

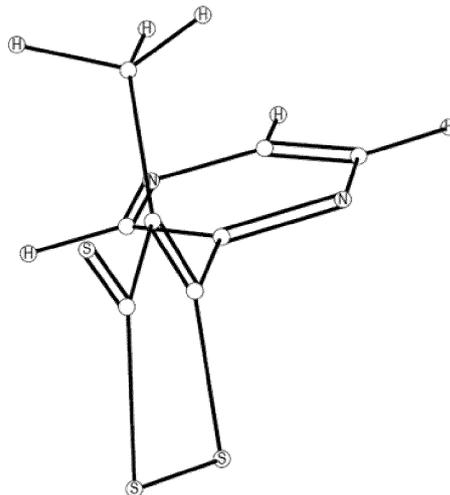
(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202190798** (13) **A1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**(43) Дата публикации заявки
2021.09.10(51) Int. Cl. **C07D 409/04** (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 17/18 (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2019.09.17(54) **РОТАМЕРНЫЕ ИЗОМЕРЫ 4-АЛКИЛ-5-ГЕТЕРОАРИЛ-3Н-1,2-ДИТИОЛ-3-ТИОНОВ**(31) **62/732,867**(72) Изобретатель:
Фрамроце Боми (US)(32) **2018.09.18**(33) **US**(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)(86) **PCT/IB2019/001138**(87) **WO 2020/058767 2020.03.26**(71) Заявитель:
ЭсТи АйПи ХОЛДИНГ АГ (CH)

(57) Настоящее изобретение предусматривает, помимо прочего, ротамерные изомеры 4-алкил-5-гетероарил-3Н-1,2-дитиол-3-тионов, комплексы таких изомеров, в которых отдельная ротамерная форма получена стабилизацией, и композиции, содержащие избыток отдельного ротамера (ротамерный избыток) в виде стабилизированного комплекса. Изобретение также относится к способам изготовления и применения таких ротамеров и комплексов, включая способы лечения пациента-человека или пациента-животного с помощью таких ротамеров или их комплексов, например, для предотвращения, лечения или уменьшения симптомов различных заболеваний, таких как воспаление слизистой оболочки, и/или обеспечения защиты от окислительного повреждения в различных органах и тканях в медицинских целях.

**A1****202190798****202190798****A1**

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-568167RU/055

РОТАМЕРНЫЕ ИЗОМЕРЫ 4-АЛКИЛ-5-ГЕТЕРОАРИЛ-3Н-1,2-ДИТИОЛ-3-ТИОНОВ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

В данной заявке испрашивается преимущество предварительной заявки США № 62/732867, поданной 18 сентября 2018 г., содержание которой, включая ее описание, формулу изобретения и графические материалы, явным образом включено в данный документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[001] Настоящее изобретение относится, помимо прочего, к ротамерным изомерам 4-алкил-5-гетероарил-3Н-1,2-дитиол-3-тионов, комплексам таких изомеров, в которых отдельная ротамерная форма получена стабилизацией, и композициям, содержащим избыток отдельного ротамера (ротамерный избыток) в виде стабилизированного комплекса. Изобретение также относится к способам изготовления и применения таких ротамеров; комплексам, в которых отдельный ротамер получен стабилизацией и присутствует в ротамерном избытке; композициям (включая фармацевтические композиции в ротамерной форме), содержащим ротамеры или их комплексы; способам регулирования функции антиоксидантных генов человека путем применения таких ротамеров или их комплексов; и способам лечения пациента-человека или пациента-животного с помощью таких ротамеров или их комплексов (например, для предотвращения, лечения или уменьшения симптомов различных заболеваний, таких как воспаление слизистой оболочки, и/или обеспечения защиты от окислительного повреждения в различных органах и тканях в медицинских целях).

[002] Настоящее изобретение относится к новым фармацевтическим составам, композициям и вариантам терапии, включающим совокупность ротамеров 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тиона (также известного как олтипраз), обогащенную отдельным ротамером, который может быть стабилизирован в комплексе.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[003] На фиг. 1 показан олтипраз (4-алкил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тион).

[004] На фиг. 2 изображен олтипраз, показанный в конфигурации, где два его кольца почти ортогональны друг другу.

[005] На фиг. 3 изображен аналог олтипраза, в котором альфа-атом серы дитиола замещен атомом углерода.

[006] На фиг. 4А изображен положительный (+)-ротамер олтипраза.

[007] На фиг. 4В изображен отрицательный (-)-ротамер олтипраза.

[008] На фиг. 5 изображен комплекс гидроксималеатного ангидрида и олтипраза.

[009] Атомы на фиг. 2-5 показаны в виде кружков (сфер), помеченных буквами «Н» для водорода, «S» для серы, «N» для азота или «О» для кислорода. Атомы углерода показаны непомеченными кружками (сферами).

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0010] 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тион, также известный как олтипраз, описан как в кристаллической, так и в аморфной формах. Олтипраз был описан как обладающий различными свойствами, например, как антимикробное соединение, которое контролирует бильгарциоз, как противоопухолевое средство, как хемопротективное средство и как соединение, помогающее контролировать воспаление слизистой оболочки, вызванное химиолучевой терапией.

[0011] Механизм действия хемопротективного и контролирующего воспаление слизистой оболочки эффекта был описан как связанный с повышенной регуляцией защитных генов фактора транскрипции, фактора 2, родственного эритроидному ядерному фактору 2 (Nrf2). Nrf2, который активируется активными формами кислорода (ROS), по-видимому, является ключевым регулятором в регуляции генов окислительного стресса. Nrf2 является членом семейства Cap'n'Collar белков bZIP. В нормальных условиях Nrf2 связывается со своим ингибитором, ассоциированным с цитоскелетом белком Keap1, который репрессирует Nrf2, способствуя его протеасомальной деградации. После обработки антиоксидантами Nrf2 высвобождается из Keap1 и инициирует повышение регуляции более 2000 антиоксидантных генов.

[0012] Было показано, что олтипраз активирует ряд антиоксидантных генов в анализах экспрессии генов *in vitro* с использованием объединенных десневых эпителиальных клеток человека. Экспрессию генов также использовали, чтобы показать 200 дифференциально экспрессируемых оксидантных генов у субъектов с ХОБЛ (хроническая обструктивная болезнь легких) по сравнению со здоровыми курильщиками, а значительные изменения в генах реакции на окисление, наблюдаемые *in vivo*, были воспроизведены *in vitro* с использованием первичных бронхиальных эпителиальных клеток от тех же самых доноров. [Pierrou, S., Broberg, P., O'Donnell, R.A., Pawłowski, K., Virtala, R., Lindqvist, E. (2007) Expression of Genes Involved in Oxidative Stress Responses in Airway Epithelial Cells of Smokers with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am. J. of Respiratory and Critical Care Medicine*, 175(6), 577-587].

[0013] Экспрессия генов *in vitro* также изучалась в эндотелиальных клетках роговицы человека (HCEC), чтобы определить, увеличивается ли окислительное повреждение ядерной ДНК с возрастом. HCEC реагируют на это повреждение путем повышения регуляции 4 из 84 своих генов окислительного стресса и передачи сигналов о повреждении ДНК зависимым от возраста образом. [Joyce, N.C., Harris, D.L., Zhu, C.C. Age-Related Gene Response of Human Corneal Endothelium to Oxidative Stress and DNA Damage (2011) *Cornea*, 52(3), 1641-1649].

[0014] Таким образом, широко признано, что изменения экспрессии генов, наблюдаемые в клеточных анализах *in vitro*, являются репрезентативными для физиологической защиты от окисления, присущей конкретным органам и тканям.

[0015] Химическая структура олтипраза была оптимизирована для контроля бильгарциоза с помощью исследований количественной связи структура - активность (QSAR). Хотя олтипраз недавно продемонстрировал повышающую регулируемую активность Nrf2, неизвестно, имеет ли он оптимальную структуру или оптимальную конфигурацию для повышающей регуляции Nrf2.

[0016] Как обсуждается ниже, было обнаружено, что можно получать стабильные композиции, содержащие два разных ротамера олтипраза. Композиции могут содержать до около 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или 99% ротамерного избытка одного из двух ротамеров, который может быть стабилизирован в форме олтипраз-комплекса. Композиции, содержащие более высокие процентные содержания ротамерного избытка, например, более 90% (т. е. 95% одного ротамера и 5% другого), могут быть менее стабильными при более высоких температурах из-за относительно низкого барьера для вращения. Используемый в данном документе термин «олтипраз-комплекс» означает олтипраз, связанный с возможностью диссоциации (ковалентно или нековалентно) с молекулой или атомом. Такие композиции, содержащие ротамерный избыток любого из отдельных ротамеров, могут специфически усиливать повышающую регуляцию эффекта фактора транскрипции Nrf2 и, следовательно, обеспечивают защиту от окисления вследствие воспаления слизистой оболочки, вызванного химиолучевой терапией и иммунотерапией, в желудочно-кишечной системе, в том числе в ротовой полости.

[0017] Олтипраз (4-алкил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тион) состоит из двух колец, пиразинильного кольца и дитиолтионового кольца, связанных одинарной углерод-углеродной связью (фиг. 1).

[0018] Обычно свободное вращение возможно вокруг такой углерод-углеродной (С-С) связи так, что никакая конкретная ориентация двух колец не заблокирована, и два кольца были описаны в публикации по рентгеновской структуре как находящиеся в скрученной плоской конфигурации, в которой конъюгация между ненасыщенными связями в каждом кольце обеспечивает самое низкоэнергетическое стабильное состояние, как показано на фиг. 1 выше. См. Wei, С.Н., Structure of 4-Methyl-5-(2-pyrazinyl)-3H-1,2-dithiole-3-thione (Oltipraz), A New Antischistosomal Drug. Acta Cryst. (1983). C39, 1079-1082)

[0019] С помощью компьютерного моделирования минимизации энергии с применением инструмента Tinker® и общих наборов параметров, таких как Amber и MMFF, было обнаружено, что молекулы олтипраза также могут находиться в стабильной конфигурации, где два кольца почти ортогональны друг другу, например, как показано на фиг. 2.

[0020] Дополнительный компьютерный анализ аналоговых структур показал, что эта предпочтительная ортогональная конфигурация, вероятно, связана с

гиперконъюгацией атома серы. Замещение альфа-атома дитиола серы атомом углерода, который не может участвовать в гиперконъюгации, привело к плоской структуре как конфигурации с минимальной энергией со свободным вращением вокруг соединяющей одинарной связи С-С, как показано на фиг. 3.

[0021] Моделирование также показало, что существует неожиданный, необычно высокий энергетический барьер между одной ориентацией двух ортогональных колец по сравнению с их зеркальным отображением, равный 14,1 кДж/моль. Это может быть связано с эффектом гиперконъюгации атома серы, которую необходимо нарушить, чтобы обеспечить вращение вокруг связи между двумя кольцами. Соответственно, ротамеры представляют собой пару атропоизомеров из-за затрудненного вращения вокруг связи между двумя кольцами олтипраза.

Композиции в ротамерной форме

Таким образом, возможны два различных ротамера для олтипраза. Каждый из двух ротамеров можно определить как два кольца, ортогональных друг другу; (+)-ротамер определяется ориентацией тиона и метильной группы сверху и альфа-атома азота пиримидинового кольца справа, в то время как (-)-ротамер имеет альфа-атом азота пиримидинового кольца с левой стороны (см. фиг. 4А и 4В).

[0022] Было обнаружено, что получение олтипраз-комплекса в форме ряда солей, как описано ниже, обеспечивает композицию, в которой (+)-ротамер (фиг. 4А) может присутствовать в ротамерном избытке (например, около 80%). Используемый в данном документе термин «ротамерный избыток» означает избыток одного ротамера над другим, как обычно применяется к термину «энантиомерный избыток». Таким образом, «ротамерный избыток» в данном документе описан как мера чистоты совокупности ротамеров олтипраза в целом. Он отражает степень, в которой образец содержит один ротамер в большем количестве, чем другой. Мезосмесь имеет ротамерный избыток 0%, в то время как один полностью

[0023] чистый ротамер имеет 100% ротамерный избыток. Таким образом, например, образец с 70% одного ротамера и 30% другого имеет ротамерный избыток 40% (70% – 30%).

[0024] Относительное процентное содержание одного изомера по сравнению с другим можно определить с использованием относительных интенсивностей пиков тиона при ~1200 и ~440 см⁻¹ в анализе FTIR. (+)-Ротамер показывает FTIR-пики тионов от 420 до 424 и от 1210 до 1215, тогда как (-)-ротамер показывает FTIR-пики тионов от 432 до 436 и от 1200 до 1205.

[0025] Примеры комплексов олтипраза, которые могут проявлять ротамерное предпочтение в отношении (+)-ротамера (см. примеры 1 и 3-6 ниже), включают соли, полученные в результате добавления или связывания группы (например, обратимое добавление HCl, алкилгалогенидов или ацилгалогенидов) с пиразинильным кольцом олтипраза (например, на альфа-атоме азота) с образованием N-замещенного иона пиразиния (с положительным зарядом, наиболее вероятно сосредоточенным на альфа-

атоме азота пиразинильной группы) и связанного аниона. Некоторые группы заместителей, которые могут присутствовать в пиразиновом кольце в результате образования соли, включают, помимо прочего, водород, алкил, алкен, алкинил, ацил, фенацил или бензоил, которые могут быть незамещенными или замещенными другими функциональными группами, включая, помимо прочего, галогенид (например, Cl или F), алкил (например, метил, этил, н-пропил, изопропил), алкокси (-OCH₃ или -OCH₂CH₃), арилокси (например, -О-фенил) и тому подобное. Например, такие соли могут быть образованы реакцией олтипразы с HCl. В другом примере такие соли могут быть образованы реакцией олтипразы с алкилом, алкеном или алкинилгалогенидом, таким как метилхлорид, йодметан и т. п. В другом примере такие соли могут быть образованы реакцией с ацилом, фенацилом или бензоилгалогенидом (например, хлоридом), таким как ацетилхлорид, н-бутилхлорид, бензоилхлорид и т. п.

[0026] Также было обнаружено, что может быть получен (-)-ротамер (см. примеры 2 и 7-11 ниже), который может присутствовать в значительном ротамерном избытке (например, около до 90% или выше, включая избыток 30-40%, избыток 40-50%, избыток 50-60% и избыток 60-65%, 60-70% и 70-80%).

[0027] (-)-Ротамерный олтипраз-комплекс может быть получен, например, как описано в примерах 2 и 7-11, путем реакции олтипразы с различными карбоновыми или фосфорными кислотами и их солями, алкил- и арилфосфатами, алкил- и арилсульфоновыми кислотами и их солями, замещенными и незамещенными тиокарбоновыми кислотами и их солями. Например, в случае комплекса гидроксималеата и олтипразы олтипраз вступает в реакцию с (+)-диацетил-L-винным ангидридом в 5 мл сухого полярного растворителя, такого как сверхсухой ацетон, с последующим добавлением ледяной уксусной кислоты. Эта реакция образует связь между альфа-атомом азота пиразинильного кольца и атомом кислорода малеата, по существу, одновременно с циклизационной перегруппировкой диацетилтартрата с получением кольца малеатного ангидрида.

[0028] Другие комплексы олтипразы, которые могут проявлять ротамерное предпочтение (-)-ротамера, включают те, в которых образуется прямая связь между альфа-атомом азота пиразинильного кольца и электроотрицательным атомом, таким как атом кислорода, серы или фосфора, которого достаточно для разрушения гиперконъюгации внутри молекулы. Такие олтипраз-комплексы могут обеспечивать до 100% ротамерного избытка (-)-ротамера, если они могут стабилизировать конфигурацию (-)-ротамера за счет нарушения описанной выше гиперконъюгации и/или увеличения пространственной деформации. Например, такие олтипраз-комплексы могут обеспечивать ротамерный избыток (-)-ротамера в количестве, выбранном из группы, состоящей из по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%. Таким образом, ротамерный избыток (-)-ротамера может быть, например,

количеством, выбранным из группы, состоящей из избытка 30-40%, избытка 40-50%, избытка 50-60%, избытка 60-65%, избытка 60-70%, избытка 70-80%, избытка 80-90% и избытка 90-100%. Такие олтипраз-комплексы включают комплексы, образованные реакцией олтипраза с различными карбоновыми или фосфорными кислотами и их солями, алкил- и арилфосфатами, алкил- и арилсульфовыми кислотами и их солями, например, замещенными и незамещенными тиокарбоновыми кислотами и их солями, например, молочной кислотой, тартроновой кислотой, изотионовой кислотой, изосерином, 2-меркаптоэтансульфоновой кислотой, таурином, пропилфосфоновой кислотой, 2-аминоэтилфосфоновой кислотой, диэтилдитиофосфатом, диэтилтиофосфатом, диметилфосфатом. Следует отметить, что не представляется возможным индуцировать 5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тионы в конфигурацию, подобную конфигурации (-)ротамера олтипраза, путем изменения размера заместителя в 4-м положении дитиолтионового кольца (которое представляет собой метильную группу в олтипразе).

[0029] В дополнение или в качестве альтернативы гиперконъюгации с участием альфа-атома азота пиразинильного кольца на гиперконъюгацию также может влиять образование олтипраз-комплексов с мета-атомом азота пиразинильного кольца. Такие (-)ротамерные комплексы могут быть образованы посредством связи между мета-атомом азота и атомом углерода, кислорода, серы или фосфора. Эта связь может возникать отдельно или вместе с образованием комплекса с участием альфа-(орто)-атома азота в пиразинильном кольце.

[0030] Поскольку понятно, что конформеры олтипраза распределены в зависимости от их относительной энергии согласно распределению Больцмана, один из вариантов получения более высокого ротамерного избытка отдельного ротамера олтипраза (или отдельного ротамера олтипраз-комплекса), который является наиболее стабильным при любом данном наборе условий (например, конкретный растворитель), включает охлаждение раствора необходимой композиции олтипраза (например, при температуре ниже комнатной, такой как -78°C или ниже) и обеспечение достаточного времени для того, чтобы ротамеры были по сути уравновешены. В таких условиях большее количество молекул будет в более стабильной (более низкоэнергетической) конформации(-ях), чем при комнатной температуре. Затем охлажденную композицию сушат выпариванием и/или лиофилизацией, предпочтительно без нагревания. Кроме того, было обнаружено, что олтипраз-комплексы (например, соли), в которых либо (-)ротамер, либо (+)ротамер находятся в ротамерном избытке, могут быть по существу очищены, например, до чистоты больше 90%, больше 91%, больше 92%, больше 93%, больше 94%, больше 95%, больше 96%, больше 97%, больше 98% и больше 99%. Процессы и условия очистки следует выбирать так, чтобы минимизировать изменение необходимого ротамерного избытка композиции. Например, использование температур выше 40°C во время очистки или использование очень полярных растворителей, таких как ДМСО, приводит к уравновешиванию и значительной потере ротамерного избытка до близкого к нулю или равного нулю, тогда как использование хиральной хроматографии, по-видимому,

улучшает выход ротамерного избытка. Соответственно, подвергание олтипраз-комплексов воздействию хиральной среды в условиях, когда одна ротамерная форма связана со средой сильнее, чем другая ротамерная форма, дает время комплексам для уравнивания, и элюирование комплексов в условиях, которые не способствуют уравниванию ротамеров (например, низкие температуры), представляет собой средство обогащения в отношении необходимой конфигурации олтипраз-комплекса.

[0031] Кроме того, было обнаружено, что ориентации (+)-ротамера и (-)-ротамера не являются переходными состояниями, а представляют собой по существу стабильные конфигурации, когда их комплексы (например, соли) хранятся при комнатной температуре, например, от 15 °С до 30 °С и относительной влажности от 40% до 80%, например, относительной влажности от 20 °С до 25 °С и 50%. В этом контексте «по существу стабильный» означает, что концентрации (+)-ротамера и (-)-ротамера в композиции, измеренные с помощью FTIR (как обсуждается ниже) в течение 30 минут после окончательной очистки, не изменятся на больше, чем количество, выбранное из группы, состоящей из 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% и 1%, при измерении с использованием того же анализа FTIR через 4 недели после окончательной очистки.

Фармацевтические композиции, содержащие композиции в ротамерной форме

[0032] Описанные выше композиции в ротамерной форме могут быть составлены в виде фармацевтических композиций либо в виде (i) одного или более олтипраз-комплексов (например, солей), содержащих ротамерный избыток (+)-ротамера, (ii) одного или более олтипраз-комплексов (например, комплексов из примеров 2 и 7-11), содержащих ротамерный избыток (-)-ротамера, или (iii) смесей (i) и (ii). Фармацевтические композиции (i)-(iii), указанные выше, называются в данном документе «фармацевтическими композициями в ротамерной форме». Такие фармацевтические композиции в ротамерной форме можно вводить в виде сухой или жидкой композиции. Составы фармацевтических композиций в ротамерной форме для перорального введения также могут быть представлены в виде жидкости для полоскания рта, газированной жидкости, спрея или аэрозоля для полости рта, или мази, геля или крема для перорального применения.

[0033] В некоторых аспектах жидкости, подходящие для изготовления фармацевтических композиций в ротамерной форме для перорального введения, например, для трансбуккального введения, могут включать водные и неводные носители, например воду; физиологический раствор; буферные растворы; органические растворители, такие как спирты (например, этанол), гликоли, алифатические спирты; смеси воды и органических растворителей и смеси органических растворителей (необязательно также с водой); вещества на основе липидов, вещества на основе полисахаридов и другие носители и компоненты носителей, которые подходят для введения в полость рта, а также смеси компонентов трансбуккальных носителей, как определено выше или иным образом известно в данной области техники.

[0034] Жидкие лекарственные формы, подходящие для перорального применения, включают фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к активным ингредиентам жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области техники. Помимо инертных разбавителей, композиции для перорального введения могут также содержать адъюванты, такие как смачивающие средства, эмульгаторы и суспендирующие средства (для эмульсий и суспензий), подсластители, ароматизаторы, красители, отдушки и консерванты.

[0035] Альтернативные аспекты фармацевтических композиций в ротамерной форме, подходящих для перорального применения фармацевтических композиций в ротамерной форме, включают композиции в форме капсул (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), саше, стик-пакеты, пилюли, таблетки, лепешки, лиофилизат, порошки, гранулы, имплантируемые композиции, или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости, включая, например, композиции, подходящие для инъекций или инфузий, или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или вода-в-масле, или в виде эликсира или сиропа или в виде пастилок и/или в виде жидкости для полоскания рта и т. п., каждая из которых содержит заранее определенное количество композиции, содержащей некоторое количество фармацевтических композиций в ротамерной форме, как описано в данном документе, в качестве активного ингредиента. Композиции или соединения также можно вводить в виде болюса, электуария или пасты.

[0036] Чтобы изготовить твердые лекарственные формы для перорального введения (капсулы (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), таблетки, пилюли, драже, порошки, гранулы и т. п.), композиция, содержащая некоторое количество фармацевтических композиций в ротамерной форме, может быть смешана с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями и/или любыми наполнителями или сухими разбавителями, связующими веществами, увлажнителями, средствами для улучшения распадаемости, средствами, замедляющими растворение, ускорителями абсорбции, смачивающими средствами, абсорбентами, смазывающими средствами, комплексообразующими веществами и красителями. Фармацевтические композиции в ротамерной форме могут дополнительно содержать компоненты, пригодные для улучшения стабильности или эффективности состава. В случае капсул (включая капсулы для опрыскивания и желатиновые капсулы), таблеток и пилюль фармацевтические композиции в ротамерной форме могут также содержать буферные агенты. Твердые композиции подобного типа также могут использоваться в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с использованием известных наполнителей.

[0037] Таблетки и другие твердые лекарственные формы фармацевтических композиций в ротамерной форме могут необязательно иметь насечки или могут быть изготовлены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие покрытия, хорошо известные в данной области техники. Они также могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечивать медленное или контролируемое

высвобождение активного ингредиента в них для обеспечения желаемого профиля высвобождения. Эти композиции также могут, необязательно, содержать замутнители и могут представлять собой композицию, из которой они высвобождают только активный(ые) ингредиент(ы) или предпочтительно в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно замедленным образом. Активный ингредиент также может быть в микрокапсулированной форме, если необходимо, с одним или более из описанных выше вспомогательных веществ.

Фармацевтические композиции в ротамерной форме для местного введения

[0038] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция в ротамерной форме может быть включена в составы, которые могут подходить для местного введения, и может содержать увлажнители, смачивающие средства и другие известные добавки для местного введения. Композиции для местного введения также можно доставлять чрескожно через пластырь, который накладывают на кожу, и такие пластыри хорошо известны в данной области техники. Специалистам в данной области известны другие композиции для местной доставки и носители, которые можно использовать.

Фармацевтические композиции в ротамерной форме для доставки в прямую кишку/толстую кишку

[0039] В некоторых аспектах описанные выше фармацевтические композиции в ротамерной форме могут быть составлены для ректального введения для обеспечения доставки в толстую кишку с использованием известных способов и композиций. В общем, доставка фармацевтической композиции в ротамерной форме путем ректального введения может быть достигнута с помощью суппозиториев, клизм, мазей, кремов или пен. Суппозитории являются одними из наиболее распространенных лекарственных форм для ректального применения, а основы обычно являются жирными, но также можно использовать водорастворимые или смешивающиеся с водой основы. Для достижения необходимой биодоступности активный ингредиент должен контактировать со слизистой оболочкой прямой кишки или толстой кишки.

[0040] Подходящие вспомогательные вещества, которые известны для изготовления композиций, подходящих для ректального введения, включают, помимо прочего, носитель, консерванты, поверхностно-активные вещества, эмульгаторы, минеральные масла, пропелленты, загустители, смазывающие вещества, консерванты, агенты, регулирующие pH, хелатирующие агенты, смягчающие вещества и/или увлажнители, усилители проницаемости, образующие суспензию средства или мукоадгезивные агенты или их комбинации. Носитель может включать водные, неводные или водно-спиртовые компоненты, которые, как известно, совместимы со слизистой оболочкой прямой кишки и толстой кишки.

[0041] В альтернативном варианте абсорбция в толстой кишке может быть достигнута путем перорального введения фармацевтических композиций в ротамерной форме, которые предназначены для высвобождения активного олтипраза в толстой кишке. Такие композиции могут быть в виде пероральной лекарственной формы, например

пилюли, капсулы или жидкости, которые обеспечивают замедленное высвобождение до тех пор, пока лекарственная форма не окажется в толстой кишке.

Фармацевтические композиции в ротамерной форме и устройства для введения путем ингаляции

[0042] В других аспектах описанные выше фармацевтические композиции в ротамерной форме могут быть доставлены через дыхательные пути путем предоставления композиции в форме для ингаляции, например, в устройстве для ингаляции, либо в форме сухого порошка, либо в жидком носителе. Например, композиции для ингаляции могут содержать фармацевтическую композицию в активной ротамерной форме в композициях в виде сухого порошка, предоставляемых в ингаляторах сухого порошка. См., например, WO2014177519 и US20140065219. В альтернативном варианте композиции для ингаляции могут содержать активный ингредиент в жидком носителе, таком как этанол. См., например, EP2536412 A2.

[0043] Таким образом, в изобретении также предлагается набор, содержащий (i) фармацевтическую композицию в ротамерной форме, как описано выше, и (ii) устройство для введения такой композиции путем ингаляции. Набор необязательно может содержать инструкции по применению.

Устройства для перорального введения

[0044] В некоторых аспектах жидкие составы фармацевтических композиций в ротамерной форме для перорального введения могут быть изготовлены и введены с использованием устройства, которое облегчает введение разовой дозы фармацевтической композиции в ротамерной форме. Такие устройства, которые известны в данной области техники, могут содержать полость или резервуар, где сухая композиция и жидкость, такая как вода и/или неводный растворитель, могут быть смешаны и затем введены пациенту через отверстие в устройстве. Обычно такие устройства содержат полость и отделение, отдельное от полости, в котором может находиться сухой порошок. Во время введения порошок высвобождается из отделения в полость или резервуар. В некоторых устройствах это достигается за счет разрушения барьера, отделяющего отделение от полости или резервуара. После этого порошок может быть смешан, обычно встряхиванием, с жидкостью в полости, которая могла быть добавлена раньше или одновременно. Полость имеет достаточный размер, чтобы удерживать как сухую фармацевтическую композицию в ротамерной форме, так и количество жидкости, включающее количество воды и/или неводного растворителя, достаточное для смешивания сухой фармацевтической композиции в ротамерной форме с образованием жидкой композиции. Жидкость может быть добавлена в контейнер во время упаковки для создания не требующего вспомогательных компонентов продукта, содержащего как сухую композицию, так и жидкость, которые могут быть смешаны вместе во время введения. В качестве альтернативы контейнер может содержать только сухую фармацевтическую композицию в ротамерной форме, и затем жидкость добавляют перед введением. Жидкость может содержать ароматизирующие добавки, как обсуждается ниже. В качестве альтернативы

можно использовать другие типы упаковки, в которой разделяются сухие и жидкие ингредиенты. Например, порошок и жидкость могут быть запечатаны в 2 саше с «формованием, наполнением и запечатыванием», расположенные рядом или друг над другом и разделенные разрывающимся уплотнением. Человек, вводящий лекарственное средство, затем разрывает уплотнение и тщательно перемешивает содержимое двух отделений до растворения или суспендирования.

[0045] Как только композиция становится по существу однородной (например, после встряхивания), ее затем вводят пациенту через отверстие в устройстве, созданное, например, путем отсоединения части устройства, чтобы открыть полость, содержащую жидкую смесь. Например, часть устройства, например, верхняя часть, может быть удалена путем отвинчивания резьбовой части от другой резьбовой части контейнера, чтобы открыть полость, содержащую жидкую смесь, которую затем можно вводить пациенту или которую может вводить пациент. Примеры таких устройств приведены в патенте США 6148996, заявке США 20080202949 и патенте США 3156369. Такие одноразовые устройства можно использовать для перорального введения жидких композиций, описанных в данном документе, особенно для профилактики или лечения воспаления слизистой оболочки ротовой полости или его симптомов, как описано ниже.

[0046] Таким образом, в изобретении также предложен набор, содержащий (i) фармацевтическую композицию в ротамерной форме, как описано выше, (ii) устройство для перорального введения таких композиций. Набор необязательно может содержать инструкции по применению.

[0047] Для таких устройств фармацевтическая композиция в ротамерной форме может быть в сухой форме. В таких случаях сухая композиция, которая может присутствовать вместе, например, в отделении, как описано выше, смешивается с водой и/или другим жидким растворителем перед введением (например, подвергая сухую композицию воздействию жидкости и встряхивая), как обсуждается выше.

Способы лечения

[0048] В некоторых аспектах описанные выше фармацевтические композиции в ротамерной форме и устройства могут использоваться для лечения нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком. Пациент обычно представляет собой человека, хотя фармацевтические композиции в ротамерной форме по настоящему изобретению можно использовать для лечения животных, не являющихся человеком, например, для ветеринарных целей. Композиции по настоящему изобретению могут использоваться для предотвращения или лечения широкого спектра заболеваний и патологических состояний, включая заболевания и патологические состояния, для которых известно лечение олтипразом. Примеры таких заболеваний и патологических состояний включают воспаление слизистой оболочки, ВИЧ, рак, гепатит (включая HBV и HCV), связанные с кератином кожные заболевания, включая образование пузырей и простой буллезный эпидермолиз, а также связанные с ними заболевания, дерматит, воспалительное расстройство или заболевание (включая эндотелиальную дисфункцию и

заболевание сердечно-сосудистой системы), истощение, потерю массы, сепсис, контрастно-индуцированную нефропатию, диабет, ожирение, ПКЯ, жировую дегенерацию, гиперлипидемию и гипертонию, хроническое заболевание почек, легочный фиброз, гипоксические состояния, химическое повреждение легких, расстройство дыхания, ацидоз анионной разницы, нефрит, волчанку, интерстициальное заболевание легких, дисфункцию трансплантата, гепатит, острое повреждение почек, вызванные шумом повреждения слуха, проглатывание яда, дегенерацию сетчатки, нейротоксичность, вызванное раком повреждение, такое как ототоксичность, инфекции дыхательных путей, аутизм, состояния, сопровождающиеся спазмом сосудов и т. д., состояния, которые считаются поддающимися лечению введением н-ацетилцистеина, восстановленного глутатиона для инъекций или известных средств, повышающих уровни межклеточного глутатиона.

[0049] Обычно фармацевтическая композиция в ротамерной форме предоставляется пациенту в эффективном количестве. Термин «эффективное количество» используется в данном документе для обозначения количества фармацевтической композиции в ротамерной форме, достаточного для получения значительного биологического ответа (например, значительного уменьшения воспаления). Фактические уровни дозировки фармацевтических композиций в ротамерной форме можно варьировать, чтобы вводить количество, эффективное для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного субъекта и/или применения. Конечно, эффективное количество в любом конкретном случае будет зависеть от множества факторов, включая состав, способ введения, комбинацию с другими лекарственными средствами или методами лечения, тяжесть состояния, которое лечат, а также физическое состояние и предшествующий медицинский анамнез субъекта, подлежащего лечению.

[0050] Используемый в данном документе термин «субъект» включает как людей, так и животных, и, таким образом, в соответствии с изобретением предусмотрены ветеринарные терапевтические применения. Термины «лечение» или «лечащий» относятся к любому лечению представляющего интерес состояния (например, воспаления слизистой оболочки, воспалительного заболевания или рака), включая, но не ограничиваясь этим, профилактическое лечение и терапевтическое лечение. По существу, термины «лечение» или «лечащий» включают, но не ограничиваются этим: предотвращение представляющего интерес патологического состояния или развития представляющего интерес патологического состояния; подавление прогрессирования представляющего интерес патологического состояния; остановку или предотвращение дальнейшего развития представляющего интерес патологического состояния; снижение тяжести представляющего интерес патологического состояния; устранение или облегчение симптомов, связанных с представляющим интерес патологическим состоянием; и обеспечение частичной, практически полной или полной регрессии представляющего интерес патологического состояния или одного или более симптомов, связанных с представляющим интерес патологическим состоянием.

[0051] Описанные выше фармацевтические композиции в ротамерной форме и устройства подходят для лечения пациентов, страдающих воспалением слизистой оболочки или которые будут проходить лечение, такое как лучевая терапия или химиотерапия, которые могут привести к воспалению слизистой оболочки, например, в полости рта (в том числе в буккальной полости), в пищеварительном канале, в толстой и/или прямой кишке, и/или на коже. Если воспаление слизистой оболочки представляет собой воспаление слизистой оболочки полости рта, могут быть предпочтительны описанные выше композиции и устройства для пероральной доставки. Такие пациенты, например, могут проходить или собираются проходить химиотерапию и/или лучевую терапию, например, лучевую терапию в области головы и шеи или другой области тела.

[0052] Вышеуказанные фармацевтические композиции в ротамерной форме и устройства могут использоваться для достижения одного, более чем одного или всех следующих полезных эффектов у пациентов-людей или пациентов-животных, не являющихся людьми, то есть для того, чтобы (i) профилактически предотвратить или отсрочить начало воспаления слизистой оболочки, включая воспаление слизистой оболочки ротовой полости (например, воспаление слизистой оболочки), (ii) лечить существующее воспаление слизистой оболочки, в том числе воспаление слизистой оболочки в полости рта, (iii) облегчить симптомы, связанные с воспалением слизистой оболочки, включая воспаление слизистой оболочки в полости рта, (iv) снизить или уменьшить тяжесть существующего воспаления слизистой оболочки, включая воспаление слизистой оболочки в полости рта (v), ускорить выздоровление или заживление воспаления слизистой оболочки, включая воспаление слизистой оболочки в полости рта (vi) уменьшить частоту и/или продолжительность воспаления слизистой оболочки, включая воспаление слизистой оболочки в полости рта, например, легкое, среднее и тяжелое воспаление слизистой оболочки в полости рта, (vii) профилактически предотвратить или отсрочить начало потери массы или истощение у пациента с воспалением слизистой оболочки в полости рта, (viii) уменьшить степень потери массы или истощения, испытываемых пациентом с воспалением слизистой оболочки в полости рта, и/или (ix) увеличить способность пациента с воспалением слизистой оболочки в полости рта принимать пищу через рот. Такие композиции также можно использовать для предотвращения и/или лечения пациентов с дисфагией (затрудненное глотание), например, больных раком, или для отсрочки начала дисфагии или уменьшения тяжести дисфагии, например, у больных раком. Такие композиции также могут быть использованы для предотвращения и/или лечения пациентов с ксеростомией (субъективное ощущение сухости во рту) или для отсрочки начала ксеростомии, уменьшения тяжести ксеростомии и/или снижения частоты возникновения умеренной или тяжелой ксеростомии. В некоторых аспектах устройства одноразового использования, описанные выше, могут использоваться для введения жидких композиций для выполнения одного, более чем одного или всего перечисленного выше, относящегося к воспалению слизистой оболочки в полости рта, дисфагии и ксеростомии. Преимущественно составы также не вызывают

раздражения, хорошо переносятся, приятны на вкус (при пероральном введении), не цитотоксичны, обладают слабой или несенсибилизирующей способностью, не вызывают аллергическую реакцию.

[0053] В определенных аспектах в данном документе предложены способы лечения воспаления слизистой оболочки, включающие введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции в ротамерной форме, как описано в данном документе. В изобретении также предложена фармацевтическая композиция в ротамерной форме, как описано в данном документе, для применения при лечении воспаления слизистой оболочки. В изобретении также предложено применение фармацевтической композиции в ротамерной форме, как описано в данном документе, при изготовлении лекарственного средства для лечения воспаления слизистой оболочки. Введение композиции пациенту может быть пероральным, включая трансбуккальное введение. Описанные в данном документе способы введения могут представлять собой схему лечения заранее определенной продолжительности, например, 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев или дольше. Фармацевтические композиции в ротамерной форме согласно изобретению можно применять или вводить один раз в сутки, два раза в сутки, три раза в сутки или по мере необходимости. В ситуациях, когда пациент проходит химиотерапию или лучевую терапию, дозу можно вводить до лечения, например, в течение 1 часа, в течение 3 часов, в течение 6 часов, в течение 12 часов, в течение 24 часов или более 24 часов перед лечением. Например, введение дозы можно начинать за несколько дней до начала химиотерапии, лучевой терапии и/или химиолучевой терапии. Например, пациент может начать получать лечение один раз в сутки или более одного раза в сутки, начиная за три дня до начала терапии, а затем получать дозу каждые сутки во время курсового лечения, включая сутки, когда терапия не проводилась. В сутки, когда проводится лечение, например, введение дозы осуществляется перед терапией, например, в течение часа до начала терапии. Введение дозы можно осуществлять в любое время суток, например, утром, в сутки, когда терапия не проводилась. В дополнительном или альтернативном варианте дозу можно вводить после лечения, например, в течение 1 часа, в течение 3 часов, в течение 6 часов, в течение 12 часов, в течение 24 часов после лечения или более чем через 24 часа после лечения.

[0054] Таким образом, в изобретении предложены способы лечения воспаления слизистой оболочки, включающие введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции в ротамерной форме, описанной выше. В изобретении также предложены фармацевтические композиции в ротамерной форме, как описано выше, для применения при лечении воспаления слизистой оболочки. В изобретении также предложено применение фармацевтической композиции в ротамерной форме, как описано в данном документе, при изготовлении лекарственного средства для лечения воспаления слизистой оболочки. Введение пациенту фармацевтической композиции в ротамерной форме может быть пероральным, включая трансбуккальное введение.

[0055] Когда вводят жидкие композиции, композицию можно вводить перорально или парентерально, например, путем подкожной, внутримышечной, внутригрудинной или внутривенной инъекции. При пероральном введении жидкую композицию можно просто проглотить, или ее можно вводить по схеме «полоскания и проглатывания» или «полоскания и сплевывания». При пероральном введении композиции в жидкой форме пациенту, страдающему воспалением слизистой оболочки полости рта или имеющему риск развития воспаления слизистой оболочки полости рта (например, проходящему или собирающемуся проходить химиотерапию, лучевую терапию и/или химиолучевую терапию), композиции могут обеспечивать: терапевтический эффект в отношении воспаления слизистой оболочки, как описано выше, т. е. он может профилактически предотвратить или отсрочить начало воспаления слизистой оболочки, лечить существующее воспаление слизистой оболочки, облегчить или уменьшить симптомы, связанные с воспалением слизистой оболочки (например, воспаление и кровоточивость слизистой оболочки), снизить или уменьшить тяжесть существующего воспаления слизистой оболочки, сократить продолжительность воспаления слизистой оболочки и/или ускорить снижение, лечение или заживление воспаления слизистой оболочки. В таких случаях жидкие композиции, содержащие ингредиент с отрицательным зарядом, например, катионное поверхностно-активное вещество или полимер, такой как Eudragit RL, могут обеспечить дополнительное преимущество благодаря обеспечению адгезии или связывания со слизистой оболочкой рта, которая имеет тенденцию к положительному заряду. Физические и химические свойства аспектов описанных в данном документе композиций могут придавать составу такие характеристики, как стабильность, доставка активного средства в слизистую оболочку и простота введения.

[0056] Как отмечено выше, описанные в данном документе фармацевтические композиции в ротамерной форме можно вводить совместно с другими терапевтическими средствами, вместе или отдельно, как часть схемы лечения. Такие средства включают N-ацетилцистеин и/или другие антиоксиданты, пантотеновую кислоту (витамин B5) или другие средства, которые усиливают синтез глутатиона, глутатион, например, для местного введения, Medihoney (для местного введения), куркумин (для местного введения) или другие ингибиторы NF-каппаB, мезаламин и/или другие противовоспалительные средства, например, для композиций для перорального или ректального введения, а также супероксиддисмутазу или другие соединения, которые предотвращают повреждение от реактивного O_2^- (супероксид).

ПРИМЕРЫ

[0057] Некоторые аспекты настоящего изобретения дополнительно проиллюстрированы следующими примерами, которые не следует истолковывать как ограничивающие каким-либо образом объем прилагаемой формулы изобретения.

Пример 1: Способ получения гидрохлорида олтипраза: (+)-ротамер

[0058] 20 мг синтезированного порошка олтипраза (ST-617-API, обсуждается ниже) подвергают повторной кристаллизации, используя смесь ацетонитрил:вода, и добавляют в

стеклянный флакон объемом 5 мл, обеспеченный резиновой перегородкой. Во флакон добавляют 1 мл сухого хлороформа при комнатной температуре и флакон ставят на вибрационный стол, пока раствор не станет прозрачным. С помощью газового шприца в раствор медленно барботируют 5 мл газообразной безводной соляной кислоты в течение 5 минут, периодически встряхивая флакон. После добавления всей газообразной HCl флакон встряхивают в течение 5 минут, перегородку удаляют и растворитель осторожно выпаривают в медленном постоянном потоке газообразного азота с получением комплекса гидрохлорида и олтипразы в виде оранжевого/красного твердого вещества. FTIR: пики C=S 1203/1211 (относительная интенсивность 3:7) и 433/421 (относительная интенсивность 2:8).

Пример 2: Способ получения комплекса гидроксималеатного ангидрида и олтипразы: (-)-ротамер

20 мг синтезированного порошка олтипразы подвергают повторной кристаллизации, используя смесь ацетонитрил:вода, и добавляют в стеклянный флакон объемом 10 мл, обеспеченный резиновой перегородкой. Всю влагу удаляют из флакона с помощью газообразного азота с использованием газового шприца. Флакон помещают на ледяную баню и в него добавляют предварительно охлажденный (10°C) раствор 22 мг (+)-диацетил-L-винного ангидрида в 5 мл сверхсухого ацетона, встряхивают на вибрационном столе в течение 5 минут, а через 5 минут добавляют 0,5 мл ледяной уксусной кислоты в течение 30 секунд, используя шприц. Через 4 ч при 0-10°C с периодическим встряхиванием обеспечивают нагревание флакона до комнатной температуры. Перегородку удаляют и растворитель осторожно выпаривают в медленном постоянном потоке газообразного азота с получением комплекса гидроксималеатного ангидрида и олтипразы (см. фиг. 5) в виде оранжевого твердого вещества. Комплекс промывают 3 раза этиловым эфиром для удаления следов уксусной кислоты. FTIR: пики C=S 1201/1214 (относительная интенсивность 8:2) и 434/423 (относительная интенсивность 8:2). Образец олтипраз-комплекса массой 2 мг измельчают с помощью KBR и превращают в стандартный осадок для анализа FTIR на спектрометре серии 1600 для FTIR от Perkin Elmer.

Пример 3: Способ получения комплекса ацетилхлорида и олтипразы: (+)-ротамер

[0059] 20 мг синтезированного порошка олтипразы подвергают повторной кристаллизации, используя смесь ацетон:вода и добавляют в стеклянный флакон, обеспеченный резиновой перегородкой. Во флакон добавляли 10 мл сухого хлороформа при комнатной температуре и флакон ставят на вибрационный стол, пока раствор не станет прозрачным. С использованием шприца в раствор медленно добавляют 5 мл безводного ацетилхлорида, периодически встряхивая флакон. После добавления всего ацетилхлорида флакон встряхивают в течение 15 минут, перегородку удаляют, и растворитель и избыток реагента осторожно выпаривают в медленном постоянном потоке газообразного азота с получением комплекса ацетилхлорида и олтипразы в виде

оранжевого твердого вещества. FTIR: пики C=S 1202/1212 (относительная интенсивность 3:7) и 432/422 (относительная интенсивность 2:8).

Пример 4: Способ получения комплекса н-бутилхлорида и олтипраза: (+)-ротамер

[0060] 20 мг синтезированного порошка олтипраза подвергают повторной кристаллизации, используя смесь ацетон:вода и добавляют в стеклянный флакон, обеспеченный резиновой перегородкой. Во флакон добавляли 10 мл сухого хлороформа при комнатной температуре и флакон ставят на вибрационный стол, пока полученный раствор не станет прозрачным. С использованием шприца в раствор медленно добавляют 5 мл н-бутилхлорида, периодически встряхивая флакон. После добавления всего н-бутилхлорида флакон нагревают до 65°C и встряхивают в течение 30 минут, перегородку удаляют, а растворитель и избыток реагента осторожно выпаривают в медленном постоянном потоке газообразного азота с получением комплекса н-бутилхлорида и олтипраза в виде красного твердого вещества.° FTIR: пики C=S 1201/1213 (относительная интенсивность 2:8) и 433/421 (относительная интенсивность 2:8).

Пример 5: способ получения комплекса йодметана и олтипраза: (+)-ротамер

[0061] 50 мг синтезированного порошка олтипраза подвергают повторной кристаллизации с использованием смеси ацетон:вода и добавляют в стеклянный флакон с выдерживаемым давлением, обеспеченный завинчивающимся уплотнением. Во флакон добавляли 20 мл сухого хлороформа при комнатной температуре и ставили флакон на вибрационный стол до тех пор, пока полученный раствор не стал прозрачным. С использованием шприца в раствор медленно добавляют 10 мл йодметана, периодически встряхивая флакон. После добавления всего йодметана флакон герметизируют и нагревают до 120°C под давлением и встряхивают в течение 3 часов ("ч"), флакон охлаждают и удаляют уплотнение, и растворитель и избыток реагента осторожно выпаривают в медленном постоянном потоке газообразного азота с получением комплекса йодметана и олтипраза в виде красного/коричневого твердого вещества.° FTIR: пики C=S 1197/1214 (относительная интенсивность 2:8) и 431/419 (относительная интенсивность 2:8).

Пример 6: Способ получения комплекса бензоилхлорида и олтипраза: (+)-ротамер

[0062] 20 мг неочищенного порошка олтипраза добавляют в стеклянный флакон, обеспеченный резиновой перегородкой. Во флакон добавляли 10 мл сухого хлороформа при комнатной температуре и флакон ставят на вибрационный стол, пока полученный раствор не станет прозрачным. С использованием шприца в раствор медленно добавляют 1 мл безводного бензоилхлорида, периодически встряхивая флакон. После добавления всего бензоилхлорида флакон встряхивают в течение 15 минут, перегородку удаляют, а растворитель и избыток реагента осторожно выпаривают в вакууме ниже 10 мм рт. ст. с получением комплекса бензоилхлорида и олтипраза в виде красного твердого вещества.

FTIR: пики C=S 1200/1213 (относительная интенсивность 3:7) и 431/419 (относительная интенсивность 3:7).

Пример 7: Способ получения комплекса диэтилдитиофосфата и олтипразы: (-)-ротамер

[0063] 22 мг синтезированного порошка олтипразы подвергали повторной кристаллизации с использованием смеси ацетон:вода и добавляли в стеклянную круглодонную колбу, обеспеченную магнитной мешалкой и конденсатором с холодной водой. В колбу добавляли 10 мл ацетона при комнатной температуре, и к раствору медленно добавляли 20 мг диэтилдитиофосфатной аммониевой соли, продолжая перемешивание. После добавления всего диэтилдитиофосфата температуру повышают и устанавливают на 3 часа нагрева с обратным холодильником. Выделившийся аммоний улавливают ловушкой для разбавленной соляной кислоты сверху конденсатора. Через 3 часа растворитель удаляют, получая комплекс диэтилдитиофосфата и олтипразы в виде оранжевого/красного твердого вещества. FTIR: пики C=S 1201/1220 (относительная интенсивность 9:1) и 472/444 (относительная интенсивность 8:2).

Пример 8: Способ получения комплекса диэтилтиофосфата и олтипразы: (-)-ротамер

[0064] 22 мг синтезированного порошка олтипразы подвергали повторной кристаллизации с использованием смеси ацетон:вода и добавляли в стеклянную круглодонную колбу, обеспеченную магнитной мешалкой и конденсатором с холодной водой. В колбу добавляли 10 мл ацетона при комнатной температуре и к раствору медленно добавляли 19 мг диэтилтиофосфатной аммониевой соли, продолжая перемешивание. После добавления всего диэтилтиофосфата температуру повышают и устанавливают на 3 часа нагрева с обратным холодильником. Выделившийся аммоний улавливают ловушкой для разбавленной соляной кислоты сверху конденсатора. Через 3 часа растворитель удаляют, получая комплекс диэтилдитиофосфата и олтипразы в виде оранжевого/красного твердого вещества. FTIR: пики C=S 1208/1221 (относительная интенсивность 9:1) и 479/442 (относительная интенсивность 9:1).

Пример 9: Способ получения комплекса диметилфосфата и олтипразы: (-)-ротамер

[0065] 175 мг триметилфосфата помещали со 100 мг неочищенного олтипразы (чистота 95%) в круглодонную колбу, обеспеченную конденсатором и мешалкой, и нагревали при 80°C в течение 72 часов. Через 72 часа смесь охлаждают до комнатной температуры и пять раз промывают 50 мл толуола. 255 г оранжевого/красного комплекса диметилфосфата и N-метил-олтипразы собирают из нижнего слоя и сушат в вакууме при 60 °C. FTIR: пики C=S 1210/1227 (относительная интенсивность 9:1) и 489/453 (относительная интенсивность 9:1).

Пример 10: Способ получения комплекса изэтионовой кислоты олтипразы: (-)-ротамер

[0066] 22 мг неочищенного порошка олтипраза добавляли в стеклянную круглодонную колбу, обеспеченную магнитной мешалкой и конденсатором с холодной водой. В колбу добавляли 10 мл ацетона при комнатной температуре, и к раствору медленно добавляли 30 мг аммониевой соли изэтионовой кислоты, продолжая перемешивание. После добавления всей аммониевой соли изэтионовой кислоты температуру повышают и устанавливают на 6 часов нагрева с обратным холодильником. Выделившийся аммоний улавливают ловушкой для разбавленной соляной кислоты сверху конденсатора. Через 6 часов рН реакции доводят до 6,8 минимальным количеством концентрированной соляной кислоты, и полученную смесь выпаривают в вакууме досуха с получением комплекса изэтионовой кислоты и олтипраза в виде красного/коричневого твердого вещества. FTIR: пики C=S 1216/1228 (относительная интенсивность 9:1) и 464/435 (относительная интенсивность 9:1).

Пример 11: Способ получения комплекса тиобензойной кислоты и олтипраза: (-)-ротамер

[0067] 20 мг неочищенного порошка олтипраза добавляют в стеклянный флакон, обеспеченный резиновой перегородкой. Во флакон добавляли 10 мл сухого хлороформа при комнатной температуре и флакон ставят на вибрационный стол, пока полученный раствор не станет прозрачным. С использованием шприца в раствор медленно добавляют 1 мл аммониевой соли тиобензойной кислоты, периодически встряхивая флакон. После добавления всей аммониевой соли тиобензойной кислоты температуру повышают и устанавливают для нагревания с обратным холодильником в течение 1 часа. Выделившийся аммоний улавливают ловушкой для разбавленной соляной кислоты сверху конденсатора. Через 1 час содержимое удаляют в вакууме с получением комплекса тиобензойной кислоты и олтипраза в виде оранжевого твердого вещества. FTIR: пики C=S 1210/1223 (относительная интенсивность 9:1) и 474/438 (относительная интенсивность 9:1).

Пример 12: Влияние (+)- и (-)-ротамеров на выработку ROS в клетках HGEPr с индуцированным окислительным стрессом H₂O₂.

[0068] Образование активных форм кислорода (ROS) указывает на окислительный стресс. Накопление ROS в сочетании с повышением окислительного стресса вовлечено в патогенез многих заболеваний, одним из которых является воспаление слизистой оболочки. См. Sonis, A biological approach to mucositis, J Support Oncol 2004;2:21-36; Halliwell & Whiteman, Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?, British J. Pharmacology, Volume 142, Issue 2, May 2004, 231-255; and Iglesias-Bartolome et al., mTOR Inhibition Prevents Epithelial Stem Cell Senescence and Protects from Radiation-Induced Mucositis, Cell Stem Cell 11, 401-414, September 7, 2012). Свободные радикалы и другие химически активные вещества постоянно образуются in vivo и вызывают окислительное повреждение биомолекул, процесс, который контролируется множеством антиоксидантных систем и систем восстановления.

[0069] Анализ для определения влияния олтипраза и составленных кристаллов олтипраза на внутриклеточные ROS с использованием клеток HGEPr описан в примере 7 документа PCT/IB2017/001312, опубликованного как WO 2018/047013, принадлежащего заявителю ST IP Holding AG. Составленные кристаллы олтипраза получали, как правило, в соответствии со способом, описанным в примере 1 PCT/IB2017/001312 (MHD менее около 350 нм). Тот же самый анализ проводили на композициях в ротамерной форме, полученных в примерах 1-11 выше, для определения их действия на защиту клеток первичных эпителиальных клеток десны человека (HGEPr) от окислительного повреждения, вызванного перекисью водорода (H₂O₂).

Условия:

| | |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Нормальные | нормальные контрольные клетки культивировали в DPBS, содержащем 0,3% ДМСО. |
| Положительный контроль (PC) | клетки с окислительным стрессом после обработки 0,3 мМ H ₂ O ₂ в течение 4 часов. |
| Составленные кристаллы олтипраза (ST-617-DPI) | группа клеток, предварительно обработанных в течение 24 часов с помощью ST-617-DPI в концентрации 100 г/мл перед обработкой H ₂ O ₂ . |
| (+)-Ротамерные комплексы | группа клеток, предварительно обработанных в течение 24 часов (+)-ротамерным комплексом в концентрации 100 г/мл перед обработкой H ₂ O ₂ . |
| (-)-Ротамерные комплексы | группа клеток, предварительно обработанных в течение 24 часов (-)-ротамерным комплексом в концентрации 100 г/мл перед обработкой H ₂ O ₂ . |

Результаты.

[0070] Результаты вышеуказанного анализа для ST-617-DPI и ротамерных комплексов из примеров 1-11 показаны ниже в таблице 1. Результат для ST-617-API (повторно кристаллизованный олтипраз, полученный в соответствии со способом, описанным в WO2016207914), представлен в таблице 1 ниже, взят из фиг. 9 в PCT/IB2017/001312 (предварительная обработка 100 г/мл).

Таблица 1

| | |
|-------------------|---------------------------------------------------------------|
| Нормальные | 100% (исходный уровень оптической плотности) |
|-------------------|---------------------------------------------------------------|

| | |
|--------------------------------------------------|------|
| Положительный контроль (РС) | 139% |
| Повторно кристаллизованный олтипраз (ST-617-API) | 124% |
| Составленные кристаллы олтипраза (ST-617-DPI) | 122% |
| Пример 1 | 128% |
| Пример 2 | 116% |
| Пример 3 | 129% |
| Пример 4 | 128% |
| Пример 5 | 134% |
| Пример 6 | 131% |
| Пример 7 | 117% |
| Пример 8 | 115% |
| Пример 9 | 112% |
| Пример 10 | 113% |
| Пример 11 | 116% |

[0071] Снижение уровней ROS для группы клеток, обработанных 100 г/мл ST-617-DPI в анализе (122%) по сравнению с контролем (139%), соответствовало результатам, представленным в PCT/IB2017/001312 для 100 г/мл (123%), а также другим результатам, полученным для ST-617-DPI в этом анализе. (+)-Ротамерные комплексы обеспечивали умеренное снижение ROS, тогда как (-)-ротамерные комплексы обеспечивали существенное снижение. Результаты анализа для (-)-ротамера были статистически значимыми при уровне достоверности 90%.

Пример 13: Дифференциально регулируемые гены, связанные с окислительным стрессом, в клетках HGEPr после обработки ST-617-DPI, ST-617-API

и ротамерными комплексами из примеров 1-11.

[0072] Система Nrf2 (рассмотренная выше) считается основным механизмом клеточной защиты от окислительного повреждения путем активации генов, которые кодируют детоксифицирующие и антиоксидантные ферменты фазы II. Одним из таких окислительных повреждений является воспаление слизистой оболочки в полости рта, которое возникает во время и после химиотерапевтического лечения, особенно при лечении рака головы и шеи. ПЦР-матрицу окислительного стресса человека использовали для оценки относительной экспрессии 84 стрессовых генов после предварительной обработки 100 мкг/мл составленной композиции олтипраза, составленной, в целом, в соответствии со способом, описанным в примере 1 РСТ/IB2017/001312 (MHD менее около 350 нм), ротамерными комплексами, описанными в примерах 1-11 выше, и отрицательным контролем (составленная композиция олтипраза без олтипраза) в клетках HGERp.

МАТЕРИАЛЫ

[0073] Клетки HGERp были приобретены у CellnTec Advanced Cell Systems AG. Набор RNEasy Plus Micro был приобретен у Qiagen N.V., США. Набор ДНКазы, не содержащей РНазы, был приобретен у Qiagen N.V., США. RT2 Easy First Strand Kit (генератор ДНК) и основная смесь RT2 SYBR® Green fluor qPCR были приобретены у Qiagen N.V., США. ПЦР-матрицы для прибора для измерения профиля окислительного стресса RT2 (84 защитных гена) были приобретены у Qiagen N.V., США. Для ОТ-ПЦР использовали ПЦР-систему iCycler от Bio-Rad Inc., США.

МЕТОДЫ

Культура клеток

[0074] Объединенные первичные клетки HGERp размножали в эпителиальной культуральной среде CnT-Prime, предоставленной CellnTec, на чашках Петри диаметром 100 мм, покрытых 30 мг/мл коллагена хвоста крысы типа I (BD Biosciences), разведенного в фосфатно-солевом растворе Дульбекко (DPBS). Клетки HGERp выращивали в чашках для культивирования клеток Nunc™ размером 12 × 60 мм при концентрации плотности $2,5 \times 10^4$ клеток/см².

Приготовление дозированных растворов:

[0075] Составленные кристаллы олтипраза (ST-617-DPI) получали, в целом, в соответствии со способом, описанным в примере 1 документа РСТ/IB2017/001312. Повторно кристаллизованный олтипраз получали в соответствии со способом, описанным в WO2016207914 ST-617-API. ST-617-DPI, ST-617-API и ротамерные комплексы из примеров 1-11 растворяли в ДМСО до конечной концентрации 100 мкг/мл. Все дозированные растворы содержали 0,3% ДМСО, что значительно ниже максимально допустимого процента ДМСО, составляющего 0,8% для клеток HGERp.

Предварительная обработка клеток HGERp растворами ST-617-DPI и ротамерного комплекса.

1. Концентрация клеток в чашке была выбрана равной $2,5 \times 10^5$ /мл, чтобы

получить ОП поглощения в пределах линейной части контрольной кривой.

2. Как только клетки HGEPr были культивированы и готовы (достигали слияния) на чашках, среду удаляли и выбрасывали. Клетки осторожно промывали DPBS 2-3 раза, а последнюю промывку удаляли и выбрасывали.

3. Затем чашки для культивирования клеток HGEPr предварительно обрабатывали в течение 24 часов ST-617-API, ST-617-DPI и ротамерными комплексами в концентрации 100 г/мл (в двух экземплярах) при 37 °С.

Получение мРНК из клеток HGEPr:

Набор RNeasy UCP Micro использовали для очистки мРНК из клеток HGEPr.

1. После отбрасывания и промывки клетки осаждали центрифугированием в течение 5 мин при 1000 об/мин в центрифужной пробирке. Весь супернатант осторожно удаляли путем аспирации, убедившись, что вся клеточная среда полностью удалена.

2. Клетки разрушали добавлением 350 мкл буфера RULT, стараясь отделить осадок клеток от пробирки, встряхивали для тщательного перемешивания, и смесь гомогенизировали, пропуская лизат 5 раз через иглу 20 размера, установленную в шприц без РНазы.

3. К лизату добавляли 350 мкл 70% этанола и снова перемешивали путем пипетирования. (Некоторое количество осадка видно, но это не проблема для анализа)

4. Переносили образец, включая любой осадок, который мог образоваться, в центрифужную колонку RNeasy UCP MinElute, помещенную в пробирку для сбора объемом 2 мл, и центрифугировали в течение 15 с при 10 000 об/мин. Отбрасывали через поток.

5. Добавляли 350 мкл буфера RUWT в центрифужную колонку и центрифугировали в течение 15 с при 10 000 об/мин, чтобы промыть мембрану. Проточный фильтрат сливали.

6. Добавляли 10 мкл исходного раствора ДНКазы I к 70 мкл забуференного RDD. Осторожно перемешивали, добавляли 80 мкл смеси ДНКазы I непосредственно на мембрану центрифужной колонки и встряхивали в течение 15 мин.

7. Добавляли 350 мкл буфера RUWT в центрифужную колонку и центрифугировали в течение 15 с при 10 000 об/мин, чтобы промыть ее и слить проточный фильтрат.

8. Помещали центрифужную колонку в новую пробирку для сбора объемом 2 мл, добавляли 500 мкл буфера RUPE и центрифугировали в течение 15 с при 10 000 об/мин. Проточный фильтрат сливали.

9. Снова промывали центрифужную колонку 500 мкл 80% этанола, помещали ее в новую пробирку для сбора объемом 2 мл и центрифугировали в течение 5 минут на полной скорости с открытой крышкой, чтобы убедиться, что весь этанол удален.

10. Помещали центрифужную колонку в новую пробирку для сбора объемом 1,5 мл, добавляли 14 мкл сверхчистой воды непосредственно в центр мембраны центрифужной колонки, закрывали крышку и центрифугировали в течение 1 мин на

полной скорости с элюированием РНК. Мертвый объем центрифужной колонки составляет 4 мкл. Элюировали с помощью 16 мкл сверхчистой воды с получением 20 мкл (4 мкг) РНК-элюата.

Подготовка кДНК для ОТ-ПЦР:

1. Образец РНК от каждой из описанных выше обработок добавляли к 40 мкл буфера GE2 (буфер для удаления геномной ДНК) и H₂O, не содержащей РНКазы, до конечного объема 60 мкл.

2. Инкубировали при 37°C в течение 5 минут и сразу же помещали на лед на 2 минуты.

3. Добавляли 62 мкл смеси обратной транскриптазы BC5 к каждому образцу РНК объемом 60 мкл до конечного объема 102 мкл.

4. Инкубировали при 42°C ровно 15 минут и затем немедленно прекращали реакцию, нагревая при 95°C в течение 5 минут (при необходимости держали на льду до проведения кПЦР).

ПЦР-матрица для прибора для измерения профиля RT2 окислительного стресса человека:

[0076] ОТ-ПЦР является высокочувствительным и надежным методом анализа экспрессии генов. Анализ надежно использовали для анализа уровней экспрессии 84 генов, связанных с окислительным стрессом, в клетках HGEPr, предварительно обработанных ST-617-API, ST-617-DPI и ротамерными комплексами при 100 г/мл в течение 24 часов. Приведенную выше кДНК смешивали с основной смесью RT2 SYBR Green fluor и вносили аликвоты в лунки ПЦР-матрицы прибора для измерения профиля RT2. ОТ-ПЦР проводили на iCycler. Экспрессию генов сравнивали с использованием значений Ct, а результаты рассчитывали с использованием метода $\Delta\Delta$ Ct с нормализацией к средним уровням экспрессии пяти общих генов (ACTB, B2M, GAPDH, HPRT и RPL13A).

Результаты.

[0077] Результаты анализов на ST-617-DPI и ротамерных комплексах из примеров 1-11 показаны ниже в таблице 2. Результаты для ST-617-API (повторно кристаллизованный олтипраз, полученный в соответствии со способом, описанным в WO/2016207914), представленные в таблице 2 ниже, взяты из более раннего анализа, проведенного, как описано выше.

Таблица 2

| | ОБРАЗЕЦ | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|-------------------|-------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|-------------------------------|-------------------------------|
| ГЕН | ST-617 API | ST-617 DPI | Пр. 1 | Пр. 2 | Пр. 3 | Пр. 4 | Пр. 5 | Пр. 6 | Пр. 7 | Пр. 8 | Пр. 9 | Пр. 10 | Пр. 11 | (+)-рота мер, сред нее | (-)-рота мер, сред нее |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------------------------------------|-------------|-------------|------|-----|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|-------------|--------------|--------------|
| | | | | | | | | | | | | | | | знач ение | значе ние |
| ОТНОСИТЕЛЬНОЕ КРАТНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПОВЫШАЮЩЕЙ РЕГУЛЯЦИИ | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ALO X12 | 6,15 | | | 6,4 | | | | | | | 6,4 | | | | | |
| | | 6,42 | 6,38 | 6 | 6,33 | 5,82 | 6,04 | 5,93 | 6,38 | 6,41 | 3 | 6,48 | 6,39 | 6,07 | 6,43 | |
| SOD1 | 2,46 | | | 5,1 | | | | | | | 5,2 | | | | | |
| | | 4,88 | 3,86 | 3 | 4,24 | 4,15 | 3,89 | 3,92 | 4,85 | 4,86 | 2 | 5,23 | 4,96 | 4,04 | 5,04 | |
| GPX1 | 4,88 | | | | | | | | | | 4,8 | | | | | |
| | | 4,82 | 4,81 | 4,8 | 4,76 | 4,80 | 4,98 | 4,43 | 4,72 | 4,81 | 9 | 4,86 | 4,82 | 4,77 | 4,82 | |
| NQO 1 | 2,95 | | | 4,0 | 3,36 | 3,34 | 3,15 | 3,17 | 3,93 | 3,92 | 4,2 | 4,26 | 4,09 | | | |
| | | 3,67 | 3,14 | 7 | | | | | | | 4 | | | 3,24 | 4,09 | |
| MPO | | | | 3,2 | 3,10 | 3,20 | 3,18 | 3,05 | 3,42 | 3,47 | 3,4 | 3,39 | 3,44 | | | |
| | | 3,35 | 3,22 | 1 | | | | | | | 1 | | | 3,15 | 3,39 | |
| GCL C | 4,14 | | | 4,5 | 3,27 | 3,35 | 3,38 | 3,31 | 4,41 | 4,39 | 4,6 | 4,52 | 4,46 | | | |
| | | 3,26 | 3,35 | 2 | | | | | | | 0 | | | 3,33 | 4,48 | |
| GPX4 | | | | 2,8 | 2,83 | 2,96 | 2,85 | 2,91 | 2,99 | 3,02 | 2,9 | 2,79 | 2,94 | | | |
| | | 2,91 | 2,86 | 4 | | | | | | | 3 | | | 2,86 | 2,92 | |
| GSTP 1 | 2,17 | | | 3,0 | 2,87 | 2,88 | 2,90 | 2,74 | 3,13 | 3,08 | 3,1 | 3,18 | 3,07 | | | |
| | | 2,98 | 2,77 | 7 | | | | | | | 6 | | | 2,83 | 3,12 | |
| GCL M | 3,03 | | | 3,0 | 2,38 | 2,38 | 2,27 | 2,25 | 3,00 | 3,02 | 3,1 | 3,11 | 3,08 | | | |
| | | 2,19 | 2,33 | 1 | | | | | | | 5 | | | 2,32 | 3,06 | |
| ОТНОСИТЕЛЬНОЕ КРАТНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ Понижающей РЕГУЛЯЦИИ | | | | | | | | | | | | | | | | |
| GTF2 i | 0,34 | | | 0,2 | 0,32 | 0,35 | 0,33 | 0,36 | 0,29 | 0,29 | 0,2 | 0,31 | 0,29 | | | |
| | | 0,32 | 0,33 | 6 | | | | | | | 8 | | | 0,34 | 0,29 | |
| PRD X2 | | | | 0,2 | 0,33 | 0,32 | 0,32 | 0,31 | 0,28 | 0,28 | 0,2 | 0,28 | 0,27 | | | |
| | | 0,29 | 0,31 | 6 | | | | | | | 7 | | | 0,32 | 0,27 | |
| PTGS 1 | 0,22 | | | 0,2 | 0,29 | 0,27 | 0,28 | 0,28 | 0,21 | 0,23 | 0,2 | 0,22 | 0,22 | | | |
| | | 0,24 | 0,28 | 3 | | | | | | | 1 | | | 0,28 | 0,22 | |
| UCP2 | 0,18 | 0,20 | 0,26 | 0,1 | 0,26 | 0,25 | 0,29 | 0,28 | 0,17 | 0,14 | 0,1 | 0,16 | 0,15 | 0,27 | 0,15 | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|---|--|--|--|--|--|--|---|--|--|--|--|
| | | | | 5 | | | | | | | 5 | | | | |
|--|--|--|--|---|--|--|--|--|--|--|---|--|--|--|--|

[0078] Отрицательный контроль не показал изменений в регуляции какого-либо гена. Все ротамеры показали более высокую реакцию регуляции генов для (-)-ротамера по сравнению с (+)-ротамером. Наибольшие кратные изменения между двумя ротамерами были для SOD1, GCLC, GCLM и UCP2. Следует отметить, что гены GCLC и GCLM, которые являются генами биосинтеза глутатиона (GSH), показали значительные устойчивые различия между (+)- и (-)-ротамерами. Эти результаты коррелируют с увеличением уровня GSH в сыворотке крови, наблюдаемым у пациентов в клиническом испытании, которые получали ST-617-DPI и у которых отмечалось слабое развитие воспаления слизистой оболочки в полости рта во время лучевой терапии рака головы и шеи. (-)-Ротамеры показали более высокие реакции регуляции генов по сравнению с ST-617-API для ALOX12, SOD1, NQO1, GCLC и GSTP1. (-)-Ротамеры показали более высокие реакции регуляции генов по сравнению с ST-617-DPI для SOD1, NQO1, GCLC, GSTP1 и GCLM. Внутри (-)-ротамеров комплексы диметилфосфата и изэтионовой кислоты (примеры 9 и 10 соответственно) показали значительно более высокую повышающую регуляцию по сравнению с ST-617-DPI и ST-617-API для SOD1, NQO1, GCLC, GSTP1 и GCLM. (-)-Ротамеры также показали дифференциальную понижающую регуляцию UCP2 (митохондриальный разобщающий белок 2, который участвует в контроле митохондриальных ROS) по сравнению с ST-617-DPI и ST-617-API.

[0079] Таким образом, фармацевтические композиции в ротамерной форме и способы введения фармацевтических композиций в ротамерной форме по настоящему изобретению могут быть использованы для лечения любого пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, для уменьшения количества внутриклеточных активных форм кислорода (ROS) и/или уменьшения окислительного стресса, в том числе у пациентов, проходящих лечение, которое вызывает окислительный стресс, такое как химиотерапия или лучевая терапия.

[0080] Фармацевтические композиции в ротамерной форме и способы введения фармацевтических композиций в ротамерной форме по настоящему изобретению могут быть использованы для лечения любого пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, для обеспечения антиоксидантного эффекта, в том числе у пациентов, проходящих лечение, вызывающее окислительный стресс, такое как химиотерапия или лучевая терапия. Фармацевтические композиции в ротамерной форме и способы введения фармацевтических композиций в ротамерной форме по настоящему изобретению также могут быть использованы для замедления начала и/или уменьшения тяжести, и/или уменьшения продолжительности окислительного повреждения у пациентов (например, воспаления слизистой оболочки, включая воспаление слизистой оболочки в полости рта), в том числе у пациентов, проходящих лечение, вызывающее окислительное повреждение, такое как химиотерапия или лучевая терапия.

[0081] На основании приведенных выше результатов, можно также предположить, что (+)-ротамер, включая композиции, в которых присутствует ротамерный избыток (+)-

ротамера, может активировать гены, связанные с путем Nrf2. На основании приведенных выше результатов, можно также предположить, что (-)-ротамер, включая композиции, в которых присутствует ротамерный избыток (-)-ротамера, может активировать гены, связанные с путем Nrf2.

ПЕРЕЧИСЛЕНИЕ АСПЕКТОВ

1. Композиция, содержащая ротамерный избыток (+)-ротамера 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тиона (олтипраз, см. фиг. 4А).

2. Композиция согласно аспекту 1, причем композиция содержит один или более олтипраз-комплексов (например, одну или более солей олтипраза), имеющих ротамерный избыток (+)-ротамера.

3. Композиция согласно аспекту 2, причем один или более олтипраз-комплексов содержат соль, полученную в результате присоединения группы (например, обратимого добавления HCl, алкилгалогенидов или ацилгалогенидов) к альфа-атому азота пиразинильного кольца олтипраза с образованием N-замещенного иона пиразиния и связанного аниона в результате присоединения группы к альфа-атому азота пиразинильного кольца олтипраза с образованием N-замещенного иона пиразиния и связанного с ним аниона.

4. Композиция согласно аспекту 3, причем один или более олтипраз-комплексов содержат по меньшей мере один олтипраз-комплекс, образованный присоединением к альфа-атому азота пиразинильного кольца олтипраза одного или более реагентов, выбранных из группы, состоящей из алкилгалогенида, алкенилгалогенида, алкинилгалогенида, ацилгалогенида, бензоилгалогенида и их комбинаций (например, одного или более реагентов, выбранных из группы, состоящей из: HCl, метилхлорида, замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного формила, замещенного или незамещенного ацетила, замещенного или незамещенного бензоила, замещенного и незамещенного бутила). Такие олтипраз-комплексы могут быть образованы реакцией олтипраза, например, с формилхлоридом, ацетилхлоридом, бензоилхлоридом и н-бутилийодидом соответственно, йодметаном и их комбинациями. В таком аспекте формильная, ацетильная, бензоильная и бутильная группы могут быть связаны с атомами азота в положении 2 или 4 пиразинового кольца и могут нести один или более заместителей, выбранных, например, из галогена (например, F или Cl) и/или низшего алкила (C1-C6алкила).

5. Композиция согласно любому из аспектов 1-4, причем ротамерный избыток (+)-ротамера находится в диапазоне, выбранном из группы, состоящей из 30-40% избытка, 40-50% избытка, 50-60% избытка и 60-70% избытка, 70-80% избытка и избытка более 80%.

6. Композиция, содержащая олтипраз-комплекс, причем олтипраз-комплекс имеет избыток (-)-ротамера 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тиона (олтипраз).

7. Композиция согласно аспекту 6, причем композиция содержит один или более олтипраз-комплексов, имеющих ротамерный избыток (-)-ротамера.

8. Композиция согласно аспекту 7, причем по меньшей мере один из одного или

более олтипраз-комплексов содержит прямую связь между альфа-атомом азота пиазинильного кольца и электроотрицательным атомом.

9. Композиция согласно аспекту 8, причем электроотрицательный атом выбран из группы, состоящей из атома кислорода, серы и фосфора.

10. Композиция согласно любому из вариантов осуществления 6-9, причем один или более олтипраз-комплексов содержат гидроксималеатный олтипраз-комплекс.

11. Композиция согласно любому из аспектов 6-9, причем один или более олтипраз-комплексов содержат один или более комплексов, образованных реакцией олтипраза с одним или более реагентами, выбранными из группы, состоящей из карбоновой кислоты или ее соли, фосфорной кислоты или ее соли, алкилфосфата, арилфосфата, алкилсульфоновой кислоты или ее соли, арилсульфоновой кислоты или ее соли, замещенной и незамещенной тиокарбоновой кислоты или ее соли, а также комбинации одного или более из вышеуказанного, например, молочной кислоты, тартроновой кислоты, изотионовой кислоты, изосерина, 2-меркаптоэтансульфоновой кислоты, таурина, пропилфосфоновой кислоты, 2-аминоэтилфосфоновой кислоты, диэтилдитиофосфата, диэтилтиофосфата, диметилфосфата.

12. Композиция согласно любому из аспектов 6-9, причем один или более олтипраз-комплексов содержат один или более комплексов, образованных реакцией олтипраза с одним или более реагентами, выбранными из группы, состоящей из молочной кислоты, тартроновой кислоты, изотионовой кислоты, изосерина, 2-меркаптоэтансульфоновой кислоты, таурина, пропилфосфоновой кислоты, 2-аминоэтилфосфоновой кислоты, диэтилдитиофосфата, диэтилтиофосфата, диметилфосфата и их комбинаций.

13. Композиция согласно любому из аспектов 6-12, причем ротамерный избыток (-)-ротамера находится в диапазоне, выбранном из группы, состоящей из избытка 30-40%, избытка 40-50%, избытка 50-60%, избытка 60-65%, избытка 60-70%, избытка 70-80%, избытка 80-90% и избытка 90-100%.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одну композицию согласно любому из аспектов 1-13, причем композиция подходит для введения человеку.

15. Фармацевтическая композиция согласно аспекту 14, причем композиция находится в форме, подходящей для местного введения.

16. Фармацевтическая композиция согласно аспекту 15, причем композиция находится в форме, подходящей для ректального введения или для введения путем ингаляции.

17. Фармацевтическая композиция согласно аспекту 14, причем композиция находится в форме, подходящей для подкожной, внутримышечной, внутривенной или внутривенной инъекции.

18. Фармацевтическая композиция согласно аспекту 14, причем композиция находится в форме, подходящей для перорального введения.

19. Фармацевтическая композиция согласно аспекту 18, причем композиция находится в форме порошка, пилюли, таблетки или содержится в капсуле.

20. Фармацевтическая композиция согласно аспекту 18, причем композиция находится в жидкой форме.

21. Способ лечения нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий введение пациенту фармацевтической композиции согласно любому из аспектов 13-20.

22. Способ согласно аспекту 21, причем введение включает пероральное введение.

23. Способ согласно аспекту 21, причем введение включает трансбуккальное введение.

24. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий пероральное введение фармацевтической композиции согласно любому из аспектов 18-20.

25. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий пероральное введение фармацевтической композиции, составленной согласно любому из аспектов 18-20.

26. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий пероральное введение пациенту фармацевтической композиции согласно любому из аспектов 18-20.

27. Способ согласно любому из аспектов 24-26, причем воспаление слизистой оболочки представляет собой воспаление слизистой оболочки в ротовой полости.

28. Способ согласно любому из аспектов 24-26, причем воспаление слизистой оболочки представляет собой воспаление слизистой оболочки пищеварительного канала.

29. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки или дерматита у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий местное введение композиции согласно аспекту 15.

30. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий ректальное введение композиции согласно аспекту 16.

31. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий введение путем ингаляции композиции согласно аспекту 16.

32. Способ согласно любому из аспектов 21-31, причем пациент проходит лучевую терапию.

33. Способ получения (-)-ротамера гидроксималеатного ангидрида и олтипразы, включающий стадии:

реакции олтипразы с (+)-диацетил-L-винным ангидридом в присутствии сухого полярного растворителя с образованием реакционной смеси; и добавления уксусной кислоты к реакционной смеси.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая ротамерный избыток (+)-ротамера 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тиона (олтипраз).

2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что композиция содержит один или более олтипраз-комплексов (например, одну или более солей олтипраз), имеющих ротамерный избыток (+)-ротамера.

3. Композиция по п. 2, отличающаяся тем, что один или более олтипраз-комплексов содержат соль, полученную в результате присоединения группы к альфа-атому азота пиразинильного кольца олтипраз с образованием N-замещенного иона пиразиния и связанного аниона.

4. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что один или более олтипраз-комплексов содержат по меньшей мере один олтипраз-комплекс, образованный реакцией олтипраз и одного или более реагентов, выбранных из группы, состоящей из алкилгалогенида, алкенилгалогенида, алкинилгалогенида, ацилгалогенида, бензоилгалогенида и их комбинаций.

5. Композиция по любому из пп. 1-4, отличающаяся тем, что ротамерный избыток (+)-ротамера находится в диапазоне, выбранном из группы, состоящей из 30-40% избытка, 40-50% избытка, 50-60% избытка и 60-70% избытка, 70-80% избытка и избытка более 80%.

6. Композиция, содержащая олтипраз-комплекс, причем олтипраз-комплекс имеет избыток (-)-ротамера 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тиона (олтипраз).

7. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что композиция содержит один или более олтипраз-комплексов, имеющих ротамерный избыток (-)-ротамера.

8. Композиция по п. 7, отличающаяся тем, что по меньшей мере один из одного или более олтипраз-комплексов содержит прямую связь между альфа-атомом азота пиразинильного кольца и электроотрицательным атомом.

9. Композиция по п. 8, отличающаяся тем, что электроотрицательный атом выбран из группы, состоящей из атома кислорода, серы и фосфора.

10. Композиция по любому из пп. 6-9, отличающаяся тем, что один или более олтипраз-комплексов содержат гидроксималеатный олтипраз-комплекс.

11. Композиция по любому из пп. 6-9, отличающаяся тем, что один или более олтипраз-комплексов содержат один или более комплексов, образованных реакцией олтипраз с одним или более реагентами, выбранными из группы, состоящей из карбоновой кислоты или ее соли, фосфорной кислоты или ее соли, алкилфосфата, арилфосфата, алкилсульфоновой кислоты или ее соли, арилсульфоновой кислоты или ее соли, замещенной и незамещенной тиокарбоновой кислоты или ее соли, а также комбинации одного или более из вышеуказанного, например, молочной кислоты, тартроновой кислоты, изотионовой кислоты, изосерина, 2-меркаптоэтансульфоновой кислоты, таурина, пропилфосфоновой кислоты, 2-аминоэтилфосфоновой кислоты, диэтилдитиофосфата, диэтилтиофосфата, диметилфосфата.

12. Композиция по любому из пп. 6-9, отличающаяся тем, что один или более олтипраз-комплексов содержат один или более комплексов, образованных реакцией олтипраза с одним или более реагентами, выбранными из группы, состоящей из молочной кислоты, тартроновой кислоты, изотионовой кислоты, изосерина, 2-меркаптоэтансульфоновой кислоты, таурина, пропилфосфоновой кислоты, 2-аминоэтилфосфоновой кислоты, диэтилдитиофосфата, диэтилтиофосфата, диметилфосфата и их комбинаций.

13. Композиция по любому из пп. 6-12, отличающаяся тем, что ротамерный избыток (-)-ротамера находится в диапазоне, выбранном из группы, состоящей из избытка 30-40%, избытка 40-50%, избытка 50-60%, избытка 60-65%, избытка 60-70%, избытка 70-80%, избытка 80-90% и избытка 90-100%.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одну композицию по любому из пп. 1-13, отличающаяся тем, что композиция подходит для введения человеку.

15. Фармацевтическая композиция по п. 14, отличающаяся тем, что композиция находится в форме, подходящей для местного введения.

16. Фармацевтическая композиция по п. 14, отличающаяся тем, что композиция находится в форме, подходящей для ректального введения или для введения путем ингаляции.

17. Фармацевтическая композиция по п. 14, отличающаяся тем, что композиция находится в форме, подходящей для подкожной, внутримышечной, внутригрудинной или внутривенной инъекции.

18. Фармацевтическая композиция по п. 14, отличающаяся тем, что композиция находится в форме, подходящей для перорального введения.

19. Фармацевтическая композиция по п. 18, отличающаяся тем, что композиция находится в форме порошка, пилюли, таблетки или содержится в капсуле.

20. Фармацевтическая композиция по п. 18, отличающаяся тем, что композиция находится в жидкой форме.

21. Способ лечения нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий введение пациенту фармацевтической композиции по любому из пп. 14-20.

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что введение включает пероральное введение.

23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что введение включает трансбуккальное введение.

24. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий пероральное введение фармацевтической композиции по любому из пп. 18-20.

25. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или

сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий пероральное введение фармацевтической композиции, полученной по любому из пп. 18-20.

26. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий пероральное введение пациенту фармацевтической композиции по любому из пп. 18-20.

27. Способ по любому из пп. 24-26, отличающийся тем, что воспаление слизистой оболочки представляет собой воспаление слизистой оболочки ротовой полости.

28. Способ по любому из пп. 24-26, отличающийся тем, что воспаление слизистой оболочки представляет собой воспаление слизистой оболочки пищеварительного канала.

29. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки или дерматита у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий местное введение композиции по п. 15.

30. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий ректальное введение композиции по п. 16.

31. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий введение путем ингаляции композиции по п. 16.

32. Способ по любому из пп. 21-31, отличающийся тем, что пациент проходит лучевую терапию.

33. Способ получения (-)-ротамера гидроксималеатного ангидрида и олтипраза, включающий стадии:

реакции олтипраза с (+)-диацетил-L-винным ангидридом в присутствии сухого полярного растворителя с образованием реакционной смеси; и добавления уксусной кислоты к реакционной смеси.

По доверенности

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА

полученная Международным Бюро 13.04.2020

1. Композиция, содержащая ротамерный избыток (+)-ротамера 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тиона (олтипраз).

2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что композиция содержит один или более олтипраз-комплексов, имеющих ротамерный избыток (+)-ротамера.

3. Композиция по п. 2, отличающаяся тем, что один или более олтипраз-комплексов содержат соль, полученную в результате присоединения группы к альфа-атому азота пиразинильного кольца олтипраза с образованием N-замещенного иона пиразиния и связанного аниона.

4. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что один или более олтипраз-комплексов содержат по меньшей мере один олтипраз-комплекс, образованный реакцией олтипраза и одного или более реагентов, выбранных из группы, состоящей из алкилгалогенида, алкенилгалогенида, алкинилгалогенида, ацилгалогенида, бензоилгалогенида и их комбинаций.

5. Композиция по любому из пп. 1-4, отличающаяся тем, что ротамерный избыток (+)-ротамера находится в диапазоне, выбранном из группы, состоящей из 30-40% избытка, 40-50% избытка, 50-60% избытка, 60-70% избытка, 70-80% избытка и избытка более 80%.

6. Композиция, содержащая олтипраз-комплекс, отличающаяся тем, что олтипраз-комплекс имеет избыток (-)-ротамера 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тиона (олтипраз).

7. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что композиция содержит один или более олтипраз-комплексов, имеющих ротамерный избыток (-)-ротамера.

8. Композиция по п. 7, отличающаяся тем, что по меньшей мере один из одного или более олтипраз-комплексов содержит прямую связь между альфа-атомом азота пиразинильного кольца и электроотрицательным атомом.

9. Композиция по п. 8, отличающаяся тем, что электроотрицательный атом выбран из группы, состоящей из атома кислорода, серы и фосфора.

10. Композиция по любому из пп. 6-9, отличающаяся тем, что один или более олтипраз-комплексов содержат гидроксималеатный олтипраз-комплекс.

11. Композиция по любому из пп. 6-9, отличающаяся тем, что один или более олтипраз-комплексов содержат один или более комплексов, образованных реакцией олтипраза с одним или более реагентами, выбранными из группы, состоящей из карбоновой кислоты или ее соли, фосфорной кислоты или ее соли, алкилфосфата, арилфосфата, алкилсульфоновой кислоты или ее соли, арилсульфоновой кислоты или ее соли, замещенной и незамещенной тиокарбоновой кислоты [[и]] или ее соли, а также комбинации одного или более из вышеуказанного.

12. Композиция по любому из пп. 6-9, отличающаяся тем, что один или более олтипраз-комплексов содержат один или более комплексов, образованных реакцией олтипраза с одним или более реагентами, выбранными из группы, состоящей из молочной

кислоты, тартроновой кислоты, изотионовой кислоты, изосерина, 2-меркаптоэтансульфоновой кислоты, таурина, пропилфосфоновой кислоты, 2-аминоэтилфосфоновой кислоты, диэтилдитиофосфата, диэтилтиофосфата, диметилфосфата и их комбинаций.

13. Композиция по любому из пп. 6-12, отличающаяся тем, что ротамерный избыток (-)-ротамера находится в диапазоне, выбранном из группы, состоящей из избытка 30--40%, избытка 40-50%, избытка 50-60%, избытка 60-65%, избытка 60--70%, избытка 70-80%, избытка 80-90% и избытка 90--100%.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одну композицию по любому из пп. 1-13, отличающаяся тем, что композиция подходит для введения человеку.

15. Фармацевтическая композиция по п. 14, отличающаяся тем, что композиция находится в форме, подходящей для местного введения.

16. Фармацевтическая композиция по п. 14, отличающаяся тем, что композиция находится в форме, подходящей для ректального введения или для введения путем ингаляции.

17. Фармацевтическая композиция по п. 14, отличающаяся тем, что композиция находится в форме, подходящей для подкожной, внутримышечной, внутригрудинной или внутривенной инъекции.

18. Фармацевтическая композиция по п. 14, отличающаяся тем, что композиция находится в форме, подходящей для перорального введения.

19. Фармацевтическая композиция по п. 18, отличающаяся тем, что композиция находится в форме порошка, пилюли, таблетки или содержится в капсуле.

20. Фармацевтическая композиция по п. 18, отличающаяся тем, что композиция находится в жидкой форме.

21. Способ лечения нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий введение пациенту фармацевтической композиции по любому из пп. 14-20.

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что введение включает пероральное введение.

23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что введение включает трансбуккальное введение.

24. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий пероральное введение пациенту фармацевтической композиции по п. 18.

25. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий пероральное введение пациенту фармацевтической композиции по п. 19.

26. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий пероральное введение пациенту фармацевтической композиции по п. 20.

27. Способ по любому из пп. 24-26, отличающийся тем, что воспаление слизистой оболочки представляет собой воспаление слизистой оболочки в ротовой полости.

28. Способ согласно любому из пп. 24-26, отличающийся тем, что воспаление слизистой оболочки представляет собой воспаление слизистой оболочки пищеварительного канала.

29. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки или дерматита у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий местное введение композиции по п. 15.

30. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий ректальное введение композиции по п. 16.

31. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий введение путем ингаляции композиции по п. 16.

32. Способ по любому из пп. 21-31, отличающийся тем, что пациент проходит лучевую терапию.

33. Способ получения (-)-ротамера гидроксималеатного ангидрида и олтипраза, включающий стадии:

(i) реакции олтипраза с (+)-диацетил-L-винным ангидридом в присутствии сухого полярного растворителя с образованием реакционной смеси; и

(ii) добавления уксусной кислоты к реакционной смеси.

34. Композиция, содержащая по меньшей мере 30% ротамерный избыток (+)-ротамера 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тиона (олтипраз).

35. Композиция, содержащая по меньшей мере 30% ротамерный избыток (-)-ротамера 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тиона (олтипраз).

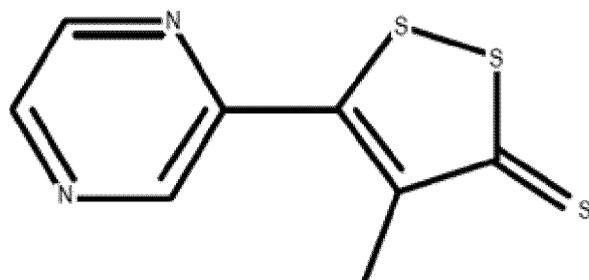
36. Композиция по п. 35, отличающаяся тем, что (-)-ротамер 4-метил-5-(пиразин-2-ил)-3Н-1,2-дитиол-3-тиона включает комплекс гидроксималеата и олтипраза.

37. Способ предотвращения, лечения, облегчения, уменьшения тяжести и/или сокращения продолжительности воспаления слизистой оболочки у нуждающегося в этом пациента-человека или пациента-животного, не являющегося человеком, включающий пероральное введение пациенту фармацевтической композиции по любому из пп. 34-36.

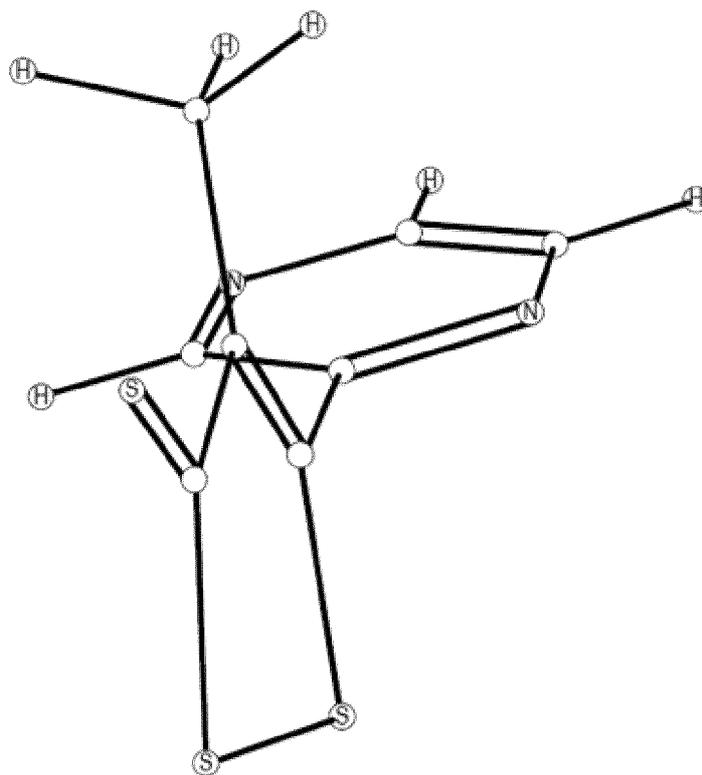
38. Способ по п. 37, отличающийся тем, что воспаление слизистой оболочки представляет собой воспаление слизистой оболочки в ротовой полости.

39. Способ по п. 37, отличающийся тем, что воспаление слизистой оболочки представляет собой воспаление слизистой оболочки пищеварительного канала.

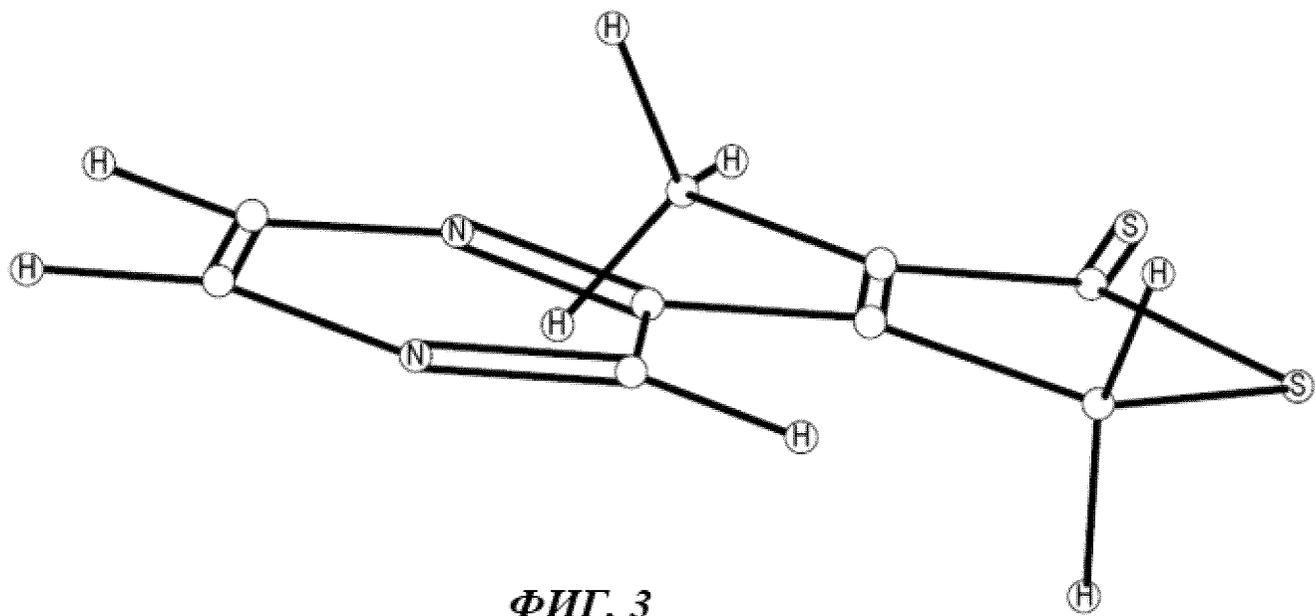
1/4



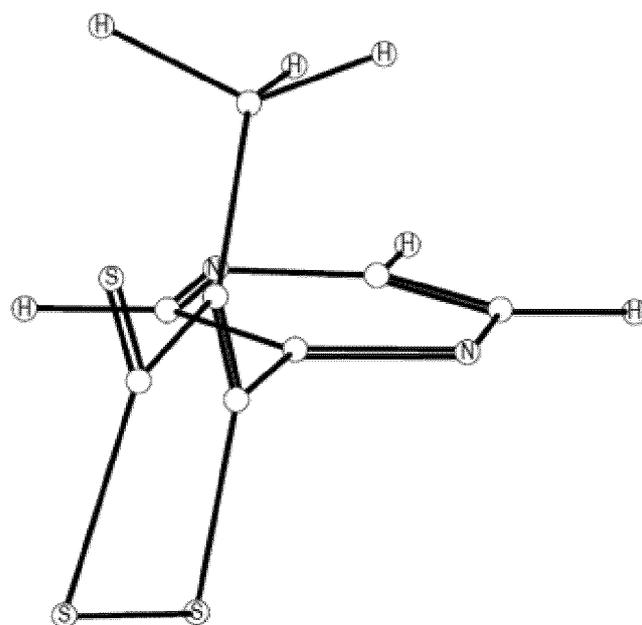
ФИГ. 1



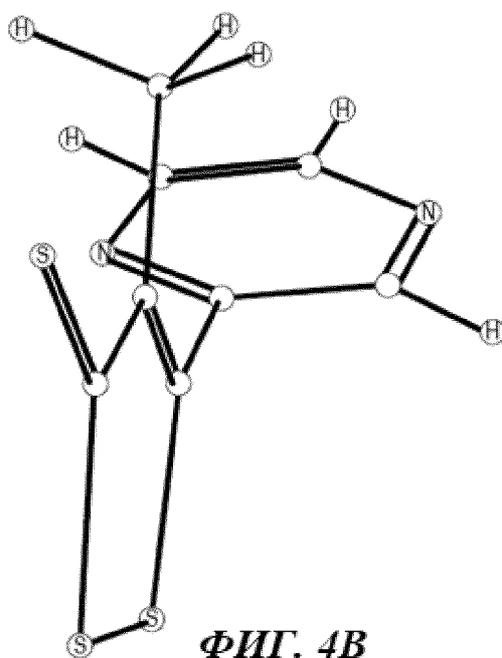
ФИГ. 2



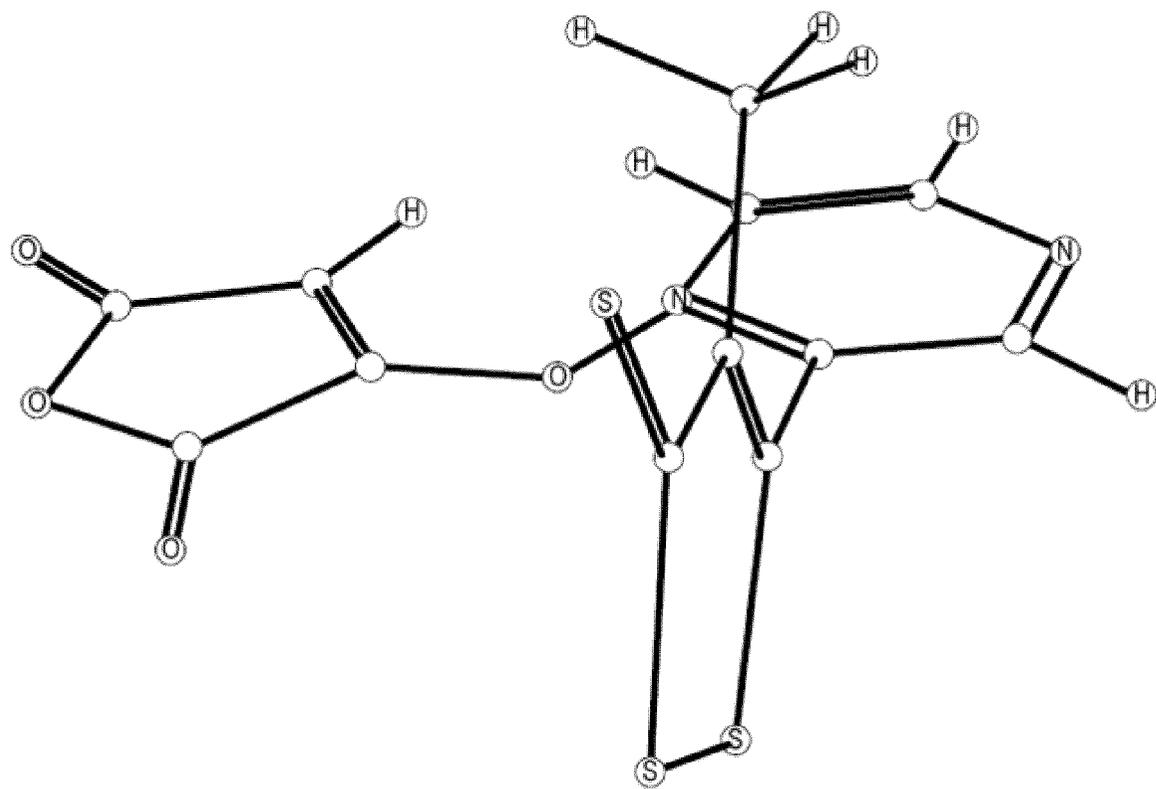
ФИГ. 3



ФИГ. 4А



ФИГ. 4В



ФИГ. 5