



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **76124** (13) **C2**  
(51) МПК (2006)  
**C07D 333/64** (2006.01)  
**A61K 31/381**  
**A61K 31/445**  
**A61P 19/10** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

**(54) КРИСТАЛІЧНА ФОРМА ГІДРОХЛОРИДУ 6-ГІДРОКСИ-3-(4-[2-(ПІПЕРИДИН-1-ІЛ)ЕТОКСИ]ФЕНОКСИ)-2-(4-МЕТОКСИФЕНІЛ)БЕНЗО[В]ТІОФЕНУ, ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ТА СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ**

1

(21) 2003043576  
(22) 18.10.2001  
(24) 17.07.2006  
(86) PCT/US01/27773, 18.10.2001  
(31) 60/242,252  
(32) 20.10.2000  
(33) US  
(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.  
(72) Люк Уейн Дуглас, US  
(73) ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ, US  
(56) EP, A, 0 729 956, 04.09.1996  
WO, A, 98/45287, 15.10.1998  
RABASSEDA et al.: "Arzoxifene hydrochloride",  
DRUGS OF THE FUTURE, 1999, vol. 24, no. 6,  
pages 599-604  
(57) 1. Несольватований безводний кристалічний  
гідрохлорид 6-гідрокси-3-(4-[2-(піперидин-1-  
іл)етокси]-фенокси)-2-(4-метоксифеніл)бензо  
[b]тіофену, який має рентгенодифракційну карти-  
ну, одержану із застосуванням мідного джерела  
випромінювання ( $\text{CuK}\alpha$ ;  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ ), що вклю-  
чає щонайменше один із піків зі значеннями  $2\theta$   
7,3 $\pm$ 0,2°, 15,5 $\pm$ 0,2° і 17,6 $\pm$ 0,2°.

2

2. Кристалічна сполука за п. 1, де згадана рентге-  
нодифракційна картина включає додатково що-  
найменше один із піків зі значеннями  $2\theta$  17,9 $\pm$ 0,2°,  
18,2 $\pm$ 0,2°, 18,9 $\pm$ 0,2° і 21,5 $\pm$ 0,2°.  
3. Фармацевтична композиція, яка містить криста-  
лічну сполуку за п. 1 та один або кілька фармацев-  
тичних носіїв, розріджувачів або наповнювачів.  
4. Спосіб одержання сполуки за п. 1, який включає  
кристалізацію гідрохлориду 6-гідрокси-3-(4-[2-  
(піперидин-1-іл)етокси]-фенокси)-2-(4-  
метоксифеніл)бензо[b]тіофену із кристалізаційного  
розчинника, вибраного з групи, до якої входять:  
метанол або водний метанол, етанол та ізопропа-  
нол; і подальше висушування одержаної твердої  
речовини до постійної маси.  
5. Спосіб за п. 4, де згаданим розчинником є вод-  
ний метанол і об'ємна частка води у метанольно-  
водній суміші становить від 20 % до 5 %.  
6. Спосіб за п. 5, де згадана частка стано-  
вить 15%.  
7. Сполука за п. 1 для інгібування остеопорозу.  
8. Застосування сполуки за п. 1 для виготовлення  
лікарського засобу для інгібування остеопорозу.

Гідрохлорид 6-гідрокси-3-(4-[2-(піперидин-1-  
іл)етокси]-фенокси)-2-(4-метоксифеніл)бензо  
[b]тіофену (арзоксифен) вперше описаний як лі-  
карська речовина загального типу в патенті США  
№5,510,357 і конкретно розкритий в патенті США  
№5,723,474 ('474) і в заявці на європейський па-  
тент 0729956. Арзоксифен є нестероїдним зміша-  
ним антагоністом/агоністом естрогену, корисним,  
зокрема, для зниження рівня холестерину в плазмі  
та для інгібування гіперліпідемії, остеопорозу, ес-  
троген-залежного раку, в тому числі раку молочної  
залози та матки, ендометриу, розладів централь-  
ної нервової системи, в тому числі хвороби Альц-

геймера, проліферації клітин гладеньких м'язів  
аорти та рестенозу.

Конкретно, арзоксифен є корисним і клінічно  
випробуваний для лікування рецептор-  
позитивного метастатичного раку молочної залози;  
для допоміжного лікування рецептор-позитивних  
пацієнтів після відповідної системної або локаль-  
ної терапії; для зниження рецидивів інвазивного та  
неінвазивного раку молочної залози; і для знижен-  
ня захворюваності на інвазивний рак молочної  
залози та дуктальну карциному in situ (DCIS). Ар-  
зоксифен також корисний в комбінації з радіотера-  
пією, інгібіторами ароматази, аналогами LHRH  
(гормону виділення лютеїнізуючого гормону) та

(13) **C2**

(11) **76124**

(19) **UA**

інгібіторами ацетилхолінестерази (AChE).

Застосування рентгенодифракційного дослідження порошку (XRD), термогравіметричного аналізу (ТГА), вимірювання протонного магнітного резонансу (<sup>1</sup>H-ЯМР) та визначення води за Карлом Фішером (КФ) для загального дослідження арзоксифену, одержаного за методиками, описаними в патенті '474, посвідчило, що згаданий матеріал є гідратованим, має низький ступінь кристалічності і містить у кристалічній ґратці леткий органічний розчинник (етилацетат) у непостійній кількості.

Низькокристалічні та/або аморфні матеріали, як правило, менш бажано застосовувати при виготовленні лікарських форм, ніж висококристалічні матеріали. Аморфні сполуки мають меншу хімічну та фізичну стабільність, оскільки вони схильні адсорбувати значні кількості води. Наприклад, адсорбція води аморфним матеріалом, що знаходиться в желатиновій капсулі, може спричинити усадку або деформацію капсули внаслідок переходу вологи з матеріалу капсули до аморфного компонента. Крім того, аморфні речовини виявляють тенденцію до випадання в осад із розчинів, які їх містять. В разі випадання аморфної лікарської речовини з розчину, який використовується для її вживання, характеристики розчинності та біодоступності лікарської речовини можуть зазнати негативних змін.

Крім того, як правило, небажаним є виготовлення фармацевтичних препаратів, які містять значні кількості органічного розчинника (наприклад, етилацетату) внаслідок потенційної токсичності розчинника для пацієнта та змін ефективності препарату в залежності від розчинника. Далі, з точки зору технології виробництва, як правило, також менш бажано виготовляти некристалічні матеріали, якщо згадана технологія вимагає відділення готового продукту шляхом фільтрування. Таке фільтрування часто значно утруднюється, якщо матеріал, що відділяють, є некристалічним. Крім того, з технологічної точки зору, як правило, також небажаним є виготовлення лікарських речовин, що містять значні кількості води (гідратів), оскільки рівень гідратації звичайно певним чином залежить від відносної вологості середовища, в якому виготовляється та зберігається лікарська речовина. Інакше кажучи, при роботі з гідратами непостійність ефективності звичайно є більш складною проблемою, ніж при роботі з відповідними безводними формами.

Хоча арзоксифен, одержаний за методиками, описаними в патенті '474, можна застосовувати як лікарську речовину, було б дуже бажано й доцільно віднайти форму арзоксифену з підвищеним ступенем кристалічності, яка не містила б у кристалічній ґратці ні води, ні органічного розчинника і яку можна було б відтворювати та ефективно одержувати у промислових масштабах.

Цей винахід стосується несольватованої безводної кристалічної форми гідрохлориду 6-гідрокси-3-(4-[2-(піперидин-1-іл)етокси]-фенокси)-2-(4-метоксифеніл)бензо[*b*]тіофену (F-V), яка має рентгенодифракційну картину, одержану за застосуванням мідного джерела випромінювання, що включає щонайменше один із піків зі значеннями  $2\theta$   $7,3\pm 0,2$ ,  $15,5\pm 0,2$ ,  $15,9\pm 0,2$  і  $17,6\pm 0,2^\circ$ .

Крім того, цей винахід стосується фармацевтичної композиції, яка містить: F-V; один або кілька фармацевтичних носіїв, розріджувачів або наповнювачів; і факультативно стабілізаційний агент, вибраний із групи, до якої входять метіонін, ацетилцистеїн, цистеїн та гідрохлорид цистеїну; і факультативно естроген, факультативно прогестин, факультативно інгібітор ароматази, факультативно аналог LHRH і факультативно інгібітор ацетилхолінестерази (AChE).

Крім того, цей винахід стосується способів застосування F-V для інгібування патологічних станів, наприклад, фіброзу матки, ендометриту, проліферації клітин гладеньких м'язів аорти, рестенозу, раку молочної залози, раку матки, раку простати, доброякісного розростання простати, резорбції кісток, остеопорозу, серцево-судинних захворювань, гіперліпідемії, розладів центральної нервової системи (ЦНС) та хвороби Альцгеймера, та застосування F-V для виготовлення лікарського засобу для інгібування згаданих станів.

Далі, цей винахід стосується способів застосування F-V для регулювання рівня холінацетилтрансферази (ChAT) та застосування F-V для виготовлення лікарського засобу для вищезгаданого регулювання.

Цей винахід стосується також способу одержання F-V, який включає кристалізацію гідрохлориду 6-гідрокси-3-(4-[2-(піперидин-1-іл)етокси]-фенокси)-2-(4-метоксифеніл)бензо[*b*]тіофену із кристалізаційного розчинника, вибраного із групи, до якої входять: метанол або водний метанол, етанол та ізопропанол; і подальше висушування одержаної твердої речовини до постійної маси.

Короткий опис рисунків

На Фіг.1 показано типовий графік ТГА для F-V.

На Фіг.2 показано типовий графік ДСК (диференційної сканувальної калориметрії) для F-V.

На Фіг.3 показано типову рентгенодифракційну картину для F-V.

F-V можна одержати шляхом висушування (або при температурі навколишнього середовища, або при злегка підвищеній температурі) кристалічної твердої речовини, виділеної при температурі навколишнього середовища шляхом кристалізації арзоксифену (або його будь-якої поліморфної чи сольватної форми) з метанолу, етанолу або ізопропанолу, або з метанольно-водних сумішей. В разі використання етанолу або ізопропанолу перевага віддається вмісту води в згаданих розчинниках менше ніж 0,2% (розчинники для спектрофотометрії за класифікацією Американського Хімічного Товариства, A.C.S.) В разі метанольно-водних сумішей перевага віддається вмісту води менше ніж 30% (об'ємних). Більша перевага віддається одержанню F-V шляхом висушування (або при температурі навколишнього середовища, або при злегка підвищеній температурі) кристалічної твердої речовини, виділеної шляхом кристалізації з метанольно-водної суміші з об'ємною часткою води від 20% до 5%. Найбільша перевага віддається одержанню F-V шляхом висушування у вакуумі при 50-70°C кристалічної твердої речовини, виділеної шляхом кристалізації арзоксифену (або його будь-якої поліморфної чи сольватної форми) з метанольно-водної суміші з об'ємною часткою

води 15%.

У типовому випадку арзоксифен розчиняють у метанолі (в кількості приблизно 1г речовини на 20мл розчинника) і факультативно нагрівають із метою сприяння розчиненню вихідного арзоксифену. Після досягнення розчинення розчин факультативно концентрують до вмісту приблизно 1г розчиненої речовини в 5мл розчинника, наприклад, шляхом дистильації, після чого дають розчину повільно охолоджуватися до кімнатної температури. Після зниження температури до кімнатної розчин факультативно піддають подальшому охолодженню (за допомогою бані з льодом або холодильного пристрою) до температури в межах від 0°C до 5°C. Після витримування протягом часу, достатнього для завершення кристалізації, кристали F-V відділяють вакуум-фільтруванням і промивають охолодженням (приблизно до 0°C) метанолом, після чого сушать у вакуумі до постійної маси. Перевага віддається висушуванню при злегка підвищеній температурі (приблизно 50°C протягом 12-48год) при продуванні азотом. При одержанні F-V у промислових масштабах може виявитися доцільним застосування затравки F-V.

До вихідних різновидів арзоксифену, придатних для виконання описаної вище кристалізації, належать (але ними не обмежені) S-II, F-I, F-III (сольватовані та нестехіометричні гідратні кристалічні форми арзоксифену, описані в заявках на міжнародні патенти PCT/US00/16332 та PCT/US00/16333, відомості з яких включено до цього опису за посиланнями), арзоксифен, одержаний за методиками, описаними в патенті '474, або будь-які суміші згаданих матеріалів. Вихідна форма арзоксифену не має значення, оскільки кристалізація з безводного метанолу за методикою, описаною в цьому документі, завжди дає кристали F-V.

#### Ідентифікація F-V

Для ідентифікації F-V використовувалися диференційна сканувальна калориметрія та термогравіметричний аналіз (ДСК/ТГА), вимірювання сорбції та десорбції водяної пари і порошковий рентгенодифракційний аналіз (XRD). ТГА є вимірювання спричиненої нагріванням втрати маси матеріалу як функції температури. Цей метод найчастіше застосовують для дослідження процесів десольватації та для кількісного визначення загального вмісту летких компонентів у твердих речовинах. ДСК є спосіб, який часто застосовують для виявлення поліморфізму сполук, оскільки температури, при яких відбуваються фізичні зміни в матеріалі, як правило, є характерними для цього матеріалу. Ізотерми сорбції водяної пари дозволяють визначити ступінь гігроскопічності певного матеріалу та ідентифікувати його негідратні та гідратні форми. Нарешті, XRD є спосіб, що характеризує далекий порядок у кристалічному матеріалі.

Типовий графік ТГА F-V показано на Фіг.1. Термогравіметричний аналіз F-V показав відсутність втрати маси, що свідчить про несольватований характер виділеної кристалічної форми. Аналіз методом ДСК показав різкий ендотермічний пік плавлення при 174-175°C, який видно на Фіг.2,

який значно перевищує значення, знайдене для F-III.

Ізотерма сорбції/десорбції водяної пари для F-V показала збільшення маси на 0,11% в діапазоні відносної вологості 0-95%, що свідчить про стабільність безводної кристалічної форми і незначну схильність до адсорбції води або до перетворення в гідратну форму арзоксифену.

Картина XRD F-V відрізняється гострими піками і рівною базовою лінією, що характерно для матеріалів високого ступеня кристалічності. Кутові положення піків на шкалі 2 $\theta$  і відповідні значення I/I<sub>0</sub> для всіх піків з інтенсивностями 10% і більше відносно найвищого піка для F-V представлені в Таблиці 1. Усі дані в Таблиці 1 подано з точністю до  $\pm 0,2\%$ . Хоча багатьом інтенсивним рефлексам відповідають значення кутів дифракції, аналогічні значенням, які вказані для S-II, F-I та F-III, кожна зі згаданих форм має відмінну від інших порошкову дифрактограму, що дає можливість надійно розрізнити S-II, F-I, F-III та F-V.

Між порошковими дифрактограмами F-V, знятими при різних температурах, не виявлено значних відмінностей у дифракційних картинах до температури 125°C, що узгоджується із графіком ДСК, який посвідчує стабільність кристалічної форми.

У кристалографії добре відомо, що для даної кристалічної форми значення відносної інтенсивності дифракційних піків можуть варіювати внаслідок переважної орієнтації, що залежить від певних чинників, наприклад, морфології та форми кристалу. В разі присутності ефектів переважної орієнтації характеристики інтенсивності піків змінюються, проте характерні положення піків даної поліморфної модифікації залишаються незмінними. Дивись, наприклад, [The United States Pharmacopeia #23, National Formulary #18, pp.1843-1844, 1995]. Крім того, в кристалографії також добре відомо, що для даної кристалічної форми кутові положення піків можуть незначно змінюватися. Наприклад, положення піків можуть зсуватися під впливом температури, при якій аналізується зразок, зміни положення самого зразка, а також присутності чи відсутності внутрішнього стандарту. В даному випадку змінність положення піків в межах  $\pm 0,2^\circ$  на шкалі 2 $\theta$  враховує ці потенціальні варіації, але не заважає однозначній ідентифікації F-V.

Добре відомим і широко вживаним способом пошуку кристалічних форм в літературі є метод Фінка (Fink). В методі Фінка для початкового пошуку використовуються чотири лінії найвищої інтенсивності, а потім чотири наступні за інтенсивністю лінії. Згідно з методом Фінка, оснований на показниках інтенсивності піків, а також на положеннях піків, F-V може бути ідентифікований за присутністю піків при значеннях 2 $\theta$  7,3 $\pm 0,2$ ; 15,5 $\pm 0,2$ ; 15,9 $\pm 0,2$ ; та 17,6 $\pm 0,2^\circ$  на дифракційній картині, одержаній з використанням мідного джерела випромінювання. Присутність F-V можна додатково перевірити за піками зі значеннями 2 $\theta$  17,9 $\pm 0,2$ ; 18,2 $\pm 0,2$ ; 18,9 $\pm 0,2$ ; та 21,5 $\pm 0,2^\circ$  на дифрактограмі, одержаній з використанням мідного джерела випромінювання.

Таблиця 1

Кут 2 $\theta$	Відносна інтенсивність	Кут 2 $\theta$	Відносна інтенсивність	Кут 2 $\theta$	Відносна інтенсивність
7,3	45	17,6	72	22,6	19
9,0	22	17,9	83	23,3	20
10,0	10	18,2	56	24,4	46
12,8	39	18,9	82	25,8	38
14,6	15	19,8	27	27,4	32
15,5	50	21,5	100	28,2	18
15,9	64				

F-V має кілька переваг над відомими формами арзоксифену, описаними в патенті '474, і над формами F-I та F-III, описаними в заявках РСТ, включених до цього опису вищенаведеними посиланнями. У порівнянні з арзоксифеном, одержаним за методиками, розкритими в '474, F-V є більш стабільним при температурі навколишнього середовища і, отже, більш придатним для фармацевтичних розробок, тобто, для розробки дозованих лікарських форм. Крім того, на відміну від форми, розкритої в '474, F-V має високий ступінь кристалічності. Кристалічні матеріали, як правило, є менш гігроскопічними та більш стабільними (наприклад, менш схильними до хімічного розкладу, що сприяє підтриманню відповідної ефективності) у порівнянні з аморфними матеріалами і, таким чином, є більш бажаними формами при виготовленні лікарських форм. Крім того, на відміну від одержаної за методиками, розкритими в '474, форми арзоксифену, яка містить у кристалічній ґратці етилацетат і воду, F-V не містить жодної з цих домішок.

На відміну від S-II, F-I та F-III, F-V є дійсно безводною формою арзоксифену, яка не виявляє схильності до адсорбції води при змінах відносної вологості. Крім того, кристалічна ґратка F-V залишається стабільною аж до своєї температури плавлення. Далі, F-V має приблизно на 10% вищу розчинність у воді у порівнянні з F-III і найвищу термодинамічну стабільність серед відомих форм арзоксифену.

#### Методи ідентифікації

Аналіз методом ДСК виконували з застосуванням приладу 2920 (виробник TA Instruments), обладнаного автоматичним пристроєм подавання проб та охолоджувальним пристроєм із холодильною системою. Пробу вміщували в відбортований алюмінієвий бюкс, закривали кришкою за допомогою обтискних щипців і аналізували, використовуючи порожній бюкс як зразок порівняння. Тепловий потік вимірювали після врівноваження при 30°C. Швидкість нагрівання становила 5°C/хв до 300°C. Графік теплового потоку як функції температури інтегрували для ідентифікації будь-яких ендотермічних або екзотермічних явищ.

Аналіз методом ТГА виконували з застосуванням приладу 2950 (виробник TA Instruments), обладнаного автоматичним пристроєм подавання проб. Пробу вміщували в попередньо зважений алюмінієвий бюкс і підвищували температуру від температури навколишнього середовища до 300°C зі швидкістю 10°C/хв. Графік маси (вираженої в процентах) як функції температури інтегрували

для визначення проценту втрати маси.

Ізотерми сорбції водяної пари одержували з застосуванням проточного приладу VTI SGA-100. Проби аналізували при 25°C, змінюючи відносну вологість (RH) від 0% до 95% при адсорбції і від 95% до 5% при десорбції. Ізотерми адсорбції та десорбції одержували у формі графіків зміни маси проби (в процентах) від RH (в процентах).

Картини дифракції рентгенівського проміння на порошкових пробах одержували з застосуванням порошкового дифрактометра D5000 (виробник Siemens), обладнаного джерелом випромінювання  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda=1,54056$ ), який працював при 50кВ і 40мА, та твердотільним  $\text{Si(Li)}$  детектором KeveX. Сканування зразків виконували в діапазоні значень 2 $\theta$  від 4° до 35° із кроком 0,04° при витримці 2,5с на кожному кроці. Сухі порошки завантажували в в'їмки тримачів зразків із верхнім завантаженням і одержували гладку поверхню, застосовуючи скляну ковзну пластину.

Картини дифракції рентгенівського проміння на порошкових пробах при змінних температурах одержували з застосуванням порошкового дифрактометра D5000 (виробник Siemens), обладнаного джерелом випромінювання  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda=1,54056$ ), який працював при 50кВ і 40мА, та сцинтиляційним детектором і нікелевим фільтром. Порошок завантажували в в'їмку тримача зразка з верхнім завантаженням та регулятором температури, і вирівнювали поверхню для дифракції. Сканування зразка виконували в діапазоні значень 2 $\theta$  від 2° до 35° із кроком 0,04° при витримці 2,5с на кожному кроці, починаючи з температури 25°C, після витримання протягом 5хв для врівноваження. Подальші операції сканування виконували при температурах, які підвищували із кроком 25°C до максимального значення 125°C.

Подані нижче приклади додатково ілюструють способи одержання F-V. Ці приклади не призначені для обмеження будь-яким чином обсягу згаданих способів і не повинні розглядатися як обмежувальні.

#### Приклади

##### Приклад 1

Кристалізація з метанолу без концентрування  
Зразок арзоксифену масою 20,00г змішували з 500мл безводного метанолу (ступеня чистоти "для РХВ") і нагрівали зі зворотним холодильником до кипіння. Тверда речовина повністю розчинялася, утворюючи однорідний світло-жовтий розчин. Охолоджували розчин до температури нижче точки кипіння і додавали ще 5,00г арзоксифену. Знов

нагрівали розчин до кипіння для забезпечення розчинення всієї твердої речовини. Давали розчину повільно охолоджуватися при перемішуванні. При температурі 50°C в розчин вносили як затравку кілька міліграмів попередньо одержаної солі F-V. Суспензії кристалів давали охолоджуватися від 50°C до 35°C протягом 1,25 год. На цей момент суміш містила значну кількість білої твердої речовини. Суспензію при перемішуванні вміщували в баню з льодом і перемішували ще протягом 3 год. Фільтрували суспензію через паперовий фільтр "Ватман №1" і промивали білий осад 50мл метанолу, попередньо охолодженого до 0°C. Вологий осад сушили у вакуумі при 50°C протягом приблизно 48 год при продуванні слабким потоком азоту. Вихід 15,94г (63,8%). Ступінь чистоти за даними PXBE 89,4% (в розрахунку на вільну основу), загальний вміст споріднених речовин (TRS) 0,28%. Зіставлення маси продукту до і після висушування показало, що вихідний вологий осад містив 65% розчинника.

#### Приклад 2

Кристалізація з метанолу з концентруванням

Зразок арзоксифену масою 25,00г змішували з 500мл безводного метанолу (ступеня чистоти "для PXBE") і нагрівали зі зворотним холодильником до кипіння. Тверда речовина повністю розчинялася, утворюючи однорідний світло-жовтий розчин. Цей розчин концентрували шляхом видалення 375мл дистилату під атмосферним тиском. На цей момент реакційна суміш являла собою прозорий однорідний розчин жовтого кольору. Припиняли кипіння і в розчин вносили як затравку кілька міліграмів попередньо одержаної солі F-V. Після внесення затравки суміші при повільному перемішуванні давали охолодитися до температури навколишнього середовища протягом 1 год. На протязі охолодження утворювалася значна кількість білого осаду. Суспензію вміщували в баню з льодом і перемішували ще протягом 3 год. Фільтрували суспензію через паперовий фільтр "Ватман №1" і промивали білий осад 50мл метанолу, попередньо охолодженого до 0°C. Вологий осад сушили у вакуумі при 50°C протягом приблизно 48 год при продуванні слабким потоком азоту. Вихід 22,44г (89,8%). Ступінь чистоти за даними PXBE 91,3% (в розрахунку на вільну основу), TRS 0,26%. Зіставлення маси продукту до і після висушування показало, що вихідний вологий осад містив 31,5% розчинника.

#### Приклад 3

Перекристалізація з метанолу в масштабі 30 галонів (113л)

Зразок арзоксифену масою 3,08кг змішували з 60л безводного метанолу (ступеня чистоти "для PXBE") і нагрівали зі зворотним холодильником. Тверда речовина повністю розчинялася, утворюючи однорідний світло-жовтий розчин. Цей розчин концентрували шляхом видалення 40л дистилату під атмосферним тиском. На цей момент реакційна суміш являла собою прозорий однорідний розчин жовтого кольору. Охолоджували масу для припинення кипіння і при температурі приблизно 40°C відкривали люк для перевірки кристалізації. Спостерігали кристали і продовжували охолодження зі швидкістю 12°C/год до кінцевої темпера-

тури 0°C. Перемішували суспензію кристалів протягом ночі при 0°C, після чого фільтрували на однопластинному фільтрпресі. З метою видалення всього продукту із кристалізаційного апарата маточний розчин використовували для промивання апарата і знов пропускали промивну рідину через прес. Вологий осад промивали у фільтрі 11,3л метанолу, попередньо охолодженого до 0°C. Осад сушили, створюючи в пресі вакуум і забезпечуючи циркуляцію води з температурою 50°C через оболонку преса. Через приблизно 24 год починали подавати в прес слабкий потік азоту. Загальна тривалість сушіння приблизно 36 год. Вихід 2,588кг (86,27%); ступінь чистоти за даними PXBE 92,7% (в розрахунку на вільну основу), TRS 0,39%.

#### Приклад 4

Кристалізація з етанолу

Етанол високої чистоти (250мл) і арзоксифен (10,0г) змішували і нагрівали до кипіння зі зворотним холодильником для забезпечення розчинення. Розчину давали охолодитися до температури навколишнього середовища протягом 3 год; в цей час утворювався білий кристалічний осад. Тверду речовину відділяли фільтруванням і сушили у вакуумі протягом ночі при 50°C із продуванням слабким потоком азоту. Вихід 5,50г, т.пл. 173°C (за даними ДСК). Одержана порошкова рентгенодифрактограма цього зразка практично ідентична дифрактограмі F-V, представленої на Фіг.3.

#### Приклад 5

Кристалізація з ізопропанолу

Безводний ізопропанол (250мл) і арзоксифен (10,0г) змішували і нагрівали до кипіння зі зворотним холодильником для забезпечення розчинення. Віддаляли джерело тепла і вносили в розчин як затравку кілька міліграмів F-V. Реакційній суміші давали охолодитися до температури навколишнього середовища і перемішували протягом ночі; в цей час утворювався білий осад. Тверду речовину відділяли фільтруванням; одержано 12,11г вологого осаду. Пробу цього осаду масою 4,01г сушили протягом ночі при 60°C у вакуумі із продуванням слабким потоком азоту. Вихід 2,72г, т.пл. 171,5°C (за даними ДСК). Одержана порошкова рентгенодифрактограма цього зразка практично ідентична дифрактограмі F-V, представленої на Фіг.3.

#### Приклад 6

Одержання з вільної основи арзоксифену

Арзоксифен - вільну основу (5,07г) суспендували в 65,0мл метанолу. Додавали до реакційної суміші розчин 1,41мл концентрованої хлористоводневої кислоти в 10,0мл води. Нагрівали реакційну суміш до 55°C протягом 15хв для забезпечення розчинення. Охолоджували реакційну суміш до 30°C і вносили як затравку 50мг F-V. Охолоджували реакційну суміш до 10°C зі швидкістю 1°C/год і перемішували при цій температурі протягом 8 год. Тверду речовину відділяли фільтруванням, промивали метанолом, попередньо охолодженим до 10°C, і сушили у вакуумі при 50°C протягом ночі при продуванні слабким потоком азоту. Вихід 4,42г (87,7%); ступінь чистоти за даними PXBE 99,7%; TRS 0,32%. Одержана порошкова рентгенодифрактограма цього зразка практично ідентична дифрактограмі F-V, представленої на Фіг.3.

Корисність

Термін "ефективна кількість" у значенні, вживаному в цьому описі, означає кількість F-V, здатну інгібувати патологічні стани, згадані в описі, або їхні шкідливі впливи. Якщо F-V вживається в комбінації з естрогеном, прогестинном, інгібітором ароматази, аналогом LHRH або інгібітором AChE, то термін "ефективна кількість" означає також кількість такого агента, здатну спричинити відповідний очікуваний ефект.

Терміни "інгібувальний", "інгібувати" вживаються в їхньому загальноприйнятному значенні, тобто вони стосуються запобігання, протидії, обмеження, полегшення, покращення, уповільнення, припинення або зміни на протилежний напрямок розвитку або тяжкості патологічного стану, згаданого в описі, або його наслідків.

Терміни "запобіжний", "запобігання", "профілактика", "профілактичний" та "запобігати" вживаються в цьому описі як еквівалентні і стосуються зниження імовірності виникнення або розвитку в пацієнта, який вживає F-V, будь-якого з патологічних станів, згаданих в описі, або його наслідків.

Терміни "естроген-дефіцитний" та "естрогенна недостатність" стосуються стану, який виник природним шляхом або викликаний клінічно, при якому організм жінки не може продукувати ендогенні естрогенні гормони в кількості, достатній для підтримання естроген-залежних функцій, наприклад, менструацій, гомеостазу маси кісток, нейронних функцій, стану серцево-судинної системи тощо. Такі ситуації естрогенної недостатності виникають при менопаузі та внаслідок хірургічної або хімічної овариєктомії, в тому числі її функціональних еквівалентів, наприклад, терапії з застосуванням інгібіторів ароматази, агоністів або антагоністів GnRH, ICI 182780 тощо, але не тільки в цих випадках. До хворобливих станів, пов'язаних з естроген-дефіцитним станом, належать резорбція кісток, остеопороз, серцево-судинні захворювання та гіперліпідемія, але не тільки ці стани.

Термін "естроген" у значенні, вживаному в цьому описі, охоплює стероїдні сполуки, що мають естрогенний ефект, наприклад, 17 $\beta$ -естрадіол, естрон, кон'югований естроген (Premarin<sup>®</sup>), кінський естроген, 17 $\beta$ -етинілестрадіол тощо. Серед продуктів на основі естрогену перевага віддається продуктам, відомим під назвами Premarin<sup>®</sup> та норетиндрел.

Термін "прогестин" у значенні, вживаному в цьому описі, охоплює сполуки, що мають прогестагенну активність, наприклад, прогестерон, норетиндрел, нонгестрел, мегестрол-ацетат, норетиндрон тощо. Перевага серед продуктів на основі прогестину віддається норетиндрону.

Термін "інгібітор ароматази" у значенні, вживаному в цьому описі, охоплює сполуки, здатні інгібувати ароматазу, наприклад, комерційно доступні інгібітори, наприклад, аміноглютемід (CYTANDREN<sup>®</sup>), Анастразол (ARIMIDEX<sup>®</sup>), Летрозол (FEMARA<sup>®</sup>), Форместан (LENATRON<sup>®</sup>), Ексеместан (AROMASIN<sup>®</sup>) тощо.

Термін "аналог LHRH" у значенні, вживаному в цьому описі, означає аналог гормону виділення лютеїнізуючого гормону, який інгібує секрецію естрогену у жінок в передклімактеричний період, в

тому числі, наприклад, гoserлін (ZOLADEX<sup>®</sup>), леупролід (LUPRON<sup>®</sup>) тощо.

Термін "інгібітор AChE" у значенні, вживаному в цьому описі, охоплює сполуки, які інгібують ацетилхолінестеразу, наприклад, фізостигмін-саліцилат, такрин-гідрохлорид, донепезил-гідрохлорид тощо.

Термін "підвищувальне регулювання ChAT" означає підвищення ензиматичної активності ChAT, тобто сприяння перетворенню холіну в ацетилхолін. Це сприяння може включати підвищення ефективності та/або швидкості реакції ChAT із холіном та/або збільшення кількості ChAT, присутньої на місці дії. Це збільшення кількості ензиму може бути зумовлене генним регулюванням або іншою синтетичною стадією утворення ензиму та/або зменшенням інтенсивності деактивації та метаболізму ензиму.

Вибрані методики досліджень

Загальна методика підготовки пацієнтів: Самок пацієнтів лінії Sprague-Dawley у віці 75 днів (діапазон маси тіла від 200г до 225г) (якщо не обумовлене супротивне) одержували від фірми "Чарльз Рівер" (Charles River Laboratories, Portage, MI). У постачальника тварин піддавали або двосторонній овариєктомії (OVX), або хірургічній операції за Шамом (Sham) і надавали для дослідів через тиждень після операції. Після прибуття тварин розміщували в металевих підвісних клітках групами по 3-4 тварини і забезпечували вільний доступ до корму (вміст кальцію приблизно 0,5%) та води протягом тижня. В приміщенні підтримували температуру 22,2 $\pm$ 1,7 $^{\circ}$ C і відносну вологість щонайменше 40%. Світловий режим приміщення: 12год освітлення і 12год темряви.

Режим дозування та збирання тканин: Після однотижневого періоду акліматизації (тобто, через 2 тижні після OVX) починали щоденно вводити в організм тварин F-V. 17 $\alpha$ -етинілестрадіол або F-V вводили перорально, якщо не обумовлене інше, у формі суспензії в 1%-ній карбоксиметилцелюлозі або розчину в 20%-ному циклодекстріні. Дози речовин вводили тваринам щоденно протягом 4 днів. Після завершення дозування тварин зважували, анестезували сумішшю кетаміну з ксилазином (2:1 за об'ємом) і відбирали пробу крові шляхом серцевої пункції. Потім тварин умертвляли, викликаючи асфіксію дією CO<sub>2</sub>, видаляли матку через розріз по середній лінії тіла і визначали масу вологості матки. 17 $\alpha$ -етинілестрадіол одержували від фірми "Сірма" (Sigma Chem. Co., St. Louis, MO).

Серцево-судинні захворювання/Гіперліпідемія

Проби крові, одержані, як описано вище, залишали для згортання на 2год при кімнатній температурі і одержували сироватку шляхом центрифугування при 3000об/хв протягом 10хв. Холестерин у плазмі визначали, застосовуючи високоефективну пробу на холестерин "Берінгер Маннгейм Діагностикс" (Boehringer Mannheim Diagnostics). Коротко кажучи, суть проби полягає в тому, що холестерин окиснюють в холест-4-ен-3-он, причому утворюється пероксид водню. Цей пероксид водню потім вводять в реакцію з фенолом і 4-амінофеназоном у присутності пероксидази; при цьому утворюється п-хінонімінний барвник, кількість якого вимірюють спектрофотометричним

способом на довжині хвилі 500нм. Потім розраховують концентрацію холестерину, застосовуючи стандартну криву. Усе дослідження автоматизоване завдяки використанню системи "Байотек" (Biotek Automated Workstation).

Проба на еозинофіл-пероксидазу (ЕРО) в матці

Матки, одержані, як описано вище, до аналізу на ензим зберігали при 4°C. Потім матки гомогенізували в 50-кратному об'ємі Трис-буферу (рН 8,0), який містив 0,005% Тритон Х-100. Після додавання 0,01% пероксиду водню і 10мМ о-фенілендіаміну (кінцеві концентрації) в Трис-буфері вимірювали зростання поглинання на довжині хвилі 450нм протягом 1хв. Присутність еозинофілів у матці є ознакою естрогенної активності сполуки. На початковій, лінійній частині кривої реакції визначали максимальну швидкість за 15-секундний інтервал.

Методика дослідження на інгібування резорбції кісток (остеопорозу)

Після загальної процедури підготовки тварин, описаної вище, пацюкам вводили в організм випробовувані сполуки щоденно протягом 35 днів (по 6 пацюків у кожній досліджуваній групі) і на 36-й день умертвляли тварин, викликаючи асфіксію CO<sub>2</sub>. 35-денний період є достатнім для максимальної втрати густини кісток, яку вимірюють, як описано в цьому документі. Після умертвіння матки негайно видаляли, відсікали від сторонніх тканин і видаляли з них рідкий вміст перед визначенням маси у вологому стані з метою підтвердження дефіциту естрогену, пов'язаного з повною оваріектомією. Реакцією на оваріектомію звичайно є зменшення маси матки приблизно на 75%. Потім матки вміщували в 10%-ний нейтралізований буфером формалін для подальшого гістологічного дослідження.

Вирізували праве стегно і генерували та аналізували їхні рентгенівські зображення в цифровій формі, застосовуючи програму аналізування зображення (зображення NIH) при дистальному метафізі. Вигляд проксимальної зони великої гомілкової кістки цих тварин також аналізували способом кількісної комп'ютерної томографії. Згідно з описаною вище методикою, піддослідним тваринам вводили перорально F-V або етинілестрадіол (EE<sub>2</sub>) в 20%-ному гідроксипропіл-β-циклодестрині. F-V корисний також в комбінації з естрогеном або прогестинном.

Дослідження на проліферацію MCF-7

Клітини аденокарциноми молочної залози MCF-7 (ATCC HTB 22) зберігали в MEM (мінімальному основному середовищі, вільному від фенолового червоного, виробник - фірма "Сігма"), доповненому 10% (об'єм.) сироватки плоду корови (FBS), L-глутаміном (2мМ), піруватом натрію (1мМ), HEPES (K-[2-гідроксietил]піперазин-N'-2-етансульфокислота) (10мМ), замінними амінокислотами та бичачим інсуліном (1мкг/мл) (середовище для підтримання в життєздатному стані). За 10 днів до випробування клітини MCF-7 переносили в середовище для підтримання в життєздатному стані, доповнене замість 10% FBS 10% сироватки плоду корови, очищеного активним вугіллям із декстрановим покриттям (DCC-FBS) (досліджуване середовище), для видалення внутріш-

ніх запасів стероїдів. Клітини MCF-7 видаляли зі склянок для зберігання з застосуванням середовища дисоціації клітин (вільне від Ca<sup>++</sup> та Mg<sup>++</sup> середовище HBSS (без фенолового червоного), доповнене 10мМ HEPES і 2мМ EDTA). Двічі промивали клітини досліджуванним середовищем і встановлювали концентрацію 8000клітин/мл. Приблизно 100мкл (8000клітин) вміщували в плоскодонні лунки для мікрокультур (Costar 3596) і інкубували при 37°C в атмосфері 5%-ного CO<sub>2</sub> і підвищеної вологості протягом 48год для забезпечення адгезії клітин і врівноважування після переносу. Готували серії розчинів лікарських речовин та ДМСО як контрольного розріджувача в досліджуваному середовищі і додавали до мікрокультур по 50мкл цих розчинів (по три паралельні досліди для кожної речовини), а потім по 50мкл випробувального середовища до загального об'єму 200мкл. Після додаткового витримання при 37°C в атмосфері 5%-ного CO<sub>2</sub> і підвищеної вологості мікрокультури обробляли тимідином, міченим тритієм (1мкКі/лунку) протягом 4год. Культивування припиняли шляхом заморожування при -70°C протягом 24год з подальшим відтаванням і збиранням мікрокультур за допомогою напівавтоматичного збирача клітин "Скатрон" (Skatron Semiautomatic Cell Harvester). Радіоактивність проб визначали шляхом рахування сцинтиляцій рідини з застосуванням лічильника β-частинок типу "Уоллак Бетаплейс" (Wallac BetaPlace).

Інгібування пухлини молочної залози, індукованої DMBA

Естроген-залежні пухлини молочної залози одержували на самках пацюків лінії Sprague-Dawley, придбаних у фірми "Гарлан Індастріз" (Harlan Industries, Indianapolis, Indiana). У віці приблизно 55 днів тваринам одноразово вводили перорально 20мг 7,12-диметилбенз[а]антрацену (DMBA). Приблизно через 6 тижнів після введення DMBA молочної залози з тижневими інтервалами досліджували пальпацією для виявлення пухлин. В разі виявлення однієї або кількох пухлин вимірювали найбільший та найменший поперечник кожної пухлини за допомогою метричного кронциркуля, реєстрували результати вимірювання і відбирали тварину для дослідження. Було зроблено спробу рівномірно розподілити різні розміри пухлин між дослідними та контрольними групами тварин так, щоб пухлини середнього розміру еквівалентно розподілялися між досліджуваними групами. Контрольні та дослідні групи в кожному експерименті включали від 5 до 9 тварин.

F-V вводили або шляхом внутрішньоочеревинної ін'єкції в 2%-ному гуміарабіку, або перорально. Для перорального введення сполуки розчиняли або суспендували в 0,2мл кукурудзяної олії. Кожний препарат, в тому числі контрольні дози гуміарабіку або кукурудзяної олії, вводили один раз на день кожній піддослідній тварині. Після початкового вимірювання пухлини та відбирання піддослідних тварин пухлини вимірювали вищезгаданим методом щотижня. Лікування та обмірювання тварин тривало 3-5 тижнів, після чого визначали кінцеву площу пухлин. Для кожної сполуки і для контрольних тварин визначали зміну середньої площі пухлини.

Методики випробувань при фіброзі матки

Тест 1: Жінкам, що страждали на фіброз матки (від 3 до 20 осіб) вводили F-V. Кількість введеної сполуки становила від 0,1мг до 1000мг на день, а період застосування становив 3 місяці. Жінок спостерігали в період застосування F-V і протягом 3 місяців після припинення застосування для виявлення впливу F-V на фіброз матки.

Тест 2: Застосовували ту ж методику, що в Тесті 1, але період застосування становив 6 місяців.

Тест 3: Застосовували ту ж методику, що в Тесті 1, але період вживання становив 1 рік.

Тест 4: Для індукування лейоміом у статевозрілих самок морських свинок застосовували довготривалу естрогенну стимуляцію. Тваринам вводили естрадіол 3-5 разів на тиждень шляхом ін'єкцій протягом 2-4 місяців або до виникнення пухлин. Проводили лікування, що включало введення F-V або носія, щоденно протягом 3-16 тижнів, після чого тварин умертвляли, видаляли матки і досліджували їх для виявлення регресії пухлин.

Тест 5: В очеревинну порожнину та/або в міометрій матки статевозрілих, кастрованих самок голих мишей імплантували тканину лейоміом людини. Для індукування росту імплантованої тканини вводили екзогенний естроген. В деяких випадках виділені клітини пухлин перед імплантацією культивували *in vitro*. Проводили лікування, що включало введення F-V або носія шляхом промивання шлунок, щоденно протягом 3-16 тижнів, після чого тварин умертвляли, видаляли імплантати і досліджували їх для виявлення росту або регресії. При умертвінні видаляли матки для оцінювання стану цього органу.

Тест 6: Тканини фіброїдних пухлин матки людини виділяли і зберігали *in vitro* як первинні нетрансформовані культури. Одержані хірургічним шляхом зразки протирали через стерильну сітку або сито, або відділяли від оточуючої тканини для одержання суспензії одного виду клітин. Ці клітини зберігали в середовищі, яке містило 10% сироватки та антибіотик. Визначали швидкість росту у присутності та у відсутності естрогену. Випробовували клітини на здатність продукувати компонент C3 комплементу та на реакцію на фактори росту і гормон росту. Для культур *in vitro* оцінювали проліферативну реакцію після оброблення прогестинами, GnRH, F-V та носієм. Щотижня оцінювали рівень рецепторів стероїдних гормонів для визначення ступеня збереження важливих характеристик клітин *in vitro*. Використовували проби тканин від 5-25 пацієнтів.

Тест 7: Здатність F-V інгібувати стимульовану естрогенами проліферацію ліній клітин ELT, що є похідними лейоміом, визначали в основному за методикою, описаною Фукс-Янгом та іншими в роботі "Інгібування стимульованого естрогенами росту лейоміом матки селективними модуляторами рецепторів естрогенів" [Fuchs-Young et al., Mol. Car., 17(3): 151-159, 1996], відомості з якої включені до цього опису за посиланням.

Методика випробувань при ендометриті

Тест 1: Як піддослідних тварин використовували від двадцяти до тридцяти дорослих самок пацюків лінії CD. Тварин розподіляли по трьох групах однакової чисельності. Просліджували тічко-

вий цикл у всіх тварин. В день проєструсу кожную самку піддавали хірургічній операції. Самкам кожної групи видаляли лівий ріг матки, розсікали на дрібні квадратні частинки і ці квадрати закріплювали слабкими швами в різних місцях поблизу кровотоку брижі. Крім того, самкам групи 2 видаляли яєчники. Починаючи з наступного після операції дня, тварини груп 1 і 2 одержували внутрішньоочеревинні ін'єкції води протягом 14 днів, а тваринам групи 3 виконували внутрішньоочеревинні ін'єкції F-V в кількості 1,0мг на кілограм маси тіла протягом того ж періоду. Після 14-денного оброблення кожную самку умертвляли, видаляли експлантати ендометрію, надниркові залози, залишки матки та яєчники (при їх наявності) і готували з них препарати для гістологічного дослідження. Яєчники та надниркові залози зважували.

Тест 2: Як піддослідних тварин використовували від двадцяти до тридцяти дорослих самок пацюків лінії CD. Тварин розділяли на дві групи однакової чисельності. Просліджували тічковий цикл у всіх тварин. В день проєструсу кожную самку піддавали хірургічній операції. Самкам кожної групи видаляли лівий ріг матки, розсікали на дрібні квадратні частинки і ці квадрати закріплювали слабкими швами в різних місцях поблизу кровотоку брижі. Починаючи приблизно з 50-го дня після операції, тварини групи 1 одержували внутрішньоочеревинні ін'єкції води протягом 21 дня, а тваринам групи 2 виконували внутрішньоочеревинні ін'єкції F-V в кількості 1,0мг на кілограм маси тіла протягом того ж періоду. Після 21-денного оброблення кожную самку умертвляли, видаляли експлантати ендометрію та надниркові залози і зважували. Експлантати вимірювали для виявлення росту. Просліджували тічкові цикли.

Тест 3: Для індукування ендометриту у пацюків та/або кроликів використовували автотрансплантати тканини ендометрію. Самок тварин в репродуктивному віці піддавали двосторонній оваріектомії і постачали їм екзогенний естроген, забезпечуючи таким чином специфічний і постійний рівень гормону. Автогенну тканину ендометрію імплантували в очеревину 5-150 тварин і постачали їм естроген для індукування росту експлантованої тканини. Лікування сполукою за цим винаходом здійснювали шляхом введення в шлунок (промивання) щоденно протягом 3-16 тижнів, після чого імплантати видаляли і вимірювали для виявлення росту або регресії. Після умертвіння непошкоджений ріг матки видаляли для оцінки стану ендометрію.

Тест 4: В очеревинну порожнину статевозрілих, кастрованих самок голих мишей імплантували уражену тканину з ендометрію людини. Для індукування росту імплантованої тканини вводили екзогенний естроген. В деяких випадках виділені клітини ендометрію перед імплантацією культивували *in vitro*. Проводили лікування, що включало введення F-V в шлунок шляхом промивання, щоденно протягом 3-16 тижнів, після чого видаляли імплантати і вимірювали їх для виявлення росту або регресії. При умертвінні видаляли матки для оцінювання стану неушкодженого ендометрію.

Тест 5: Тканини ураженого ендометрію людини виділяли і зберігали *in vitro* як первинні нетран-



сформовані культури. Одержані хірургічним шляхом зразки протирали через стерильну сітку або сито, або відділяли від оточуючої тканини для одержання суспензії одного виду клітин. Ці клітини зберігали в середовищі, яке містило 10% сироватки та антибіотик. Визначали швидкість росту у присутності та у відсутності естрогену. Випробовували клітини на здатність продукувати компонент С3 комплементу та на реакцію на фактори росту і гормон росту. Для культур *in vitro* оцінювали проліферативну реакцію після оброблення прогестинами, GnRH, F-V та носієм. Щотижня оцінювали рівень рецепторів стероїдних гормонів для визначення ступеня збереження важливих характеристик клітин *in vitro*. Використовували проби тканин від 5-25 пацієнтів.

Розлади центральної нервової системи (ЦНС), в тому числі хвороба Альцгеймера

Естрогени, наприклад, 17 $\beta$ -естрадіол, регулюють транскрипцію генів шляхом зв'язування з рецепторами естрогенів (ER), які знаходяться в цитоплазмі певних видів клітин. Активація ER лігандами є передумовою для ядерного транспорту цього комплексу, при цьому зв'язування з послідовністю консенсусу паліндромної ДНК, яка містить 13 базових пар (елемент реакції на естроген, ERE) починає побудову транскрипційного апарату, кульмінацією якого є активація відповідних генів мішені. Виявлені різноманітні гени, які регулюються естрогенами. До них належать цитоскелетні протеїни, нейротрансмітерні ензими біосинтезу та метаболізму, а також інші гормони та нейропептиди. Елементи ERE виявлено в багатьох естроген-реактивних генах; до них належать вітелогенін, c-fos, пролактин та лютеїнізуючий гормон.

Подібні до ERE послідовності, які мають важливе значення для центральної нервової системи, виявлено в р75<sup>ngf</sup> та trkA, які є сигнальними молекулами для нейротрофінів: фактора росту нервової тканини (NGF), фактора росту нервової тканини мозкового походження (BDNGF) та нейротрофіну-3.

Показано, що BDNGF, як і NGF, сприяє виживанню холінергічних нейронів у культурі тканини. Припускається, що якщо взаємодії між нейротрофінами та естрогенами мають важливе значення для розвитку та виживання базальних нейронів переднього мозку (які зазнають дегенерації при хворобі Альцгеймера), то клінічні стани, в яких присутній дефіцит естрогену (наприклад, в менопаузі), можуть сприяти втраті таких нейронів.

На пацюках, підданих овариєктомії (підготовлених, як описано вище), проведено описаний нижче дослід для визначення аналогів та/або відмінностей між F-V і естрогеном із точки зору впливу на експресію генів у різних областях мозку. Пацюкам у віці 6 тижнів щоденно вводили шляхом підшкірних ін'єкцій естрадіол-бензоат (0,03мг/кг), F-V або носій (контроль). Після 5-тижневого оброблення тварин умертвляли, видаляли мозки і збирали гіпокампи шляхом мікровідсікання. Гіпокампи швидко заморожували в рідкому азоті і зберігали при -70°C. Із накопиченої тканини тварин піддослідних і контрольних груп добували всю ДНК і піддавали її зворотній транскрипції, застосовуючи 3'-олігонуклеотидний праймер, вибраний для специ-

фічних груп месенджер-РНК (полі-А+). Реакції ланцюгових полімераз (PCR) виконували в суміші, яка складалася з: випадкових 5'-олігонуклеотидів (10 основних пар у довжину; всього 150), реакційного буферу, Taq-полімерази та <sup>32</sup>PdTSP.

Після 40 циклів підсилення продукти реакції фракціонували за розмірами на гелі 6% TBE-сечовини, сушили і використовували для експонування рентгенівської плівки. Одержані зображення розподілу месенджер-РНК для різних груп тварин порівнювали між собою.

Застосування F-V в комбінації з естрогеном

Жінкам в клімактеричному та постклімактеричному періоді часто призначають гормонозаміщувальну терапію (HRT) для боротьби з негативними наслідками, пов'язаними з різким зниженням циркулюючого ендogenous естрогену, наприклад, для лікування "припливів". HRT, однак, пов'язана з підвищеним ризиком виникнення деяких форм раку, в тому числі раку матки та молочної залози. Для зниження такого ризику можна застосовувати F-V в комбінації з HRT.

Застосування F-V в комбінації з інгібітором ароматази

За визначенням, яєчники у жінок в постклімактеричному періоді не функціонують. Єдиним джерелом естрогену в організмі в цьому разі є перетворення андрогенів, що виділяються наднирковими залозами, під впливом ензиму ароматази, який знаходиться в периферичних тканинах (в тому числі жирових, м'язових і в самій пухлині молочної залози). Таким чином, лікарські засоби, які інгібують ароматазу (інгібітори ароматази), знижують рівень естрогену в організмі жінки в постклімактеричному періоді. Зниження рівня естрогену за допомогою інгібування ароматази є важливим варіантом лікування пацієнтів з метастатичним раком молочної залози. В процесі терапії інгібітором ароматази нестача циркулюючого естрогену може спричинити неочікувані негативні побічні ефекти, наприклад, впливати на рівень ліпідів у сироватці. Для пригнічення цих негативних ефектів можна застосовувати F-V.

Застосування F-V в комбінації з аналогом LHRH

Безперервна дія аналога LHRH (гормону вивільнення лютеїнізуючого гормону) інгібує секрецію естрогену у жінок в передклімактеричному періоді внаслідок десенсибілізації гіпофізу, який в такому разі втрачає здатність стимулювати секрецію естрогену яєчниками. Клінічним наслідком цього явища є "медична овариєктомія", ознаки якої зникають після припинення вживання аналога LHRH. В процесі терапії аналогом LHRH нестача циркулюючого естрогену може спричинити неочікувані негативні побічні ефекти, наприклад, впливати на рівень ліпідів у сироватці. Для пригнічення цих негативних ефектів можна застосовувати F-V.

Підвищення рівня ацетилхоліну

Відомо, що пацієнти, що страждають на хворобу Альцгеймера, мають значно знижений рівень холінергічних нейронів у гіпокампі у порівнянні з людьми того ж віку, що не страждають на цю хворобу. Виявлено, що поступова втрата цих холінергічних нейронів відображає поступову втрату пам'яті та пізнавальної функції у цих пацієнтів.

Вважається, що одною із причин втрати цих нейронів є втрата або послаблення функції нейротрансмітера, яким є ацетилхолін.

Рівень ацетилхоліну в нейроні визначається, головним чином, станом рівноваги між його біосинтезом та біорозкладом. За синтез ацетилхоліну відповідає, головним чином, ензим холінацетилтрансфераза (ChAT), а за розклад - ацетилхолінестераза (AChE).

З метою визначення впливу F-V на рівень ChAT був проведений дослід, описаний нижче. Після підготовки пацюків за описаною вище загальною методикою 40 тваринам щоденно вводили шляхом підшкірної ін'єкції або перорально (шляхом згодовування) F-V в дозі 3мг/кг на день в носії, що містив 10% циклодекстрину; естрадіол-бензоат в дозі 0,03мг/кг або 0,3мг/кг на день; або носій (контроль). Оброблення тварин тривало 3 дні або 10 днів. Кожний режим дозування застосовували до 20 тварин. Через певні проміжки часу тварин умертвляли і видаляли мозки. Певні частини мозку гомогенізували і аналізували. Досліди виконували на гомогенізованих пробах гіпокампу та кори лобних часток, активність ChAT визначали за допомогою проби на біосинтез ацетилхоліну з використанням мічених сполук. Цю методику можна знайти в роботі Шелпа та інших [Schoerp et al., J. Neural Transmiss., 78:183-193, 1989], відомості з якої введено до цього опису за посиланням.

Як і очікувалося, у тварин після оваріектомії рівні ChAT знижувалися більш ніж на 50% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з контрольними тваринами, оперованими за Шамом.

Згідно з одним із варіантів здійснення цього винаходу, F-V застосовують в комбінації з інгібітором AChE. Застосування інгібітора AChE підвищує рівень ацетилхоліну внаслідок блокування його розкладу, що досягається інгібуванням AChE.

Доброякісне розростання простати СВРН)

Відомості про зв'язок між дією естрогену і лікуванням ВРН та карциноми простати наведено в міжнародній заявці WO 98/07274, дата публікації 15 жовтня 1998р.

В експериментах, описаних нижче, оцінювалися здатність F-V зв'язувати рецептори естрогену в кількох лініях клітин раку простати людини.

Лізати клітин раку простати людини ліній LNCaP, DU-45 і PC-3 готували в середовищі TEG, яке містило 50нМ Трис-HCl (рН 7,4), 1,5мМ етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТА), 0,4М KCl, 10% гліцерину, 0,5мМ 2-ME і 10мМ молібдату натрію, і, крім того, інгібітори протеаз пепстатин (1мг/мл), лейпептин (2мг/мл), апротинін (5мг/мл) та фенілметилсульфонілфторид (PMSF, 0,1мМ) (TEGP).

Лізати клітин центрифугували, осади знов суспендували в охолоджену TEGP (1мл TEGP на 100мг осаду) і обробляли ультразвуком протягом 30с (цикл навантаження 70%, вихід 1,8) на приладі "Соніфір" (Branson Sonifier, Model 450). Осаджували лізати центрифугуванням при 10000g $\times$  протягом 15хв при 4°C, після чого надосадові рідини відбирали і використовували негайно або ж зберігали при -70°C.

Проба на конкурентне зв'язування: Буфером зв'язування є TEG, в якому 0,4М KCl замінено на

50мМ NaCl і до якого додатково додано 1мг/мл яєчного альбуміну (TEGO). F-V розводили в TEGO до концентрації 20нМ, із цього розчину готували послідовним розведенням три досліджувані розчини. Дослідження проводили в круглодонних поліпропіленових мікропланшетах із потрійними паралельними мікролунками. У кожен лунку додавали 35мкл міченого тритієм 17 $\beta$ -естрадіолу (0,5нМ, питома активність 60,1Ки/ммоль, постачальник - фірма "Дюпон-Нью-Інгленд Ньюклір" (DuPont-New England Nuclear, Boston, MA)) і 35мкл охолодженого розчину випробовуваної конкурентної сполуки (0,1нМ-5мкМ) або TEGO, і після інкубування протягом 5хв при 4°C при струшуванні - 70мкл лізату клітин.

Планшети інкубували протягом 24год при 4°C, після чого додавали в кожен лунку 70мкл покритого декстраном активного вугілля (DCC) і інтенсивно струшували протягом 8хв при 4°C. Потім планшети центрифугували при 1500 $\times$ g протягом 10хв при 4°C. Збирали надосадову рідину з кожної лунки в гнучкий полістироловий мікропланшет для рахування сцинтиляцій в лічильнику "Майкобета" фірми "Уоллак" (Wallac Micobeta Model 1450). Радіоактивність виражали в кількості розпадів за хвилину (DPM) із поправкою на ефективність рахування (35-40%) і фон. Як додаткові контрольні показники були використані загальний результат рахування і загальний результат + DCC для визначення нижчої границі кількості речовини, екстрагованої DCC (вираженої через кількість сцинтиляцій). Результати цієї проби на конкурентне зв'язування виражали як середній ступінь зв'язування в процентах (% зв'язування)  $\pm$  стандартне відхилення, використовуючи формулу:

$$\% \text{ зв'язування} = \frac{\text{DPM}_{\text{вс}} - \text{DPM}_{\text{зк+DCC}}}{\text{DPM}_{\text{вс}} - \text{DPM}_{\text{зк+DCC}}} \times 100,$$

де  $\text{DPM}_{\text{вс}}$  - кількість розпадів за хвилину, одержана у присутності випробовуваної сполуки;  $\text{DPM}_{\text{вс}}$  - те ж у відсутності випробовуваної сполуки;  $\text{DPM}_{\text{зк+DCC}}$  - кількість розпадів, визначена як загальний результат рахування + DCC.

Профілактика раку молочної залози

Цей винахід стосується також вживання F-V пацієнтами, у яких має місце ризик виникнення раку молочної залози de novo. Термін "de novo" у значенні, вживаному в цьому описі, означає відсутність трансформації або метаморфозу нормальних клітин молочної залози в ракові або злоякісні клітини на початковому етапі. Така трансформація тих же або дочірніх клітин може відбуватися на наступних етапах розвитку як еволюційний процес або як одностадійний раптовий акт. Цим процес de novo відрізняється від метастазів, розвитку колоній або поширення вже трансформованих або злоякісних клітин від місця первинної пухлини в нові області.

Особою, в якій не існує особливого ризику розвитку раку молочної залози, вважається особа, в якій може розвинути раку молочної залози de novo, але в якій не виявлено свідомств або підозри потенційної ймовірності захворювання, що перевищувала б нормальний ступінь ризику, і в якій

ніколи не був встановлений діагноз згаданого захворювання. Найвищим фактором ризику розвитку карциноми молочної залози вважається наявність історії страждання на цю хворобу або наявність цієї хвороби в минулому навіть у випадку, коли на даний час має місце ремісія і відсутність ознак наявності захворювання. Іншим фактором ризику є наявність захворювання в минулому у родині особи.

Провокація пухлин молочної залози у пацюків шляхом введення в організм канцерогенної сполуки - N-нітрозо-N-метилсечовини - є загальноприйнятою моделлю для дослідження раку молочної залози і вважається придатною для аналізу ефекту хемопрофілактичних агентів.

При двох окремих дослідженнях самкам пацюків лінії Sprague-Dawley у віці 55 днів протягом тижня вводили внутрішньовенно (Дослід 1) або внутрішньочеревинно (Дослід 2) N-нітрозо-N-метилсечовину в дозі 50мг/кг маси тіла, після чого тварини одержували вільний доступ до корму, до якого додавали в різних кількостях F-V, (Z)-2-[4-(1,2-дифеніл-1-бутеніл)феноксид]-N,N-диметилетанамін-основу (тамоксифен-основу) або контрольну суміш.

В Досліді 1 дози сполук 60мг/кг корму і 20мг/кг корму відповідали приблизно порівнянним дозам 3мг/кг та 1мг/кг маси тіла піддослідних тварин.

В Досліді 2 дози 20мг/кг, 6мг/кг, 2мг/кг і 0,6мг/кг корму приблизно відповідали порівнянним дозам 1мг/кг, 0,3мг/кг, 0,1мг/кг і 0,03мг/кг маси тіла піддослідних тварин.

Пацюків спостерігали на предмет виявлення токсичності і зважували та контролювали виникнення пухлин пальпацією один раз на тиждень. Тварин умертвляли через 13 тижнів (Дослід 1) або через 18 тижнів (Дослід 2) і ідентифікували та зважували пухлини при аутопсії.

Фармацевтичні композиції, лікарські форми

Термін "фармацевтичний", вживаний в цьому описі як визначення, означає практичну нетоксичність для організму ссавця, в який введена відповідна сполука. Термін "фармацевтична композиція" означає, що носій, розріджувач, наповнювачі та активний інгредієнт (інгредієнти) мають бути сумісними з іншими інгредієнтами композиції і нешкідливими для організму, в який вони введені.

F-V перед вживанням у варіанті, якому віддається перевага, вводять до складу лікарських форм. Рішення щодо вибору лікарської форми має приймати лікар-куратор беручи до уваги ті ж чинники, що й при виборі ефективної кількості.

Загальний вміст активних інгредієнтів у таких лікарських формах становить від 0,1% до 99,9% маси лікарської форми. Переважно згадана лікарська форма містить щонайбільше два активних інгредієнта. Це означає, що перевага віддається лікарським формам, які містять F-V в комбінації з другим активним інгредієнтом, вибраним із групи, до якої входять естрогени, прогестини, інгібітори ароматази, аналоги LHRH та інгібітори AChE. Найбільша перевага віддається лікарським формам, де F-V є єдиним активним інгредієнтом.

Лікарські форми згідно з цим винаходом виготовляються способами, відомими в практиці, з використанням добре відомих та легко доступних

інгредієнтів. Наприклад, F-V, взятий окремо або в комбінації з естрогеном, прогестином, інгібітором ароматази, аналогом LHRH або інгібітором AChE, поєднують зі звичайними наповнювачами, розріджувачами або носіями і формують у таблетки, капсули, суспензії, розчини, препарати для ін'єкцій, аерозолі, порошки тощо.

До фармацевтичних композицій згідно з цим винаходом для парентерального вживання належать стерильні водні або неводні розчини, дисперсії, суспензії або емульсії, а також стерильні порошки, які безпосередньо перед вживанням перетворюють у стерильні розчини або суспензії. Прикладами придатних для цієї мети стерильних водних та неводних носіїв, розріджувачів, розчинників або середовищ є вода, фізіологічний соловий розчин, етанол, поліолі (наприклад, гліцерин, пропіленгліколь, поліетиленгліколь і тощо) та їх відповідні суміші, рослинні олії (наприклад, оливкова олія) та придатні для ін'єкцій органічні складні ефіри, наприклад, етилолеат. Відповідна текучість досягається, наприклад, використанням покривних матеріалів, наприклад, лецитину, додержанням відповідного розміру частинок у випадку дисперсій та суспензій, а також використанням поверхнево-активних речовин.

Композиції для парентерального введення можуть містити також допоміжні речовини, наприклад, консерванти, змочувальні агенти, емульгатори та диспергатори. Запобігання впливу мікроорганізмів забезпечується введенням в композиції протимікробних та протигрибкових агентів, наприклад, парабену, хлорбутанолу, фенолсорбінової кислоти тощо. Може виявитися бажаним також застосування ізотонічних агентів, наприклад, цукрів, хлориду натрію тощо. Тривале всмоктування лікарських форм для ін'єкцій можна забезпечити введенням до їх складу агентів, які сповільнюють всмоктування, наприклад, моностеарату алюмінію та желатину.

В деяких випадках з метою подовження тривалості дії лікарської речовини бажано сповільнити всмоктування такої речовини після підшкірної або внутрішньом'язової ін'єкції. Цього можна досягти використанням рідкої суспензії кристалічного матеріалу з низькою водорозчинністю в рідині або розчиненням чи суспендуванням згаданої лікарської речовини в маслянистому носії. У випадку підшкірної або внутрішньом'язової ін'єкції суспензії, що містить погано розчинну в воді форму лікарської речовини, швидкість всмоктування цієї речовини залежить від швидкості розчинення.

Ін'єкційні лікарські форми F-V, які утворюють "депо", виготовляють шляхом утворення мікрокапсульованих матриць лікарської речовини в полімерах, що піддаються біорозкладу, наприклад, у полімолочної кислоти, полігліколевої кислоти, співполімерах молочної та гліколевої кислот, полімерах складних ортоєфірів та поліангідридів; ці матеріали відомі в практиці. Швидкість вивільнення лікарської речовини можна регулювати шляхом вибору співвідношення кількостей лікарської речовини та полімеру і характеристик конкретного полімеру.

Лікарські форми для ін'єкцій стерилізують, наприклад, шляхом фільтрування через фільтри, які

затримують бактерії, або шляхом попередньої стерилізації компонентів лікарської форми перед змішуванням, під час виготовлення або безпосередньо перед вживанням (як, наприклад, у випадку застосування двокамерного шприца в упаковці).

До твердих дозованих лікарських форм для перорального вживання належать капсули, таблетки, пілюлі, порошки та гранули. В таких твердих дозованих формах F-V змішаний зі зонайменше одним інертним фармацевтичним носієм, наприклад, цитратом натрію або дикальційфосфатом, та/або з (а) наповнювачами або розріджувачами, наприклад, із різними видами крохмалю, цукрами, в тому числі лактозою та глюкозою, манітом та кремнієвою кислотою, (б) зв'язуючими агентами, наприклад, карбоксиметилцелюлозою та іншими похідними целюлози, альгінатами, желатином, полівінілпіролідом, сахарозою та гуміарабіком, (с) зволожуючими агентами, наприклад, гліцерином, (д) дезінтеграторами, наприклад, агар-агаром, карбонатом кальцію, бікарбонатом натрію, картопляним або тапіоковим крохмалем, альгіновою кислотою, силікатами та карбонатом натрію, (е) зволожувачами, наприклад, гліцерином, (ф) уповільнювачами розчинення, наприклад, парафіном, (г) прискорювачами всмоктування, наприклад, сполуками четвертинного амонію, (h) змочувальними агентами, наприклад, цетиловим спиртом та моностеаратом гліцерину, (і) адсорбентами, наприклад, каоліном та бентонітовою глиною, і (j) змашувальними агентами, наприклад, тальком, стеаратом кальцію, стеаратом магнію, твердими поліетиленгліколями, лаурилсульфатом натрію та їх сумішами. У випадку капсул, таблеток та пілюль дозована форма може містити також буферні сполуки.

До твердих композицій аналогічного типу можуть належати також вміст м'яких або твердих желатинових капсул із використанням наповнювачів, наприклад, лактози, а також високомолекулярних поліетиленгліколів тощо.

Тверді дозовані форми, наприклад, таблетки, драже, капсули, пілюлі та гранули, можна виготовляти також із покриттями або оболонками, наприклад, з ентеричними покриттями або іншими покриттями, добре відомими в фармацевтичній практиці. Ці покриття можуть містити непрозорі агенти або агенти, які забезпечують вивільнення активного інгредієнта (інгредієнтів) у певній частині травильного тракту, як, наприклад, кислоторозчинні покриття для вивільнення активного інгредієнта (інгредієнтів) у шлунку, або лугорозчинні покриття для вивільнення активного інгредієнта (інгредієнтів) у кишечнику.

Активний інгредієнт (інгредієнти) можна також ввести в мікрокапсули з покриттям для пролонгованого виділення, причому такі мікрокапсули складатимуть частину пілюлі або капсульної лікарської форми.

До рідких дозованих лікарських форм F-V для перорального застосування належать розчини, емульсії, суспензії, сиропи та еліксири. Крім актив-

них компонентів, рідкі лікарські форми можуть містити інертні розріджувачі, звичайно вживані в практиці, наприклад, воду та інші фармацевтичні розчинники, солюбілізатори та емульгатори, наприклад, етанол, ізопропанол, етилкарбонат, етилацетат, бензиловий спирт, бензилбензоат, пропіленгліколь, 1,3-бутиленгліколь, диметилформамід, олії (зокрема, бавовняну, арахісову, кукурудзяну олії, олію з зародків злаків, оливкову, рицинову та кунжутну олії), гліцерин, тетрагідрофурфуриловий спирт, поліетиленгліколі, сорбітові складні ефіри жирних кислот та їх суміші.

Окрім інертних розріджувачів, рідкі лікарські форми для перорального застосування можуть містити також допоміжні речовини, наприклад, змочувальні агенти, емульгатори та суспензатори і підсолоджувачі, ароматизатори та смакові домішки.

Рідкі суспензії, окрім активного інгредієнта (інгредієнтів), можуть містити суспензатори, наприклад, етоксильовані ізостеарилові спирти, поліоксіетиленові складні ефіри сорбіту та сорбітану, мікрокристалічну целюлозу, метатгідроксид алюмінію, бентонітову глину, агар-агар і трагакант, а також їх суміші.

Композиції для ректального або вагінального введення виготовляють шляхом змішування F-V із відповідними не подразнюючими наповнювачами, наприклад, какаовою олією, поліетиленгліколем або будь-яким воском для супозиторіїв, який при кімнатній температурі є твердим, а при температурі тіла - рідким і, отже, розплавляється в ректальній або вагінальній порожнині, вивільнюючи активний компонент (компоненти). Сполуки розчиняють у розплавленому воску, формують у бажану форму і дають затвердіти з утворенням готової лікарської форми супозиторіїв.

F-V можна вживати також у формі ліпосом. Як відомо в техніці, ліпосоми звичайно є похідними фосфоліпідів або інших речовин ліпідного типу. Ліпосомні лікарські форми утворюються з моно- або багатоламелярних рідких кристалів, які диспергують у водному середовищі. Для цієї мети можна застосувати будь-яку нетоксичну фармацевтичну ліпідну сполуку, яка піддається метаболізму та може утворювати ліпосоми. Композиції згідно з цим винаходом у ліпосомній формі можуть містити, окрім F-V, стабілізатори, наповнювачі, консерванти тощо. Серед ліпідів перевага віддається фосфоліпідам та фосфатидилхолінам (лецитинам), як природним, так і синтетичним.

Способи формування ліпосом відомі в практиці і описані, наприклад, в монографії "Методи клітинної біології" під редакцією Прескотта [Prescott, Ed., Methods in Cell Biology, Vol. XIV, Academic Press, New York, N. Y., 1976, p.33 et seq.].

Подані нижче приклади лікарських форм є лише ілюстративними і не призначені для обмеження обсягу цього винаходу.

Лікарська форма 1: Таблетки, що містять відповідно приблизно 10мг і 56мг F-V, можна виготовити, як описано нижче:

Інгредієнт	Кількість (мг/таблетку)	Кількість (мг/таблетку)
F-V	11,3	56,5
Лактоза безводна	176,8	128,2
Лактоза спеціальна, висушена розпилюван- ням	44,2	32,0
Повідон	11,0	13,0
Полісорбат 80	2,5	2,6
Кросповідон (всередині)	6,25	6,24
Кросповідон (зовні)	6,25	6,5
Стеарат магнію	1,5	1,7
Мікрокристалічна це- люлоза (зовні)	0,0	13,0

Компоненти змішують і пресують у таблетки.

В альтернативному варіанті таблетки зі вмістом F-V 2,5-1000мг в кожній виготовляють, як описано нижче:

#### Лікарська форма 2: Таблетки

Інгредієнт	Кількість (мг/таблетку)
F-V	25-1000
Крохмаль	45
Целюлоза мікрокристалічна	35
Полівінілпіролідон (10%-ний розчин у воді)	4
Карбоксиметилцелюлоза, натрієва сіль	4,5
Стеарат магнію	0,5
Тальк	1

F-V, крохмаль і целюлозу пропускають через сито 45меш за стандартом США (розмір отворів 0,35мм) і ретельно змішують. З одержаним порошком змішують розчин полівінілпіролідону і пропускають суміш через сито 14меш за стандартом США (розмір отворів 1,4мм). Одержані таким чином гранули сушать при 50-60°C і пропускають через сито 18меш за стандартом СІПА (розмір отворів 1,2мм). Натрієву сіль карбоксиметилцелюлози, стеарат магнію і тальк, пропущені попередньо через сито 60меш за стандартом США (розмір отворів 0,25мм), додають до гранул і після перемішування пресують на таблетувальному пресі в таблетки.

Суспензії зі вмістом лікарської речовини 0,1-1000мг в дозі 5мл виготовляють, як описано нижче:

#### Лікарська форма 3: Суспензії

Інгредієнт	Кількість (мг/5мл)
F-V	0,1-1000мг
Карбоксиметилцелюлоза, натріє- ва сіль	50мг
Сироп	1,25мг
Розчин бензойної кислоти	0,10мл
Ароматизатор	за потребою

#### Барвник

за потребою  
5мл

#### Вода очищена до

Лікарську речовину пропускають через сито 45меш за стандартом США (розмір отворів 0,35мм) і змішують із натрієвою сіллю карбоксиметилцелюлози і сиропом до утворення однорідної пасти. Розчин бензойної кислоти, ароматизатор та барвник розбавляють частиною води і при перемішуванні додають до згаданої пасти. Потім додають воду в кількості, необхідній для одержання бажаного об'єму.

Лікарська форма 4: Розчин для внутрішньовенних ін'єкцій

Інгредієнт	Кількість
F-V	25мг
Ізотонічний сольовий розчин	1000мл

Розчин, що містить вищевказані інгредієнти, вводять пацієнту внутрішньовенно зі швидкістю приблизно 1мл/хв.

Лікарська форма 5: Таблетки, які містять гідрохлорид цистеїну

Серцевини таблеток, що мають масу приблизно 250мг і містять приблизно 10мг або 20мг F-V, виготовляють, як описано нижче. F-V, водорозчинні розріджувачі (моногідрат лактози та безводну лактозу) і частину дезінтегратора (кросповідону) змішують у грануляторі з високим зусиллям зсуву. Потім цю суміш перемішують у вологому стані в грануляторі з високим зусиллям зсуву з водним розчином повідону та полісорбату 80. Гідрохлорид цистеїну також розчиняють у грануляційному розчині і додають під час перемішування у складі цього розчину. Для збереження постійного значення маси таблетки кількість лактози (моногідрату лактози та безводної лактози) зменшують відповідно до кількості доданого гідрохлориду цистеїну. Після стадії класифікації у вологому стані за допомогою млина з турбінною мішалкою гранули сушать у сушарці із псевдозрідженим шаром. Висушені гранули подрібнюють до відповідного розміру в млині з турбінною мішалкою. До висушених гранул додають решту інгредієнтів (мікрокристалічну целюлозу, стеарат магнію і решту кросповідону) і перемішують. Цю суміш потім пресують у таблетки округлої форми на звичайному ротаційному таблетувальному пресі. Рецептури кожної з цих партій в розрахунку на одну таблетку подано в Таблиці 2, де вказано кількості інгредієнтів (у мг на таблетку) і типи наповнювачів, вживаних у кожному випадку. Як видно з цієї таблиці, при виготовленні серцевин таблеток партій С і D застосовують нанесення плівкового покриття, яке наносять у вигляді водної дисперсії в чаші для нанесення покриттів з боковою вентиляцією, приєднаних до промислової вентиляційної установки.

Таблиця 2

## Рецептури таблеток (в мг/таблетку)

Інгредієнт	Партія А	Партія В	Партія С	Партія D
F-V (еквівалент основи)	11,31 (10)	11,31 (10)	22,73 (20)	22,73 (20)
L-Цистеїн-гідрохлорид, моногідрат	0,10	0,50	0,50	0,75
Повідон	12,50	12,50	12,50	12,50
Полісорбат 80	1,25	1,25	1,25	1,25
Безводна лактоза	148,67	148,35	139,22	139,02
Моногідрат лактози	37,17	37,09	34,80	34,75
Кросповідон	12,50	12,50	12,50	12,50
Мікрокристалічна целюлоза	25,00	25,00	25,00	25,00
Стеарат магнію	1,50	1,50	1,50	1,50
Суміш барвників, жовта	-	-	10,00	10,00

Лікарська форма 6: Таблетки, які містять метіонін

Серцевини таблеток, що мають масу приблизно 250мг і містять приблизно 1мг F-V, виготовляють, як описано нижче. F-V, водорозчинні розріджувачі (моногідрат лактози та безводну лактозу) і частину дезінтегратора (кросповідону) змішують у грануляторі з високим зусиллям зсуву. Потім цю суміш піддають мішенню у вологому стані в грануляторі з високим зусиллям зсуву з водним розчином повідону та полісорбату 80. Метіонін також розчиняють у грануляційному розчині і додають у складі цього розчину під час перемішування. Для збереження постійного значення маси таблетки кількість лактози (моногідрату лактози та безвод-

ної лактози) зменшують відповідно до кількості доданого стабілізатора. Після стадії класифікації у вологому стані за допомогою млина з турбінною мішалкою гранули сушать у сушарці із псевдозрідженим шаром. Висушені гранули подрібнюють до відповідного розміру в млині з турбінною мішалкою. До висушених гранул додають решту інгредієнтів (мікрокристалічну целюлозу, стеарат магнію і решту кросповідону) і перемішують. Цю суміш потім пресують у таблетки округлої форми на звичайному ротаційному таблетувальному пресі. Рецептuri кожної з цих партій в розрахунку на одну таблетку подано в Таблиці 3, де вказано кількості інгредієнтів (у мг на таблетку) і типи наповнювачів, вживаних у кожному випадку.

Таблиця 3

## Рецептури таблеток (в мг/таблетку)

Інгредієнт	Партія Е	Партія F	Інгредієнт	Партія Е	Партія F
Арзоксифен HCl (екв. основи)	1,12 (1,0)	1,12 (1,0)	Моногідрат лактози	38,88	38,78
Метіонін	0,50	1,00	Кросповідон	12,50	12,50
Повідон	12,50	12,50	Мікрокристалічна целюлоза	25,00	25,00
Полісорбат 80	2,50	2,50	Стеарат магнію	1,50	1,50
Безводна лактоза	155,5	155,1			

## Дозування

Конкретна доза F-V, яка застосовується згідно з цим винаходом, визначається конкретними обставинами кожної ситуації. До цих обставин належать спосіб введення в організм, медична передісторія пацієнта, патологічний стан або симптом, що підлягає лікуванню, тяжкість стану або симптому, що підлягає лікуванню, вік та стать пацієнта.

Як правило, мінімальна ефективна денна доза F-V становить приблизно 1мг, 5мг, 10мг, 15мг або 20мг. Максимальна ефективна доза в типових випадках становить приблизно 800мг, 100мг, 60мг, 50мг або 40мг. В найбільш типових випадках доза лежить у межах від 15мг до 60мг. Точну дозу можна визначити згідно зі стандартною в медичній практиці процедурою "титрування дози" для пацієнта, тобто призначення початкової малої дози з поступовим її збільшенням до виявлення бажаного терапевтичного ефекту.

Хоча може виявитися необхідним титрування дози стосовно до варіантів комплексної терапії,

описаних вище, типові дози активних інгредієнтів, відмінних від F-V, мають такі значення: етинілестроген (0,01-0,03мг/день), местранол (0,05-0,15мг/день), кон'юговані естрогенні гормони (наприклад, Premarin®, фірма Wyeth-Ayerst: 0,3-2,5мг/день), медроксипрогестерон (2,5-10мг/день), норетилнодрел (1,0-10,0мг/день), норетиндрон (0,5-2,0мг/день), аміноглютемід (250-1250мг/день, переважно 250мг 4 рази на день), анастразол (1-5мг/день, переважно 1мг 1 раз на день), летрозол (2,5-10мг/день, переважно 2,5мг 1 раз на день), форместан (250-1250мг/тиждень, переважно 250мг двічі на тиждень), ексеместан (25-100мг/день, переважно 25мг 1 раз на день), гoserлін (3-15мг на три місяці, переважно 3,6-7,2мг один раз на три місяці) і лейпролід (3-15мг на місяць, переважно 3,75-7,5мг один раз на місяць).

## Способи введення в організм

F-V можна вводити в організм різноманітними шляхами, в тому числі пероральним, ректальним, черезшкірним, підшкірним, внутрішньовенним,

внутрішньом'язовим та назальним. Спосіб введення кожного з агентів на основі естрогенів та прогестинів відповідає відомим у практиці способам. F-V, окремо або в комбінації з естрогеном, прогестином або інгібітором АСhE вводять в організм, як правило, в складі зручної для цього лікарської форми.

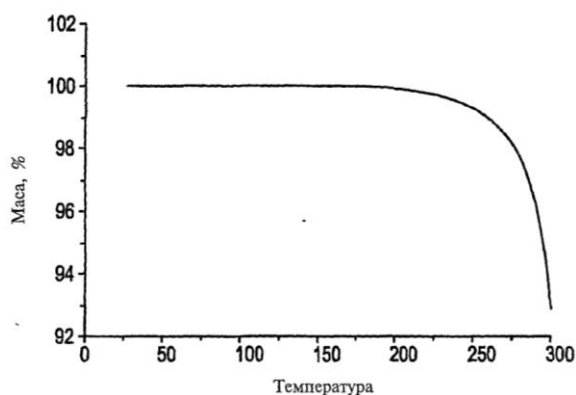
Фармацевтичні композиції згідно з цим винаходом можна вводити в організм людей та інших ссавців (наприклад, собак, котів, коней, свиней тощо) пероральним, ректальним, вагінальним, парентеральним, місцевим, назальним шляхами та шляхом розсмоктування (за щогою або під язиком). Термін "парентеральне введення" в цьому описі стосується способів введення, які включають

внутрішньовенні, внутрішньом'язові, внутрішньоочеревинні, внутрішньогруднинні, підшкірні або внутрішньосуглобові ін'єкції або інфузії.

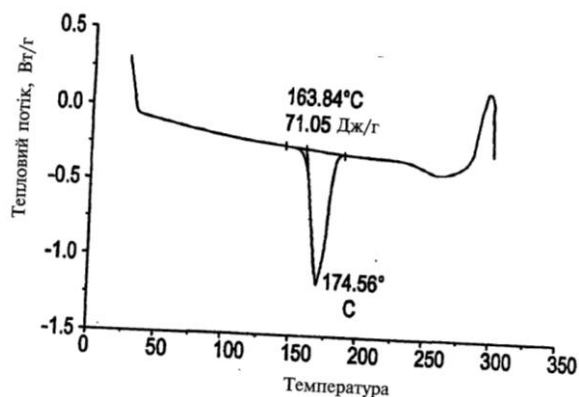
Режим та тривалість вживання

У більшості способів згідно з цим винаходом F-V вживають безперервно від 1 разу до 3 разів на день або з періодичністю, необхідною для введення в організм пацієнта необхідної кількості F-V. При лікуванні ендометриту може бути корисною, зокрема, циклічна терапія або масоване вживання при болісних нападах захворювання. У випадку рестенозу терапію можна обмежити короткочасними (1-6 місяців) періодами після медичних втручань, наприклад, ангіопластики.

ФІГ. 1



ФІГ. 2



ФІГ. 3

