

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) 018615

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2013.09.30

(51) Int. Cl. C07C 51/41 (2006.01)
C07C 59/70 (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
200900732

(22) Дата подачи заявки
2007.12.04

(54) КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ КАЛИЕВАЯ СОЛЬ АНАЛОГОВ ЛИПОКСИНА A₄

(31) 60/872,830

(56) WO-A-03040080

(32) 2006.12.04

(33) US

(43) 2009.12.30

(86) PCT/EP2007/010785

(87) WO 2008/068041 2008.06.12

(71) Заявитель:

БАЙЕР ИНТЕЛЛЕКЧУАЛ
ПРОПЕРТИ ГМБХ (DE)

(72) Изобретатель:

Хааг Тило, Гроссбах Даня, Винтер
Габриела, Зандер Михаэль, Беккманн
Вольфганг, Бартель Клаус, Динтер
Кристиан (DE)

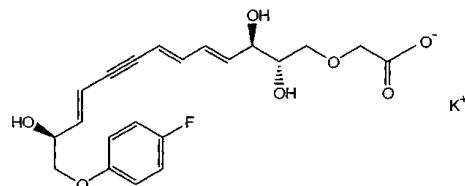
(74) Представитель:

Веселицкая И.А., Пивницкая Н.Н.,
Кузенкова Н.В., Веселицкий М.Б.,
Каксис Р.А., Комарова О.М., Белоусов
Ю.В. (RU)

018615

B1

(57) Изобретение относится к кристаллической калиевой соли аналога липоксина A₄ формулы (Ia)



(Ia),

способам получения кристаллических калиевых солей, способам их применения для лечения болезненных состояний, которые характеризуются воспалением, и к фармацевтическим композициям, содержащим такие кристаллические калиевые соли.

B1

018615

Изобретение относится к кристаллическим калиевым солям аналогов липоксина A₄, их применению для лечения болезненного состояния, которое характеризуется воспалением, и к фармацевтическим композициям, которые содержат кристаллические калиевые соли аналогов, и к способам их получения.

Липоксины, вместе с лейкотриенами, простагландинами и тромбоксанами, составляют группу биологически активных кислородсодержащих жирных кислот, которые все вместе называются эйказаноидами. Все эйказаноиды синтезируются de novo из мембранныго фосфолипида через каскад ферментов арахидоновой кислоты. С момента их изначально открытия в 1984 году стало понятно, что липоксины, которые представляют собой структурно уникальный класс эйказаноидов, обладают мощными противовоспалительными свойствами, это дает возможность предположить, что они могут обладать терапевтическим потенциалом (Serhan, C.N., Prostaglandins (1997), том 53, с. 107-137; O'Meara, Y.M. и др., Kidney Int. (Suppl.) (1997), том 58, с. S56-S61; Brady, H.R. и др., Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. (1996), том 5, с. 20-27 и Serhan, C.N., Biochem. Biophys. Ada. (1994), том 1212, с. 1-25). Особый интерес представляет способность липоксинов антагонизировать провоспалительные функции лейкотриенов в дополнение к другим воспалительным агентам, таким как фактор, активирующий тромбоциты, fMLP (формил-Met-Leu-Phe) пептид, иммунные комплексы и TNF α . Липоксины представляют собой, таким образом, мощные антинейтрофильные агенты, которые ингибируют полиморфонейтрофильный (PMN) хемотаксис, гомотипическую агрегацию, адгезию, миграцию через эндотелиальные и эпителиальные клетки, феномен скопления лейкоцитов по периферии участка воспаления/диапедез и инфильтрацию тканей (Lee, T.H., и др., Clin. Sci. (1989), том 77, с. 195-203; Fiore, S., и др., Biochemistry (1995), том 34, с. 16678-16686; Papyianni, A., и др., J. Immunol. (1996), том 56, с. 2264-2272; Hedqvist, P. и др., Ada. Physiol. Scand. (1989), том 137, с. 157-172; Papyianni, A., и др., Kidney Intl. (1995), том 47, с. 1295-1302). Кроме того, липоксины являются способными к понижающей регуляции экспрессии эндотелиального Р-селектина и адгезивности для PMN (Papyianni, A., и др., J. Immunol. (1996), том 56, с. 2264-2272), сокращения гладкой мускулатуры бронхов, сокращения и адгезивности мезангимальных клеток (Dahlen, S.E., и др., Adv. Exp. Med. Biol. (1988), том 229, с. 107-130; Christie, P.E., и др., Am. Rev. Respir. Dis. (1992), том 145, с. 1281-1284; Badr, K.F., и др., Proc. Natl. Acad. Sci. (1989), том 86, с. 3438-3442 и Brady, H.R., и др., Am. J. Physiol. (1990), том 259, с. F809-F815), а также хемотаксиса и потери зернистости эозинофилов (Soyombo, O., и др., Allergy (1994), том 49, с. 230-234).

Этот уникальный противовоспалительный профиль липоксинов, в частности липоксина A₄, обеспечивает высокую заинтересованность в использовании их потенциала в терапевтических агентах для лечения воспалительных или аутоиммунных расстройств и воспаления легких и дыхательных путей. Эти расстройства и воспаления, которые проявляют четко выраженную воспалительную инфильтрацию, представляют чрезвычайный интерес и включают, но не ограничиваясь только ими, воспалительные заболевания кишечника, такие как болезнь Крона, заболевания кожи, такие как псориаз, ревматоидный артрит и заболевания дыхательных путей, такие как астма.

Так же, как другие эндогенные эйказаноиды, существующие в природе липоксины являются нестабильными продуктами, которые быстро подвергаются метаболизму и инактивируются (Serhan, C.N., Prostaglandins (1997), том 53, с. 107-137). Это ограничило развитие исследований в области липоксинов, в частности в отношении *in vivo* фармакологической оценки противовоспалительного профиля липоксинов. Некоторые патенты США были направлены на соединения, которые обладают активным сайтом липоксина A₄, но имеют более длительный период полураспада в тканях; см., например, патенты США № 5441951 и № 5648512. Эти соединения сохраняют активность липоксина A₄ в отношении связывания рецептора и мощные *in vitro* и *in vivo* противовоспалительные свойства природных липоксинов (Takano, T., и др., J. Clin. Invest. (1998), том 101, с. 819-826; Scalia, R., и др., Proc. Natl. Acad. Sci. (1997), том 94, с. 9967-9972; Takano, T., и др., J. Exp. Med. (1997), том 185, с. 1693-1704; Maddox, J.F., и др., J. Biol. Chem. (1997), том 272, с. 6972-6978; Serhan, C.N., и др., Biochemistry (1995), том 34, с. 14609-14615).

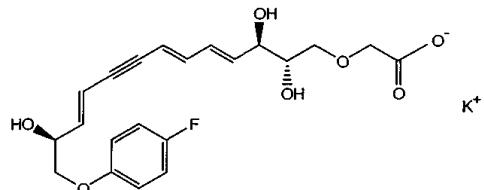
Аналоги липоксина A₄, представляющие интерес по изобретению, раскрыты в патенте США № 6831186 и в опубликованной заявке на патент США № 2004/0162433.

В данной области установлено, что для твердого фармацевтически активного вещества чрезвычайно благоприятной является кристаллическая форма по сравнению с аморфной. Обычно при образовании кристаллического твердого вещества путем кристаллизации из раствора получают очищенный кристаллический продукт. Кристаллическая форма в твердом состоянии может быть очень хорошо охарактеризована и, как правило, проявляет более высокую стабильность по сравнению с аморфной фазой. При использовании кристаллического твердого вещества в качестве лекарственного средства или компонента готовой лекарственной формы избегают возможной перекристаллизации аморфной фазы, включая изменение характеристик лекарственного средства или компонента готовой лекарственной формы. Таким образом, существует потребность в стабильной кристаллической твердой форме аналогов липоксина A₄, раскрытых в патенте США № 6831186 и в опубликованной заявке на патент США № 2004/0162433.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к эффективной, селективной и метаболически стабильной кристаллической калиевой соли аналога липоксина A₄ и ее применению для лечения болезненных состояний, характеризующихся воспалением, таких как воспалительные или аутоиммунные нарушения и воспаление легких и дыхательных путей у млекопитающих, в особенности у людей.

Таким образом, в одном аспекте настоящее изобретение относится к кристаллической калиевой соли аналога липоксина A₄ формулы (Ia)



(Ia).

Настоящее изобретение охватывает все кристаллические соли калиевой соли формулы (Ia).

Соль по изобретению проявляет чрезвычайно хорошую стабильность в условиях стресс-теста.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу приготовления кристаллической калиевой соли формулы (Ia), способ включает i) смешивание калиевого основания в подходящем растворителе совместно со свободной кислотой, соответствующей калиевой соли формулы (Ia), в подходящем растворителе; ii) необязательно охлаждение полученной суспензии; iii) выделение полученных кристаллов из полученной суспензии; iv) необязательно промывание выделенных кристаллов с подходящим растворителем и v) высушивание выделенных кристаллов с получением кристаллической калиевой соли.

Способ согласно изобретению в одном варианте осуществления включает приготовление подходящего раствора кислоты и основания, а именно добавление подходящих количеств воды для индуцирования образования кристаллов с высокой степенью кристалличности.

Способ согласно изобретению в одном варианте осуществления включает контролируемое высушивание соли до желательного гидратированного состояния, это состояние представляет собой дигидрат, моногидрат или дегидратированное состояние.

Способ согласно изобретению в одном варианте осуществления относится к приготовлению кристаллической ангидратной формы калиевой соли формулы (Ia), способ включает расщепление гидрата или смеси гидратов калиевой соли (Ia) в подходящем растворителе.

В дальнейшем аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, которые содержат терапевтически эффективное количество кристаллической калиевой соли формулы (Ia), как описано выше, и один или несколько фармацевтически приемлемых наполнителей.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению кристаллической калиевой соли формулы (Ia), как описано выше, для приготовления лекарственного средства для лечения млекопитающего, имеющего болезненное состояние, которое характеризуется воспалением, такое как, например, воспалительное или аутоиммунное нарушение или воспаление легких и дыхательных путей.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к лекарственному средству для лечения болезненного состояния у млекопитающего, предпочтительно у человека, характеризующегося воспалением, включающему терапевтически эффективное количество кристаллической калиевой соли формулы (Ia), как описано выше. Болезненное состояние может представлять собой, например, воспалительное или аутоиммунное нарушение или воспаление легких и дыхательных путей.

А. Определения.

Все ссылки, процитированные в настоящей заявке, включая патенты США, опубликованные заявки на патенты США и статьи в журналах, полностью включены в настоящее изобретение в качестве ссылки.

Как используется в настоящей заявке, формы единственного числа включают формы множественного числа, если из контекста очевидно не следует другое. Например, "соединение" относится к одному или нескольким таким соединениям, тогда как "фермент" включает конкретный фермент, а также других представителей семейства и их эквиваленты, как известно специалисту в данной области техники.

Все указанные в настоящей заявке значения, выраженные в процентах, рассчитаны по объему, если специально не указано иначе. Кроме того, как используется в описании изобретения и приложенных пунктах формулы, если не указано противоположное, следующие термины имеют указанные значения.

"Алкил" относится к углеводородному радикалу с неразветвленной или разветвленной цепью, состоящему только из атомов углерода и водорода, не содержащему ненасыщенностей, который имеет от одного до восьми атомов углерода и который присоединен к остальной молекуле с помощью простой связи, например метил, этил, н-пропил, 1-метилэтил (изопропил), н-бутил, н-пентил, 1,1-диметилэтил (трет-бутил) и другие.

"Алкиленовая цепь" относится к неразветвленной или разветвленной двухвалентной углеводородной цепи, состоящей только из атомов углерода и водорода, не содержащей ненасыщенностей и имею-

щей от одного до восьми атомов углерода, например метилен, этилен, пропилен, н-бутилен и другие.

"Алкокси" относится к радикалу формулы $-OR_a$, где R_a представляет собой алкильный радикал, как определено выше.

"Арил" относится к фенильному или нафтильному радикалу. Если специально не указано иначе, то арильный радикал необязательно может быть замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, включающей алкил, алкокси, галоген, галоалкил или галоалкокси. Если специально не указано иначе в описании, подразумевается, что такое замещение может происходить на любом атоме углерода арильного радикала.

"Аралкил" относится к радикалу формулы $-R_aR_b$, где R_a представляет собой алкильный радикал, как определено выше, и R_b представляет собой арильный радикал, как определено выше, например бензил и др. Арильный радикал необязательно может быть замещен, как описано выше.

"Гало" относится к брому, хлору, йоду или фтору.

"Галоалкил" относится к алкильному радикалу, как определено выше, который замещен одним или несколькими галогеновыми радикалами, как определено выше, например трифторметил, дифторметил, трихлорметил, 2,2,2-трифторметил, 1-фторметил-2-фторметил (1,3-дифторизопропил), 3-бром-2-фторметил, 1-бромуалкил-2-бромуалкил (1,3-дигалогенизопропил) и др.

"Галоалкокси" относится к радикалу формулы $-OR_c$, R_c представляет собой галоалкильный радикал, как определено выше, например трифторметокси, дифторметокси, трихлорметокси, 2,2,2-трифторметокси, 1-фторметил-2-фторметокси, 3-бром-2-фторметокси, 1-бромуалкил-2-бромуалкил и др.

Как используется в настоящем изобретении, соединения, которые являются "коммерчески доступными", могут быть получены от стандартных химических фирм-поставщиков и других коммерческих источников, включая, но не ограничиваясь только ими, Acros Organics (Pittsburgh PA), Aldrich Chemical (Milwaukee WI, включая Sigma Chemical и Fluka), Apin Chemicals Ltd. (Milton Park UK), Avocado Research (Lancashire U.K.), BDH Inc. (Toronto, Canada), Bionet (Cornwall, U.K.), Chemservice Inc. (West Chester PA), Crescent Chemical Co. (Hauppauge NY), Eastman Organic Chemicals, Eastman Kodak Company (Rochester NY), Fisher Scientific Co. (Pittsburgh PA), Fisons Chemicals (Leicestershire UK), Frontier Scientific (Logan UT), ICN Biomedicals, Inc. (Costa Mesa CA), Key Organics (Cornwall U.K.), Lancaster Synthesis (Windham NH), Maybridge Chemical Co. Ltd. (Cornwall U.K.), Parish Chemical Co. (Orem UT), Pfaltz & Bauer, Inc. (Waterbury CN), Polyorganix (Houston TX), Pierce Chemical Co. (Rockford IL), Riedel de Haen AG (Hannover, Germany), Spectrum Quality Product, Inc. (New Brunswick, NJ), TCI America (Portland OR), Trans World Chemicals, Inc. (Rockville MD) и Wako Chemicals USA, Inc. (Richmond VA).

"Млекопитающее" охватывает людей и одомашненных животных, таких как коты, собаки, свиньи, крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади, кролики и др.

Как используется в настоящем изобретении, "способы, известные среднему специалисту в данной области техники", могут быть идентифицированы в соответствии с различными справочниками и базами данных. Приемлемые справочники и научные работы, которые уточняют подробности синтеза реагентов, полезных для получения соединений согласно настоящему изобретению, или обеспечивают ссылки на статьи, которые описывают получение, включают, например, "Synthetic Organic Chemistry", John Wiley & Sons, Inc., New York; S.R. Sandier и др., "Organic Functional Group Preparations," 2-е изд., Academic Press, New York, 1983; H.O. House, "Modern Synthetic Reactions", 2-е изд., W.A. Benjamin, Inc. Menlo Park, Calif. 1972; T.L. Gilchrist, "Heterocyclic Chemistry", 2-е изд., John Wiley & Sons, New York, 1992; J. March, "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure", 4-е изд., Wiley-Interscience, New York, 1992. Специфические и аналогичные реагенты также могут быть идентифицированы при использовании индексов известных химических реагентов, подготовленных Химической реферативной службой Американского химического общества, которые являются доступными в большинстве общественных и университетских библиотек, а также при использовании on-line баз данных (для более подробной информации можно обратиться в American Chemical Society, Washington, D.C., www.acs.org). Химические агенты, которые известны, но не являются коммерчески доступными в каталогах, могут быть получены обычными лабораториями химического синтеза, где многие лаборатории по снабжению стандартными химическими агентами (например, теми, что приведены выше) обеспечивают службы, осуществляющие синтез на заказ.

"Необязательный" или "необходимо" или "может быть" обозначает, что описанное в дальнейшем событие или обстоятельство может или не может произойти и что описание включает случаи, когда указанное событие или обстоятельство имеет место и случаи, в которых это не происходит.

"Полиморфы" относятся к кристаллическим состояниям некоторых химических соединений по изобретению, в которых "химические соединения" включают молекулы или ионы (соль) или смесь молекулы и иона (соль). Твердые вещества существуют в аморфных либо в кристаллических формах. В случае кристаллических форм молекулы систематически расположены в углах 3-мерной кристаллической решетки. Если соединение кристаллизируется из раствора или взвеси, то оно может кристаллизоваться с различными расположениями пространственной решетки, свойство, которое обозначается как "полиморфизм", а различные индивидуальные кристаллические формы отдельно обозначаются как "полиморф". Различные полиморфные формы данного вещества могут отличаться друг от друга одной или

более физическими свойствами, такими как растворимость и растворение, абсолютная плотность, форма кристалла, характеристиками прессования, свойствами текучести и/или стабильности твердого состояния. В том случае, если химическое вещество существует в двух (или более) полиморфных формах, то нестабильные формы обычно превращаются в термодинамически более стабильные формы при данной температуре после достаточно промежутка времени. Термодинамически нестабильная форма обозначается как "метастабильная" форма. Превращение в более стабильную форму может быть достаточно медленным для того, чтобы оценить свойства формы даже для применения в качестве лекарственного средства. Таким образом, может быть обнаружено, что метастабильная форма обладает достаточной химической и физической стабильностью в обычных условиях хранения, что позволяет ее использовать в коммерческой форме. В этом случае, метастабильная форма, несмотря на ее меньшую стабильность, может обладать желательными свойствами, преобладающими над таковыми стабильной формы, такими как увеличенная растворимость или лучшая пероральная биодоступность.

"Сольват" относится к агрегату, который содержит одну или несколько молекул соединения по изобретению с одной или несколькими молекулами растворителя или нестехиометрическое содержание растворителя. Растворителем может являться вода, в этом случае сольват называется гидратом. Альтернативно, растворителем может являться органический растворитель. Таким образом, калиевые соли аналогов липоксина A₄ формулы (Ia) могут существовать в виде гидрата, включая моногидрат, дигидрат, полу-гидрат, полуторагидрат, тригидрат, тетрагидрат, дегидрированных гидратов с их нестехиометрическим содержанием воды и др., а также соответствующие сольватированные формы. Калиевые соли формулы (Ia) могут быть настоящими сольватами, тогда как в других случаях соли могут только удерживать случайную воду или являться смесью воды с некоторым количеством случайного растворителя.

См., например, Vugn, S. и др. "Solid State Chemistry of Drugs", SSCI (1999), относительно обсуждения полиморфов и сольватов, их характеристики и свойств и значимости для активных компонентов лекарственных средств и готовых лекарственных форм; и Stahl, P. и Wermuth, C. "Handbook of Pharmaceutical Salts", Wiley (2002), относительно обсуждения солей, их приготовления и свойств.

Как используется в настоящем изобретении, "подходящие условия" для осуществления стадии синтеза исчерпывающим образом обеспечиваются в данной заявке или могут быть уточнены ссылками на публикации, направленные на способы, которые используются в химии органического синтеза. Справочники и научные работы, указанные выше, в которых подробно описан синтез реагентов, пригодных для приготовления соединений согласно настоящему изобретению, также будут обеспечивать подходящие условия для осуществления стадии синтеза в соответствии с настоящим изобретением.

"Подходящий растворитель" относится к любому растворителю, который совместим с компонентами реакции и условиями реакции. Термин охватывает один растворитель или смесь растворителей и включает, но не ограничиваясь только ими, органические растворители и воду. Специалисту в данной области техники известны подходящие растворители или они могут быть описаны в цитируемой литературе, которая относится к способам, используемым в химии органического синтеза.

"Терапевтически эффективное количество" относится к количеству калиевой соли по изобретению, которое при введении млекопитающему, в особенности человеку, который в этом нуждается, является достаточным для обеспечения лечения, как описано ниже, болезненного состояния, характеризующегося воспалением. Количество калиевой соли по изобретению, которое составляет "терапевтически эффективное количество", будет зависеть от соли, ее сольватированной формы, болезненного состояния, на которое направлено лечение, и его тяжести, возраста млекопитающего, подвергаемого лечения, и т.д., но может быть определено обычным способом специалистом в данной области техники.

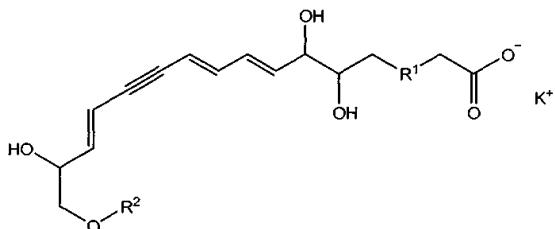
"Лечение" или "лечить", как используется в настоящем изобретении, охватывает лечение болезненного состояния, которое характеризуется воспалением, у млекопитающего, предпочтительно у человека, такого как, например, воспалительное или аутоиммунное нарушение или воспаление легких и дыхательных путей, и включает:

(i) предотвращение возникновения нарушения или воспаления у млекопитающего, в частности, когда такое млекопитающее предрасположено к такому нарушению, но еще не диагностировано как имеющее его;

(ii) ингибирование нарушения или воспаления, то есть приостановка его развития; или

(iii) ослабление нарушения или воспаления, то есть осуществление обратного развития нарушения или воспаления.

Калиевые соли формулы (I)



в которой R^1 представляет собой $-O-$, $-S(O)_t-$ (где t равен 0, 1 или 2) или неразветвленную или разветвленную алкиленовую цепь; и

R^2 представляет собой арил (необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, выбранными из алкила, алкокси, галогена, галоалкила и галоалкокси) или аралкил (необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, выбранными из алкила, алкокси, галогена, галоалкила и галоалкокси);

имеют три асимметрических центра, которые обуславливают наличие энантиомеров, диастереомеров и других стереоизомерных форм, которые могут быть определены, на основе абсолютной стереохимии, как (R)- или (S)- или как (D)- или (L)-. Оптически активные (+) и (-), (R)- и (S)- или (D)- и (L)-изомеры могут быть получены с помощью хиральных синтонов или хиральных реагентов или разделены с помощью общепринятых техник, таких как ВЭЖХ с использованием хиральной колонки. Соединения, описанные в настоящей заявке, содержат олефиновые двойные связи или другие центры геометрической асимметрии и, если специально не указано иначе, подразумевается, что соединения включают как E-, так и Z-геометрические изомеры.

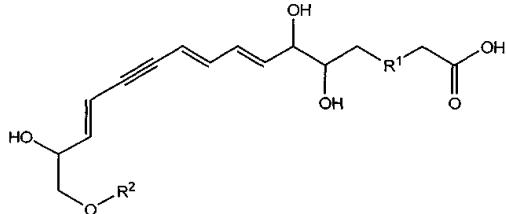
"Стереоизомер" относится к соединению, состоящему из идентичных атомов, связанных идентичными связями, но имеющему различные трехмерные структуры, которые не являются взаимозаменямыми.

"Энантиомеры" относятся к двум стереоизомерам, молекулы которых являются неналагающими зеркальными отображениями друг друга.

Б. Кристаллические калиевые соли по изобретению.

Известно, что образование солей может значительно повышать стабильность фармацевтического средства относительно его свободной кислоты и стабильность солей отличается для различных солеобразующих средств. Также известно, что кристаллические солевые формы могут быть более стабильными, чем аморфные солевые формы.

Таким образом, изобретатели при решении поставленной задачи изучали подходящие стабильную кристаллическую соль кислоты формулы (II)

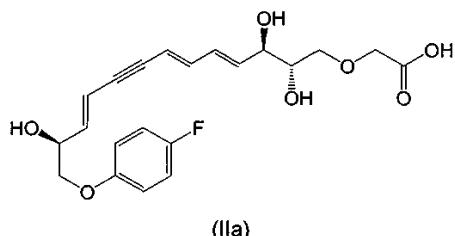


в которой R^1 представляет собой $-O-$, $-S(O)_t-$ (где t равен 0, 1 или 2) или неразветвленную или разветвленную алкиленовую цепь; и

R^2 представляет собой арил (необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, включающей алкил, алкокси, галоген, галоалкил и галоалкокси) или аралкил (необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, включающей алкил, алкокси, галоген, галоалкил и галоалкокси);

и где кислота формулы (II) представляет собой отдельный стереоизомер или любые смеси стереоизомеров.

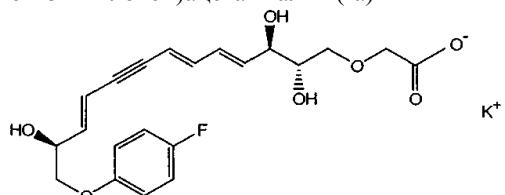
При скрининге солей с использованием различных органических и неорганических катионов совершенно неожиданно было обнаружено, что кристаллическая калиевая соль кислоты (Іа)



является значительно более стабильной по сравнению со всеми остальными полученными солями и также является более стабильной по сравнению с самой кислотой (Іа).

В одном варианте осуществления изобретение относится к кристаллической калиевой соли формулы (Іа), как раскрыто и определено в разделе "Сущность изобретения".

В другом аспекте настоящее изобретение относится к кристаллической калиевой соли, где кристаллическая калиевая соль представляет собой 2-((2S,3R,4E,6E,10E,12S)-13-(4-фторфенокси)-2,3,12-тригидрокситридека-4,6,10-триен-8-инилокси)ацетат калия (Іа)



В. Скрининг соли.

Далее более подробно описано скрининговое исследование солей.

Материалы.

Многие неорганические катионы подвергали исследованию для определения их способности образовывать стабильную кристаллическую соль кислоты (Іа), включая калий, натрий, кальций, алюминий, магний, литий и цинк.

Исследовали некоторые органические амины, включая N-метилглюк胺ин, диэтаноламин, этилендиамин, холин, лизин и аргинин.

Дополнительно к вышеописанному исследовали образование смешанной соли кислоты формулы (Іа) с поливалентными неорганическими катионами и органическими кислотами.

Параметры тестирования.

В целом, скрининговое исследование солей охватывало вариативность следующих различных параметров тестирования:

- тип используемого соединения-катиона (например, такой как карбонаты, гидроксиды, метилаты, этилаты);
- тип используемого растворителя;
- специфическое добавление или исключение воды (для способствования образования гидратов или ангидратов);
- тип используемой кристаллизации (кристаллизация охлаждением, кристаллизация антирастворителем или кристаллизация упариванием и их комбинации);
- тип скрининга (ручной скрининг, а также высокопроизводительный скрининг).

Результаты.

Неожиданно было обнаружено, что только в случае использования в качестве основания калиевых соединений предоставлялась возможность образования суспензии и выделения кристаллической соли кислоты (Іа). При осуществлении экспериментов с другими катионами получали растворы без твердой фазы, с масляными фазами или в виде аморфных твердых веществ. Также было неуспешным образование смешанных солей. Также при высокопроизводительном скрининге не было обнаружено образования других кристаллических солей кислоты (Іа).

Г. Твердые формы калиевой соли формулы (Іа).

Кристаллическая калиевая соль формулы (Іа) образует три четко определенные кристаллические формы: ангидрат и два гидрата. Дополнительно получают две дегидрированные гидратные формы (дегидрированная форма I и дегидрированная форма II), и в некоторых исследованиях определяют аморфную фазу. Сольватов не обнаруживают. Настоящее изобретение охватывает все кристаллические формы калиевых солей формулы (Іа).

Различные твердые формы калиевой соли (Іа) могут быть дифференцированы по положениям пиков отражений на порошковой рентгенограмме (XRPD). Наиболее сильные отражения ангидрата, моногидра-

та и дигидрата кристаллической калиевой соли (Ia) представлены ниже в табл. 1.

Таблица 1

Данные рентгеновской порошковой дифрактометрии ангидрата, моногидрата и дигидрата - d-значения наиболее сильных отражений, 2Θ-значения
(германний-монохромного CuK α_1 -излучения)

ангидрат d (Å)	моногидрат d (Å)	дигидрат d (Å)
26,68	26,47	27,09
13,39	13,27	13,49
7,24	8,44	8,49
4,30	5,78	5,38
4,25	5,32	4,33
4,10	4,32	4,16
3,99	4,07	4,12
3,87	4,03	4,06
3,69	3,98	4,00
3,11	3,90	3,70
	3,81	3,66
	3,62	3,42
	3,60	3,29
	3,20	3,24

Ангидратная форма кристаллической калиевой соли формулы (Ia) проявляет характерные пики приблизительно при $d = 26,7 \text{ \AA}$ и приблизительно при $d = 3,7 \text{ \AA}$.

Моногидратная форма кристаллической калиевой соли формулы (Ia) проявляет характерные пики приблизительно при $d = 26,5 \text{ \AA}$, приблизительно при $d = 4,3 \text{ \AA}$ и приблизительно при $d = 4,0 \text{ \AA}$, тогда как дигидратная форма кристаллической калиевой соли формулы (Ia) проявляет характерные пики приблизительно при $d = 27,1 \text{ \AA}$, приблизительно при $d = 4,2 \text{ \AA}$ и приблизительно при $d = 4,1 \text{ \AA}$.

Характер XRPD дегидрированной формы I и дегидрированной формы II кристаллической калиевой соли формулы (Ia) свидетельствует о том, что положения пиков для обеих дегидрированных форм незначительно отличается для разных партий вследствие колебаний остатков растворителя. Следовательно, не может быть представлено точных d-значений, 2Θ-значений и относительных интенсивностей, которые характерны для обеих форм. Тем не менее, они проявляют характерные пики в интервале от приблизительно $d = 24,6 \text{ \AA}$ и до приблизительно $d = 27,1 \text{ \AA}$.

Для специалиста в данной области техники очевидно, что дифракционная рентгенограмма может быть получена с погрешностью измерений, которая зависит от применяемых условий измерений. В частности, хорошо известно, что интенсивности на дифракционной рентгенограмме могут колебаться в зависимости от внешнего вида кристалла вещества и применяемых условий измерений. Также подразумевается, что относительные эффективности также могут изменяться в зависимости от экспериментальных условий и, следовательно, точный порядок интенсивности не следует принимать во внимание. Дополнительно погрешность измерений угла дифракции для обычной дифракционной рентгенограммы при данной температуре обычно составляет приблизительно $\pm 0,1^\circ$, и такую величину погрешности измерений следует учитывать в отношении вышеуказанных углов дифракции. Вследствие этого, термин "приблизительно", когда он используется по отношению к порошковым рентгенограммам, обозначает, что кристаллические формы согласно настоящему изобретению не ограничиваются кристаллическими формами, которые обеспечивают дифракционные рентгенограммы, полностью идентичны дифракционным рентгенограммам, представленным на приложенных чертежах к настоящему изобретению. Любая кристаллическая форма, которая обеспечивает дифракционные рентгенограммы, которые, по существу, идентичны тем, которые представлены на приложенных чертежах, подпадает под объем настоящего изобретения. Возможность определения, являются ли полиморфные формы соединения такими же, даже хотя дифракционные рентгенограммы не полностью идентичны, находится в компетенции среднего специалиста в данной области техники.

ИК-спектроскопия гидратов калиевой соли (Ia) свидетельствует о том, что они имеют две характерные полосы ИК-спектра при 1214 cm^{-1} и 1127 cm^{-1} .

Содержание воды кристаллической калиевой соли (Ia) определяет ее твердое состояние (ангидрат, моногидрат, дигидрат, дегидрированная форма I или дегидрированная форма II). Действительное содержание воды соли определяется относительной влажностью и температурой окружающей среды.

Превращение моногидрата и дигидрата, а также дегидрированной формы II друг в друга обратимо. Ангидрат превращается в дигидрат посредством моногидрата. Это превращение не является обратимым. Дигидрат превращается путем дегидратации в дегидрированную форму II. Дегидрированная форма I превращается в моногидрат, а также в дигидрат. Не наблюдается превращения моногидратной формы или дигидратной формы в дегидрированную форму I.

Превращение моногидратной в дигидратную форму и наоборот происходит быстро и хорошо определяется при 25 и при 40°C. Это подтверждается с помощью исследований динамической сорбции пара.

Например, при предварительном высушивании моногидрата при 25°C и 0% относительной влажности 4,0% воды высвобождается из моногидрата. Это приводит к образованию дегидрированной формы II. В диапазоне от 20 до 40% относительной влажности, абсорбируется один моль воды, что приводит к образованию моногидрата. Моногидрат является стабильным вплоть до приблизительно 50% относительной влажности и затем превращается в дигидрат путем абсорбции второго моля воды в диапазоне от 50 до 60% относительной влажности. Дигидрат является стабильным вплоть до 98% относительной влажности при 25°C. При десорбционном цикле в интервале от 40 до 50% относительной влажности происходит превращение в моногидрат. Образованный моногидрат существует вплоть до 10% относительной влажности. В диапазоне от 0 до 10% относительной влажности происходит дегидратация моногидрата до дегидрированной формы II. Соответствующая изотерма сорбции представлена на фиг. 1. Не наблюдается существенных отличий между двумя циклами.

Гигроскопичность в отношении превращения моногидрата и дигидрата повторно исследовали в диапазоне от 45 до 55% относительной влажности, используя небольшие степени для относительной влажности. Это исследование показало, что равновесие между двумя гидратами при 25°C находится в интервале от 48 до 50% относительной влажности. При 40°C обратимое превращение между моногидратом и дигидратом происходит в диапазоне от 57 до 59% относительной влажности, приблизительно 10% выше чем при 25°C. При более подробном исследовании при 40°C области десорбции моногидрата в интервале от 0 до 10% относительной влажности было показано, что десорбция происходит в диапазоне от 2 до 3% относительной влажности.

Также превращение ангидратной формы калиевой соли (Ia) в гидратную форму было показано с помощью исследования динамической сорбции пара при 25°C. Вплоть до 40% относительной влажности ангидрат является стабильным. В диапазоне от 40 до 60% относительной влажности абсорбируется приблизительно два моля воды, что приводит к образованию дигидрата.

Сбор данных для XRPD осуществляли в режиме передачи, используя германий-монохромное CuK α_1 -излучение ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) при комнатной температуре (в интервале от 20 до 25°C). Рентгеновская трубка с медным анодом работала при 40 кВ и 30 мА. 2 Θ развертки осуществляли с помощью небольшого линейного позиционно-чувствительного детектора с углом разрешения 0,08° в интервале 3°≤2 Θ ≤35° и 2°≤2 Θ ≤35° (ширина шага 0,5°) или 7°≤2 Θ ≤35° (ширина шага 0,5°), если использовали луночный планшет. Образцы закрывали между двумя полиэтиленовыми пленками, скрепленными вместе двусторонней склеивающей лентой или между двумя алюминиевыми фольгами для избегания влияния влажности при измерении. Сбор и оценку данных осуществляли с помощью комплекта программного обеспечения STOE WinX^{pow}.

ИК-спектр записывали с помощью метода диффузного отражения. Образцы разводили бромидом калия при соотношении 1:100.

Сбор данных для исследований гигроскопичности осуществляли в автоматизированном анализаторе водопоглощения. Приблизительно 20 мг исследуемой твердой формы кристаллической калиевой соли (Ia) подвергали воздействию непрерывного потока азота при заранее определенной и постоянной относительной влажности. Скорость продувочного газа устанавливали при 200 см³/мин. Для основного исследования измеряли два полных цикла (сорбции/десорбции) при 25°C. Измерение начинали при 0% относительной влажности для удаления поверхностной воды. При установлении постоянной массы автоматически устанавливали следующую влажность. Исследование сорбции/десорбции воды проводили ступенчато по критерию 10% в интервале от 0 до 90% относительной влажности для инициации первой стадии, как описано в настоящей заявке. Дополнительно исследовали сорбцию приблизительно при 98% относительной влажности. Данные собирали с помощью программного обеспечения DVSWin. Дополнительно проводили исследования при 40°C и для более подробной оценки равновесия моногидрат/дигидрат ступени в релевантных участках были короче (каждая ступень равнялась 1% относительной влажности).

Д. Химическая стабильность твердых форм калиевой соли (Ia).

Химическую стабильность ангидрата и моногидрата калиевой соли формулы (Ia) по изобретению, а также дегидрированной формы I калиевой соли (Ia) по изобретению оценивали путем сравнения стабильности в стрессовых условиях при 40°C/75% ОВ в течение периода 4 недели. Результаты представлены ниже в табл. 2.

Таблица 2

	К-соль, Ангидрат*; 40°C/75% ОВ	К-соль, Моногидрат **; 40°C/75% ОВ	К-соль, дегидрированная форма I; 40°C/75% ОВ	недели
[%]	99,6	99,7	97,8	0
	99,7	99,6	97,1	2
	99,7	99,7	95,3	4

* Начинали с ангидратом при осуществлении теста, наиболее вероятно наблюдали дигидратную форму калиевой соли (Ia) при окончании теста.

** Начинали с моногидратом при осуществлении теста, наиболее вероятно наблюдали дигидратную форму калиевой соли (Ia) при окончании теста.

Все три формы калиевой соли (Ia) были достаточно стабильными; хотя ангидрат и моногидрат калиевой соли (Ia) не проявляли признаков разложения.

Е. Приготовление калиевых солей формул (I) и (Ia).

Соединения формулы (II), то есть кислота, подробно описаны в патенте США № 6831186 и в опубликованной заявке на патент США № 2004/0162433, соответствующее раскрытие которых полностью включено в данную заявку в качестве ссылки.

Способ получения кристаллической калиевой соли иллюстрируется путем применения соли формулы (Ia), но его можно использовать для получения кристаллических калиевых солей других соединений формулы (I). В целом, способ получения кристаллической калиевой соли (Ia) основывается на нейтрализации кислоты (Pa) путем обработки основанием. Полученная смесь образует суспензию, которую необязательно охлаждают. Кристаллы выделяли из суспензии и высушивали, получая желательную гидратную форму кристаллической калиевой соли (Ia).

Более конкретно, кислоту (Pa) растворяли в подходящем растворителе, таком как, например, этанол. Затем калиевое основание, такое как, например, метилат калия или гидроксид калия, растворяли в подходящем растворителе, таком как, например, этанол. Раствор калиевого основания добавляли к раствору кислоты (Pa) или наоборот.

Дозировку калиевого основания к раствору кислоты (III) контролировали путем измерения значения pH полученной смеси с помощью методов, известных в данной области, таких как влажные pH-индикаторные ленточки. В одном варианте осуществления добавление раствора калиевого основания, как правило, прекращали, если значение pH достигало 6-15, обычно, если значение pH достигало 7-14, и в одном предпочтительном варианте осуществления, если значение pH достигало 8-13.

Дегидрированную форму I калиевой соли (Ia) получали путем не включения воды в реакционную смесь. Например, это можно осуществить путем использования растворителей, не содержащих воды, и путем добавления метилата калия для образования соли.

Дополнительно дегидрированная форма I калиевой соли (Ia) может быть получена путем суспендирования моногидратной формы кристаллической калиевой соли (Ia) в органических растворителях, таких как, например, ацетонитрил. Не наблюдается прямого превращения моногидратной формы или дигидратной формы в дегидрированную форму I путем высушивания или термической обработки.

Для избегания образования менее желательной в данной время дегидрированной гидратной формы (I) калиевой соли (Ia) при осуществлении стадии кристаллизации растворитель кристаллизации содержит, по меньшей мере, некоторое количество воды. Как правило, конечная реакционная смесь содержит по меньшей мере приблизительно 0,01% воды, обычно от приблизительно 0,5% до приблизительно 99,9% воды, и в одном чрезвычайно предпочтительном варианте осуществления от приблизительно 1 до приблизительно 30% воды. Таким образом, например, в одном варианте осуществления раствор кислота (Pa)-растворитель будет содержать, по меньшей мере, некоторое количество воды. Как правило, раствор кислота (Pa)-растворитель содержит по меньшей мере приблизительно 0,01% воды, обычно от приблизительно 0,5 до приблизительно 99,9% воды, и в одном чрезвычайно предпочтительном варианте осуществления от приблизительно 1 до приблизительно 30% воды. Аналогично этому, в одном варианте осуществления раствор калиевое основание-растворитель будет содержать, по меньшей мере, некоторое количество воды. Как правило, раствор калиевое основание-растворитель содержит по меньшей мере приблизительно 0,01% воды, обычно от приблизительно 0,5 до приблизительно 99,9% воды, и в одном чрезвычайно предпочтительном варианте осуществления от приблизительно 1 до приблизительно 30% воды. Полученная реакционная смесь будет содержать, по меньшей мере, некоторое количество воды. Полученная смесь образует суспензию, которую необязательно охлаждают перед выделением твердого вещества/жидкости и необязательной стадии промывки с подходящим растворителем. Как правило, растворитель для промывки содержит по меньшей мере приблизительно 0,01% воды, обычно от приблизительно 0,5 до приблизительно 99,9% воды, и в одном чрезвычайно предпочтительном варианте осуществления от приблизительно 1 до приблизительно 30% воды. После этого осуществляют стадию высушивания.

Методика высушивания выделенных кристаллов определяет гидратную форму (моногидрат или дигидрат либо дегидрированный гидрат) полученной кристаллической калиевой соли и таким образом

должна хорошо контролироваться, если желательно получить требуемые моно- или дигидрат калиевой соли (Ia). Также при методике высушивания удается избежать образования менее желательной дегидрированной формы (II) калиевой соли (Ia), которую получают путем пересушивания продукта. Оптимизация этого процесса описана в разделе Ж ниже.

Дегидрированная форма II калиевой соли (Ia) также может быть образована путем дегидратации гидратов путем термической обработки (обычно при температуре ниже 100°C) или путем хранения при 0% относительной влажности. При дегидратации дигидрата посредством моногидрата получают дегидрированную форму II.

В целом, способ расщепления ангидратной формы калиевой соли (Ia) основывается на расщеплении гидратной формы калиевой соли в подходящем растворителе при повышенных температурах в течение определенного промежутка времени. Кристаллы выделяют из суспензии и затем высушивают, получая ангидратную форму калиевой соли (Ia).

Более предпочтительно гидрат калиевой соли (Ia) расщепляли в подходящем растворителе, таком как, например, 1,4-диоксан. Суспензию перемешивали и нагревали вплоть до практической точки кипения растворителя в течение, как правило, от приблизительно 0,1 до приблизительно 10 ч, обычно от приблизительно 1 до приблизительно 8 ч, и предпочтительно от приблизительно 2 до приблизительно 6 ч. Затем суспензию охлаждали и кристаллы выделяли и необязательно промывали подходящим растворителем, таким как, например, 1,4-диоксан, после этого кристаллы высушивали, получая ангидратную форму калиевой соли (Ia).

Ж. Оптимизация процесса высушивания калиевой соли формулы (Ia).

Образование калиевой соли (Ia) в предпочтительной кристаллической гидратной форме оптимизируют с помощью изменения условий высушивания.

С помощью XRPD анализа влажного осадка после фильтрования было обнаружено, что дигидратная форма калиевой соли образуется на стадии кристаллизации. При осуществлении процесса высушивания осадок на фильтре (который представляет собой дигидратную форму калиевой соли) теряет свою влагу. Однако поскольку дигидратная форма калиевой соли теряет свою воду и превращается в моногидратную форму, то моногидратная форма может впоследствии продолжать превращаться в менее желательную дегидрированную форму II.

Как видно из данных DVS, которые свидетельствуют о том, что переход дегидрат-моногидрат является быстрым, при осуществлении обычного процесса высушивания, например, с помощью камеры для вакуумной сушки не удается получить дигидрат. Также существует потенциальная опасность пересушить моногидрат с получением дегидрированной формы II.

Таким образом, процесс высушивания оптимизируют для получения либо дигидрат или моногидрат и безопасного избегания пересушивания до дегидрированной формы II.

В оптимизированном процессе высушивания используют очень хорошо уравновешенный и контролируемый поток продувочного газа. Посредством специфического контроля и установок относительной влажности продувочного газа (такого как, например, N₂), давления и температуры внутри сушки стадию высушивания осуществляют в условиях температуры и влажности, которые коррелируют с областью устойчивости желательной гидратной формы. После осуществления этого процесса могут быть получены специфические гидратные формы калиевой соли (Ia).

Также изобретателями было обнаружено, что применение продувочного газа полезно для обеспечения достаточного времени высушивания и для избегания конденсации жидкости в сушке. Дополнительно к продувочному газу, указанному выше, в настоящем изобретении может использоваться любой подходящий продувочный газ, и эти газы известны среднему специалисту в данной области техники или могут быть определены без дополнительных экспериментов.

Дополнительно к использованию камеры для вакуумной сушки в способе согласно настоящему изобретению можно применять любой метод высушивания или устройство для высушивания калиевых солей формул (I) и (Ia), включая, но не ограничиваясь только ими, смесительную сушилку (например, лопастную сушилку или коническую сушилку), контактную сушилку, конвекционную сушилку, радиационную сушилку и др., которые известны или могут быть идентифицированы специалистом в данной области.

3. Полезность кристаллических калиевых солей по изобретению.

Кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) обладает биологической активностью, сходной с активностью природного липоксина A₄, но имеет повышенную устойчивость к химическому и метаболическому разложению. Таким образом, кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) пригодна для лечения воспалительных или аутоиммунных нарушений у млекопитающих, в особенности у людей. В особенности кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) пригодна для ингибиции острого или хронического воспаления или воспалительной или аутоиммунной ответной реакции, которая опосредуется нейтрофилами, эозинофилами, Т-лимфоцитами, NK-клетками или другими иммунными клетками, которые способствуют патогенезу воспалительного, иммунного или аутоиммунного заболевания. Кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) также пригодна для лечения пролиферативных нарушений, включая, но не ограничиваясь только ими, те нарушения, которые связаны с дисфункциями воспалительной или иммун-

ной ответной реакции, такие как злокачественное новообразование. Кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) также пригодна в качестве ингибитора ангиогенных ответных реакций при патогенезе злокачественного новообразования.

Таким образом, кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) может применяться для лечения следующих воспалительных или аутоиммунных нарушений у млекопитающих, в особенности у людей: анафилактические реакции, аллергические реакции, аллергический контактный дерматит, аллергический ринит, химический и неспецифический раздражающий контактный дерматит, крапивницу, атопический дерматит, псориаз, фистулы, связанные с болезнью Крона, резервуарный илеит, септический или эндо-токсический шок, геморрагический шок, шокообразные синдромы, синдромы повышенной проницаемости капилляров, индуцированные иммунотерапией злокачественного новообразования, синдром острой дыхательной недостаточности, травматический шок, иммунные или индуцированные патогеном пневмонии, повреждение легких, опосредованное иммунным комплексом, и хроническое обструктивное заболевание легких, воспалительные заболевания кишечника (включая язвенный колит, болезнь Крона и послеоперационную травму), язвы желудочно-кишечного тракта, заболевания, связанные с ишемически-реперфузионным повреждением (включая острую ишемию миокарда и инфаркт, острую почечную недостаточность, ишемическую болезнь кишечника и острый геморрагический или ишемический удар), гломерулонефрит, опосредованный иммунным комплексом, аутоиммунные заболевания (включая инсулинозависимый сахарный диабет, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, остеоартрит и системную красную волчанку), острое и хроническое отторжение трансплантированного органа, атеросклероз трансплантата и фиброз, сердечно-сосудистые нарушения (включая гипертонию, атеросклероз, аневризму, критическую ишемию нижних конечностей, окклюзионное поражение периферической артерии и синдром Рейно), осложнение диабета (включая диабетическую нейропатию, нейропатию и ретинопатию), заболевания глаз (включая дегенерацию желтого пятна и глаукому), нейродегенеративные нарушения (включая замедленную нейродегенерацию при ударе, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, энцефалит и ВИЧ-деменцию), воспалительную и невропатическую боль, включая боль в суставах, периодонтальное заболевание, включая гингивиты, воспаление среднего уха, мигрень, доброкачественную гиперплазию предстательной железы, злокачественные новообразования, включая, но не ограничиваясь только ими, лейкозы и лимфомы, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак легкого, злокачественную меланому, почечно-клеточный рак, опухоли головы и шеи и рак ободочной и прямой кишки.

Кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) также является пригодной для лечения фолликулита, индуцированного ингибиторами фактора роста эпидермиса (EGF) или киназы рецептора фактора роста эпидермиса (EGFR), используемыми для лечения солидных опухолей. При клинических исследованиях было показано, что фолликулит (воспаление волосяного фолликула, которое проявляется в виде тяжелой угреподобной кожной сыпи на лице, груди и верхней части спины), является основным дозолимитирующим побочным действием таких лечений. Такой фолликулит связан с нейтрофильной инфильтрацией, подтверждая тот факт, что продукты, секреируемые активированными нейтрофилами, являются причиной воспаления. Кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) ингибирует опосредованное нейтрофилами или эозинофилами воспаление и, следовательно, является пригодной для лечения таких фолликулитов, улучшая, таким образом, качество жизни подвергаемых лечению пациентов со злокачественными новообразованиями, но также и позволяет повысить дозировку ингибитора EGF или ингибитора киназы EGFR или увеличить продолжительность лечения, что приводит к улучшению эффективности желательного ингибитора.

Кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) также пригодна для лечения воспаления легких и воспаления дыхательных путей, включая, но не ограничиваясь только ими, астму, хронический бронхит, бронхиолит, облитерирующий бронхиолит (включая бронхиолит с формирующей пневмонией), аллергическое воспаление дыхательных путей (включая ринит и синусит), эозинофильную гранулему, воспаление легких, пневмосклероз, легочные проявления болезней соединительной ткани, острое или хроническое поражение легких, хроническое обструктивное заболевание легких, синдром расстройства дыхания у взрослых, и другие неинфекционные воспалительные нарушения легких, которые характеризуются эозинофильной инфильтрацией. Например, кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) является пригодной для ингибирования опосредованного эозинофилами воспаления легких или тканей; опосредованного нейтрофилами воспаления легких; опосредованного лимфоцитами воспаления легких; продукции цитокинов и хемокинов, включая интерлейкин-5, интерлейкин-13 и эотаксин; образования медиатора липидов, включая простагландин Е₂ и цистеинильные лейкотриены; гиперреактивности дыхательных путей и воспаления дыхательных путей и сосудов.

И. Тестирование кристаллических калиевых солей по изобретению.

Отличительным признаком воспаления является адгезия и трансмиграция через эндотелий нейтрофилов, эозинофилов и других воспалительных клеток. Сходный процесс наблюдается при миграции клеток через поляризованные эпителиальные клетки, который происходит в легких, желудочно-кишечном тракте и других органах. Доступны модели культуры клеток этих процессов и они используются для демонстрации того, что липоксин A₄ и стабильные аналоги липоксина A₄ ингибируют трансмиграцию нейтрофилов человека через эндотелиальные клетки и эпителиальные клетки человека, включая эпители-

альную клеточную линию кишечника человека T₈₄. Таким образом, специалист в данной области техники может тестировать кристаллическую калиевую соль формулы (Ia) для определения ее способности ингибировать трансмиграцию нейтрофилов и эозинофилов человека через эндотелиальные клетки и эпителиальные клетки человека при осуществлении анализов, аналогичных описанным в Colgan, S.P., и др., J. Clin. Invest. (1993), том 92, № 1, с. 75-82 и Serhan, C.N., и др., Biochemistry (1995), том 34, № 44, с. 14609-14615.

Модель воздушного мешка и/или модель индуцированного зимозаном перитонита у мышей может использоваться для оценки эффективности в условиях *in vivo* кристаллической калиевой соли формулы (Ia) при лечении воспалительной ответной реакции. Они представляют собой экспериментальные модели острого воспаления, которые характеризуются инфильтрацией воспалительных клеток в локализованном участке; см., например, исследования в условиях *in vivo*, описанные в Ajuebor, M.N., и др., Immunology (1998), том 95, с. 625-630; Gronert, K., и др., Am. J. Pathol. (2001), том 158, с. 3-9; Pouliot, M., и др., Biochemistry (2000), том 39, с. 4761-4768; Clish, C.B., и др., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1999), том 96, с. 8247-8252 и Hachicha, M., и др., J. Exp. Med. (1999), том 189, с. 1923-30.

Экспериментальные модели на животных (то есть исследования в условиях *in vivo*) также могут использоваться для определения эффективности кристаллической калиевой соли формулы (Ia) при лечении астмы и связанных нарушений легких и дыхательных путей; см., например, исследования, описанные в De Sanctis, G.T. и др., Journal of Clinical Investigation (1999), том 103, с. 507-515 и Campbell, E.M., и др., J. Immunol. (1998), том 161, № 12, с. 7047-7053.

Альтернативно, кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) может подвергаться тестированию для определения ее эффективности в заявленных методах с помощью исследований, описанных в патенте США № 6831186 и в опубликованной заявке на патент США 2004/0162433, соответствующее раскрытие которых полностью включено в данную заявку в качестве ссылки.

K. Введение кристаллических калиевых солей по изобретению.

Введение кристаллической соли формулы (Ia) в виде одного стереоизомера или любой смеси стереоизомеров, или в виде ее циклодекстринового клатрата, или в виде сольвата или полиморфа, в чистой форме или в подходящей фармацевтической композиции, может осуществляться посредством любого приемлемого способа введения или средств, служащих для тех же целей. Таким образом, введение может быть, например, пероральным, назальным, парентеральным, легочным, местным, трансдермальным или ректальным, в форме твердых, полутвердых, лиофилизированных порошков или жидких дозированных форм, таких как, например, таблетки, суппозитории, пилюли, мягкие эластичные и твердые желатиновые капсулы, порошки, растворы, суспензии, аэрозоли, пластиры или т.д., предпочтительно в стандартных лекарственных формах, подходящих для единичного введения точных доз. Композиции будут включать калиевую соль по изобретению в качестве активного компонента и общепринятые фармацевтический носитель или наполнитель и дополнительно могут включать другие лекарственные средства, фармацевтические средства, носители, адьюванты и т.д., которые хорошо известны в данной области техники.

Известны современные способы приготовления таких дозированных форм или они являются очевидными для специалистов в данной области; например, см., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е изд. (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990). Композиция для введения в любом случае будет содержать терапевтически эффективное количество кристаллической калиевой соли формулы (Ia) для лечения болезненного состояния, которое характеризуется воспалением, в соответствии со сведениями, раскрытыми в данном заявлении.

Как правило, в зависимости от предназначенного способа введения фармацевтически приемлемые композиции будут содержать от приблизительно 0,1 до приблизительно 99,9 вес.% кристаллической калиевой соли формулы (Ia) и приблизительно 99,9 до приблизительно 0,1 вес.% подходящего фармацевтического наполнителя.

В одном варианте осуществления пути введения является пероральным, используя общепринятую ежедневную схему приема лекарственного средства, которая может адаптироваться в соответствии со степенью тяжести болезненного состояния, подлежащего лечению. Для такого перорального введения фармацевтически приемлемая композиция, содержащая кристаллическую калиевую соль формулы (Ia), образуется путем включения одного или нескольких обычно используемых фармацевтически приемлемых наполнителей. Такие композиции приготавливают в форме растворов, суспензий, таблеток, пилюль, капсул, порошков, препаратов с замедленным высвобождением и др.

Предпочтительно такие композиции приготавливают в форме капсулы, каплеты или таблетки и, следовательно, они также обычно будут содержать разбавитель, разрыхлитель, скользящее вещество и связующее.

Кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) может быть приготовлена в виде суппозитория, содержащего активный компонент, размещененный в носителе, который медленно растворяется в организме, таком как обычно применяемые для этого носители.

Жидкие фармацевтические композиции для введения могут быть приготовлены, например, путем растворения, диспергирования и т.д. калиевой соли по изобретению и необязательно фармацевтически приемлемых адьювантов в носителе, таком как, например, вода, солевой раствор, водная декстроза, гли-

церин, этанол и др. и с образованием при этом раствора или суспензии.

При необходимости, фармацевтическая композиция по изобретению также может содержать небольшие количества вспомогательных веществ, таких как смачивающие средства или эмульгаторы, рН-буферные вещества, антиоксиданты и др.

Кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) вводится в терапевтически эффективном количестве, которое существенно будет зависеть от различных факторов, включая активность конкретного применяемого соединения; метаболическую стабильность и продолжительность действия кристаллической калиевой соли формулы (Ia); возраст, вес тела, общее состояние здоровья, пол и питание пациента; способ и время введения; скорость экскреции; комбинацию лекарственных средств; тяжесть конкретного(ых) болезненного(ых) состояния(й), подвергаемого(ых) лечению; и хозяина, подвергаемого лечению.

Примеры

Следующие примеры дополнительно описывают получения кристаллической калиевой соли формулы (Ia). Кристаллические калиевые соли других аналогов липоксина A₄ формулы (I) также могут быть получены аналогично.

Пример 1. Приготовление моногидратной формы кристаллической калиевой соли (Ia) путем кристаллизации и высушивания в условиях, которые коррелируют с областью устойчивости моногидрата.

2-((2S,3R,4E,6E,10E,12S)-13-(4-фторфенокси)-2,3,12-тригидрокситридека-4,6,10-триен-8-инилокси)уксусную кислоту (соединение (Pa)) (964 г) растворяли в смеси безводного этанола (3,850 л) и воды (0,580 л). Во второй колбе пеллеты гидроксида калия (172,2 г) растворяли в смеси воды (0,580 л) и безводного этанола (3,850 л). Раствор гидроксида калия медленно добавляли к раствору исходной кислоты (Pa) при 20°C до достижения значения pH 8,5, которое измеряли с помощью влажной рН-бумаги. К раствору добавляли затравочные кристаллы (2,5 г). Через 90 мин при 22°C образовывался затравочный слой и суспензию охлаждали до -10°C в течение 45 мин и перемешивали при этой температуре дополнительно в течение 2 ч. Затем охлажденную суспензию фильтровали, используя вакуумный фильтр с фильтровальной бумагой. Собранные кристаллы три раза промывали 1,6 л охлажденной смеси этанол/вода (-10°C; 6,0 мас.% воды), и затем высушивали до постоянной массы при 200 мбар/30°C в вакуумном сушильном шкафу, используя воздух (относительной влажности ~30%) в качестве продувочного газа. Процесс высушивания контролировали путем определения содержания воды (с помощью титрации Karl Fischer) некоторых образцов, отобранных во время процесса высушивания. Получали кристаллическую моногидратную форму калиевой соли формулы (Ia) (901 г).

Пример 2. Приготовление моногидратной формы кристаллической калиевой соли (Ia) путем высушивания с помощью микроволнового сушильного устройства.

2-((2S,3R,4E,6E,10E,12S)-13-(4-фторфенокси)-2,3,12-тригидрокситридека-4,6,10-триен-8-инилокси)уксусной кислоты (соединение (Pa)) (50,05 г) растворяли в смеси безводного этанола (158,11 г) и воды (30,07 г). Во второй колбе пеллеты гидроксида калия (12,24 г) растворяли в смеси воды (41,22 г) и безводного этанола (216,15 г). Раствор гидроксида калия (180,21 г) медленно добавляли к раствору исходной кислоты (Pa) при 20°C до достижения значения pH 8,5, которое измеряли с помощью влажной рН-бумаги. Раствор охлаждали до 0°C. Затравочные кристаллы суспендировали в этаноле и полученную суспензию (0,3 г) добавляли к раствору. Через 30 мин образовывался затравочный слой, суспензию охлаждали до -12°C в течение 30 мин и перемешивали при этой температуре дополнительно в течение 1 ч. Затем охлажденную суспензию фильтровали, используя вакуумный фильтр с фильтровальной бумагой. Собранные кристаллы промывали 0,1 л охлажденной смеси этанол/вода (-12°C; 4,0 мас.% воды). При XRPD анализа образца влажной фильтрующей прокладки было установлено наличие дигидрата. Затем начинали процесс сушки в микроволновом сушильном устройстве. Условия высушивания: мощность = 80 Вт, давление внутри сушилки < 150 мбар. После высушивания в течение 3,7 ч масса кристаллов оставалась постоянной, и получали кристаллическую моногидратную форму калиевой соли формулы (Ia) (XRPD-анализ, термогравиметрический анализ) (38,97 г).

Пример 3. Приготовление дигидратной формы кристаллической калиевой соли (Ia) путем кристаллизации и высушивания в условиях, которые коррелируют с областью устойчивости дигидрата 2-((2S,3R,4E,6E,10E,12S)-13-(4-фторфенокси)-2,3,12-тригидрокситридека-4,6,10-триен-8-инилокси)уксусную кислоту (соединение (Pa)) (500 мг) растворяли в этаноле (2 мл). К раствору добавляли воду (0,75 мл).

Полученный прозрачный раствор перемешивали. Пеллеты гидроксида калия (85,3 мг) растворяли в этаноле (2,84 мл). Полученный раствор был прозрачным и без твердой фазы. Эквимолярное количество прозрачного раствора гидроксида калия добавляли к раствору исходной кислоты (Pa). Количество добавляемого раствора гидроксида калия контролировали с помощью проверки значения pH (влажная рН-индикаторная лента). Добавление раствора гидроксида калия прекращали при достижении значения pH раствора 8,5. Перемешиваемый раствор охлаждали до -10°C. Через 2 ч определяли образование суспензии. Суспензию перемешивали в течение дополнительного часа. Суспензию центрифугировали в предварительно охлажденной центрифуге и маточную жидкость отбрасывали. Твердую фазу высушивали в сушилке с циркулирующим воздухом при 30°C. Атмосферу циркулирующего воздуха сушилки кондиционировали до 70% относительной влажности путем увлажнения продувочного газа. Поток продувочного газа (N₂) непрерывно подавали в сушилку. Поток продувочного газа альтернативно был сухим или ув-

лажненным водой. Промежутки времени увлажненного относительно сухого потока N₂ регулировали с помощью технических средств автоматического регулирования, которые анализировали относительную влажность внутри сушилки. С помощью этой методики предоставляется возможность обеспечить относительную влажность 70% внутри сушилки в течение периода хранения. При XRPD анализе влажной фильтрующей прокладки, а также образцов твердого вещества в сушилке через 8 и 32 ч (= сухой продукт) периода высушивания было установлено наличие кристаллической дигидратной формы калиевой соли (Ia).

Пример 4. Приготовление дигидратной формы кристаллической калиевой соли (Ia) из моногидратной формы путем хранения в дигидратных условиях.

Моногидратную форму калиевой соли (Ia) (1,697 г) переносили на тарелку. Моногидратную форму вещества в начале процесса подтверждали с помощью XRPD-анализа и термогравиметрического анализа. Масса отобранного образца составляла 127 мг. Тарелку переносили в сушилку с циркулирующим воздухом. Условиями хранения были атмосферное давление и 25°C. В сушилку непрерывно подавали увлажненный поток продувочного газа (N₂) аналогично примеру 2. С помощью этой методики предоставляется возможность обеспечить относительную влажность 70% внутри сушилки в течение периода хранения. Первый образец (масса = 239 мг) отбирали приблизительно через 48 ч, и он являлся дигидратной формой калиевой соли (Ia) (XRPD анализ, термогравиметрический анализ). Второй образец (масса = 220 мг) отбирали еще через 24 ч. Этот образец хранящегося вещества также являлся дигидратной формой (XRPD-анализ, термогравиметрический анализ). Оставшаяся масса внутри тарелки = 1,168 г кристаллической дигидратной формы калиевой соли (Ia).

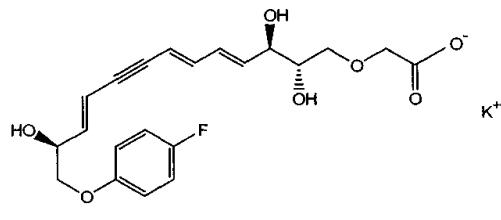
Пример 5. Приготовление ангидратной формы кристаллической калиевой соли (Ia) из моногидратной формы путем суспендирования в подходящем растворителе.

Моногидратную форму калиевой соли (Ia) (12,42 г) переносили в колбу. Моногидратную форму вещества подтверждали с помощью XRPD-анализа и термогравиметрического анализа. В колбу добавляли растворитель 1,4-диоксан (125 мл) и после этого ее закрывали гибкой мембраной. Суспензию перемешивали с помощью магнитной мешалки и нагревали вплоть до 95°C в течение 6 ч, после этого суспензию охлаждали приблизительно до комнатной температуры и кристаллы выделяли из раствора с помощью всасывающего фильтра. Влажный осадок на фильтре промывали 50 мл растворителя (1,4-диоксан, комнатная температура) и затем высушивали в вакуумном сушильном шкафу при 100 мбар и 40°C. После высушивания в течение 44 ч получали 10,851 г кристаллической ангидратной формы калиевой соли (Ia) (XRPD-анализ, термогравиметрический анализ, остаточный растворитель).

Несмотря на то что настоящее изобретение описано со ссылками на конкретные варианты его осуществления, следует принять во внимание, что специалистами в данной области техники могут быть осуществлены различные изменения и эквивалентные замены без отклонения от сущности и объема изобретения. Дополнительно могут быть осуществлены различные модификации для адаптации конкретной ситуации, вещества, смеси веществ, способа, стадии или стадий способа, к объекту, сущности и объему настоящего изобретения. Все такие модификации подпадают под объем приложенной формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кристаллическая калиевая соль формулы (Ia), которая представляет собой 2-((2S,3R,4E,6E,10E,12S)-13-(4-фторфенокси)-2,3,12-тригидрокситридека-4,6,10-триен-8-инилокси)ацетат калия



(Ia),

причем кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) находится в форме ангидрата, который характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей характерный пик приблизительно при d=26,7 Å;

моногидрата, который характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей характерный пик приблизительно при d=26,5 Å;

дигидрата, который характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей характерный пик приблизительно при d=27,1 Å; или

дегидратированного гидрата, который характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей характерный пик между приблизительно d=27,1 Å и приблизительно d=24,1 Å.

2. Кристаллическая калиевая соль по п.1, где кристаллическая калиевая соль находится в форме ангидрата, который характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей характерный пик при

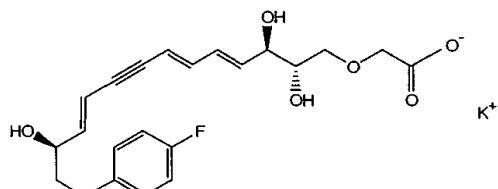
близительно $d=26,7 \text{ \AA}$ и приблизительно $d=3,7 \text{ \AA}$.

3. Кристаллическая калиевая соль по п.1, где формы кристаллической калиевой соли характеризуются одной из порошковых рентгенограмм, проиллюстрированных на фиг. 2 или 3.

4. Кристаллическая калиевая соль по п.1, где кристаллическая калиевая соль находится в форме моногидрата, который характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей характерный пик при приблизительно $d=26,5 \text{ \AA}$, приблизительно $d=4,3 \text{ \AA}$ и приблизительно $d=4,0 \text{ \AA}$.

5. Кристаллическая калиевая соль по п.1, где кристаллическая калиевая соль находится в форме дигидрата, который характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей характерный пик при приблизительно $d=27,1 \text{ \AA}$, приблизительно $d=4,2 \text{ \AA}$ и приблизительно $d=4,1 \text{ \AA}$.

6. Способ синтеза кристаллической калиевой соли формулы (Ia) по п.1



(Ia)

включающий:

1) смешивание калиевого основания в подходящем растворителе совместно со свободной кислотой, соответствующей соли формулы (Ia), в подходящем растворителе;

2) охлаждение полученной суспензии;

3) выделение полученных кристаллов из полученной суспензии;

4) промывание выделенных кристаллов с подходящим растворителем и

5) высушивание выделенных кристаллов с получением кристаллической калиевой соли (Ia);

причем кристаллическая калиевая соль формулы (Ia) находится в форме ангидрата, моногидрата, дигидрата или их дегидратированной форме и соединение формулы (Ia) представляет собой отдельный стереоизомер или любую смесь стереоизомеров.

7. Способ по п.6, где подходящий растворитель для калиевого основания включает органический растворитель и воду, где подходящий растворитель для свободной кислоты включает органический растворитель и воду и где подходящий растворитель для промывания выделенных кристаллов включает органический растворитель и воду.

8. Способ по п.6 или 7, где кристаллическая калиевая соль находится в форме моногидрата, дигидрата, дегидратированного гидрата, смеси гидратов или смеси гидратов и дегидратированных гидратов.

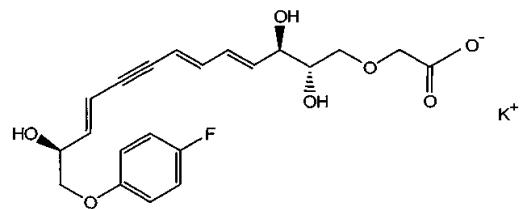
9. Способ по п.6 или 7, где стадию высушивания осуществляют в условиях, которые коррелируют с областью устойчивости моногидратной формы или дигидратной формы с получением моногидратной формы или дегидратной формы, соответственно калиевой соли.

10. Способ по п.9, где условия стадии высушивания включают увлажненный водой продувочный газ со специфическим парциальным давлением или активностью воды, что коррелирует с областью устойчивости моногидратной формы или дигидратной формы.

11. Способ по п.10, где продувочный газ представляет собой N_2 .

12. Способ высушивания кристаллической калиевой соли формулы (Ia), полученной в соответствии с любым из пп.6-11, включающий тщательно отслеживаемую и контролируемую стадию сушки с получением желательного гидратного состояния.

13. Способ синтеза кристаллического ангидрата калиевой соли по п.1



(Ia)

включающий:

1) расщепление гидрата или смеси гидратов калиевой соли формулы (Ia) в подходящем растворителе;

2) нагревание полученной суспензии;

3) выделение полученных кристаллов;

4) промывание выделенных кристаллов с подходящим растворителем и

5) высушивание выделенных кристаллов с получением кристаллической ангидратной формы ка-

лиевой соли (Ia).

14. Способ по п.13, где подходящий растворитель для гидрата или для смеси гидратов калиевой соли включает органический растворитель и где подходящий растворитель для промывания выделенных кристаллов включает органический растворитель.

15. Способ по п.13 или 14, где стадию высушивания осуществляют в условиях, которые коррелируют с областью устойчивости ангидратной формы.

16. Способ по п.15, где условия стадии высушивания включают продувочный газ со специфическим парциальным давлением или активностью воды, что коррелирует с областью устойчивости ангидратной формы.

17. Способ по п.16, где продувочный газ представляет собой N₂.

18. Способ высушивания кристаллического ангидрата калиевой соли формулы (Ia), полученной в соответствии с любым из пп.13-17, включающий тщательно отслеживаемую и контролируемую стадию сушки с получением ангидрата.

19. Фармацевтическая композиция, которая содержит один или несколько фармацевтически приемлемых наполнителей и терапевтически эффективное количество кристаллической калиевой соли по п.1.

20. Применение кристаллической калиевой соли по любому из пп.1-5 для приготовления лекарственного средства.

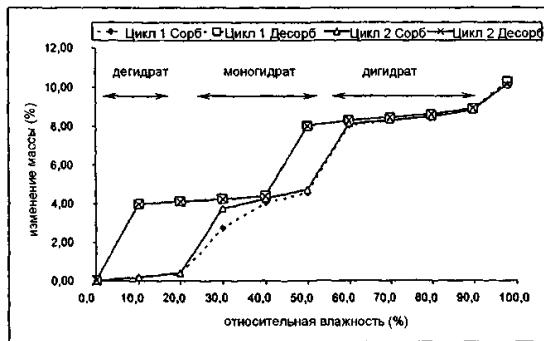
21. Лекарственное средство, включающее терапевтически эффективное количество кристаллической калиевой соли по любому из пп.1-5, для лечения воспалительного заболевания или аутоиммунного нарушения.

22. Лекарственное средство по п.21 для лечения воспалительного заболевания или аутоиммунного нарушения, где воспалительное или аутоиммунное нарушение выбирают из группы, включающей анафилактические реакции, аллергические реакции, аллергический контактный дерматит, аллергический ринит, химический и неспецифический раздражающий контактный дерматит, крапивницу, атопический дерматит, псориаз, fistулы, связанные с болезнью Крона, резервуарный ileит, септический или эндотоксический шок, геморрагический шок, шокообразные синдромы, синдромы повышенной проницаемости капилляров, индуцированные иммунотерапией злокачественного новообразования, синдром острой дыхательной недостаточности, травматический шок, иммунные или индуцированные патогеном пневмонии, повреждение легких, опосредованное иммунным комплексом, хроническое обструктивное заболевание легких, воспалительные заболевания кишечника, включая язвенный колит, болезнь Крона и послеоперационную травму, язвы желудочно-кишечного тракта, заболевания, связанные с ишемически-реперфузионным повреждением, включая острую ишемию миокарда и инфаркт, острую почечную недостаточность, ишемическую болезнь кишечника и острый геморрагический или ишемический удар, гломерулонефрит, опосредованный иммунным комплексом, аутоиммунные заболевания, включая инсулинозависимый сахарный диабет, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, остеоартрит и системную красную волчанку, острое и хроническое отторжение трансплантированного органа, атеросклероз трансплантата и фиброз, сердечно-сосудистые нарушения, включая гипертонию, атеросклероз, аневризму, критическую ишемию нижних конечностей, окклюзионное поражение периферической артерии и синдром Рейно, осложнение диабета, включая диабетическую нейропатию, нейропатию и ретинопатию, заболевания глаз, включая дегенерацию желтого пятна и глаукому, нейродегенеративные нарушения, включая замедленную нейродегенерацию при ударе, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, энцефалит и ВИЧ-деменцию, воспалительную и невропатическую боль, включая боль в суставах, периодонтальное заболевание, включая гингивиты, воспаление среднего уха, мигрень, доброкачественную гиперплазию предстательной железы, злокачественные новообразования, включая лейкозы и лимфомы, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак легкого, злокачественную меланому, почечно-клеточный рак, опухоли головы и шеи и рак ободочной и прямой кишки.

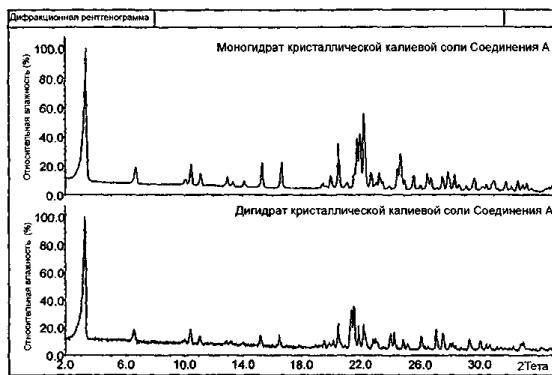
23. Лекарственное средство по п.22 для лечения воспалительного заболевания или аутоиммунного нарушения, где воспалительное или аутоиммунное нарушение представляет собой воспалительное заболевание кишечника, выбранное из группы, которая включает болезнь Крона, резервуарный ileит, язвенный колит и язвы желудочно-кишечного тракта.

24. Лекарственное средство по п.21 для лечения воспалительного заболевания или аутоиммунного нарушения, где болезненное состояние представляет собой воспалительное нарушение легких или дыхательных путей.

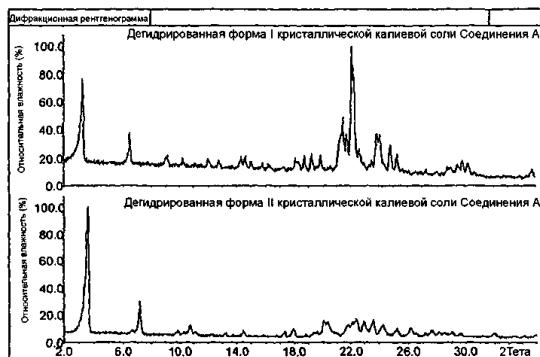
25. Лекарственное средство по п.24 для лечения воспалительного заболевания или аутоиммунного нарушения, где воспалительное нарушение легких или дыхательных путей выбирают из группы, включающей астму, хронический бронхит, бронхиолит, облитерирующий бронхиолит, включая бронхиолит с формирующей пневмонией, аллергическое воспаление дыхательных путей, включая ринит и синусит, эозинофильную гранулему, воспаление легких, пневмосклероз, легочные проявления болезней соединительной ткани, острое или хроническое поражение легких, хроническое обструктивное заболевание легких, синдром расстройства дыхания у взрослых, и другие неинфекционные воспалительные нарушения легких, которые характеризуются эозинофильной инфильтрацией.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3

