



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 106361

(13) C2

(51) МПК

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 31/60 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2011 08389	(72) Винахідник(и):	Відманн Рудольф (АТ)
(22) Дата подання заявки:	04.12.2009	(73) Власник(и):	АОП ОРФАН ФАРМАЦЕЙТИКАЛС АГ, Wilhelminenstr. 91/II f, A-1160 Vienna, Austria (АТ)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	26.08.2014	(74) Представник:	Дубинський Михайло Іллєч, реєстр. №70
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	GM707/2008	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2008090569 A1, 31.07.2008. US 2003158261 A1, 21.08.2003. US 2006246142 A1, 02.11.2006. WO 2005004917 A2, 20.01.2005.
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	05.12.2008		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	АТ		
(41) Публікація відомостей про заявку:	10.08.2011, Бюл.№ 15		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	26.08.2014, Бюл.№ 16		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	РСТ/EP2009/066405, 04.12.2009		

(54) ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЕСЕНЦІАЛЬНОЇ ТРОМБОЦИТЕМІЇ

(57) Реферат:

Винахід належить до фармацевтичної композиції, у формі таблетки або капсули, яка включає частинки анагреліду і щонайменше 60 мг моногідрату лактози, при цьому щонайменше 90 % зазначених частинок анагреліду мають діаметр менше 10 мкм., яка у комбінації з моногідратом лактози дозволяє одержати лікарську форму зі зниженими характеристиками вивільнення при прийманні пацієнтом. Також, що зазначена композиція може додатково містити повідон, кросповідон, мікрокристалічну целюлозу і/або стеарат магнію. Крім того, винахід належить до застосування зазначеної вище фармацевтичної композиції та способу лікування есенціальної тромбоцитемії зазначеною вище фармацевтичною композицією

UA 106361 C2

Цей винахід відноситься до нової фармацевтичної композиції, що містить анагреліду гідрохлорид у комбінації з моногідратом лактози, і її застосуванню для лікування есенціальної тромбоцитемії.

Первинна тромбоцитемія являє собою клональне або поліклональне мієлопроліферативне захворювання кровотворення, яке діагностують у 12 % пацієнтів з тромбоцитозом.

Есенціальну тромбоцитемію (ЕТ) діагностують у 45 % пацієнтів з первинним тромбоцитозом (1). Щоб чітко диференціювати ЕТ від істинної поліцитемії (ІП) і мієлофіброзу (МФ), дослідницькою групою по істинній поліцитемії були визначені діагностичні критерії, (2) які пізніше були уточнені діагностичними інструкціями Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я (ВОЗ) (3, 4).

Діагностичні інструкції ВОЗ уточнюють критерії дослідницької групи по істинній поліцитемії у відношенні ЕТ за допомогою включення даних по гістопатології кісткового мозку і щільності аргірофільних (ретикулін і колаген) волокон, щоб відрізнити ЕТ від ранніх префібротичних стадій ідіопатичного мієлофіброзу (ІМФ) (5, 6, 7).

У пацієнтів з вторинним тромбоцитозом рівень тромбоцитів вище 1500000/мкл являє собою незалежний фактор ризику розвитку тромбоемболічних і геморагічних проявів (8). Додатковими незалежними факторами ризику є тромбоемболії або кровоточивість в анамнезі, мікровазкулярні симптоми і вік старше 65 років (9, 10, 11, 12, 13). Клінічні прояви варіюють від легких симптомів, таких як головний біль, запаморочення і зорові порушення, до ускладнень, що представляють загрозу для життя, таких як тромбоз, кровотеча та інсульт. Оцінка ризику для тромботичних епізодів становить 6,6 % на пацієнта у рік, зростає до 15 % на пацієнта у рік у пацієнтів у віці старше 60 років (14) і найвища у пацієнтів, що перенесли в анамнезі епізоди оклюзії (10).

Прийнято вважати, що пацієнтам з групи високого ризику показана терапія, що знижує рівень тромбоцитів. Близько 50 % пацієнтів мають в анамнезі тромбоз або кровотечу на момент постановки діагнозу і належать до категорії високого ризику (15). Враховуючи всі незалежні фактори ризику, такі як рівень тромбоцитів 1500000/мкл, вік старше 65 років і фактори ризику серцево-судинного характеру, більше 50 % пацієнтів з діагностованою ЕТ потребують терапії. Крім того, пацієнти з симптомами і рівнем тромбоцитів нижче 900000/мкл мають ризик ускладнень і потребують терапії (16). Тромбоз великих судин може відбутися у молодих пацієнтів з рівнем тромбоцитів нижче 900000/мкл (17).

Було продемонстровано, що зниження рівня тромбоцитів зменшує ризик клінічних ускладнень (18). Тому рівень тромбоцитів може служити як індикатор клінічних ускладнень. З'являється усе більше свідчень на користь того, що молоді пацієнти і пацієнти з рівнем тромбоцитів нижче 900000/мкл можуть одержувати користь від лікування, тому що зменшується ризик клінічних ускладнень і прогресуючого судинного захворювання.

В останні роки були використані в основному два засоби лікування: гідроксисечовину (ГС) і альфа-інтерферон. Але в гідроксисечовини є недоліки: 1. ГС не селективна в плані зниження рівня тромбоцитів і впливає на інші компоненти крові, 2. Зростає кількість робіт у яких повідомляється про важкі побічні ефекти, що викликані ГС, включаючи лейкемію. Це особливо турбує, коли молоді пацієнти одержують зазначену терапію протягом тривалого часу. 3. Деякі пацієнти не реагують на терапію ГС.

Альфа-інтерферон доводиться вводити підшкірно, цей препарат має різноманітні ефекти у відношенні інших клітинних ліній, і багато пацієнтів погано його переносять (19).

Анагрелід (імідазо (2, 1-b) хіназолін-2 (3Н)-он, 6,7-дихлор-1,5-дигідромоногідрохлорид) у цей час зареєстрований як препарат другої лінії для пацієнтів з тромбоцитемією. Механізм дії анагреліду селективний відносно мегакаріоцитів і тромбоцитів. Анагрелід можна приймати перорально. Не повідомлялося яких-небудь даних, що свідчили б про мутагенність і розвиток лейкемії при тривалому прийманні зазначеного лікарського засобу. Анагрелід ліцензовано в США з 1997 р. і в Європі з 2001 р. У цей час схваленим показанням для терапевтичного застосування анагреліду в Європі є наступне "для зниження підвищеного рівня тромбоцитів у пацієнтів, що мають ризик есенціальної тромбоцитемії, які не здатні переносити, терапію, що застосовується до них на даний момент, або якщо зазначена терапія не знижує у пацієнтів підвищений рівень тромбоцитів до прийнятних значень" (<http://www.emea.eu.int/humandocs/Humans/EPAR/xagrid/Xagrid.htm>).

Спочатку анагрелід був розроблений як інгібітор агрегації тромбоцитів. Механізм дії анагреліду включає інгібування активності тромбоцитарної цАМФ фосфодієстерази (20). Проте, зазначена активність не опосередковує зниження рівня тромбоцитів. Селективна активність відносно зниження тромбоцитів проявляється тільки в людей, відбувається при використанні набагато меншої дози (21) і опосередкована інгібуванням дозрівання

мегакаріоцитів (22, 23). Анагрелід у терапевтичних концентраціях не діє на утворення колоній мегакаріоцитів і виживання тромбоцитів (22). Точний механізм дії в цей час невідомий. Проте, схоже, що метаболіти анагреліду мають сильну активність щодо зниження тромбоцитів і тому цілком імовірно вносять вклад у його дію (24, 25, 26).

5 Отримані в цей час дані і співвідношення ризик-користь у більшості пацієнтів дозволяють віддати перевагу анагреліду як придатному засобу для терапії більш широкого кола пацієнтів. Сюди також відносяться пацієнти групи ризику молодше 60 років, які неохоче погоджуються починати лікування препаратами потенційно небезпечними відносно розвитку лейкемії, такими як гідроксисечовина.

10 Анагрелід зазнає інтенсивного метаболізму *in vivo* і більше п'яти метаболітів можуть бути визначені в сечі за допомогою ВЕРХ аналізу (27). Два із зазначених метаболітів були ідентифіковані, а саме, біологічно активний 3-гідроксианагрелід і неактивний 2-аміно-5,6-дихлор-3,4-дигідрохіназолон (що інакше називається RL 603)(26).

15 У результаті нещодавніх преклінічних і клінічних досліджень фармакологічних особливостей анагреліду виникли важливі питання щодо його механізму дії та безпеки (26, 28, 29, 30, 31). Дійшли висновку, що, щонайменше, один, уже ідентифікований метаболіт, а саме, 3-гідроксианагрелід, вносить вклад в основну фармакологічну дію анагреліду *in vivo*: зниження рівня тромбоцитів та інгібуючу активність у відношенні PDE 3, тоді як RL 603 позбавлений зазначеної дії (24). Анагрелід швидко перетворюється в 3-гідроксианагрелід, який досягає
20 максимального рівня в плазмі приблизно на 45 хв. пізніше у порівнянні з лікарським засобом попередником (анагрелідом). Досить імовірно, що обидва з'єднання вносять вклад у фармакологічну активність *in vivo*. Як анагрелід, так і 3-гідроксианагрелід швидко виводяться з крові, свідчення кумуляції відсутні. Потрібно від декількох днів до декількох тижнів для досягнення оптимального контролю над рівнем тромбоцитів (29, 30). Тому навряд чи зниження
25 рівня тромбоцитів опосередковане прямою фармакологічною активністю. У цей час невідома молекулярна мішень, що опосередковує ефект відносно мегакаріоцитів і, відповідно, довгочасного зниження рівня тромбоцитів, але вона може включати модуляцію функції c-MPL, що дає в результаті змінену спорідненість до тромбопоєтину (28). Ця гіпотеза підтверджується спостереженням, що потрібно від 4-х до 7-и днів після припинення приймання анагреліду для
30 того, щоб рівень тромбоцитів повернувся до значень, які були до початку терапії.

Навпаки, було знайдено, що цАМФ-залежну PDE 3 являє собою молекулярну мішень, яка опосередковує гострі ефекти анагреліду відносно серцево-судинної системи і агрегації тромбоцитів (20). Головний біль, запаморочення і серцебиття являють собою часті негативні ефекти, що зустрічаються приблизно у 15-44 % пацієнтів протягом першого тижня терапії та, імовірно, опосередковані слабовираженими серцево-судинними і церебральними ефектами
35 терапевтичних доз анагреліду. Ослаблення даних побічних ефектів протягом 2-3 тижнів збігається з розвитком тахіфілаксії (29), яку також спостерігали при застосуванні інших інгібіторів PDE 3 (32). Проте, темпи розвитку і ступінь важкості побічних ефектів з боку серцево-судинної системи типу гіпотензії підвищуються при нарощуванні дозування вище 5 мг, корелюючи з рівнем анагреліду або, що більш важливо, з рівнем 3-гідроксианагреліду у плазмі
40 (29). Також спостерігали підвищення ризику розвитку серцевої недостатності після тривалої терапії у пацієнтів, що одержували мілринон, інший PDE 3 інгібітор з позитивною інотропною активністю (35). Все-таки 3-гідроксианагрелід як інгібітор PDE 3 значно більш активний у порівнянні з анагрелідом (26). Можна припустити, що у пацієнтів, що одержують анагрелід, 3-гідроксианагрелід у першу чергу опосередковує ефекти відносно серцево-судинної системи. Особливо неприємні побічні ефекти, такі як серцебиття, запаморочення або головний біль можуть бути викликані переважно 3-гідроксианагрелідом. Зазначені симптоми представляють проблему для пацієнтів, особливо на початку терапії і можуть бути пов'язані з передчасним
45 припиненням курсу лікування, що наводиться в дослідженнях, який становить до 28 % (29, 30).

50 Повідомляється про відмінності в прояві побічних ефектів при використанні різних лікарських форм анагреліду, при цьому згідно з даними число пацієнтів, що перервали курс лікування анагрелідом, становило від 8 до 28 % (29, 30, 31). Різні фармакокінетичні властивості можуть корелювати з відмінностями фармакодинаміки в плані переносимості та зниження рівня тромбоцитів. Уповільнені темпи абсорбції анагреліду можна зв'язати зі зменшеними
55 максимальним і загальним рівнями анагреліду в плазмі, також як і зі значно більш низькими рівнями 3-гідроксианагреліду. Внаслідок чого можна чекати, що буде проявлятися значно менша частота PDE 3-залежних гострих побічних ефектів.

У патентних заявках США 6,287,599 і 2004/0062800 наведений опис фармацевтичних композицій з уповільненим вивільненням і зниженою рН - залежністю профілів розчинності.
60 Серед інших наведено опис таблеток, що містять анагрелід у кількості 2,44 мг анагреліду HCl на

таблетку. В WO2005/112917A1 наведено опис композицій, що містять селективні цитокін-інгібуючі лікарські речовини, для лікування мієлопроліферативних захворювань, у яких анагрелід являє собою другу діючу речовину.

У патентних заявках США 2007/104782A1 і WO2007/016350A2 наведено опис приготування таблеток з незалежним від рівня рН вивільненням діючої речовини і поліпшеними механічними властивостями, що містять співполімер метакрилової кислоти.

У патентних заявках США 2005/0249814A1 і 2005/0008704A1 наведено опис лікарських форм, що містять сполуку, що має, щонайменше, одну карбоксильну групу, здатних швидко розчинятися при контакті з фізіологічними розчинниками.

Метою цього винаходу є зробити доступною нову композицію анагреліду з уповільненим і добре передбачуваним профілем вивільнення, яка може бути використана для профілактики і лікування симптомів, пов'язаних з хронічними мієлопроліферативними розладами, такими як есенціальна тромбоцитемія, але яка позбавлена деяких добре відомих побічних ефектів терапії анагрелідом, що відноситься до його основного метаболіту, 3-гідроксианагреліду.

Зазначена мета досягається за рахунок варіантів реалізації цієї патентної заявки.

Цей винахід відноситься до нової композиції анагреліду, яка забезпечує уповільнене вивільнення активного інгредієнта анагреліду, причому анагрелід HCl перебуває в дрібнодисперсному стані. Показано, що фармацевтичні композиції, які містять анагрелід у комбінації з моногідратом лактози, дозволяють одержати лікарську форму зі зменшеними характеристиками вивільнення при прийманні пацієнтом.

Зазначена фармацевтична композиція додатково може містити мікрокристалічну целюлозу і піролідони типу повідону і/або кросповідону.

Графічні матеріали:

Фігура 1: Концентрації анагреліду після приймання звичайної (P) або нової (N) лікарської композиції анагреліду (середнє \pm стандартна помилка). Значення Cmax у плазмі крові значно різнилися ($p < 0,01$) після приймання, відповідно, звичайної і нової лікарської композиції.

Фігура 2: Концентрації 3-гідроксианагреліду (3-OH) у плазмі крові після приймання звичайної (P) або нової (N) лікарської композиції анагреліду (середнє \pm стандартна помилка). Значення Cmax у плазмі крові значно різнилися ($p < 0,01$) після приймання, відповідно, звичайної та нової лікарської композиції.

Докладний опис винаходу

Згідно з даним винаходом запропонована фармацевтична композиція, що містить частинки анагреліду гідрохлориду, причому, щонайменше, 90 % зазначених частинок анагреліду менше 10 мкм у діаметрі, і, щонайменше, 60 мг моногідрату лактози.

Зокрема, анагрелід міститься у вигляді анагреліду гідрохлориду в кількості меншій, ніж 1 мг, переважно меншій, ніж 0,70 мг, переважно меншій, ніж 0,65 мг, переважно між 0,54 і 0,60 мг, переважно в кількості близько 0,57 мг. Анагрелід HCl відповідно до цього винаходу представлений у формі мікронізованого анагреліду, що має розмір частинок менше 15 мкм, краще менше 10 мкм. Відповідно до одного з варіантів реалізації даного винаходу середній розмір частинок анагреліду в препараті становить близько 5 мкм.

Використання дрібних частинок анагреліду діаметром менше 15 мкм, особливо менше 10 мкм особливо привабливо для фармацевтичних препаратів, що містять низькі концентрації анагреліду, оскільки їх застосування забезпечує дуже однорідний розподіл і/або гарне передбачуване вивільнення активного інгредієнта анагреліду.

Термін "середній розмір частинок близько 5 мкм" означає згідно з даним винаходом, що, щонайменше, 50 % частинок менше 5 мкм і, щонайменше, 90 % менше 10 мкм у діаметрі.

Терміни анагрелід, частинки анагреліду і анагрелід HCl використані для позначення активної сполуки імідазо (2, 1-b) хіназолін-2 (3H)-он, 6,7-дихлор-1,5-дигідромоногідрохлориду згідно з цим винаходом.

Мікронізацією у даній галузі техніки називається процес зменшення середнього діаметра частинок твердого матеріалу. Згідно з цим винаходом "мікронізацію" здійснюють за допомогою відомих методів, наприклад методом RESS (Rapid Expansion of Supercritical Solution швидкого розширення надкритичних розчинів) і PGSS (Particles from Gas Saturated Solution - частинки з розчинів, насичених газом). Моногідрат лактози може міститися у кількості, щонайменше, 60 мг, краще 90 мг, краще 93,9 мг.

Зазначена композиція може додатково містити піролідон, наприклад, повідон у кількості від 4 до 13 мг, краще в кількості 5,5 і 6,6 мг, краще 6 мг, і поперечно-зшитий піролідон, наприклад, кросповідон у кількості від 3,5 до 13 мг, краще в кількості від 5 до 6 мг, краще в кількості 5,5 мг.

Можливо також, що ця композиція містить мікрокристалічну целюлозу. Зокрема, присутність піролідонів, особливо зшитих піролідонів може вносити вклад у вигідні властивості

вповільненого вивільнення лікарської форми. Мікрокристалічна целюлоза може міститися в кількості від 13 до 39 мг, краще в кількості від 20 до 25 мг, краще 22,5 мг.

Додаткові фармацевтично прийнятні речовини відомі в цій галузі також можуть міститися у фармацевтичній композиції згідно з цим винаходом. Наприклад, зазначені субстанції можуть

5 включати стеарат магнію і безводну лактозу.

Відповідно до одного з варіантів реалізації цього винаходу фармацевтична композиція включає анагрелід HCl, моногідрат лактози, повідон, кросповідон, мікрокристалічну целюлозу і стеарат магнію.

Точніше, фармацевтична композиція включає

10 0,57 мг анагреліду HCl

93,9 мг моногідрату лактози

6,0 мг повідону

5,5 мг кросповідону

22,5 мг мікрокристалічної целюлози

15 1,5 мг стеарату магнію.

Було показано, що ця композиція має вигідні властивості відносно характеристик вивільнення лікарського засобу. Лікарські засоби, що містять анагрелід, які застосовуються в цей час, являють собою лікарські засоби з негайним вивільненням діючої речовини, коли більше 90 % анагреліду вивільняється протягом перших десяти хвилин. Нова лікарська форма

20 анагреліду, навпаки, вивільняє лише приблизно 50 % анагреліду протягом перших десяти хвилин *in vitro*, а протягом до 30-и хвилин вивільняється приблизно 90 % *in vitro*.

Зокрема, фармацевтична композиція згідно з цим винаходом проявляє максимальне вивільнення, щонайменше, через 60 хвилин після перорального приймання *in vivo*.

Композицію згідно з цим винаходом можна застосовувати перорально, наприклад, у формі 25 таблеток або капсул. Згідно з цим варіантом реалізації, капсули типу желатинових капсул являють собою приватну фармацевтичну форму для перорального застосування.

Було показано, що зазначена композиція має поліпшені властивості через характеристики вивільнення лікарського засобу. Лікарські засоби, що містять анагрелід, які застосовуються в 30 цей час, являють собою лікарські засоби з негайним вивільненням діючої речовини, коли анагрелід може бути визначений у плазмі крові пацієнта протягом лічених хвилин після перорального застосування. Зокрема, у плані кращої переносимості та зменшення побічних ефектів, а також при необхідності тривалої терапії краще мати в розпорядженні лікарський препарат з уповільненим вивільненням діючої речовини, що виражається в уповільненому, але більш постійному виділенні анагреліду. Зокрема, при використанні запропонованої згідно з цим 35 винаходом фармацевтичної композиції анагрелід може бути визначений у плазмі крові в максимальній концентрації приблизно через 60 хвилин, краще через 90 хвилин, ще краще через 120 хвилин після того, як зазначена композиція прийнята пацієнтом.

Зокрема, у плані кращої переносимості і зменшення побічних ефектів, що відносяться до 3-гідроксанагреліду краще мати в розпорядженні лікарський препарат з уповільненим 40 вивільненням діючої речовини, що виражається в уповільненому виділенні анагреліду, і, отже, у більш низькому максимальному рівні 3-гідроксанагреліду в плазмі крові.

Композиція згідно з цим винаходом, що містить анагрелід HCl, додатково проявляє властивість поліпшеної переносимості через те, що концентрація анагреліду HCl низька. Вміст анагреліду становить менше 1 мг, краще менше 0,70 мг, краще менше 0,65 мг, краще від 0,54 45 до 0,60 мг, краще в кількості 0,57 мг.

Завдяки новим властивостям вивільнення діючої речовини властивим композиціям згідно з цим винаходом вони особливо корисні для використання як першої лінії терапії есенціальної тромбоцитемії, але можуть бути використані також і як друга лінія терапії. Композиція згідно з цим винаходом особливо краща для лікування пацієнтів з недавно встановленим діагнозом, 50 оскільки неприємні побічні ефекти відносно серцево-судинної системи, такі як серцебиття, запаморочення або головний біль звичайно мають місце протягом перших тижнів лікування і можуть приводити до передчасного припинення терапії анагрелідом або збільшенню випадків відмов від лікування з боку пацієнтів.

Можливо також, застосування композиції згідно з цим винаходом у пацієнтів, які не 55 переносять проведену на цей момент терапію або чий підвищений рівень тромбоцитів крові не знижується до прийнятних значень при проведеній терапії.

Рекомендована початкова доза становить 1 мг/день протягом 1-го тижня, зазначена доза щотижня уточнюється, поки не досягається оптимальний контроль тромбоцитів. Звичайне зменшення рівня тромбоцитів досягають при дозі 1-3 мг/день.

Композиція, що містить анагрелід HCl, може бути призначена кілька разів протягом дня, поки не буде досягнута доза, при якій досягається зменшення рівня тромбоцитів, зокрема, дозу призначають вранці і ввечері.

Приклади, опис яких наведено в тексті даного документа, мають згідно з цим винаходом ілюстративний характер і не є обмежувачими. Описані різні варіанти реалізації цього винаходу. Можлива безліч модифікацій і варіацій заснованих на методиках, описаних та ілюстрованих у тексті даного документа, які перебувають у рамках сутності і обсягу цього винаходу. Відповідно, слід розуміти, що ці приклади є лише ілюстративними та не обмежувачими обсяг цього винаходу.

Приклади:

Дослідження розчинення *in vitro*:

Аналіз проводили згідно з Європейською Фармакопеею (метод 2.9.3, (36)) "тест розчинення для твердих лікарських форм" за допомогою лопаткового методу, у якому тверду лікарську форму поміщають в пристрій, що містить придатне середовище (500 мл) при $37 \pm 0,5$ °C і певної робочої швидкості лопати. Для вимірювання профілю розчинення, відповідно, звичайної і нової лікарської композиції, для кожного експерименту одну 0,5 мг капсулу поміщали в пристрій, що містить середовище (0,1 M HCl, що містить 0,1 % додецилсульфату натрію для поліпшення розчинності анагреліду). Проби брали через 0, 5, 10, 15, 30 і 60 хвилин, у шести експериментах на одну лікарську форму і аналізували методом ВЕРХ. Результати представлені як $\% \pm \text{SD}$ анагреліду (відсоток \pm стандартне відхилення), вивільненого з номінальної кількості, що міститься в капсулі, потім профіль розчинення аналізували за допомогою t-тесту Стюдента для парних порівнянь.

Фармакокінетичне дослідження:

Фармакокінетичне дослідження проводили для порівняння біодоступності звичайної і нової лікарських композицій анагреліду в перехресному подвійному сліпому випробуванні з разовою дозою, що застосовується у два приймання (період вимивання становив 7 днів) при дозі 2 мг ($4 \times 0,5$ мг перорально, що застосовуються як одна доза). Волонтерами були 24 здорових чоловіків і жінок, відібраних відповідно до критеріїв, рекомендованих відповідних інструкцій (37). Був виконаний клінічний і лабораторний скринінг, узяті підписи про згоду і проведене фізикальне обстеження. Оцінюваний розмір вибірки, щонайменше, 24 суб'єкта мав потужність $>0,8$ при $CV < 0,235$ для інтервалу біоеквівалентності 80-120 %. Біостатистик Код рандомізації був згенерований біостатистиком, згідно з яким волонтерам у випадковому порядку призначали терапію новою і звичайною лікарською композицією. Дотримання запропонованого лікування забезпечувалося контролем якості, кров брали перед прийманням дози (0 год.), і через 20 хв, 40 хв, 1 год., 1 год. 20, 1 год. 40, 2 год., 2 год. 30, 3 год., 3 год. 30, 4 год., 5 год., 6 год., 8 год., 12 год. і 24 год. після приймання лікарського засобу. Проби крові негайно центрифугували протягом 10 хв при 3000 об./хв і $+4$ °C. Побічні ефекти фіксувалися клінічним дослідницьким персоналом, для якого досліджувані групи були "маскованими". Статистичний план визначив, що всі первинні параметри, тобто фармакокінетичні параметри повинні бути представлені з 90 % CI, а для всіх додаткових параметрів використовували описову статистику. Фармакокінетичні параметри ($AUC_{0-\infty}$, C_{max} , t_{max} , і $t_{1/2}$) обчислювали за допомогою Kinetica 2000® Версія 4.2 (Innaphase Clinical Information Engineering, Philadelphia, PA, USA). Статистичний аналіз для біоеквівалентності зазначених двох лікарських форм проводили за допомогою Analyses of Variance (ANOVA) стосовно значень цільових параметрів, щоб оцінити залишкову помилку і, таким чином, побудувати довірчі інтервали, що включають оцінку наявності періодичних або послідовних ефектів. Використовували наступні програми: для статистичного аналізу SAS® Версія 8.1 (SAS® Institute, Cary, NC, USA), для дослідження нормальності розподілу розрахованих даних фармакокінетичних параметрів SAS® PROC INSIGHT (Distribution Test), для розрахунків ANOVA даних фармакокінетичних параметрів SAS® PROC GLM (General Linear Models) або PROC MIXED (Mixed Models) і для непараметричних аналізів t_{max} EQUIV-Test® (Statistical Solutions, Broadway, MA, USA). Біоеквівалентність оцінювали згідно з діючими інструкціями з визначеними обмеженнями від 80 до 125 % для CI лікарського засобу, що тестується/лікарського засобу порівняння для C_{max} і $AUC_{0-\infty}$ при потужності 80 % (37). Кількість загальних побічних ефектів аналізували за допомогою парного t-тесту Стюдента.

(Таблиця 1).

Таблиця 1

Розчинення in vitro двох лікарських форм анагреліду в 0,1 М HCl/0,1 % додецилсульфат натрію

Час (хв)	нова лікарська композиція		звичайна лікарська композиція		Р*
	%	SD	%	SD	
0	0,0	0,0	0,0	0,0	
5	23,6	8,6	89,1	2,4	<0,05
10	57,6	9,3	95,7	0,6	<0,05
15	77,4	8,1	95,9	0,5	<0,05
30	93,6	4,2	95,4	0,5	незначне
60	92,0	2,4	94,9	0,5	незначне

* t-тест Стьюдента для парних порівнянь.

Коли зрівняли рівні анагреліду в плазмі крові у 24 волонтерів після приймання нової або звичайної лікарських композицій анагреліду, стала очевидна відмінність у властивостях обох лікарських композицій: максимальна концентрація в плазмі крові (C_{max}) і площа-під-кривою (AUC_{0-∞}) були значно нижче (p < 0,001) для нової лікарської композиції у порівнянні зі звичайною лікарською композицією (точкова оцінка (PE) 66 %, 90 % довірчі інтервали (CI) 58-76 % і, відповідно, PE 77 %, 90 % CI 69-87 %), таким чином, виявилися далеко за межами інтервалу, необхідного Європейськими інструкціями у відношенні біоеквівалентності (80-125 %) (12) (Фігура 1).

Фармакокінетичні характеристики 3-гідроксианагреліду після приймання нової лікарської композиції були також нижче у відношенні C_{max} (PE 80 %; 90 % CI 67-84 %, p<0,001) і у відношенні AUC_{0-∞} values (PE 82 %; 90 % CI 75-87 %, p<0,001) у порівнянні зі звичайною лікарською композицією. Максимальні рівні 3-гідроксианагреліду після приймання звичайної лікарської композиції спостерігали протягом 1 години (Фігура 2). Навпаки, після приймання нової лікарської композиції спостерігали затримку в 60 хвилин.

У цілому 75 побічних ефектів було зафіксовано протягом усього дослідження; 46 мали місце в групі тих, що приймали звичайну лікарську композицію проти 29 у групі тих, що приймали нову лікарську композицію (p=0,05, t-тест Стьюдента). Зазначена відмінність у кількості побічних ефектів була найбільше виражена відносно головного болю (19 проти 9) і запаморочення (12 проти 7) (Таблиця 2).

Таблиця 2

Побічні ефекти у 24 здоровіших волонтерів
після разової 2 мг дози нової або звичайної лікарської композиції анагреліду

	нова лікарська композиція	звичайна лікарська композиція	Усього
Кількість побічних ефектів	29	46	75*
Кількість волонтерів, що повідомили про побічні ефекти	16	15	19
Головний біль	9	17	26
Запаморочення	7	12	19
Серцебиття	7	6	13
Нудота	3	7	10
Блювота	2	2	4
Болі в животі		1	1
Дисменорея	1		1
Симптоми, що нагадують застуду	1		1
Гіпербілірубінемія		1	1
Зміна рівня лейкоцитів	1		1

*p=0,05 (t-тест Стьюдента).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

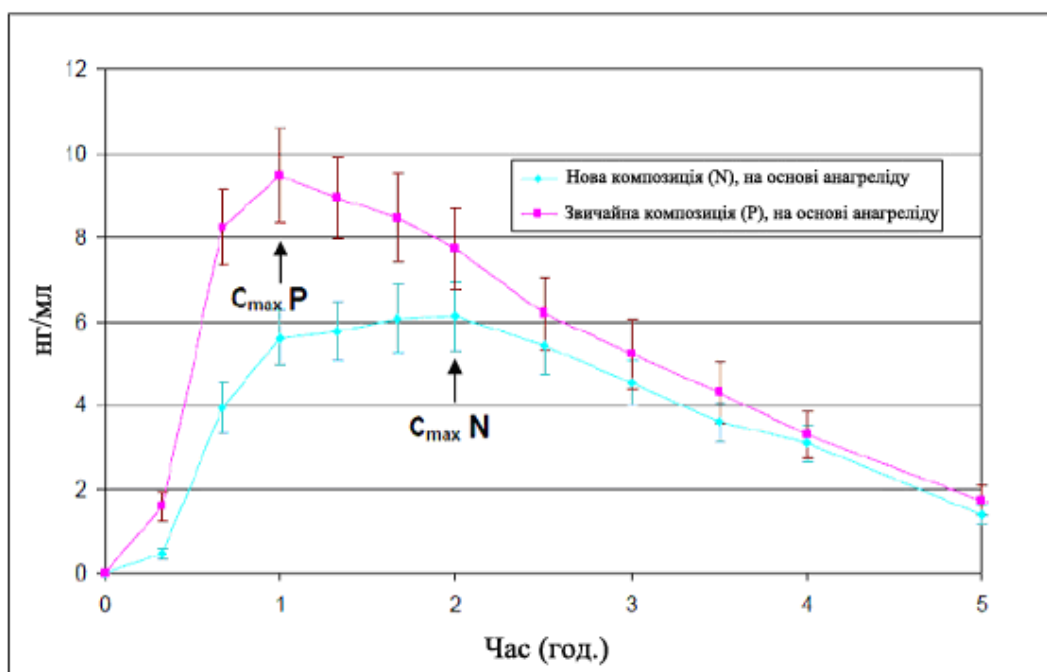
1. Griesshammer, M., Bangerter, M., Sauer, T., Wennauer, R., Bergmann, L., Heimpel, H. (1999). Aetiology and clinical significance of thrombocytosis: analysis of 732 patients with an elevated platelet count. *Journal of Internal Medicine* 245, 295-300.
2. Murphy, S., Peterson, P., Iland, H., Laszlo, J. (1997). Experience of the Polycythemia Vera Study Group with essential thrombocythemia: a final report on diagnostic criteria, survival, and leukemic transition by treatment. *Semin Hematol* 34, 29-39.
3. Imbert, M., Pierre, R., Thiele, J., Vardiman, J. W., Brunning, R.D., Flandrin, G. (2001). *Essential thrombocythemia* (Lyon: IARC Press).
4. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, Kvasnicka HM, Barbui et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis. Recommendations from an ad hoc international panel. *Blood*. 2007; 110:1092-1097.
5. Thiele, J., and Kvasnicka, H.M. (2003). Chronic myeloproliferative disorders with thrombocythemia: a comparative study of two classification systems (PVSG, WHO) on 839 patients. *Ann Hematol* 82, 148-152. Epub 2003 Feb 22.
6. Thiele, J., Kvasnicka, H.M., Fischer, R. (1999). Histochemistry and morphometry on bone marrow biopsies in chronic myeloproliferative disorders-aids to diagnosis and classification. *Ann Hematol* 78, 495-506.
7. Thiele, J., Kvasnicka, H.M., Zankovich, R., Diehl, V. (2000). Relevance of bone marrow features in the differential diagnosis between essential thrombocythemia and early stage idiopathic myelofibrosis. *Haematologica* 85, 1126-1134.
8. Schafer, A.I. (2004). Thrombocytosis. *N Engl J Med* 350, 1211-1219.
9. Barbui, T., Barosi, G., Grossi, A., Gugliotta, L., Liberato, L.N., Marchetti, M., Mazzucconi, M.G., Rodeghiero, F., Tura, S. (2004). Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica* 89, 215-232.
10. Barbui, T., Finazzi, G., Dupuy, E., Kiladjian, J.J., and Briere, J. (1996). Treatment strategies in essential thrombocythemia. A critical appraisal of various experiences in different centers. *Leuk Lymphoma* 22 Suppl 1:149-60.
11. Cortelazzo, S., Finazzi, G., Ruggeri, M., Vestri, O., Galli, M., Rodeghiero, F., Barbui, T. (1995). Hydroxyurea for Patients with Essential Thrombocythemia and a High Risk of Thrombosis. *N Engl J Med* 332, 1132.
12. Cortelazzo, S., Viero, P., Finazzi, G., D'Emilio, A., Rodeghiero, F., Barbui, T. (1990). Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 8, 556.
13. Harrison, C.N. (2002). Current trends in essential thrombocythaemia. *British Journal of Haematology* 117, 796-808.
14. Lengfelder, E., Hochhaus, A., Kronawitter, U., Hoche, D., Queisser, W., Jahn-Eder, M., Burkhardt, R., Reiter, A., Ansari, H., Hehlmann, R. (1998). Should a platelet limit of $600 \times 10^9/l$ be used as a diagnostic criterion in essential thrombocythaemia? An analysis of the natural course including early stages. *British Journal of Haematology* 100, 15-23.
15. Harrison, C.N., Gale, R.E., Machin, S.J., Linch, D.C. (1999). A Large Proportion of Patients With a Diagnosis of Essential Thrombocythemia Do Not Have a Clonal Disorder and May Be at Lower Risk of Thrombotic Complications. *Blood* 93, 417.
16. Millard, F.E., Hunter, C.S., Anderson, M., Edelman, M.J., Kosty, M.P., Luiken, G.A., Marino, G.G. (1990). Clinical manifestations of essential thrombocythemia in young adults. *Am J Hematol* 33, 27-31.
17. Johnson, M., Gernsheimer, T., Johansen, K. (1995). Essential thrombocytosis: underemphasized cause of large-vessel thrombosis. *J Vasc Surg* 22, 443-447; discussion 448-449.
18. Lahuerta-Palacios, J.J., Bornstein, R., Fernandez-Debora, F.J., Gutierrez-Rivas, E., Ortiz, M.C., Larregla, S., Calandre, L., Montero-Castillo, J. (1988). Controlled and uncontrolled thrombocytosis. Its clinical role in essential thrombocythemia. *Cancer* 61, 1207-1212.
19. Lengfelder, E., Griesshammer, M., Hehlmann, R. (1996). Interferon-alpha in the treatment of essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 22 Suppl 1:135-42.
20. Gillespie, E. (1988). Anagrelide: a potent and selective inhibitor of platelet cyclic AMP phosphodiesterase enzyme activity. *Biochem Pharmacol* 37, 2866-2868.

21. Spencer, C.M., Brogden, R.N. (1994). Anagrelide. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in the treatment of thrombocythaemia. *Drugs* 47, 809-822.
22. Mazur, E., Rosmarin, A., Sohl, P., Newton, J., Narendran, A. (1992). Analysis of the
5 mechanism of anagrelide-induced thrombocytopenia in humans. *Blood* 79, 1931.
23. Tefferi, A., Silverstein, M.N., Pettit, R.M., Mesa, R.A., Solberg, L.A.J. (1997). Anagrelide as a new platelet-lowering agent in essential thrombocythemia: mechanism of action, efficacy, toxicity, current indications. *Semin Thromb Hemost* 23, 379-383.
24. Erusalimsky, J.D., Hong, Y., Franklin, R. (2002). Is the platelet lowering activity of anagrelide
10 mediated by its major metabolite 2-amino-5,6-dichloro-3,4-dihydroquinazoline (RL603)? *Exp Hematol* 30, 625-626; author reply 626-627.
25. Lane, W.J., Hattori, K., Dias, S., Peerschke, E.I., Moore, M.A., Blanset, D.L., Lang, P.C., Petrone, M., Rafii, S. (2001). Anagrelide metabolite induces thrombocytopenia in mice by inhibiting megakaryocyte maturation without inducing platelet aggregation. *Exp Hematol* 29, 1417-1424.
26. Wang, G., Franklin, R., Hong, Y., Erusalimsky, J.D. (2005). Comparison of the biological
15 activities of anagrelide and its major metabolites in haematopoietic cell cultures. *Br J Pharmacol*.
27. GAVER RC, DEEB G, PITTMAN KA, SMYTH RD. Disposition of anagrelide, an inhibitor of platelet aggregation. *Clin Pharmacol Ther*. 1981; 29:381-6.
28. McCARTY JM, MELONE PD, SIMANIS JP, KANAMORI D, DESSYPRIS EN, WARSHAMANA,
20 GREENE GS. A preliminary investigation into the action of anagrelide: thrombopoietin-c-Mpl receptor interactions. *Exp Hematol*. 2006 34:87-96.
29. STEURER M, GASTL G, JEDRZEJCZAK WW, PYTLIK R, LIN W, SCHLOGL E et al. Anagrelide for thrombocytosis in myeloproliferative disorders: a prospective study to assess efficacy and adverse event profile. *Cancer*. 2004; 101:2239-46.
30. BIRGEGARD G, BJORKHOLM M, KUTTI J, LARFARS G, LOFVENBERG E, MARKEVAN B
25 et al. Adverse effects and benefits of two years of anagrelide treatment for thrombocythemia in chronic myeloproliferative disorders. *Haematologica*. 2004; 89:520-7.
31. HARRISON CN, CAMPBELL PJ, BUCK G, WHEATLEY K, EAST CL, BAREFORD D et al. United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia 1 Study. Hydroxyurea
30 compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2005; 353:33-45.
32. BEAVO JA. cGMP inhibition of heart phosphodiesterase: is it clinically relevant? *J Clin Invest*. 1995; 95:445.
33. JAMES CW. Anagrelide-induced cardiomyopathy. *Pharmacotherapy*. 2000; 20:1224-7.
34. ENGEL PJ, JOHNSON H, BAUGHAM RP, RICHARDS AI. High-output heart failure
35 associated with anagrelide therapy for essential thrombocytosis. *Ann Intern Med*. 2005; 143:311-3.
35. PACKER M, CARVER JR, RODEHEFFER RJ, IVANHOE RJ, DiBIANCO R, ZELDIS SM et al. Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. The PROMISE Study Research Group. *N Engl J Med*. 1991; 325: 1468-75.
36. European Pharmacopea, 6th edition, 2008, Chapter 2.9.3, 267, Apparatus 2.
37. Note for Guidance for the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence
40 (CPMP/EWP/QWP/1401/98 (July 2001), <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/ewp/140198en.pdf>).

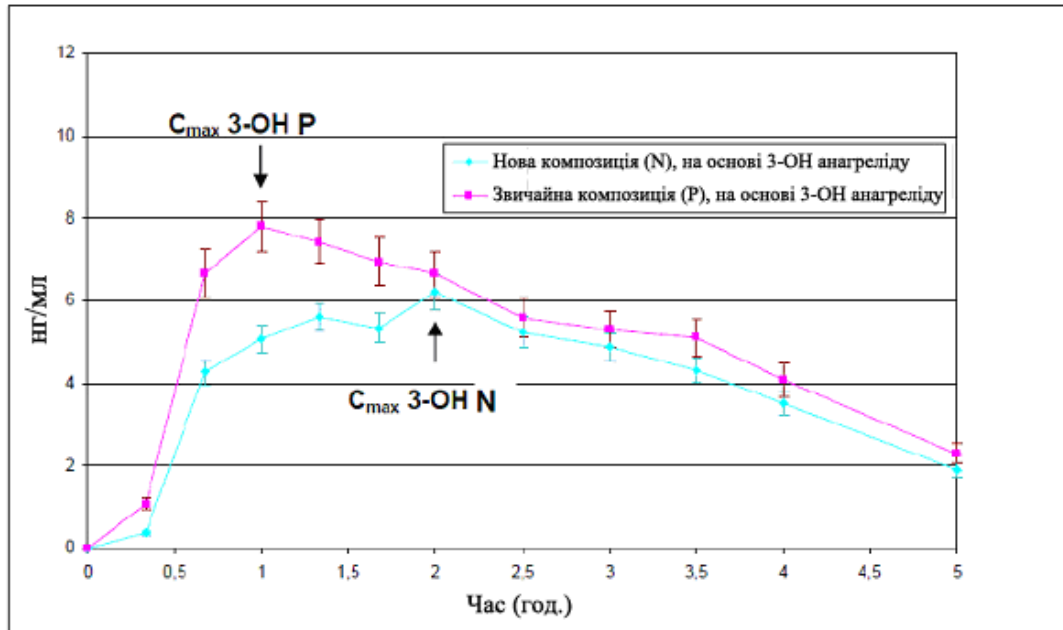
ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

- 45 1. Фармацевтична композиція, у формі таблетки або капсули, яка включає частинки анагреліду і щонайменше 60 мг моногідрату лактози, при цьому щонайменше 90 % зазначених частинок анагреліду мають діаметр менше 10 мкм.
2. Фармацевтична композиція за п. 1, яка містить анагрелід у кількості менше 1 мг, краще менше 0,70 мг, краще менше 0,65 мг, краще від 0,54 до 0,60 мг, краще в кількості 0,57 мг.
- 50 3. Фармацевтична композиція за п. 1 або 2, яка містить щонайменше 60 мг, краще щонайменше 90 мг, ще краще щонайменше 93,9 мг моногідрату лактози.
4. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 1-3, яка **відрізняється** тим, що частинки анагреліду мають середній розмір приблизно 5 мкм.
5. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 1-4, яка **відрізняється** тим, що містить повідон
55 у кількості від 4 до 13 мг, краще в кількості від 5,5 до 6,6 мг, краще в кількості 6 мг.
6. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 1-5, яка **відрізняється** тим, що містить кросповідон у кількості від 3,5 до 13 мг, краще в кількості від 5 до 6 мг, краще в кількості 5,5 мг.
7. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 1-6, яка **відрізняється** тим, що містить мікрокристалічну целюлозу.

8. Фармацевтична композиція за п. 7, яка **відрізняється** тим, що містить щонайменше 15 мг, краще щонайменше 20 мг, краще щонайменше 22,5 мг кристалічної целюлози.
9. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 1-8, яка **відрізняється** тим, що містить фармацевтично прийнятні наповнювачі, краще вибрані із групи, що включає кросповідон, повідон і стеарат магнію.
10. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 1-9, яка **відрізняється** тим, що проявляє максимальне вивільнення в плазмі крові щонайменше через 60 хвилин після перорального застосування.
11. Фармацевтична композиція, яка містить 0,57 мг анагреліду HCl, 93,9 мг моногідрату лактози, 6 мг повідону, 5,5 мг кросповідону, 22,5 мг мікрокристалічної целюлози і 1,5 мг стеарату магнію.
12. Спосіб лікування есенціальної тромбоцитемії, який включає введення фармацевтичної композиції за будь-яким з пп. 1-11 суб'єктові, який цього потребує.
13. Застосування фармацевтичної композиції за будь-яким з пп. 1-11 для лікування есенціальної тромбоцитемії.



Фіг. 1



Фіг. 2

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601