В по примеру 4; четвертая, контрольная группа, получала раствор без активного ингредиента. Лечение начинали, когда средний объем опухоли достигал $0,150 \text{ см}^3$, и продолжали в течение 14 дней. Осимертиниба мезилат вводился перорально через желудочно-кишечный зонд в дозировке 25 мг/кг в виде суспензии в 0,5% водном растворе гидроксипропилметилцеллюлозы. Наибольшее подавление опухолевого роста наблюдалось в группах 1 и 2, где лечение проводилось δ-кристаллическим осимертинибом мезилатом по примерам 2 и 3а (см. фиг. 8). Потеря в массе животных во всех случаях составила не более 10%.

Таблица 6. Данные порошковой рентгеновской дифракции для известных из уровня техники (EA029488 В и CN106699736 А) кристаллических форм осимертиниба мезилата с использованием монохроматического $\text{CuK}\alpha$ -излучения с длиной волны $\lambda=1,54056 \text{ \AA}$

EA 029488 В		CN 106699736 А
Форма А	Форма В	Форма γ
5,60	7,2	10,29
6,50	8,6	15,17
10,20	15,3	16,30
21,00	10,4	19,49
13,50	25,7	19,71
22,70	26,1	25,63
19,30	16,4	7,13
27,30	9,5	8,54
15,70	22,1	9,46
19,90	18,8	17,06
		17,30
		17,73
		18,21
		18,72
		20,23
		20,70
		21,65
		22,05
		22,78
		23,49

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кристаллическая форма осимертиниба мезилата, отличающаяся тем, что она характеризуется максимумами при 16,32; 18,76; $33,04 \pm 0,2$ град. угла 2θ в спектре порошковой рентгеновской дифракции, полученном с использованием излучения с длиной волны $1,54056 \text{ \AA}$.

2. Кристаллическая форма по п.1, отличающаяся тем, что она дополнительно характеризуется максимумами при 10,34; 17,14; 19,34; 19,70; 20,78 и $22,74 \pm 0,2$ град. угла 2θ в спектре порошковой рентгеновской дифракции, полученном с использованием излучения с длиной волны $1,54056 \text{ \AA}$.

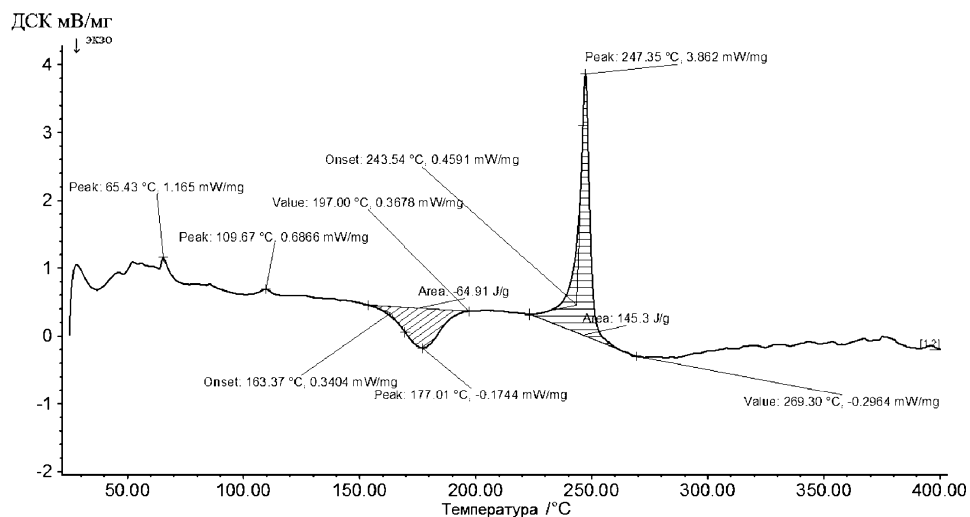
3. Кристаллическая форма по п.1 или 2, отличающаяся тем, что она дополнительно характеризуется следующими термическими эффектами на термограмме дифференциальной сканирующей калориметрии при скорости нагрева 10 град./мин: $163,4^\circ\text{C}$ (экзотермический), $243,5^\circ\text{C}$ (плавление, эндотермический).

4. Способ получения кристаллической формы осимертиниба мезилата по пп.1, 2 или 3, включающий охлаждение водного раствора осимертиниба мезилата со скоростью 10 ± 5 град./мин, а после кристаллизации - охлаждение жидким азотом; последующую сублимационную сушку полученного замороженного раствора при температурах на конденсаторе от -50 до -56°C , а на продукте - от -196 до $+30^\circ\text{C}$, и остаточном давлении в камере от $8 \cdot 10^{-2}$ до $5 \cdot 10^{-2}$ мм рт. ст.

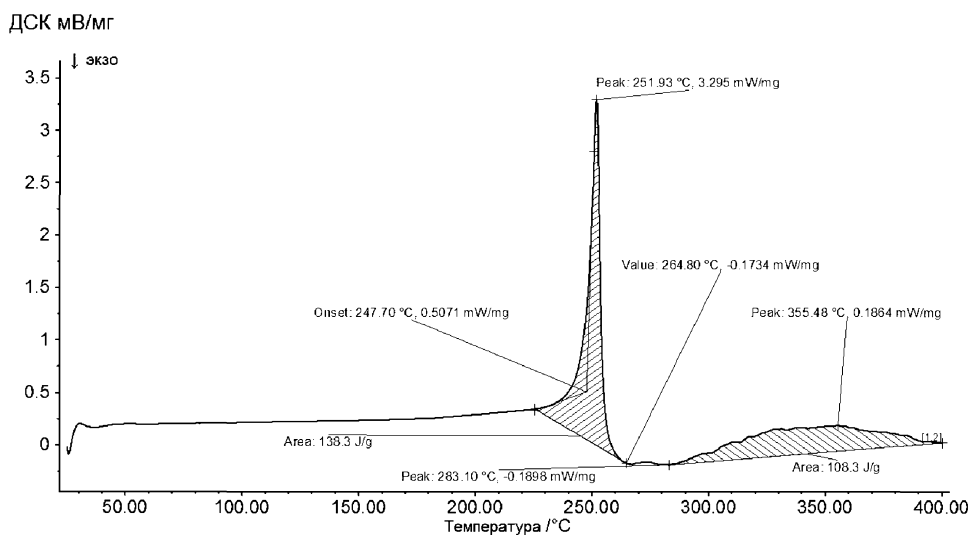
5. Способ получения кристаллической формы осимертиниба мезилата по пп.1, 2 или 3, заключающийся в том, что сырьевой осимертиниба мезилат перекристаллизовывают из этанола при охлаждении со скоростью приблизительно 1 град./мин, используя δ -кристаллическую форму осимертиниба мезилата по п.1 в качестве затравки.

6. Применение кристаллической формы осимертиниба мезилата по пп.1, 2 или 3 для приготовления фармацевтической композиции для лечения онкологических заболеваний.

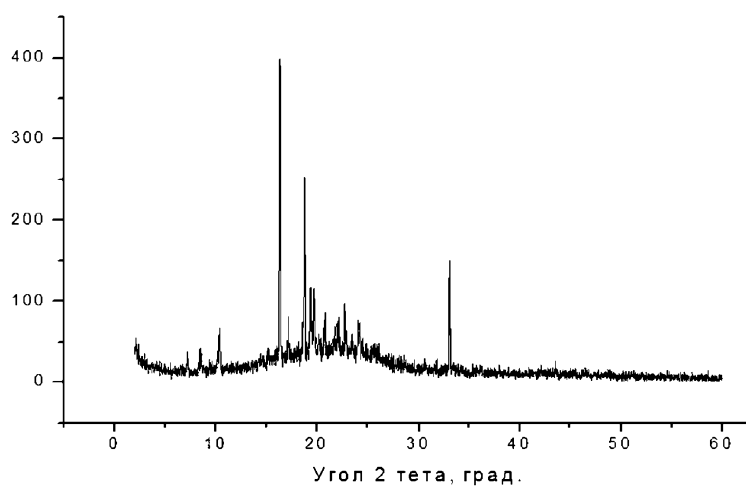
7. Фармацевтическая композиция для лечения чувствительных к осимертинибу онкологических заболеваний, содержащая кристаллическую форму осимертиниба мезилата по п.1 в сочетании с фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами.



Фиг. 1

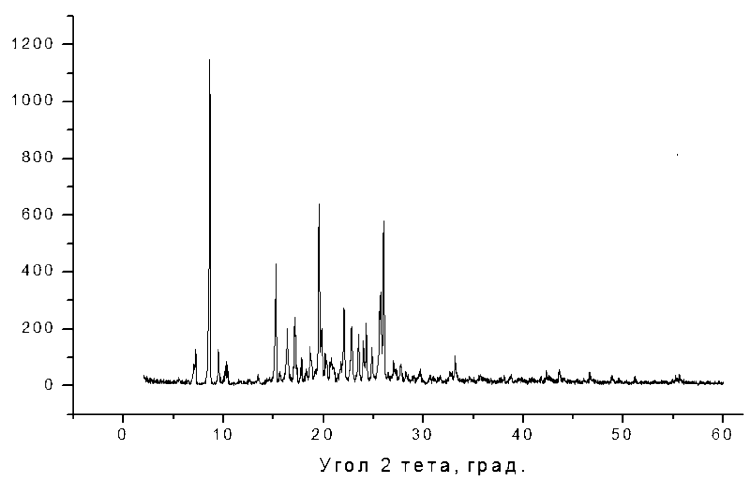


Фиг. 2



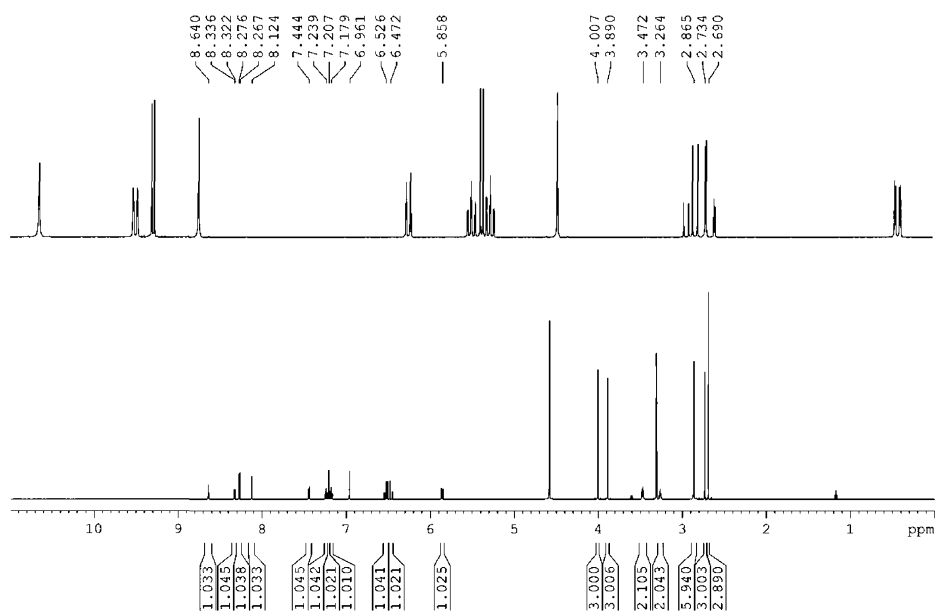
Фиг. 3

040996



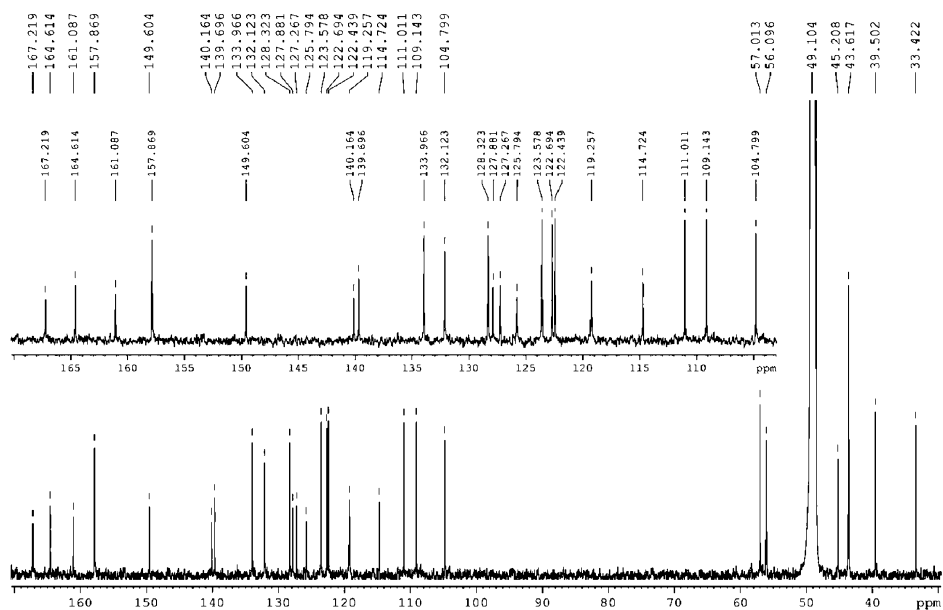
Фиг. 4

¹H, Osimertinib mesylate in CD₃OD, TE=323K, Bruker AVANCE 600.

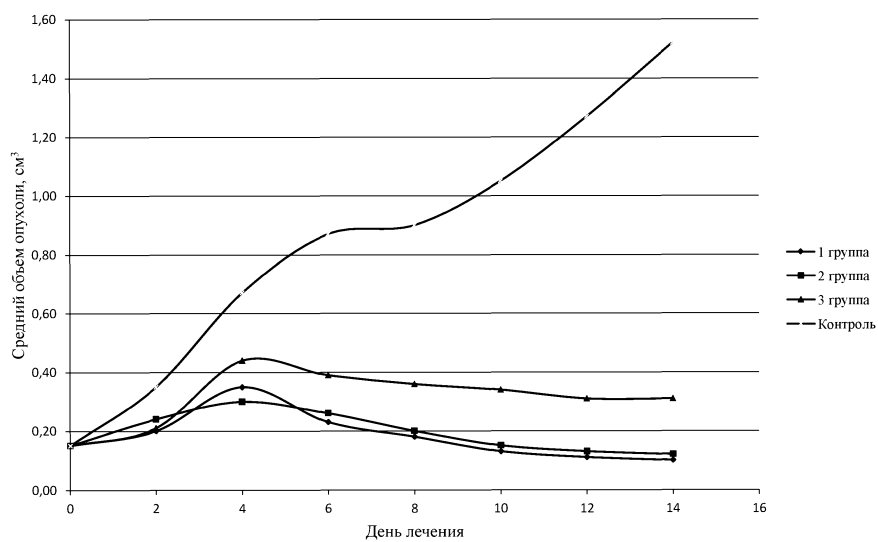


Фиг. 5

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, Osimertinib mesylate in CD_3OD , $\text{TE}=323\text{K}$, Bruker AVANCE 600.



Фиг. 6



Фиг. 7

