

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490750 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.07.10

(51) Int. Cl. *A61K 38/12* (2006.01)
C07K 5/04 (2006.01)
A61K 38/04 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.09.16

(54) КОМПОЗИЦИИ ТИОСТРЕПТОНА И ИХ ПОЛУЧЕНИЕ

(31) 21382839.5

(32) 2021.09.17

(33) EP

(86) PCT/US2022/043772

(87) WO 2023/043982 2023.03.23

(71) Заявитель:
АрЭс ОНКОЛОДЖИ, ЭлЭлСи (US)

(72) Изобретатель:

Дункан Джарретт Б., Наумов
Джордж Н., Томпсон Родни И. (US),
Торрес Адриа Эспинас, Олье Ксавьер
Пухоль, Соролья Льюис Састре (ES)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Раскрыты сверхчистые препараты тиострептона, фармацевтическая композиция, содержащая такие препараты, а также способы получения таких препаратов.

A1

202490750

202490750

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580872EA/023

КОМПОЗИЦИИ ТИОСТРЕПТОНА И ИХ ПОЛУЧЕНИЕ

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на европейский патент № 21382839.5, поданной 17 сентября 2021 г., содержание которой полностью включено в данный документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Тиострептон представляет собой циклический олигопептидный антибиотик, который также известен под другими названиями, такими как бриамицин, тиактин, аланинамид, HR4S203Y18 и т.д. Недавние исследования показали, что тиострептон также обладает многообещающей противораковой активностью. Однако современные способы получения и очистки тиострептона позволяют получить материал, который является нежелательным для применения человеком из-за наличия примесей и избытка остаточного растворителя. Таким образом, остается потребность в высокоочищенных препаратах тиострептона, которые являются предпочтительными для введения человеку.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены сверхчистые препараты тиострептона, имеющие чистоту по меньшей мере около 98% (масс./масс.), причем препарат содержит количество, меньшее или равное:

- a. 3000 ч./млн метанола;
- b. 600 ч./млн дихлорметана;
- c. 60 ч./млн хлороформа; и
- d. 410 ч./млн ацетонитрила.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении также представлены фармацевтические композиции, содержащие сверхчистый препарат тиострептона, раскрытый в настоящем документе, в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами или носителями.

Также в настоящем документе представлены способы лечения рака, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, любой из фармацевтических композиций, описанных в настоящем документе.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении также представлены способы очистки тиострептона, включающие стадии:

- (1) растворения тиострептона в первом растворителе с получением первого раствора тиострептона;
- (2) перегонки примесей растворителя из первого раствора тиострептона с получением второго раствора тиострептона;
- (3) объединения второго растворителя со вторым раствором тиострептона для осаждения тиострептона и, таким образом, получения первого твердого вещества тиострептона и третьего раствора;

(4) промывания первого твердого вещества тиострептона с помощью третьего растворителя для удаления примесей и, таким образом, получения второго твердого вещества тиострептона; и

(5) высушивания второго твердого вещества тиострептона для удаления остаточного растворителя; в результате чего получают сверхчистый препарат тиострептона.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фиг. 1 представлена схема процесса кристаллизации в соответствии с требованиями надлежащей производственной практики (GMP).

На фиг. 2 представлена схема процесса вытеснения остаточного растворителя в соответствии с требованиями GMP.

На фиг. 3 представлена схема двух процессов вытеснения растворителя.

На фиг. 4 представлен график, показывающий ответ на коммерческий ТС (не отвечающий требованиям GMP) и сверхчистый ТС (отвечающий требованиям GMP) клеток линии SKOV3, обработанных в течение 48 часов указанными концентрациями соединений. N=4 повторности.

На фиг. 5 представлен график, показывающий значения EC50 коммерческого ТС (не отвечающий требованиям GMP) и сверхчистого ТС (отвечающий требованиям GMP) для клеток линии SKOV3. N=4 повторности, **** $p < 0,0001$, непарный t-критерий.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В определенных аспектах в настоящем изобретении представлены препараты тиострептона. В определенных аспектах препараты представляют собой сверхчистые препараты тиострептона. Тиострептон представляет собой лекарственное вещество или активный фармацевтический ингредиент, который можно составить различными способами, а ниже приведены некоторые иллюстративные фармацевтические препараты.

В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона имеет чистоту более чем около 98%; чистоту более чем около 99%; чистоту более чем около 99,5%; или чистоту более чем около 99,9%.

В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит менее 3000 ч./млн метанола; менее чем около 1000 ч./млн метанола; менее чем около 500 ч./млн метанола; менее чем около 300 ч./млн метанола; менее чем около 100 ч./млн метанола; или менее чем около 50 ч./млн метанола. В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит метанол в концентрации, которая составляет по меньшей мере нижний предел обнаружения метанола. В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит от около 1 ч./млн до 3000 ч./млн или от около 1 ч./млн до около 1000 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 500 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 50 ч./млн метанола.

В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит менее чем около 600 ч./млн дихлорметана; менее чем около 100 ч./млн дихлорметана; менее чем около 60 ч./млн дихлорметана; менее чем около 20 ч./млн

дихлорметана; или менее чем около 10 ч./млн дихлорметана. В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит дихлорметан в концентрации, которая составляет по меньшей мере нижний предел обнаружения дихлорметана. В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит от около 1 ч./млн до 600 ч./млн или от около 1 ч./млн до около 100 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 60 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 20 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 10 ч./млн дихлорметана.

В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит менее 60 ч./млн хлороформа; менее чем около 30 ч./млн хлороформа; менее чем около 10 ч./млн хлороформа; или менее чем около 5 ч./млн хлороформа. В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит хлороформ в концентрации, которая составляет по меньшей мере нижний предел обнаружения хлороформа. В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит от около 1 ч./млн до 60 ч./млн или от около 1 ч./млн до около 30 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 10 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 5 ч./млн хлороформа.

В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит менее чем около 410 ч./млн ацетонитрила; менее чем около 200 ч./млн ацетонитрила; менее чем около 150 ч./млн ацетонитрила; менее чем около 100 ч./млн ацетонитрила; или менее чем около 50 ч./млн ацетонитрила. В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит ацетонитрил в концентрации, которая составляет по меньшей мере нижний предел обнаружения ацетонитрила. В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона содержит от около 1 ч./млн до 410 ч./млн или от около 1 ч./млн до около 200 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 150 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 100 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 50 ч./млн ацетонитрила.

В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона имеет чистоту более 98% и содержит менее 3000 ч./млн метанола; менее 600 ч./млн дихлорметана; менее 60 ч./млн хлороформа; и менее 410 ч./млн ацетонитрила. В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона имеет чистоту более чем около 99% и содержит менее чем около 300 ч./млн метанола; менее чем около 60 ч./млн дихлорметана; менее чем около 60 ч./млн хлороформа; и менее чем около 200 ч./млн ацетонитрила. В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона имеет чистоту более чем около 99% и содержит менее чем около 100 ч./млн метанола; менее чем около 20 ч./млн дихлорметана; менее чем около 60 ч./млн хлороформа; и менее чем около 150 ч./млн ацетонитрила.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из сверхчистых препаратов тиострептона, описанных в настоящем документе, и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей. В определенных вариантах

осуществления композиция представляет собой водную композицию.

В определенных вариантах осуществления композиция содержит от около 0,1 до около 10 мг сверхчистого тиострептона на мл воды. В определенных вариантах осуществления композиция содержит от около 1 до около 5 мг сверхчистого тиострептона на мл воды. В определенных вариантах осуществления композиция содержит около 3 мг сверхчистого тиострептона на мл воды.

В определенных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит витамин E-TPGS. В определенных вариантах осуществления композиция содержит от около 0,01 до около 0,5 г витамина E-TPGS на мл воды. В определенных вариантах осуществления композиция содержит от около 0,05 до около 0,1 г витамина E-TPGS на мл воды. В определенных вариантах осуществления композиция содержит около 0,07 г витамина E-TPGS на мл воды.

В определенных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит диметилсульфоксид (ДМСО). В определенных вариантах осуществления композиция содержит от около 0,005 до около 0,05 г ДМСО на мл воды. В определенных вариантах осуществления композиция содержит от около 0,01 до около 0,03 г ДМСО на мл воды. В определенных вариантах осуществления композиция содержит около 0,017 г ДМСО на мл воды.

В определенных вариантах осуществления композиция содержит около 3 мг сверхчистого тиострептона на мл воды, около 0,07 г витамина E-TPGS на мл воды и около 0,017 г ДМСО на мл воды.

В определенных вариантах осуществления композиция также включает один или более фармацевтически приемлемых носителей и вспомогательных веществ. Составы тиострептона раскрыты в WO 2020/142782, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

В одном аспекте представлены способы очистки тиострептона, включающие стадии:

(1) растворения тиострептона в первом растворителе с получением первого раствора тиострептона;

(2) перегонки примесей растворителя из первого раствора тиострептона с получением второго раствора тиострептона;

(3) объединения второго растворителя со вторым раствором тиострептона для осаждения тиострептона и, таким образом, получения первого твердого вещества тиострептона и третьего раствора;

(4) промывания первого твердого вещества тиострептона с помощью третьего растворителя для удаления примесей и, таким образом, получения второго твердого вещества тиострептона и четвертого раствора; и

(5) высушивания второго твердого вещества тиострептона для удаления остаточного растворителя;

в результате чего получают сверхчистый препарат тиострептона.

В определенных вариантах осуществления способ включает стадию (1) объединения тиострептона и первого растворителя с получением первого раствора тиострептона. В определенных вариантах осуществления первый растворитель представляет собой растворитель, в котором тиострептон является хорошо растворимым (т.е. имеющий растворимость по меньшей мере 25 мг/мл). В определенных вариантах осуществления первый растворитель содержит хлорированный растворитель. В определенных вариантах осуществления хлорированный растворитель содержит хлороформ. В определенных вариантах осуществления первый растворитель содержит хлороформ и спирт. В определенных вариантах осуществления первый растворитель содержит от около 0,5 до около 10% (об./об.) этанола. В определенных вариантах осуществления хлорированный растворитель содержит от около 0,5 до около 5,0% (об./об.) этанола. В определенных вариантах осуществления хлороформ содержит от около 0,5 до около 1,0% (об./об.) этанола. В определенных вариантах осуществления спирт представляет собой этанол. В определенных вариантах осуществления первый растворитель имеет рН от около 4,0 до около 7,0. В определенных вариантах осуществления первый растворитель имеет рН от около 5,0 до около 6,0. В определенных вариантах осуществления температура первого растворителя составляет от около 30°C до около 60°C. В определенных вариантах осуществления температура первого растворителя составляет от около 40°C до около 50°C.

В определенных вариантах осуществления способ дополнительно включает стадию охлаждения первого раствора тиострептона до температуры от около 10°C до около 35°C. В определенных вариантах осуществления раствор тиострептона охлаждают до температуры от около 15°C до около 30°C.

В определенных вариантах осуществления способ дополнительно включает стадию (2) перегонки примесей растворителя из первого раствора тиострептона с получением второго раствора тиострептона. В определенных вариантах осуществления перегонку первого раствора тиострептона проводят при пониженном давлении. В определенных вариантах осуществления перегонку первого раствора тиострептона при пониженном давлении осуществляют при температуре от около 35°C до около 70°C. В определенных вариантах осуществления перегонку первого раствора тиострептона при пониженном давлении осуществляют при температуре от около 40°C до около 50°C. В определенных вариантах осуществления объем второго раствора тиострептона по меньшей мере на около 30% меньше объема первого раствора тиострептона. В определенных вариантах осуществления объем второго раствора тиострептона по меньшей мере на около 50% меньше объема первого раствора тиострептона. В определенных вариантах осуществления объем второго раствора тиострептона по меньшей мере на около 70% меньше объема первого раствора тиострептона.

В определенных вариантах осуществления способ дополнительно включает стадию охлаждения второго раствора тиострептона до температуры от около 10°C до около 30°C. В определенных вариантах осуществления второй раствор тиострептона охлаждают до

температуры от около 15°C до около 25°C. В определенных вариантах осуществления второй раствор тиострептона охлаждают до температуры не более чем около 25°C. В определенных вариантах осуществления второй раствор тиострептона охлаждают до температуры не более чем около 20°C. В определенных вариантах осуществления второй раствор тиострептона охлаждают до температуры не более чем около 15°C.

В определенных вариантах осуществления способ дополнительно включает стадию (3) объединения второго растворителя со вторым раствором тиострептона для осаждения тиострептона и, таким образом, получения первого твердого вещества тиострептона и третьего раствора (т.е., маточного раствора); В определенных вариантах осуществления второй растворитель представляет собой органический растворитель. В определенных вариантах осуществления органический растворитель представляет собой плохой растворитель для тиострептона (т.е. антирастворитель). В определенных вариантах осуществления второй растворитель представляет собой ацетонитрил. В определенных вариантах осуществления объем второго растворителя примерно равен объему второго раствора тиострептона. В определенных вариантах осуществления второй растворитель добавляют ко второму раствору тиострептона при перемешивании.

Плохой растворитель для тиострептона представляет собой растворитель, в котором тиострептон имеет растворимость менее 1 г/100 мл, 0,5 г/100 мл или 0,1 г/100 мл.

В определенных вариантах осуществления способ включает промывание первого твердого вещества тиострептона одной или более порциями промывочного растворителя, который содержит плохой растворитель для тиострептона. В определенных вариантах осуществления промывочный растворитель содержит ацетонитрил. В определенных вариантах осуществления промывочный растворитель содержит смесь ацетонитрила и хлороформа. В определенных вариантах осуществления промывочный растворитель представляет собой смесь ацетонитрила и хлороформа в соотношении 1:1.

В определенных вариантах осуществления способ дополнительно включает отделение первого твердого вещества тиострептона от третьего раствора и высушивание первого твердого вещества.

В определенных вариантах осуществления способ включает стадию (4) промывания первого твердого вещества тиострептона третьим растворителем с получением второго твердого вещества тиострептона. В определенных вариантах осуществления промывание первого твердого вещества тиострептона третьим растворителем включает замачивание первого твердого вещества тиострептона в третьем растворителе. В некоторых вариантах осуществления замачивание первого твердого вещества тиострептона в третьем растворителе осуществляют при перемешивании. В некоторых вариантах осуществления третий растворитель содержит воду. В некоторых вариантах осуществления третий растворитель содержит воду и ацетонитрил. В определенных вариантах осуществления вода и ацетонитрил имеют соотношение объемов от около 20:1 до около 1:1. В определенных вариантах осуществления вода и ацетонитрил имеют соотношение объемов от около 10:1 до около 1:1. В определенных вариантах

осуществления вода и ацетонитрил имеют соотношение объемов от около 5:1 до около 1:1. В определенных вариантах осуществления вода и ацетонитрил имеют соотношение объемов около 10:1. В определенных вариантах осуществления вода и ацетонитрил имеют соотношение объемов около 8:1. В определенных вариантах осуществления вода и ацетонитрил имеют соотношение объемов около 4:1.

В определенных вариантах осуществления промывание первого твердого вещества тиострептона третьим растворителем осуществляют в течение по меньшей мере около 30 минут. В определенных вариантах осуществления промывание первого твердого вещества тиострептона третьим растворителем осуществляют в течение по меньшей мере около 60 минут. В определенных вариантах осуществления промывание первого твердого вещества тиострептона третьим растворителем осуществляют в течение по меньшей мере около 90 минут.

В определенных вариантах осуществления второе твердое вещество тиострептона содержит меньше остаточного растворителя, например, метанола, дихлорметана, хлороформа и/или ацетонитрила, чем первое твердое вещество тиострептона. Без привязки к теории можно предположить, что промывание на стадии (4) удаляет и или заменяет молекулы растворителя, которые попали в осадок первого твердого вещества тиострептона после его отделения от третьего раствора.

В определенных вариантах осуществления способ включает дополнительную стадию промывания второго твердого вещества тиострептона с помощью по меньшей мере еще одной порции третьего растворителя после стадии промывания первого твердого вещества третьим растворителем с получением второго твердого вещества s.

В определенных вариантах осуществления способ включает дополнительную стадию промывания второго твердого вещества тиострептона четвертым растворителем после стадии промывания первого твердого вещества тиострептона третьим растворителем с получением второго твердого вещества тиострептона. В определенных вариантах осуществления промывание второго твердого вещества четвертым растворителем включает замачивание первого твердого вещества в четвертом растворителе. В определенных вариантах осуществления четвертый растворитель содержит воду. В определенных вариантах осуществления четвертый растворитель представляет собой воду.

В определенных вариантах осуществления промывание второго твердого вещества тиострептона четвертым растворителем осуществляют в течение по меньшей мере около 30 минут. В определенных вариантах осуществления промывание второго твердого вещества тиострептона четвертым растворителем осуществляют в течение по меньшей мере около 60 минут. В определенных вариантах осуществления промывание второго твердого вещества тиострептона четвертым растворителем осуществляют в течение по меньшей мере около 90 минут.

В определенных вариантах осуществления замачивание второго твердого вещества тиострептона в четвертом растворителе осуществляют при повышенной температуре и

при пониженном давлении. В определенных вариантах осуществления замачивание второго твердого вещества тиострептона в четвертом растворителе осуществляют при повышенной температуре и при пониженном давлении в течении по меньшей мере 3 часов, 6 часов или 10 часов. В определенных вариантах осуществления повышенная температура составляет от около 50 до около 60°C. В определенных вариантах осуществления повышенная температура составляет от около 60 до около 70°C. В определенных вариантах осуществления повышенная температура составляет от около 70 до около 80°C. В определенных вариантах осуществления повышенная температура составляет по меньшей мере около 50°C. В определенных вариантах осуществления повышенная температура составляет по меньшей мере около 60°C. В определенных вариантах осуществления пониженное давление представляет собой вакуум.

В определенных вариантах осуществления способ дополнительно включает отделение второго твердого вещества тиострептона от четвертого раствора и стадию (5) высушивания второго твердого вещества тиострептона с удалением остаточного растворителя. В определенных вариантах осуществления высушивание второго твердого вещества тиострептона осуществляют при пониженном давлении.

В определенных вариантах осуществления второе твердое вещество тиострептона анализируют на содержание метанола, ацетонитрила, дихлорметана и хлороформа. В определенных вариантах осуществления, если осадок содержит более 3000 ч./млн метанола, 600 ч./млн дихлорметана, 60 ч./млн хлороформа и/или 410 ч./млн ацетонитрила, второе твердое вещество подвергают дополнительным циклам стадий (4) и (5). В определенных вариантах осуществления количество дополнительных циклов стадий (4) и (5) равно 1. В определенных вариантах осуществления количество дополнительных циклов стадий (4) и (5) равно 2. В определенных вариантах осуществления количество дополнительных циклов стадий (4) и (5) равно 3. В определенных вариантах осуществления количество дополнительных циклов стадий (4) и (5) равно 4.

В определенных вариантах осуществления способ включает стадии: а. растворения неочищенного тиострептона в хлороформе, содержащем 0,5-1,0% (об./об.) этанола при pH около 5,0-6,0 при температуре 40-50°C; б. охлаждения раствора на стадии а. до температуры 15-30°C; в. нагревания охлажденного раствора до температуры 40-50°C и вакуумной перегонки для уменьшения объема по меньшей мере на 50%; г. охлаждения дистиллированного раствора до температуры 15-25°C; д. добавления равного объема ацетонитрила к охлажденному раствору при перемешивании до образования осадка; е. сбора и высушивания осадка; ж. замачивания высушенного осадка в смеси H₂O:ацетонитрил в соотношении 4:1; з. слива остаточной жидкости из осадка; и. замачивания осадка в H₂O; л. слива остаточной жидкости из осадка; м. высушивания осадка; н. получением сверхчистого препарата тиострептона.

В определенных вариантах осуществления стадию (1) осуществляют в масштабах производства тиострептона более 10 граммов. В определенных вариантах осуществления стадию (1) осуществляют в масштабах производства тиострептона более 1 килограмма. В

определенных вариантах осуществления стадию (1) осуществляют в масштабах производства тиострептона более 10 килограммов. В определенных вариантах осуществления, где стадию (1) осуществляют в масштабах производства тиострептона от около 100 миллиграммов до около 100 килограммов, от около 100 миллиграммов до около 10 килограммов, от около 1,0 грамма до около 10 килограммов, от около 1,0 грамма до около 10 килограммов, от около 1,0 грамма до около 1,0 килограмма или от около 20,0 граммов до около 100 граммов. В определенных вариантах осуществления в изобретении представлен сверхчистый препарат тиострептона, полученный в соответствии с любым из описанных в настоящем документе способов.

В определенных вариантах осуществления в изобретении представлен способ лечения рака, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, любой из описанных в настоящем документе фармацевтических композиций.

В определенных вариантах осуществления остаточные растворители, присутствующие в сверхчистом препарате тиострептона по настоящему изобретению, можно определить согласно процедурам, изложенным в USP <467>. USP <467> устанавливает, среди прочего, процедуры установления пределов воздействия остаточных растворителей в фармацевтических продуктах.

Фармацевтические композиции

В определенных вариантах осуществления сверхчистый препарат тиострептона по настоящему изобретению или сверхчистый препарат тиострептона, полученный любым способом, описанным в настоящем документе, будет составлен в фармацевтическую композицию. Например, фармацевтическая композиция может содержать сверхчистый препарат тиострептона и фармацевтически приемлемый носитель. В качестве дополнительного примера фармацевтическая композиция может содержать сверхчистый препарат тиострептона, полученный любым способом, описанным в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит менее 3000 ч./млн метанола; менее чем около 1000 ч./млн метанола; менее чем около 500 ч./млн метанола; менее чем около 300 ч./млн метанола; менее чем около 100 ч./млн метанола; или менее чем около 50 ч./млн метанола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит метанол в концентрации, которая составляет по меньшей мере нижний предел обнаружения метанола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 1 ч./млн до 3000 ч./млн или от около 1 ч./млн до около 1000 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 500 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 50 ч./млн метанола.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит менее чем около 600 ч./млн дихлорметана; менее чем около 100 ч./млн дихлорметана; менее чем около 60 ч./млн дихлорметана; менее чем около 20 ч./млн дихлорметана; или менее чем около 10 ч./млн дихлорметана. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит дихлорметан в концентрации,

которая составляет по меньшей мере нижний предел обнаружения дихлорметана. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 1 ч./млн до 600 ч./млн или от около 1 ч./млн до около 100 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 60 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 20 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 10 ч./млн дихлорметана.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит менее 60 ч./млн хлороформа; менее чем около 30 ч./млн хлороформа; менее чем около 10 ч./млн хлороформа; или менее чем около 5 ч./млн хлороформа. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит хлороформ в концентрации, которая составляет по меньшей мере нижний предел обнаружения хлороформа. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 1 ч./млн до 60 ч./млн или от около 1 ч./млн до около 30 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 10 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 5 ч./млн хлороформа.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит менее чем около 410 ч./млн ацетонитрила; менее чем около 200 ч./млн ацетонитрила; менее чем около 150 ч./млн ацетонитрила; менее чем около 100 ч./млн ацетонитрила; или менее чем около 50 ч./млн ацетонитрила. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит ацетонитрил в концентрации, которая составляет по меньшей мере нижний предел обнаружения ацетонитрила. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 1 ч./млн до 410 ч./млн или от около 1 ч./млн до около 200 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 150 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 100 ч./млн, или от около 1 ч./млн до около 50 ч./млн ацетонитрила.

В определенных вариантах осуществления композиции и способы по настоящему изобретению можно применять для лечения индивидуума, нуждающегося в этом. В определенных вариантах осуществления индивидуум представляет собой млекопитающее, такое как человек или млекопитающее, не являющееся человеком. При введении животному, например, человеку, композицию или соединение предпочтительно вводят в виде фармацевтической композиции, содержащей, например, сверхчистый препарат тиострептона и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтически приемлемые носители хорошо известны в данной области техники и включают, например, водные растворы, такие как вода или физиологически забуференный солевой раствор, или другие растворители, или носители, такие как гликоли, глицерин, масла, такие как оливковое масло, или органические сложные эфиры.

Фармацевтически приемлемый носитель может содержать физиологически приемлемые средства, которые действуют, например, для стабилизации, увеличения растворимости или увеличения абсорбции соединения, такого как тиострептон. Такие физиологически приемлемые средства включают, например, углеводы, такие как глюкоза, сахароза или декстраны, антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или глутатион, хелатирующие средства, низкомолекулярные белки или другие стабилизаторы или

вспомогательные вещества.

Дополнительные примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают: (1) водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и т. п.; (2) жирорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксанизол (ВНА), бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т. п.; и (3) металлохелатирующие средства, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т. п.

Фраза «фармацевтически приемлемый» применяется в настоящем документе для обозначения таких соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые в рамках рационального медицинского суждения, являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соразмерно разумному соотношению пользы/риска.

Фраза «фармацевтически приемлемый носитель» в контексте настоящего документа означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, растворитель или инкапсулирующий материал. Каждый носитель должен быть «приемлемым» в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами состава и не причиняет вреда пациенту. Некоторые примеры материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают: (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; (3) целлюлозу и ее производные, такие как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; (4) порошкообразный трагакант; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) вспомогательные вещества, такие как масло какао и воск для суппозиториев; (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) гликоли, такие как пропиленгликоль; (11) полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновую кислоту; (16) апирогенную воду; (17) изотонический раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) фосфатно-буферные растворы; и (21) другие нетоксичные совместимые вещества, применяемые в фармацевтических составах.

Способы получения этих составов или композиций включают стадию объединения активного соединения, такого как тиострептон, с носителем и, необязательно, одним или более дополнительными ингредиентами. Как правило, составы получают путем равномерного и тщательного смешивания активного вещества с одним или более жидкими носителями.

Суспензии, в дополнение к активному(-ым) соединению(-ям), могут содержать

суспендирующие средства, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, сложные эфиры полиоксидиленсорбита и сорбитана, микрокристаллическую целлюлозу, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант и их смеси.

Эти композиции также могут содержать вспомогательные вещества, такие как консерванты, смачивающие средства, эмульгирующие средства и диспергирующие средства. Предупреждение действия микроорганизмов может быть обеспечено с помощью включения в состав различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенолсорбиновой кислоты и т. п. Также может быть желательным включение в композиции изотонических средств, таких как сахара, хлорид натрия и т.п.

Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в фармацевтических композициях можно варьировать, чтобы получить количество активного ингредиента, эффективное для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, не оказывая при этом токсического воздействия на пациента.

Выбранный уровень дозировки зависит от множества факторов, включающих активность конкретного соединения или комбинации соединений, способ введения, время введения, скорость клиренса или экскреции конкретного применяемого(-ых) соединения(-ий), продолжительность лечения, другие препараты, соединения и/или материалы, применяемые в комбинации с конкретным(-ыми) применяемым(-ыми) соединением(-ями), возраст, пол, массу тела, состояние, общее состояние здоровья и ранее перенесенные заболевания, и подобные факторы, хорошо известные в медицинской практике.

Врач или ветеринар, являющийся специалистом в данной области техники, может легко определить и назначить терапевтически эффективное количество требуемой фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринар может начать введение доз фармацевтической композиции или соединения с более низких уровней, чем требуется для достижения желаемого терапевтического эффекта, и постепенно увеличивать дозу до тех пор, пока не будет достигнут необходимый эффект. Под «терапевтически эффективным количеством» подразумевается концентрация соединения, которая является достаточной для достижения желаемого терапевтического эффекта. Общеизвестно, что эффективное количество соединения будет варьироваться в зависимости от массы, пола, возраста и анамнеза субъекта. Другие факторы, которые влияют на эффективное количество, могут включать, без ограничения, тяжесть состояния пациента, нарушение, подлежащее лечению, стабильность соединения и, при желании, другой тип активного средства, вводимого с тиострептоном. Большую общую дозу можно доставлять путем многократного введения средства. Способы определения эффективности и дозировок известны специалистам в данной области техники (Isselbacher *et al.* (1996) *Harrison's Principles of Internal Medicine* 13 ed., 1814-1882, включенная в данный документ посредством ссылки).

Как правило, подходящая суточная доза активного соединения, применяемая в

композициях и способах, описанных в настоящем документе, будет представлять такое количество соединения, которое является самой низкой дозой, эффективной для достижения терапевтического эффекта. Такая эффективная доза обычно будет зависеть от факторов, описанных выше.

При желании эффективную суточную дозу активного соединения можно вводить в виде одной, двух, трех, четырех, пяти, шести или более субдоз, вводимых отдельно с соответствующими интервалами в течение суток, необязательно, в единичных дозированных формах. В определенных вариантах осуществления активное соединение можно вводить два или три раза в день. В определенных вариантах осуществления активное соединение вводят один раз в день.

Пациентом, получающим такое лечение, является любое нуждающееся в нем животное, включая приматов, в частности людей; и другие млекопитающие, такие как лошади, крупный рогатый скот, свиньи и овцы; и домашние животные в целом.

В определенных вариантах осуществления сверхчистые препараты тиострептона можно применять отдельно или совместно с другим типом активного средства. В контексте данного документа фраза «совместное введение» относится к любой форме введения двух или более различных активных соединений таким образом, что второе соединение вводится в то время, когда ранее введенное активное соединение продолжает действовать в организме (*например*, два соединения одновременно действуют на пациента, что может включать синергетический эффект двух соединений). Например, различные активные соединения можно вводить либо в одном и том же составе, либо в отдельном составе, либо одновременно, либо последовательно. В определенных вариантах осуществления различные активные соединения можно вводить в течение одного часа, 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 72 часов или недели относительно друг друга. Таким образом, человек, который получает такое лечение, может получить пользу от комбинированного воздействия различных активных соединений.

В определенных вариантах осуществления совместное введение сверхчистых препаратов тиострептона с одним или более дополнительными активными средствами (например, одним или более дополнительными химиотерапевтическими средствами) обеспечивает повышенную эффективность по сравнению с каждым отдельным введением сверхчистого препарата тиострептона или одного или более дополнительных активных средств. В определенных таких вариантах осуществления совместное введение обеспечивает аддитивный эффект, причем аддитивный эффект относится к сумме каждого из эффектов отдельного введения сверхчистого препарата тиострептона и одного или более дополнительных активных средств.

Термин «лечение» включает профилактическое и/или терапевтическое лечение. Термин «профилактическое или терапевтическое» лечение является известным в данной области техники и включает введение хозяину одной или более композиций объекта изобретения. Если ее вводят до клинического проявления нежелательного состояния (например, заболевания или другого нежелательного состояния животного-хозяина), то

лечение является профилактическим (т. е. оно защищает хозяина от развития нежелательного состояния), тогда как если ее вводят после проявления нежелательного состояния, лечение является терапевтическим (т. е. оно направлено на уменьшение, улучшение или стабилизацию уже имеющегося нежелательного состояния или его побочных эффектов). Также лечение может включать в себя устранение нежелательного состояния или побочного эффекта. В контексте данного документа, лечение заболевания, нарушения или состояния включает лечение осложнения(-ий) заболевания, нарушения или состояния, например, путем лечения основной патофизиологии, специфичной для осложнения(-ий) заболевания, нарушения или состояния. У субъекта, которому вводится активное средство, могут наблюдаться симптомы заболевания или бессимптомное течение заболевания.

В определенных вариантах осуществления композицию, содержащую сверхчистый препарат тиострептона и витамин E-TPGS, вводят в клетки и/или субъекту с помощью катетера для введения композиции в полость тела субъекта и/или для промывания полости тела субъекта с помощью композиции. Примеры катетеров, которые можно применять в определенных вариантах осуществления, включают, без ограничения, интраплевральный катетер и интраперитонеальный катетер. В неограничивающем примере интраплевральный катетер применяют для введения одной или более доз композиции по изобретению, содержащей сверхчистый препарат тиострептона и витамин E-TPGS, в плевральную полость субъекта с плевральным выпотом. В другом неограничивающем примере субъекту с раком яичников можно вводить композицию по изобретению, содержащую сверхчистый препарат тиострептона и витамин E-TPGS, в перитонеальную полость с помощью интраперитонеального катетера.

Определения

«NLT» (англ.: Not Less Than) является общепризнанным в данной области техники термином, означающим «не менее».

В контексте данного документа термин «замачивание» относится к погружению твердого материала в жидкость.

В контексте данного документа «ТС» относится к тиострептому.

В контексте данного документа термин «сверхчистый» относится к субстанции, имеющей чистоту по меньшей мере около 98% (масс./масс.) и менее или равную: 3000 ч./млн метанола, 600 ч./млн дихлорметана, 60 ч./млн хлороформа и/или 410 ч./млн ацетонитрила, т.е. согласно требованиям ICH (Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации фармацевтических лекарственных средств для медицинского применения) для растворителей 2-го класса.

«Витамин E-TPGS» является общепризнанным в данной области техники термином и относится к D- α -токоферилполиэтиленгликольсукцинату. Витамин E-TPGS также известен как D- α -токоферилполиэтиленгликоль 1000 сукцинат. Термины «Витамин E-TPGS», «VitE» и «VitE-TPGS» применяют в данном документе взаимозаменяемо.

Термин «об./об.» является общепризнанным в данной области техники и относится

к пропорции конкретного вещества в смеси, измеренной по объему.

Термин «масс./масс.» является общепризнанным в данной области техники и относится к пропорции конкретного вещества в смеси, измеренной по массе.

Предпочтительные варианты осуществления

1. Сверхчистый препарат тиострептона, имеющий чистоту по меньшей мере около 98% (масс./масс.); причем препарат содержит количество, меньшее или равное:

- a. 3000 ч./млн метанола;
- b. 600 ч./млн дихлорметана;
- c. 60 ч./млн хлороформа; и
- d. 410 ч./млн ацетонитрила.

2. Сверхчистый препарат тиострептона по варианту осуществления 1, в котором чистота тиострептона составляет по меньшей мере около 99% (масс./масс.).

3. Сверхчистый препарат тиострептона по варианту осуществления 1 или 2, причем препарат содержит метанол в количестве, меньшем или равном 300 ч./млн.

4. Сверхчистый препарат тиострептона по варианту осуществления 3, причем препарат содержит метанола в количестве, меньшем или равном 100 ч./млн.

5. Сверхчистый препарат тиострептона по любому из вариантов осуществления 1-4, причем препарат содержит дихлорметана в количестве, меньшем или равном 60 ч./млн.

6. Сверхчистый препарат тиострептона по варианту осуществления 5, причем препарат содержит дихлорметан в количестве, меньшем или равном 20 ч./млн.

7. Сверхчистый препарат тиострептона по любому из вариантов осуществления 1-6, в котором препарат содержит ацетонитрил в количестве, меньшем или равном 200 ч./млн.

8. Сверхчистый препарат тиострептона по любому варианту осуществления 7, в котором препарат содержит ацетонитрил в количестве, меньшем или равном 150 ч./млн.

9. Фармацевтическая композиция, содержащая сверхчистый препарат тиострептона по любому из вариантов осуществления 1-8; и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей.

10. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 9, причем фармацевтическая композиция представляет собой водную композицию.

11. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 10, причем фармацевтическая композиция содержит от около 1 до около 5 мг сверхчистого тиострептона на мл воды.

12. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 11, причем фармацевтическая композиция содержит около 3 мг сверхчистого тиострептона на мл воды.

13. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 10-12, дополнительно содержащая витамин E-TPGS.

14. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 13, причем фармацевтическая композиция содержит от около 0,05 до около 0,1 г витамина E-TPGS на

мл воды.

15. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 10-12, дополнительно содержащая диметилсульфоксид (ДМСО).

16. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 15, причем фармацевтическая композиция содержит от около 0,01 до около 0,03 г ДМСО на мл воды.

17. Способ очистки тиострептона, включающий стадии:

(1) растворения тиострептона в первом растворителе с получением первого раствора тиострептона;

(2) перегонки примесей растворителя из первого раствора тиострептона с получением второго раствора тиострептона;

(3) объединения второго растворителя со вторым раствором тиострептона для осаждения тиострептона и, таким образом, получения первого твердого вещества тиострептона и третьего раствора;

(4) промывания первого твердого вещества тиострептона с помощью третьего растворителя для удаления примесей и, таким образом, получения второго твердого вещества тиострептона; и

(5) высушивания второго твердого вещества тиострептона для удаления остаточного растворителя;

в результате чего получают сверхчистый препарат тиострептона.

18. Способ по варианту осуществления 16 или 17, в котором первый растворитель содержит хлороформ.

19. Способ по варианту осуществления 18, в котором первый растворитель содержит от около 0,5 до около 1,0% (об./об.) этанола.

20. Способ по любому из вариантов осуществления 16-19, в котором первый растворитель имеет рН от около 5 до около 6.

21. Способ по любому из вариантов осуществления 16-20, в котором первый растворитель имеет температуру от около 40°C до около 50°C

22. Способ по любому из вариантов осуществления 16-21, в котором стадия (1) дополнительно включает охлаждение первого раствора тиострептона до температуры от около 15 до около 30°C.

23. Способ по любому из вариантов осуществления 16-22, в котором стадия (2) включает перегонку первого раствора тиострептона при пониженном давлении.

24. Способ по любому из вариантов осуществления 16-23, в котором перегонку первого раствора тиострептона осуществляют при температуре от около 40°C до около 50°C.

25. Способ по любому из вариантов осуществления 16-24, в котором объем второго раствора тиострептона по меньшей мере на около 50% меньше объема первого раствора тиострептона.

26. Способ по любому из вариантов осуществления 16-25, в котором стадия (2) дополнительно включает охлаждение второго раствора тиострептона до температуры от

около 15°C до около 25°C.

27. Способ по любому из вариантов осуществления 16-26, в котором второй растворитель содержит ацетонитрил.

28. Способ по любому из вариантов осуществления 16-27, в котором объем второго растворителя примерно равен объему второго раствора тиострептона.

29. Способ по любому из вариантов осуществления 16-28, в котором второй растворитель добавляют ко второму раствору тиострептона при перемешивании.

30. Способ по любому из вариантов осуществления 16-29, в котором стадия (3) дополнительно включает отделение первого твердого вещества тиострептона от третьего раствора и высушивание первого твердого вещества тиострептона.

31. Способ по любому из вариантов осуществления 16-30, в котором третий растворитель содержит воду.

32. Способ по любому из вариантов осуществления 16-31, в котором третий растворитель представляет собой смесь воды и ацетонитрила.

33. Способ по любому из вариантов осуществления 16-32, в котором третий растворитель представляет собой смесь воды и ацетонитрила в соотношении около 4:1 об./об.

34. Способ по любому из вариантов осуществления 16-33, в котором промывание первого твердого вещества тиострептона третьим растворителем включает замачивание первого твердого вещества тиострептона в третьем растворителе.

35. Способ по варианту осуществления 34, в котором замачивание осуществляют в течение по меньшей мере около 30 минут.

36. Способ по любому из вариантов осуществления 16-35, причем способ включает дополнительную стадию промывания второго твердого вещества тиострептона с помощью по меньшей мере одной дополнительной порции третьего растворителя после стадии промывания первого твердого вещества третьим растворителем с получением второго твердого вещества.

37. Способ по любому из вариантов осуществления 16-36, причем способ включает дополнительную стадию промывания второго твердого вещества тиострептона с помощью четвертого растворителя после стадии промывания первого твердого вещества тиострептона третьим растворителем с получением второго твердого вещества тиострептона.

38. Способ по любому из вариантов осуществления 16-37, в котором четвертый растворитель содержит воду.

39. Способ по любому из вариантов осуществления 16-38, в котором промывание включает замачивание второго твердого вещества тиострептона в четвертом растворителе.

40. Способ по варианту осуществления 39, в котором замачивание осуществляли в течение по меньшей мере около 30 минут.

41. Способ по варианту осуществления 39 или 40, в котором замачивание осуществляют при температуре от около 50 до около 60°C в вакууме в течение по

меньшей мере 10 часов.

42. Способ по любому из вариантов осуществления 16-41, в котором второе твердое вещество тиострептона анализируют на содержание метанола, ацетонитрила, дихлорметана и/или хлороформа.

43. Способ по варианту осуществления 42, в котором, если второе твердое вещество тиострептона содержит более 3000 ч./млн метанола, 600 ч./млн дихлорметана, 60 ч./млн хлороформа и/или 410 ч./млн ацетонитрила, второе твердое вещество тиострептона подвергают дополнительным циклам стадий (4) и (5).

44. Способ по любому из вариантов осуществления 16-43, в котором стадию (а) осуществляют в масштабах производства тиострептона от около 100 миллиграммов до около 100 килограммов.

45. Способ по варианту осуществления 44, в котором стадию (а) осуществляют в масштабах производства тиострептона от около 1,0 грамма до около 10 килограммов.

46. Способ по варианту осуществления 45, в котором стадию (а) осуществляют в масштабах производства тиострептона от около 20,0 граммов до около 1,0 килограмма.

47. Сверхчистый препарат тиострептона, полученный согласно способу по любому из вариантов осуществления 17-46.

48. Способ лечения рака, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 9-16.

ПРИМЕРЫ

Для более полного понимания описанного в данном документе изобретения приводятся следующие примеры. Примеры, описанные в этой заявке, предложены для иллюстрации соединений, композиций, материалов, устройства и способов, представленных в данном документе, и никоим образом не должны трактоваться как ограничивающие их объем.

Пример 1. Производство сверхчистого препарата тиострептона

Материалы и способы Чтобы продемонстрировать идентичность и активность, как АФИ тиострептон, в соответствии с требованиями Фармакопеи США, так и очищенное лекарственное вещество (ЛВ) тиострептон сравнивали с известным стандартом USP с применением анализов, указанных в монографии USP для тиострептона:

1. Идентификация по ИК-спектру, USP <197К>
2. Антибиотико-микробиологический количественный анализ, USP <81>

Кроме того, анализы методом парофазной газовой хроматографии, описанные в USP <467>, применяли для измерения органических примесей, неорганических примесей и остаточных растворителей, чтобы гарантировать чистоту очищенного ЛВ тиострептон после снижения содержания остаточных растворителей до рекомендованных ICH пределов для четырех растворителей 2-го класса в процессе производства ЛВ. Как указано в USP <467>, газовый хроматограф был оснащен пламенно-ионизационным детектором. Вторая часть производственного процесса ЛВ включает внутривыпускной контроль, позволяющий обеспечить соблюдение ограничений по растворителям 2-го

класса; поэтому повторная обработка ЛВ не допускается.

Процесс производства лекарственного вещества тиострептона класса cGMP (ЛВ ТС GMP) включал процесс кристаллизации (ПК) («А» ниже), за которым следовал процесс вытеснения остаточного растворителя (RSDP) («В» ниже). Технологические схемы для каждой части производственного процесса в соответствии с требованиями cGMP для веса 2 кг (ЛВ партия 1 GMP) показаны на фиг. 1 и 2; сравнение с весом 140 г, не отвечающим требованиям GMP.

А. Процесс кристаллизации (КП) (Фиг. 1)

ПК в соответствии с требованиями GMP представлен на Фиг. 1. Описание процесса приведено ниже.

Применяемый хлороформ имел рН 5-6 и содержал 0,5-1,0% этанола в качестве стабилизатора.

2 кг неочищенного АФИ тиострептон разделяли на две порции по 1 кг. Для каждой порции:

1. 24 л хлороформа загружали в реактор Hastelloy C-22 емкостью 30 л при комнатной температуре через 3-мкм картриджный фильтр.

2. Добавляли 1 кг АФИ тиострептон.

3. Реактор нагревали до 45°C (40-50°C) при перемешивании и выдерживали до полного растворения тиострептона с выходом прозрачного раствора.

4. Сосуд охлаждали до 25°C (20-30°C) при перемешивании.

5. Раствор переносили в реактор Hastelloy C-22 емкостью 60 л, фильтруя через 3-мкм картриджный фильтр доочистки.

6. Реактор емкостью 30 л, линию передачи и фильтр промывали с помощью 4 л хлороформа и эти 4 л собирали в реактор емкостью 60 л.

28 л из первой порции выдерживали при 25°C (20-30°C), а 28 л из второй порции добавляли в реактор емкостью 60 л и смешивали с первой порцией. Процесс продолжали:

1. Реактор нагревали до 45°C (40-50°C), а растворитель перегоняли в вакууме при перемешивании.

2. Когда объем уменьшался примерно до 22 л, реактор охлаждали до 20°C (15-25°C) в течение прибл. 30 мин при перемешивании.

3. 22 л ацетонитрила добавляли при перемешивании в течение 1 часа, поддерживая температуру при 20°C (15-25°C).

4. Суспензию перемешивали в течение не менее 1 часа при 20°C (18-22°C).

5. Суспензию загружали в фильтр-осушитель Hastelloy C-22 при 20°C (18-22°C).

6. Маточные растворы удаляли из фильтра-осушителя.

7. Осадок промывали смесью 2 л хлороформа и 2 л ацетонитрила (20°C), осадок снимали мерными ложками и сливали жидкость.

8. Осадок промывали 4 л ацетонитрила (20°C), осадок снимали мерными ложками, замачивали в течение 30 мин и сливали жидкость. Эту стадию процесса выполняли дважды.

9. Твердое вещество сушили в вакууме при температуре в рубашке 55°C в течение не менее 9 часов.

10. Фильтр-осушитель охлаждали.

11. Выполняли внутрипроизводственный контроль (проверяли содержание остаточных растворителей с помощью парофазной газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором (HSGC-FID)).

В. Процесс вытеснения остаточного растворителя (RSDP) (Фиг. 2).

RSDP в соответствии с требованиями GMP представлен на Фиг. 2. Описание процесса представлено в этом разделе. Конечный продукт процесса кристаллизации оставляли в фильтре-осушителе площадью 0,1 квадратных метра. Обработку продолжали:

1. В смесь из 6,4 л технической воды и 1,6 л ацетонитрила (25°C) загружали осадок, удаляли его с помощью мерной ложки, замачивали в течение 30 мин и сливали жидкость. Эту стадию процесса выполняли 4 раза.

2. Заливали 8 л технологической воды (25°C), осадок удаляли с помощью мерной ложки, замачивали в течение 30 мин и сливали жидкость. Эту стадию процесса выполняли дважды.

3. Осадок оставляли в течение по меньшей мере 2 часов, чтобы стекла жидкость, а твердое вещество сушили в вакууме при температуре в рубашке 60°C в течение не менее 24 часов.

4. Внутрипроизводственный контроль: проверяли содержание остаточных растворителей с помощью парофазной газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором (HSGC-FID).

a. Метанол ≤ 3000 ч./млн

b. Ацетонитрил ≤ 410 ч./млн

c. Дихлорметан ≤ 600 ч./млн

d. Хлороформ ≤ 60 ч./млн

e. Если контрольные показатели IPC не были соблюдены, время высушивания продлевали еще на 20 часов, чтобы определить, можно ли достичь показателей IPC. Если увеличенного времени высушивания оказывалось недостаточно, повторяли RSDP.

5. Внутрипроизводственный контроль: проверяли потери при высушивании. Если показатель IPC не соответствовал пределу $\leq 5,0\%$, продлевали время высушивания и повторяли IPC до тех пор, пока показатель не был достигнут.

6. Выделение тиострептона: твердый тиострептон выгружали в двойной полиэтиленовый пакет внутри второго полиэтиленового пакета, содержащего пакет с диоксидом кремния, внутри термозапечатанного алюминиевого пакета и внутри алюминиевого барабана. Хранили в замороженном виде при -20°C и контролируемой влажности.

Полученный в результате этого процесса тиострептон охарактеризован ниже:

Испытание	Спецификация	Результаты
Внешний вид	Порошок белого или бледно-	Белый порошок

	желтого цвета.		
Подлинность	ИК-спектр (A TR): инфракрасный спектр тиострептона соответствует спектру эталонного стандарта тиострептона.		Соответствует
Хроматографическая чистота (ВЭЖХ)	> 98,0%		99,3%
Содержание воды	Определение и отчет		3,8%
Температура плавления	245°C-255°C		245°C
Остаток после прокаливании	≤ 1,0%		0,2%
Потеря при высушивании	≤ 5%		2%
Остаточные растворители (HS-GC)	Метанол	≤ 3000 ч./млн	54 ч./млн
	Ацетонитрил	≤ 410 ч./млн	140 ч./млн
	Дихлорметан	≤ 600 ч./млн	< 18 ч./млн
	Хлороформ	≤ 60 ч./млн	<60 ч./млн
Примеси элементов (ICP-MS)	Кадмий (Cd)	≤ 0,2 мкг/г	Соответствует
	Свинец (Pb)	≤ 0,5 мкг/г	Соответствует
	Мышьяк (As)	≤ 1,5 мкг/г	Соответствует
	Ртуть (Hg)	≤ 0,3 мкг/г	Соответствует
	Кобальт (Co)	≤ 0,5 мкг/г	Соответствует
	Ванадий (V)	≤ 1 мкг/г	Соответствует
	Никель (Ni)	≤ 2 мкг/г	Соответствует
Эндотоксины	≤ 0,5 ЕЭ/мг		< 0,5 ЕЭ/мг
Бионагрузка	Общее число аэробных микроорганизмов (ТАМС)		< 10 КОЕ/г
	Общее число дрожжевых и плесневых грибов (ТУМС) ≤ 100 КОЕ/г		
Антибиотико-микробиологический количественный анализ	≥ 900 МЕ/мг		988 МЕ/мг

Пример 2. Дополнительные стадии по снижению уровней остаточных растворителей

В таблице ниже показаны результаты *внутрипроизводственного* процесса, описанного выше в примере 1.

После вытеснения растворителя 1 (одна итерация процесса вытеснения остаточного растворителя) содержание хлороформа не достигало <60 ч./млн после 45 часов высушивания. В результате осуществляли вытеснение растворителя 2 (вторая итерация процесса вытеснения остаточного растворителя). Хотя содержание хлороформа достигало <60 ч./млн, содержание ацетонитрила превышало 300 ч./млн после 24 часов высушивания. Спустя 31 час высушивания концентрация ацетонитрила упала ниже 300 ч./млн, и процесс считали завершённым.

Следует учитывать, что внутрипроизводственные целевые и измеренные внутрипроизводственные значения не являются идентичными результатам испытаний конечного продукта; например, содержание ацетонитрила составляло 220 ч./млн при окончательном внутрипроизводственном измерении, но при испытании конечного продукта в примере 1 обнаружили, что оно составляет 140 ч./млн.

Стадия процесса	Время высушивания (ч)	Остаточные растворители (ч./млн)				Потеря при высушивании
		Метанол	Ацетонитрил	CH ₂ Cl ₂	Хлороформ	
Внутрипроизводственные спецификации	-	≤ 2500	≤ 300	≤ 500	≤ 50	≤ 5,0%
Завершение процесса кристаллизации	-	5808	86134	н/о	16159	-
Вытеснение растворителя 1	12	2137	407	н/о	169	20,4%
Вытеснение растворителя 1	25	1005	120	н/о	106	2,1%
Вытеснение растворителя 1	25	1476	140	< 18	140	-
Вытеснение растворителя 2	24	610	309	н/о	11	4,9%
Вытеснение растворителя 2	31	1190	220	20	34	4,4%

Пример 3. Дополнительные протоколы кристаллизации

Исследовали ряд альтернативных протоколов кристаллизации, хотя многие из них оказались неудовлетворительными из-за низкого выхода, чистоты и/или уровней остаточных растворителей.

Таблица 1. Протоколы кристаллизации

Серия	Основная цель	Выход	Чистота	Описание/Результат	Остаточный
-------	---------------	-------	---------	--------------------	------------

		(%)	(%)		растворитель
L	Рекристаллизация в ТГФ (качество R&D) с применением воды в качестве антирастворителя.	73,2	98,2	150 объемов ТГФ (R&D) при кипячении с обратным холодильником потребовалось для растворения коммерческого ТС. Перегонка до 35 объемов. Доочистка фильтрации. Затравка с применением коммерческого ТС при 25°C. Добавление 35 объемов воды в качестве антирастворителя при 25°C. Охлаждение до 5°C. Фильтрация при 5°C.	Результаты HSGC-FID (ч./млн): MeOH: 8917, ДХМ: 8, хлороформ: н/о, ТГФ: 3316. Вода (KF): 1,96%.
M	Растворение в ТГФ (качество GC) при к. т. Пул с серией L.	-	-	Растворение, применяемое в серии N. 59 объемов ТГФ (GC) при к. т. потребовалось для растворения коммерческого ТС.	
N	Растворение в ТГФ (качество GC) при кипячении с обратным холодильником. Пул с серией M. Рекристаллизация в ТГФ (качество GC) с применением МТБЭ в качестве	78,8	98,1	56 объемов ТГФ (GC) при кипячении с обратным холодильником потребовалось для растворения коммерческого ТС. Пул с ТС-011. Перегонка до 35 объемов. Доочистка фильтрации. Затравка с применением коммерческого ТС. Добавление 35 объемов	Результаты HSGC-FID (ч./млн): MeOH: 5174, ДХМ: н/о, МТБЭ: 3794, хлороформ: н/о, ТГФ: 16667. Вода (KF): 1,68%.

	антирастворителя.			МТБЭ в качестве антирастворителя при 25°C. Фильтрация при 20°C.	
О	Рекристаллизация в ДХМ:EtOH в соотношении 4:1 в качестве растворителя и МТБЭ в качестве антирастворителя	81,7	97,8	35 объемов потребовалось для растворения коммерческого ТС при к. т. Доочистка фильтрации. Затравка с применением коммерческого ТС. Затравка растворилась**. Добавление 35 об. МТБЭ в качестве антирастворителя при 25°C. Фильтрация при 25°C.	Результаты HSGC-FID (ч./млн): MeOH: 1218, EtOH: 14219, ДХМ: 8275, МТБЭ: 13037, хлороформ: н/о. Вода (KF): 1,78%
Р	Рекристаллизация в ДХМ:EtOH в соотношении 4:1 в качестве растворителя и n-гептан в качестве антирастворителя	92,1	96,4	35 объемов потребовалось для растворения коммерческого ТС при к. т. Доочистка фильтрации. Затравка с применением коммерческого ТС. Затравка растворилась*. Добавление 35 об. n-гептана в качестве антирастворителя. Фильтрация при 25°C.	Результаты HSGC-FID (ч./млн): MeOH: 1406, EtOH: 13188, ДХМ: 8176, МТБЭ: 12939, хлороформ: н/о. Вода (KF): 1,89%.
Q	Рекристаллизация в ДХМ:EtOH в соотношении 4:1 в качестве растворителя и АСН в качестве антирастворителя.	83,5	98,1	35 объемов потребовалось для растворения коммерческого ТС при к. т. Доочистка фильтрации. Затравка с применением коммерческого ТС. Затравка растворилась*.	Результаты HSGC-FID (ч./млн): MeOH: 1378, EtOH: 12922, ДУИ: 8179, МТБЭ: 13529,

				Добавление 35 об. АСN в качестве антирастворителя. Фильтрация при 25°C.	хлороформ: н/о. Вода (KF): 1,76 °А).
R	Рекристаллизация в ДМСО в качестве растворителя и в воде в качестве антирастворителя	84,7	97,4	2,7 объема потребовалось для растворения коммерческого ТС при к. т. Раствор выпаривается на роторном испарителе при 45°C в течение 45 минут для удаления остаточных растворителей***. Добавление 1 об. воды в качестве антирастворителя при 25°C. Фильтрация при 25°C.	Результаты HSGC-FID (ч./млн): MeOH: 239, ДХМ: 2, хлороформ: 9, ДМСО: 7932. Вода (KF): 3,45%.
S	Рекристаллизация в ДМСО в качестве растворителя и в EtOH в качестве антирастворителя.	78,0	97,2	3 объема потребовалось для растворения коммерческого ТС при к. т. Раствор выпаривается на роторном испарителе при 45°C в течение 45 минут для удаления остаточных растворителей. Добавление 12 об. EtOH в качестве антирастворителя при 25°C. Фильтрация при 25°C.	Результаты HSGC-FID (ч./млн): MeOH: 111, EtOH: 7684, ДХМ: 1, хлороформ: н/о, ДМСО: 78717. Вода (KF): 4,55%.
T	Рекристаллизация в хлороформе	91,0	97,8	23 объема CHCl ₃ при 45°C потребовалось для	

	(стабилизированно м 0,5-1% EtOH) в качестве растворителя и MeOH в качестве антирастворителя.			растворения коммерческого ТС. Охлаждение до 2°C. Затравка растворилась. Перегонка до 12 объемов. Охлаждение до 2°C, опалесценция. Добавление 300 мл MeOH при 2°C. Фильтрация при 2°C. *****	
U	Рекристаллизация в хлороформе (стабилизированно м 0,5-1% EtOH) в качестве растворителя и ацетона в качестве антирастворителя.	88,6	98,1	Растворение коммерческого ТС в 23 об. хлороформа при 45°C. Вакуумная перегонка до 12 об. Охлаждение до 25°C. Добавление 12 об. ацетона. Фильтрация при 25°C. *****	
V	Рекристаллизация в хлороформе (стабилизированно м 0,5-1% EtOH) в качестве растворителя и ACN в качестве антирастворителя.	83,0	98,8	Растворение коммерческого ТС в 23 об. хлороформа при 45°C. Вакуумная перегонка до 12 об. Охлаждение до 25°C. Добавление 12 об. ACN. Фильтрация при 25°C. *****	
W	Рекристаллизация 5,8 г коммерческого ТС в ТГФ (качество GC) в качестве растворителя и	27,4	98,3	63,5 объема ТГФ (GC) при 45°C потребовалось для растворения коммерческого ТС. Перегонка до 28 объемов. Доочистка фильтрации.	Результаты HSGC-FID (ч./млн): MeOH: 440, EtOH: 22, ДХМ: н/о, хлороформ: 3,

	<p>воды в качестве антирастворителя. Суспензия влажного твердого вещества в горячей воде после фильтрации для удаления ТГФ.</p>			<p>Добавление 8,2 объема воды в качестве антирастворителя при 45°C. Охлаждение до 20°C. Фильтрация при 20°C. Суспензия влажного твердого вещества при 40°C в течение 1 часа в 40 об. воды. Охлаждение до 25°C.</p>	<p>ТГФ: 552, ДМСО: 1352. Загрязнение ДМСО.</p>
X	<p>Рекристаллизация 30 г коммерческого ТС в хлороформе, стабилизированно м с помощью амилена в качестве растворителя и АСN в качестве антирастворителя.</p>	68,0	97,5	<p>Растворение коммерческого ТС в 42 об. хлороформа не осуществляли. Добавление 5% об./об. EtOH при 50°C. Образовалось коричневое твердое вещество. Доочистка фильтрации. Коричневое твердое нерастворимое вещество отбрасывали. Вакуумная перегонка до 11 об. при темп. в рубашке 45°C. Охлаждение до 25°C. Добавление 11 об. АСN; визуально наблюдается недостаточно твердое вещество. Добавление всего 17,5 об. АСN. Фильтрация при 20°C.</p>	<p>Результаты HSGC-FID (ч./млн): MeOH: 177, EtOH: 282, АСN: 38796, ДХМ: 3, хлороформ: 1223. Вода (KF): 1,83 °А.</p>
H	<p>Рекристаллизация 15 г коммерческого ТС</p>	85,0	98,4	<p>Растворение коммерческого ТС в 23 об. хлороформа при 45°C.</p>	<p>Результаты HSGC-FID (ч./млн): MeOH:</p>

A	Кристаллизация CHCl ₃ /ACN	Коммерческий ТС	30	177	3	38796	1223
B	Замачивание в воде	A	8,55	60	н/о	26	216
C	Горячая суспензия с водой		10,63	86	н/о	12	281
D	Горячая суспензия со смесью ACN/вода	C	5	343	н/о	67	н/о
E	Замачивание в смеси ACN/вода		4	51	н/о	9	19
F	Горячая суспензия с ACN		5	508	н/о	97	31
G	Замачивание в ACN	B	2	110	н/о	147	н/о

Процессы, включающие ацетонитрил, были эффективны для достижения уровней в соответствии с требованиями ИСН для остаточных растворителей и показали хорошую оперативность, поскольку ацетонитрил увеличивал смачиваемость тиострептона. Процессы замачивания было проще осуществлять и они позволили минимизировать механические потери по сравнению с процессами с применением горячей суспензии. Замачивание в ACN/воде привело к более низким уровням метанола и ACN, чем замачивание только в ACN.

Для завершения разработки и определения стратегии процесса вытеснения остаточного растворителя полученный продукт масштабированной кристаллизации в хлороформе и ацетонитриле (серия H) разделяли на 3 части и воспроизводили процесс замачивания только в ACN, смеси вода/ACN 8/2 и только в воде. Процесс замачивания, который оказался эффективным для достижения уровней в соответствии с требованиями ИСН для остаточных растворителей, оказался смесью вода/ACN 8/2 (серия I; см. таблицу ниже). Ни в одном из экспериментов не наблюдали ни изменения профиля примесей, ни деградации.

Серия	Условия	Масштаб (г)	Остаточные растворители (ч./млн)	Содержан ие воды (%)	Чистота (%)	Выхо д (%)
-------	---------	----------------	-------------------------------------	----------------------------	----------------	---------------

			MeOH	ДХМ	CHCl ₃	ACN			
Пределы согласно требованиям ICH	-	-	3000	600	60	410	-	>98,0	-
Коммерческий ТС	Исходный материал	-	39572	54	2291	н/п	2,27	97,7	-
Н	Кристаллизация CHCl ₃ /ACN	15	82	н/о	7020	30733	1,37	98,4	85
И	Замачивание в воде/ACN 8/2	4	270	н/о	27	55	1,93	98,5	Расчетное значение* 90
Ж	Замачивание в ACN	3	88	н/о	259	444	2,37	98,6	92
К	Замачивание в воде	4	113	н/о	3578	51	1,92	98,7	93

Пример 5. Сравнение биологической активности сверхчистого тиострептона и коммерческого тиострептона

Коммерческий исходный материал тиострептон (ТС) (ТС не отвечающий требованиям GMP) и сверхчистый ТС (ТС отвечающий требованиям GMP) разводили до 10 мМ в стерильном ДМСО. Множество ТС оценивали с помощью анализа жизнеспособности клеток с применением клеточной линии рака яичников SKOV3, приобретенной у АТСС. Для проведения скрининга подготавливали два репликативных планшета, содержащих две технические повторности. Клетки высевали с плотностью 2500 клеток/лунку в 96-луночные планшеты и давали им прикрепиться в течение 24 часов до обработки. Начальную концентрацию 20 мкМ для каждого раствора ТС разводили посериюно в соотношении 1:1, охватывая диапазон концентраций от 20 мкМ до 20 нМ. Клетки инкубировали с помощью обработки в течение 48 часов до фиксации 3% формальдегидом и окрашивания клеток кристаллическим фиолетовым для определения оставшихся остаточных клеток (100%=отсутствие гибели клеток, 0%=полная гибель клеток). Фиг. 4. Значения EC50 (концентрацию, необходимую для уничтожения 50% клеток) определяли с помощью нелинейной регрессии с переменным наклоном, подобранным методом наименьших квадратов. Фиг. 5. Данные показали, что сверхчистый ТС проявляет лучшую биологическую активность, чем коммерческий ТС, как при

измерении % гибели раковых клеток, так и при измерении EC50.

Пример 6. Иллюстративная фармацевтическая композиция, содержащая сверхчистый тиострептон

Состав на флакон	Количество на флакон	Количество на серию
Сверхчистый тиострептон*	90,0 мг	390,0 г
Диметилсульфоксид (ДМСО)	528,8 мг	2291,3 г
Витамин Е - ТPGS	2,1 г	9100,0 г
Трис(гидроксиметил)аминометан	18,17 мг	78,74 г
Соляная кислота 1N	дост. кол. pH 7,4	дост. кол. pH 7,4
Вода для инъекций	дост. кол. 30,3 г (30,0 мл)	дост. кол. 131,2 кг (130 л)

**Компонент скорректирован согласно активности его влажного вещества.*

ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ

Все патенты США, а также опубликованные патентные заявки США и РСТ, цитируемые в настоящем документе, включены в настоящий документ посредством ссылки.

ЭКВИВАЛЕНТЫ

Вышеизложенное письменное описание считается достаточным для того, чтобы специалист в данной области техники мог реализовать изобретение на практике. Объем настоящего изобретения не должен ограничиваться приведенными примерами, так как эти примеры служат в качестве единственной иллюстрации одного аспекта данного изобретения, а другие функционально эквивалентные варианты осуществления входят в пределы объема данного изобретения. Различные модификации изобретения в дополнение к показанным и описанным в данном документе станут очевидны для специалистов в данной области техники из вышеприведенного описания и входят в пределы объема прилагаемой формулы изобретения. Преимущества и объекты изобретения не обязательно охватываются каждым вариантом осуществления данного изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Сверхчистый препарат тиострептона, имеющий чистоту по меньшей мере около 98% (масс./масс.); причем препарат содержит количество, меньшее или равное:

а. 3000 ч./млн метанола, предпочтительно меньшее или равное 300 ч./млн метанола;

б. 600 ч./млн дихлорметана, предпочтительно меньшее или равное 60 ч./млн дихлорметана;

с. 60 ч./млн хлороформа; и

д. 410 ч./млн ацетонитрила, предпочтительно меньшее или равное 200 ч./млн ацетонитрила;

2. Сверхчистый препарат тиострептона по п. 1, в котором чистота тиострептона составляет по меньшей мере около 99% (масс./масс.).

3. Способ очистки тиострептона, включающий стадии:

(1) растворения тиострептона в первом растворителе с получением первого раствора тиострептона;

(2) перегонки примесей растворителя из первого раствора тиострептона с получением второго раствора тиострептона;

(3) объединения второго растворителя со вторым раствором тиострептона для осаждения тиострептона и, таким образом, получения первого твердого вещества тиострептона и третьего раствора;

(4) промывания первого твердого вещества тиострептона с помощью третьего растворителя для удаления примесей и, таким образом, получения второго твердого вещества тиострептона; и

(5) высушивания второго твердого вещества тиострептона для удаления остаточного растворителя;

в результате чего получают сверхчистый препарат тиострептона.

4. Способ по п. 3, в котором первый растворитель содержит хлороформ и необязательно от 0,5 до 1,0% (об./об.) этанола.

5. Способ по любому из п. 3 или п. 4, в котором:

- стадия (1) дополнительно включает охлаждение первого раствора тиострептона до температуры от 15 до 30°C; и/или

- стадия (2) уменьшает объем второго раствора тиострептона по меньшей мере на 50% по сравнению с объемом первого раствора тиострептона и необязательно включает охлаждение второго раствора тиострептона до температуры от 15°C до 25°C; и/или

- второй растворитель на стадии (3) содержит ацетонитрил, предпочтительно в объеме, равном объему второго раствора тиострептона, и при этом стадия (3) необязательно дополнительно включает отделение первого твердого вещества тиострептона от третьего раствора и высушивание первого твердого вещества тиострептона; и/или

- третий растворитель на стадии (4) содержит воду или представляет собой смесь

воды и ацетонитрила, предпочтительно смесь воды и ацетонитрила в соотношении 4:1 об./об., причем промывание первого твердого вещества тиострептона третьим растворителем на стадии (4) необязательно включает замачивание первого твердого вещества тиострептона в третьем растворителе.

6. Способ по любому из пп. 3-5, причем способ включает дополнительную стадию промывания второго твердого вещества тиострептона с помощью по меньшей мере одной дополнительной порции третьего растворителя после стадии промывания первого твердого вещества третьим растворителем с получением второго твердого вещества.

7. Способ по любому из пп. 3-6, причем способ включает дополнительную стадию промывания второго твердого вещества тиострептона четвертым растворителем, предпочтительно замачивание второго твердого вещества тиострептона в четвертом растворителе, после стадии промывания первого твердого вещества тиострептона третьим растворителем с получением второго твердого вещества тиострептона, и в котором указанный четвертый растворитель необязательно содержит воду.

8. Способ по любому из пп. 3-7, в котором второе твердое вещество тиострептона анализируют на содержание метанола, ацетонитрила, дихлорметана и/или хлороформа, и в котором второе твердое вещество тиострептона подвергают дальнейшим циклам стадий (4) и (5), если второе твердое вещество тиострептона содержит более 3000 ч./млн метанола, 600 ч./млн дихлорметана, 60 ч./млн хлороформа, и/или 410 ч./млн ацетонитрила.

9. Способ по любому из пп. 3-8, в котором стадия (а) осуществляется в масштабах производства тиострептона от 100 миллиграммов до 100 килограммов, предпочтительно от 1,0 грамма до 10 килограммов.

10. Сверхчистый препарат тиострептона, полученный согласно способу по любому из пп. 3-9.

11. Фармацевтическая композиция, содержащая сверхчистый препарат тиострептона по любому из п. 1, п. 2 или п. 10; и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей.

12. Фармацевтическая композиция по п. 11, причем фармацевтическая композиция представляет собой водную композицию, предпочтительно содержащую от 1 до 5 мг сверхчистого тиострептона на мл воды.

13. Фармацевтическая композиция по любому из п. 11 или п. 12, дополнительно содержащая витамин Е-TPGS, предпочтительно в количестве от 0,05 до 0,1 г витамина Е-TPGS на мл воды.

14. Фармацевтическая композиция по любому из п. 11 или п. 12, дополнительно содержащая диметилсульфоксид (ДМСО), предпочтительно в количестве от 0,01 до 0,03 г ДМСО на мл воды.

15. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 11-14 для применения в лечении рака.

По доверенности

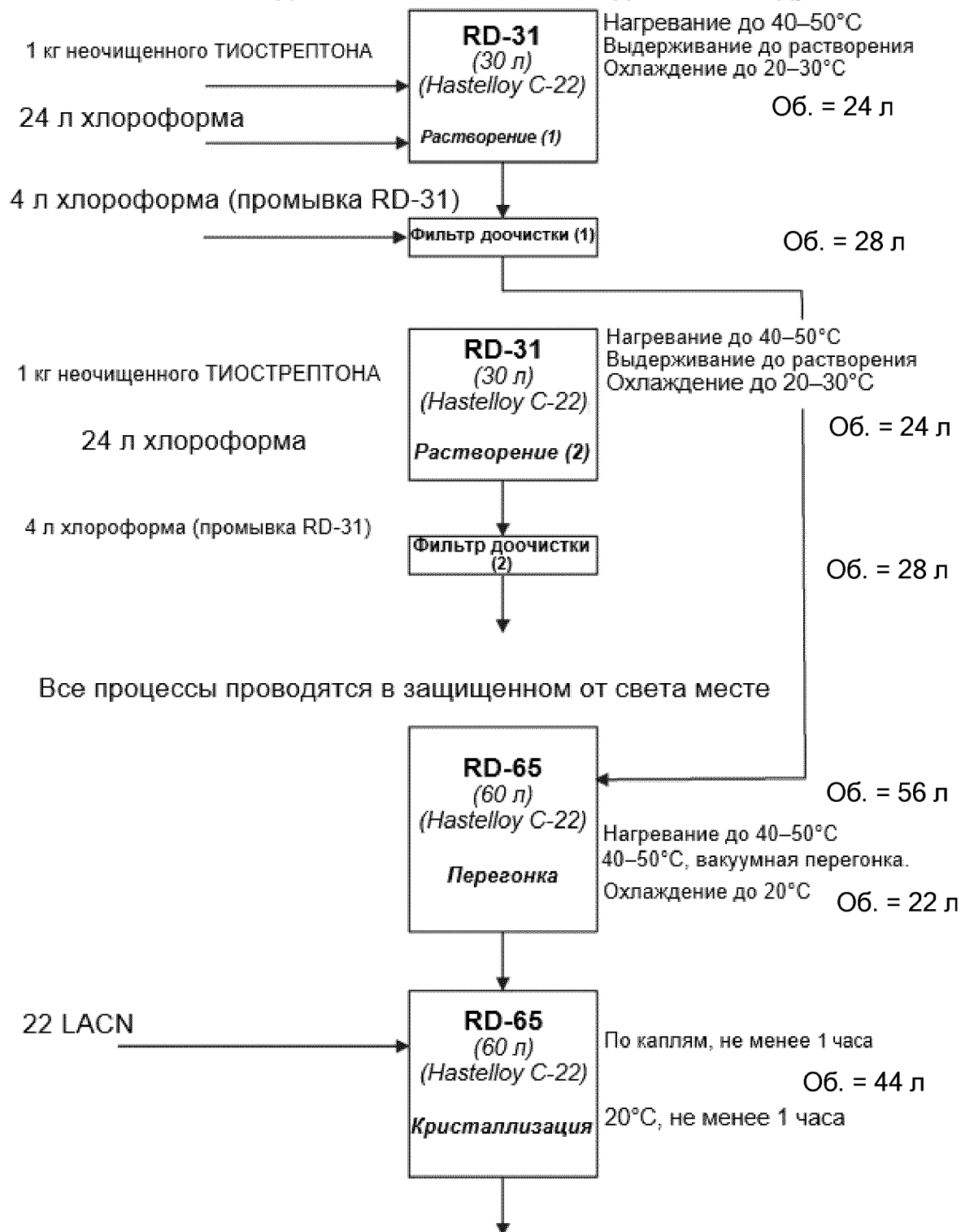
1/5

Размер серии: 2 кг

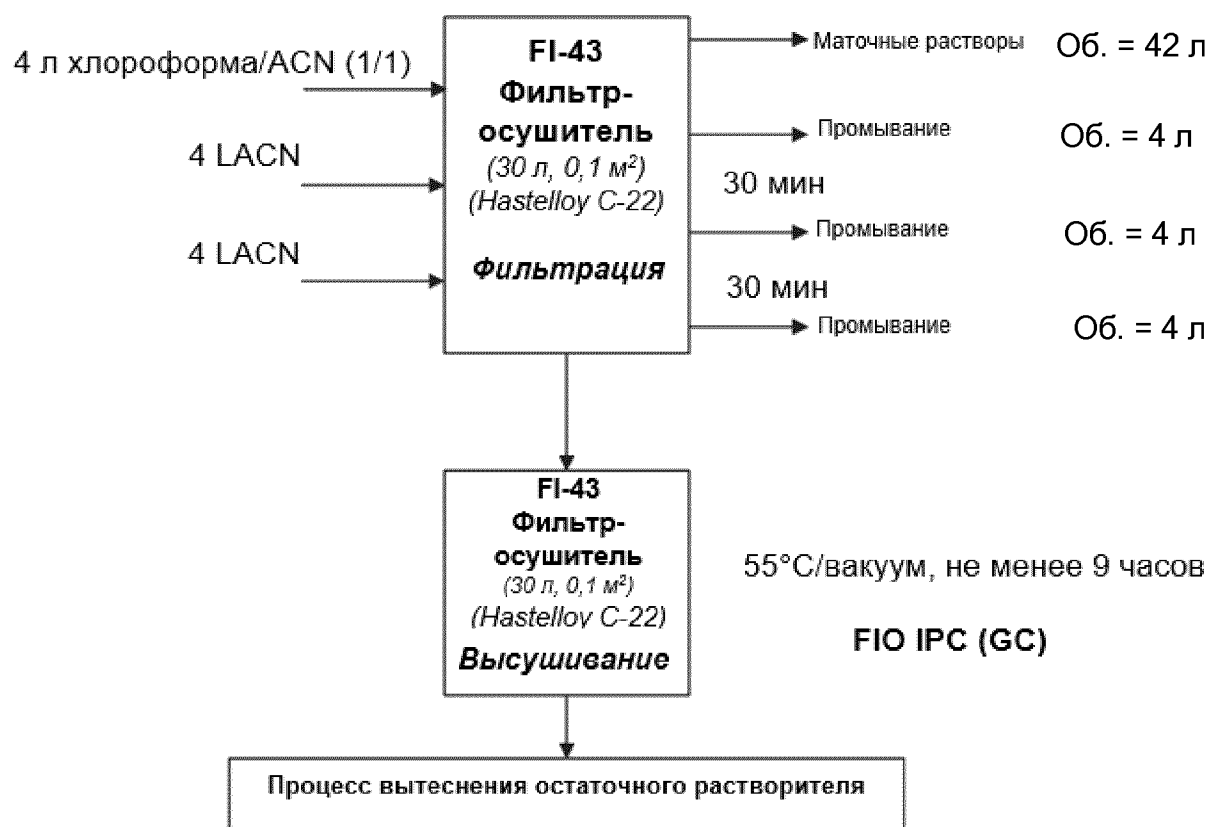
Кристаллизация ТИОСТРЕПТОНА

Объем
процесса (л)

Все действия выполняются под азотной подушкой.

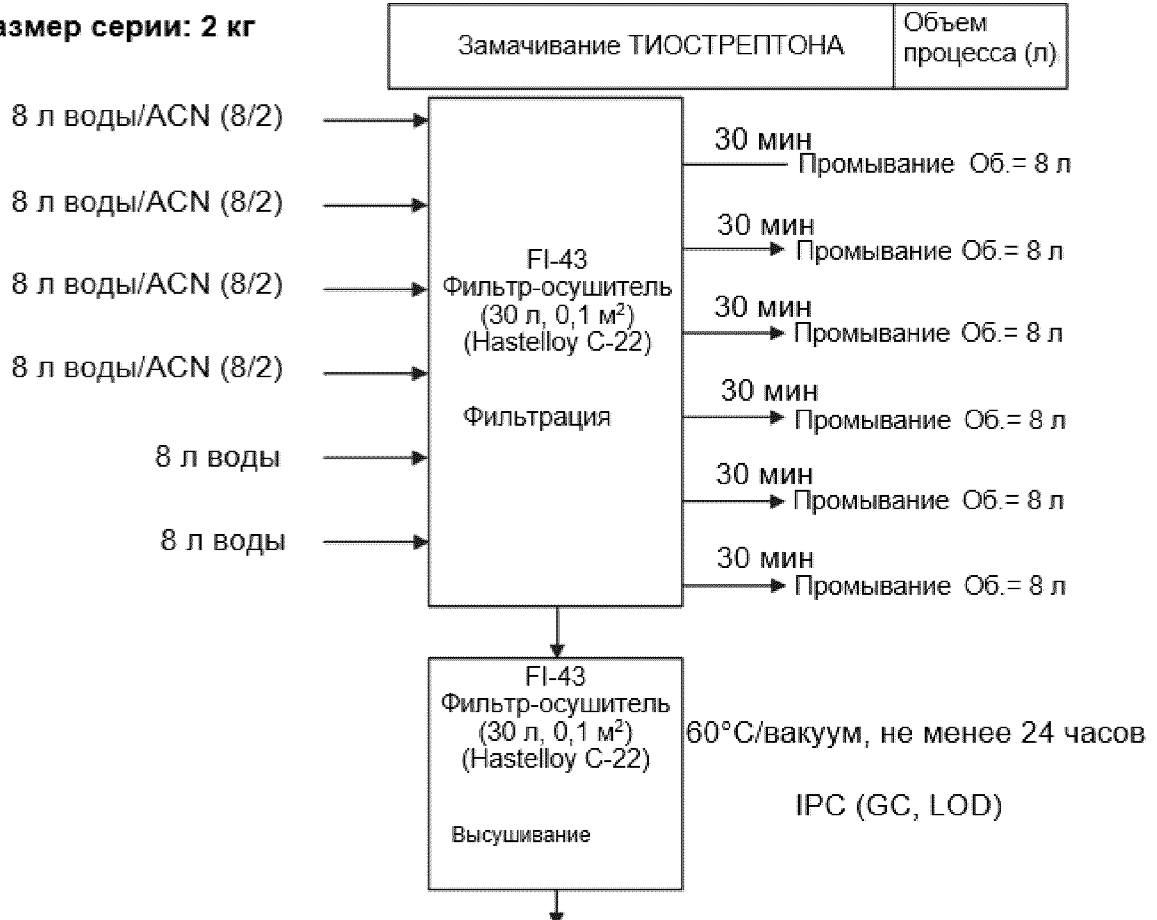
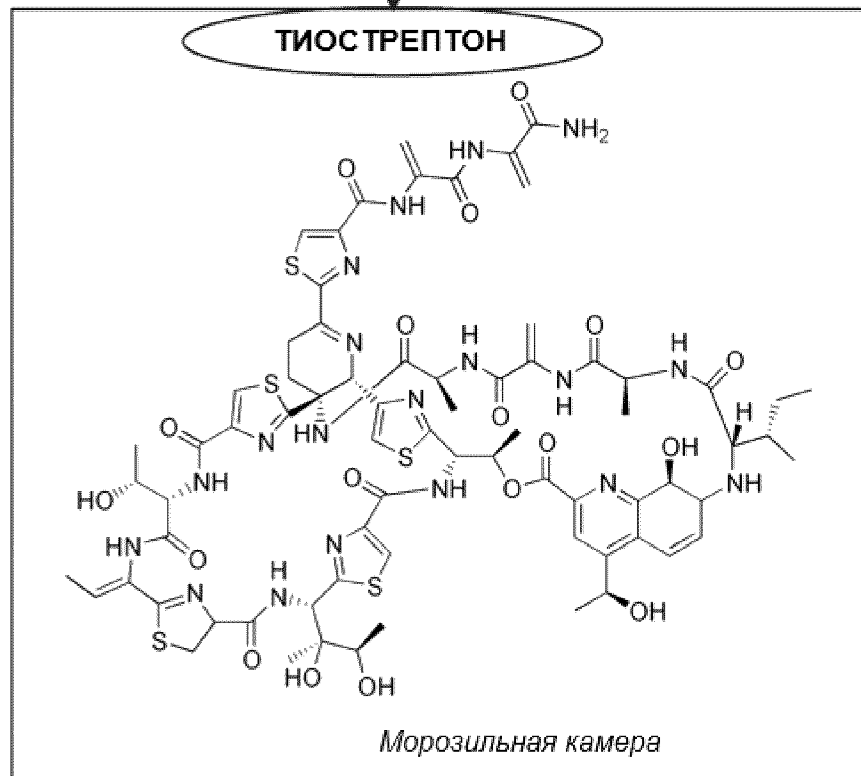


ФИГ. 1

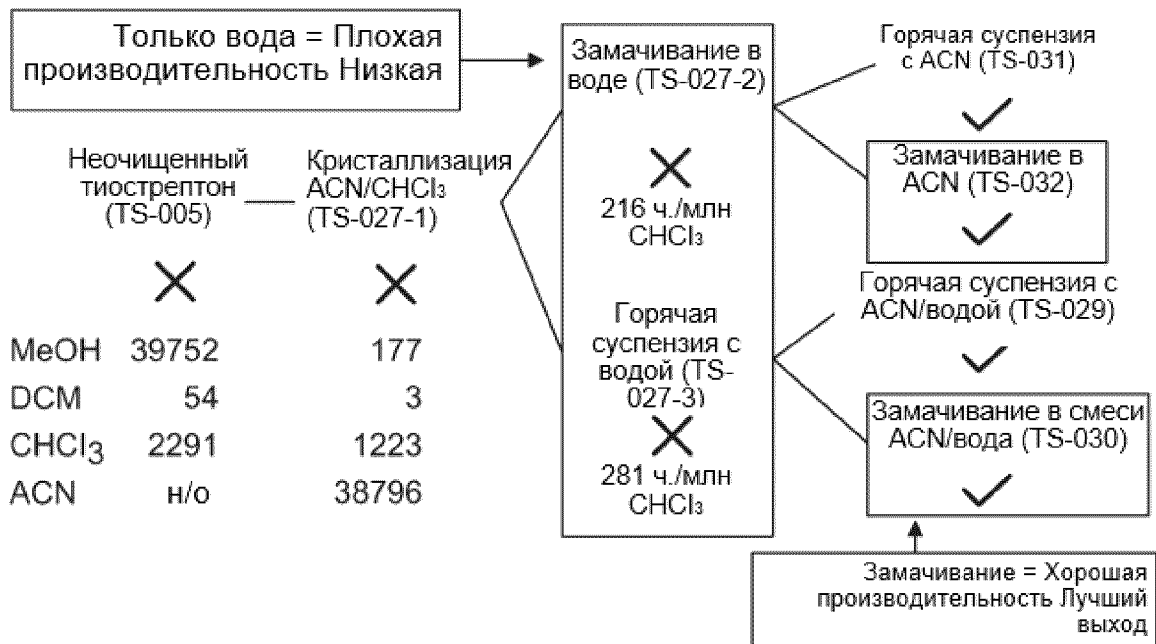


ФИГ. 1 ПРОДОЛЖ.

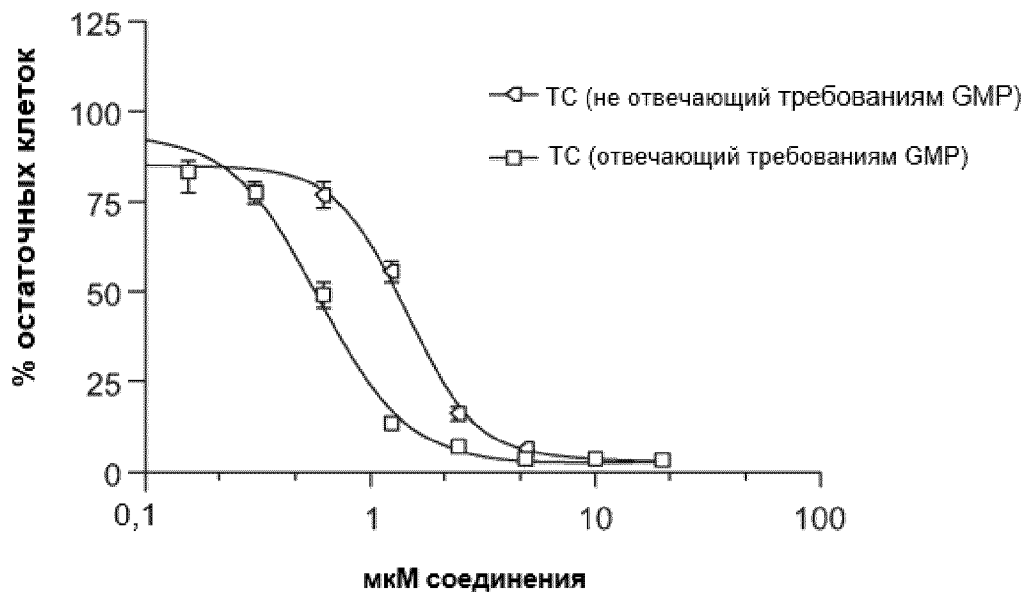
Размер серии: 2 кг

1,64 кг (82%
выход)

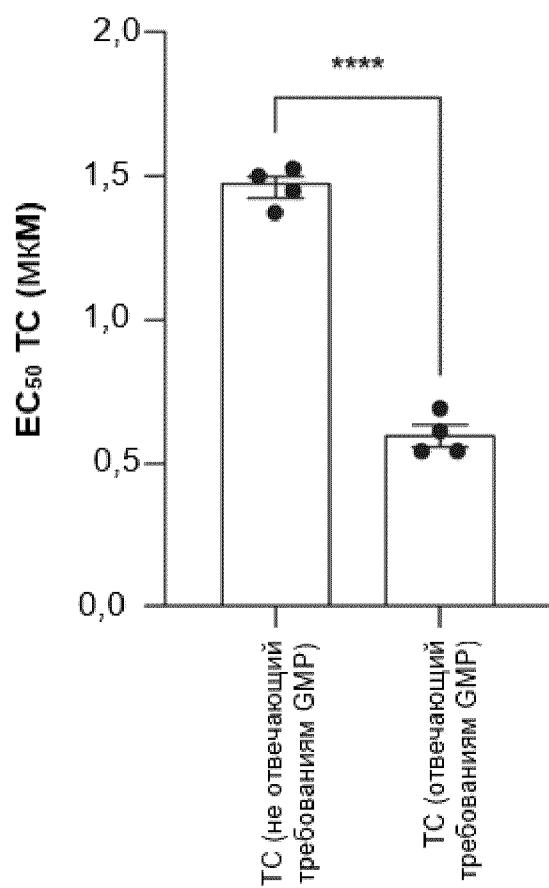
ФИГ. 2



ФИГ. 3



ФИГ. 4



ФИГ. 5