

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202192845** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.01.26

(22) Дата подачи заявки
2020.04.17

(51) Int. Cl. *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/216 (2006.01)
A61K 47/10 (2017.01)

(54) НОВЫЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ МЕЛФЛУФЕН

(31) 1905477.4

(32) 2019.04.17

(33) GB

(86) PCT/EP2020/060900

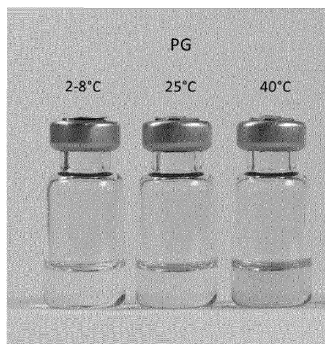
(87) WO 2020/212594 2020.10.22

(71) Заявитель:
ОНКОПЕПТАЙДС АБ (SE)

(72) Изобретатель:
**Леманн Фредрик, Теодорович Петер
(SE)**

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

(57) Изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей (или состоящей в основном из) следующие компоненты: i) мелфлуфен или его соль; ii) пропиленгликоль; iii) необязательно один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей; и iv) необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств; или фармацевтической композиции, содержащей (или состоящей в основном из) следующие компоненты: i) мелфлуфен или его соль; ii) полиэтиленгликоль; iii) необязательно один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей; и iv) необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств. Изобретение также относится к способам получения фармацевтических композиций по изобретению, наборам и применениям фармацевтических композиций по изобретению.



A1

202192845

202192845

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420- 570988EA/55

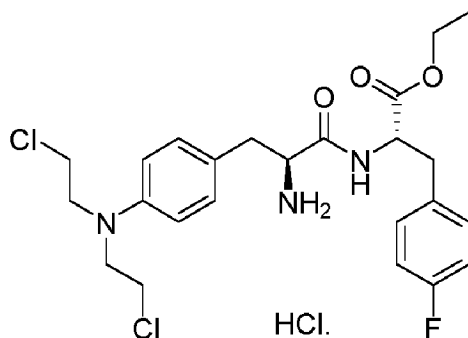
НОВЫЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ МЕЛФЛУФЕН

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к новым фармацевтическим композициям, содержащим мелфлуфен или его соль, и их применению. Настоящее изобретение также относится к наборам и способам получения новых фармацевтических композиций по изобретению.

Уровень техники

Мелфлуфен (также известный как мелфалан флуфенамид и этиловый эфир L-мелфаланил-4-фтор-L-фенилаланина) является противоопухолевым средством, используемым в лечении злокачественной опухоли, в частности в лечении множественной миеломы. Мелфлуфен описан в WO 01/96367 и WO 2014/065751. Структура гидрохлоридной соли мелфлуфена представлена ниже:



Мелфлуфен является сильнодействующим и высоко липофильным алкилирующим средством, которое обеспечивает направленную доставку алкилирующих метаболитов к опухолевым клеткам. В отличие от других гидрофильных алкилирующих средств, высокая липофильность мелфлуфена обеспечивает его быстрое проникновение в ткани и клетки. Попав внутрь клетки, мелфлуфен может непосредственно связываться с ДНК, или он может быть легко гидролизован внутриклеточными пептидазами до мелфалана или гидролизован внутриклеточными эстеразами до дезэтилмелфлуфена (это соединение может альтернативно называться L-мелфаланил-4-фтор-L-фенилаланин), который также обладает алкилирующими свойствами. Предполагается, что высокая активность эстераз и пептидаз в опухолях человека приводит к быстрому образованию метаболитов мелфлуфена в этих клетках, что затем приводит к притоку большего количества мелфлуфена (Gullbo, J., et al, J Drug Target, (2003) Vol 11, pages 355-363; Wickstrom, M., et al, Biochem Pharmacol (2010) Vol 79, pages 2381-1290). Поскольку дезэтилмелфлуфен и мелфалан являются относительно гидрофильными, существует возможность внутриклеточного захвата этих средств.

Мелфлуфен обычно получают в кристаллической форме после синтеза. Кристаллическая форма может быть растворена только в сильноокислых водных растворах, которые часто непригодны для производственных и фармацевтических целей. В

предшествующих фармацевтических препаратах, кристаллическая форма растворялась в растворе диметилацетамида (ДМА) и глюкозы. Однако этот препарат был нестабильным и легко образовывал нежелательные димеры мелфлуфена. Органические растворители, такие как ДМА, также могут быть опасны для пациентов и могут повредить медицинские устройства, используемые для введения. Стабильные лиофилизированные препараты мелфлуфена описаны в WO 2014/065751 и демонстрируют благоприятные характеристики стабильности и растворения.

До сих пор существует неудовлетворенная потребность в жидких фармацевтических препаратах мелфлуфена или его солей, которые демонстрируют эффективную стабильность и удобство обращения.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую (или состоящий в основном из) следующие компоненты:

- i) мелфлуфен или его соль;
- ii) пропиленгликоль;
- iii) необязательно один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей; и
- iv) необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

Предпочтительно мелфлуфен или его соль, содержащиеся в фармацевтической композиции по изобретению, растворены в фармацевтической композиции. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что мелфлуфен и его соли неожиданно являются растворимыми в пропиленгликоле, в результате чего можно получить более концентрированные растворы, чем с ранее используемыми растворителями. Кроме того, авторы настоящего изобретения обнаружили, что когда мелфлуфен или его соль хранится в форме фармацевтической композиции, содержащей пропиленгликоль, мелфлуфен или его соль, являются неожиданно стабильными и легко не образуют нежелательные продукты распада. Примечательно, что в исследовании стабильности было обнаружено, что фармацевтическая композиция, содержащая гидрохлоридную соль мелфлуфена (OPD-5) и пропиленгликоль, сохраняет чистоту мелфлуфена, составляющую больше 95% (относительно чистоты мелфлуфена до хранения композиции) при хранении при температуре около 5°C (т.е. $5 \pm 3^\circ\text{C}$ (от 2 до 8°C)) в течение более 50 дней. В дополнительном исследовании стабильности было обнаружено, что фармацевтическая композиция, содержащая гидрохлоридную соль мелфлуфена (OPD-5) и пропиленгликоль, стабильна в течение, по крайней мере, 6 месяцев при хранении при -20°C и, по крайней мере, 8 месяцев при хранении при температуре -70°C. Кроме того, авторы настоящего изобретения также обнаружили, что фармацевтические композиции, содержащие этансульфоновую кислоту, п-толуолсульфоновую кислоту или хлористоводородная соль мелфлуфена и пропиленгликоля, сохраняют чистоту мелфлуфена более 90% (относительно чистоты мелфлуфена перед хранением композиции) при хранении при комнатной температуре (т.е. 20-25°C) в течение 4 недель (28 дней) и сохранял чистоту

мелфлуфена больше 85% после 7 недель (49 дней) хранения при комнатной температуре.

Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую (или в основном состоящую из) следующих компонентов:

- i) мелфлуфен или его соль;
- ii) полиэтиленгликоль (ПЭГ);
- iii) необязательно один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей; и
- iv) необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

Предпочтительно, мелфлуфен или его соль, содержащиеся в фармацевтической композиции по изобретению, растворены в фармацевтической композиции. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что мелфлуфен и его соли являются неожиданно растворимыми в ПЭГ, в результате чего можно получить более концентрированные растворы, чем с ранее используемыми растворителями. Кроме того, авторы настоящего изобретения обнаружили, что когда мелфлуфен или его соль хранятся в форме фармацевтической композиции, содержащей ПЭГ, мелфлуфен или его соль неожиданно являются стабильными и с трудом образуют нежелательные продукты распада. Примечательно, что в исследовании стабильности было обнаружено, что фармацевтическая композиция, содержащая ПЭГ, сохраняет чистоту мелфлуфена более 95% (относительно чистоты мелфлуфена перед хранением композиции) при хранении при температуре около 5°C (т.е. $5 \pm 3^\circ\text{C}$ (2 до 8°C)) более 50 дней.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции изобретения для применения в качестве лекарственного средства.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию по изобретению для применения в лечении или профилактике заболевания или состояния, которое можно лечить обычными химиотерапевтическими средствами, например, алкилятором (например, мелфаланом, циклофосфамидом и бендамустином).

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции по изобретению для применения в лечении или профилактике злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, выбранной из перечня, состоящего из множественной миеломы, злокачественной опухоли груди, злокачественной опухоли легких, злокачественной опухоли яичников, лейкоза и лимфом.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции по изобретению для применения в лечении или профилактике амилоидоза.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения пациента, который включает стадию введения субъекту фармацевтически эффективного количества фармацевтической композиции по изобретению.

Фармацевтические композиции по изобретению можно вводить непосредственно субъекту, например, без необходимости предварительного разбавления, например, предварительного разбавления физиологически приемлемым растворителем или разбавителем. Таким образом, в одном предпочтительном варианте осуществления

изобретения, фармацевтическая композиция вводится пациенту непосредственно. В альтернативном варианте осуществления, фармацевтическая композиция вводится пациенту после разбавления, например, после разбавления физиологически приемлемым растворителем или разбавителем, например физиологическим раствором, раствором глюкозы или их смесью.

Настоящее изобретение также относится к способу получения фармацевтической композиции по изобретению, включающему стадию растворения мелфлуфена или его соли в пропиленгликоле.

Настоящее изобретение также относится к способу получения фармацевтической композиции по изобретению, включающему стадию растворения мелфлуфена или его соли в ПЭГ.

В настоящем изобретении дополнительно предложен способ хранения мелфлуфена или его соли, включающий стадии получения фармацевтической композиции по изобретению и хранения фармацевтической композиции при температуре от -90 до 25°C. Предпочтительно фармацевтическая композиция по изобретению хранится при температуре около 5°C или ниже, например, около от 0 до 4°C, около -20°C и около -80°C.

Настоящее изобретение также относится к набору, включающему мелфлуфен или его соль; пропиленгликоль; необязательно один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей; и необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

Настоящее изобретение также относится к набору, включающему мелфлуфен или его соль; ПЭГ; необязательно один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей; и необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

Описание чертежей

На фигуре 1 показан внешний вид фармацевтической композиции, состоящей в основном из мелфлуфена (ODP-5) и пропиленгликоля ("PG композиция") после хранения в течение 31 дня (T_1) при температуре 2-8°C, 25°C или 40°C. Образцы, хранящиеся при температуре 2-8°C, не имеют видимой окраски. Образцы, хранящиеся при температуре 25°C и 40°C, имеют окраску от желтого до коричневого цвета.

На фигурах 2, 3 и 4 показан внешний вид PG композиции после хранения при температуре 2-8°C или 25°C в течение 59 дней (T_2), 98 дней (T_3) и 168 дней (T_4), соответственно. Образцы, хранящиеся при температуре 2-8°C, не имеют видимой окраски, а образцы, хранящиеся при температуре 25°C, имеют окраску от желтого до коричневого цвета, интенсивность которой увеличивается со временем ($T_2 - T_4$).

На фигурах 5 и 6 показано изменение концентрации мелфлуфена (OPD-5) в PG композиции с течением времени (дни) при хранении при температуре 25°C и 2-8°C соответственно.

На фигурах 7 и 8 показано изменение чистоты мелфлуфена (OPD-5) в PG композиции с течением времени (дни) при хранении при температуре 25°C и 2-8°C

соответственно.

На фигуре 9 показан внешний вид фармацевтической композиции, состоящей в основном из мелфлуфена (ODP-5) и полиэтиленгликоля (“ПЭГ композиция”), после хранения в течение 26 дней (T_{1a}) при температуре 2-8°C, 25°C или 40°C. Образцы, хранящиеся при температуре 2-8°C, имеют светло желтый цвет. Образцы, хранящиеся при температуре 25°C и 40°C, имеют окраску от желтого до коричневого цвета.

На фигурах 10, 11 и 12 показан внешний вид ПЭГ композиции после хранения при температуре 2-8°C или 25°C в течение 54 дней (T_{2a}), 94 дней (T_{3a}) и 164 дней (T_{4a}) соответственно. Образцы, хранящиеся при температуре 2-8°C, имеют светло желтый цвет, интенсивность которого со временем усиливается. Образцы, хранящиеся при температуре 25°C, имеют окраску от желтого до коричневого цвета, интенсивность которой увеличивается со временем (T_{2a} - T_{4a}). В каждый момент времени интенсивность окраски меньше для образцов, хранящихся при температуре 2-8°C, по сравнению с образцами, хранящимися при температуре 25°C.

На фигурах 13 и 14 показано изменение концентрации мелфлуфена (ODP-5) в ПЭГ композиции с течением времени (дни) при хранении при температуре 25°C и 2-8°C соответственно.

На фигурах 15 и 16 показано изменение чистоты мелфлуфена (ODP-5) в ПЭГ композиции с течением времени (дни) при хранении при температуре 25°C и 2-8°C соответственно.

На фигурах 17 и 18 показано изменение концентрации мелфлуфена (ODP-5) в PG композиции с течением времени (месяцы) при хранении при -20°C и при -70°C соответственно. Планка погрешностей представляет собой стандартное отклонение 2 параллельных анализов. Центральная пунктирная линия представляет собой целевую концентрацию мелфлуфена в форме ODP-5 (приблизительно 20 мг/мл, исключая массу противоиона). Верхняя и нижняя пунктирные линии соответствуют +10% и -10% целевой концентрации соответственно.

Подробное описание

Как более подробно описано ниже, настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям мелфлуфена и его солей, которые являются неожиданно стабильными и демонстрируют эффективные технологические свойства.

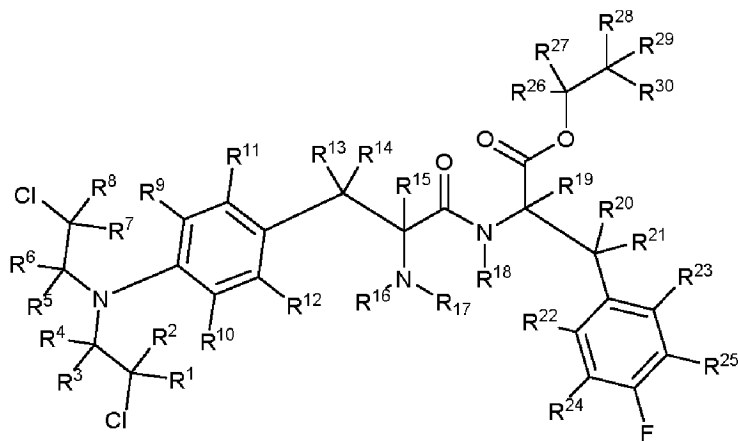
Мелфлуфен и его соли

Во избежание сомнений в этом документе, в случае использования термина “мелфлуфен”, он также подразумевает включение его соли(ей), даже если это не указано явно.

Также, во избежание неоднозначного толкования, в настоящем документе, в случае использования термина “мелфлуфен”, он включает изотопные производные мелфлуфена, если не указано иное. Конкретными примерами изотопных производных мелфлуфена, подходящих для использования в настоящем изобретении, являются дейтерированные производные мелфлуфена. Примеры дейтерированных производных мелфлуфена и

способы получения дейтерированных производных мелфлуфена описаны в РСТ/ЕР2019/078250, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

Например, дейтерированное производное мелфлуфена, подходящее для использования в настоящем изобретении, может быть соединением формулы (I) или его фармацевтически приемлемой солью,

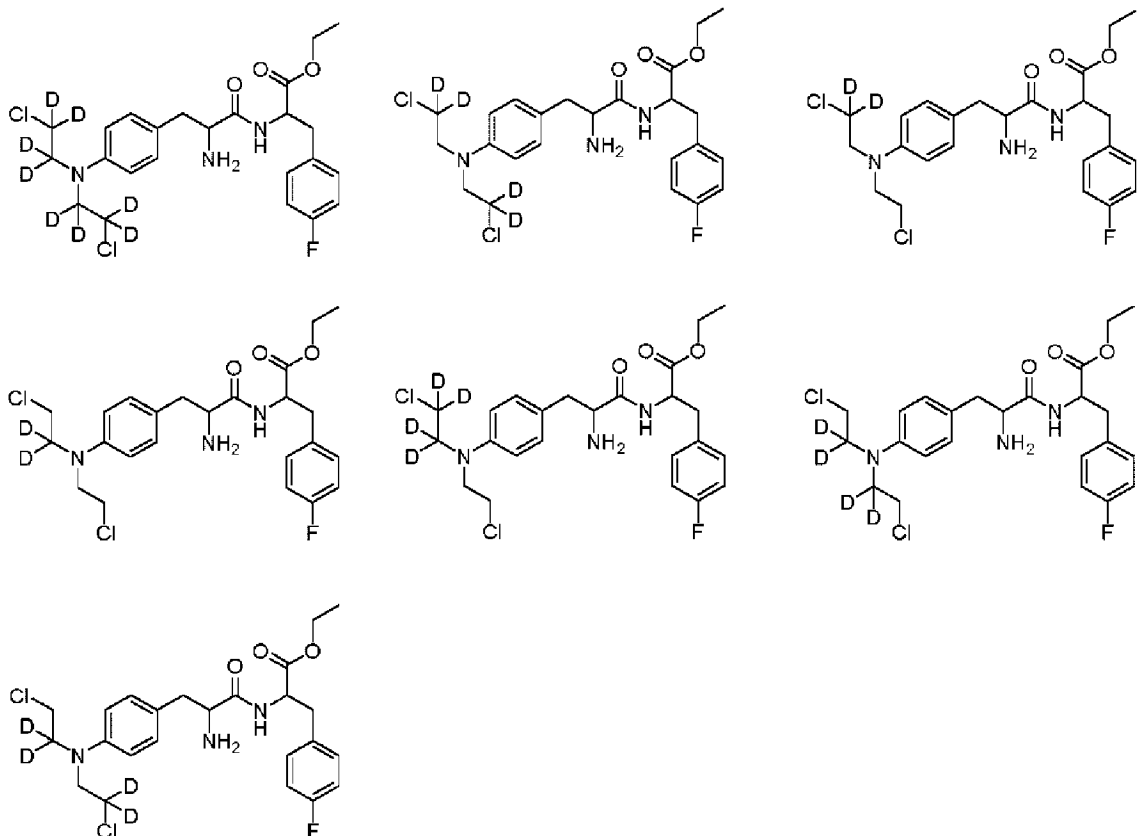


Формула (I)

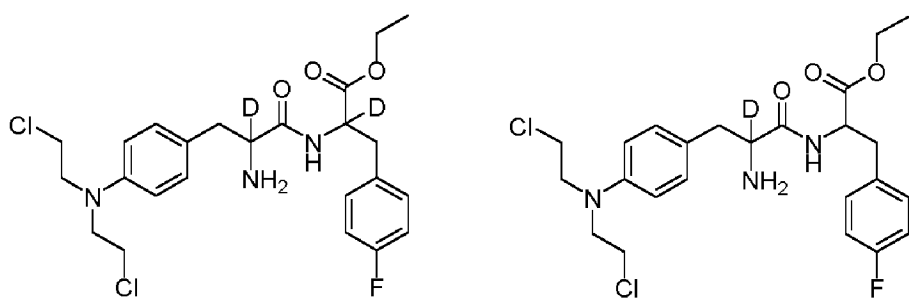
где каждый R^1 - R^{30} независимо выбран из группы, состоящей из H и дейтерия, и, по крайней мере, один из R^1 - R^{30} представляет собой дейтерий с уровнем содержания выше естественного содержания дейтерия (например, где, по крайней мере, один из R^1 - R^{30} имеет уровень содержания дейтерия, по крайней мере, 1 мол.%, 5 мол.%, 10 мол.%, 50 мол.%, 90 мол.% или 98 мол.% дейтерия, например, по меньшей мере, 10 мол.%, 50 мол.%, 90 мол.% или 98 мол.% дейтерия). Например, по крайней мере, один из R^1 - R^8 представляет собой дейтерий с уровнем содержания, по крайней мере, 5 мол.%; или, по крайней мере, один из R^9 - R^{15} представляет собой дейтерий с уровнем содержания, по крайней мере, 5 мол.%; или, по крайней мере, один из R^{16} - R^{18} представляет собой дейтерий с уровнем содержания, по крайней мере, 5 мол.%; или, по крайней мере, один из R^{19} - R^{25} представляет собой дейтерий с уровнем содержания, по крайней мере, 5 мол.%; или, по крайней мере, один из R^{26} - R^{30} представляет собой дейтерий с уровнем содержания, по крайней мере, 5 мол.% (например, по крайней мере, два из R^{26} - R^{30} представляют собой дейтерий, например, где два из R^{26} - R^{30} представляют собой дейтерий; или где три из R^{26} - R^{30} представляют собой дейтерий; или четыре из R^{26} - R^{30} представляют собой дейтерий; или каждый из R^{26} - R^{30} представляет собой дейтерий).

Предпочтительно, дейтерированное производное мелфлуфена формулы (I) и/или дейтерированное производное мелфлуфена, описанное ниже, имеет стереохимию мелфлуфена, показанную в структуре мелфлуфена на странице 1 настоящего описания.

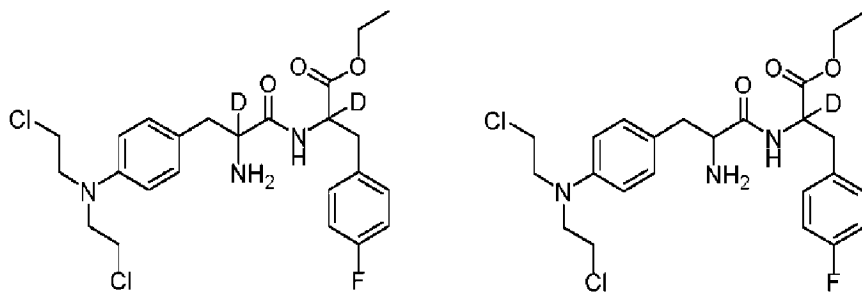
В некоторых вариантах осуществления, дейтерированное производное мелфлуфена, подходящее для использования в настоящем изобретении, имеет структурную формулу, выбранную из следующей группы:



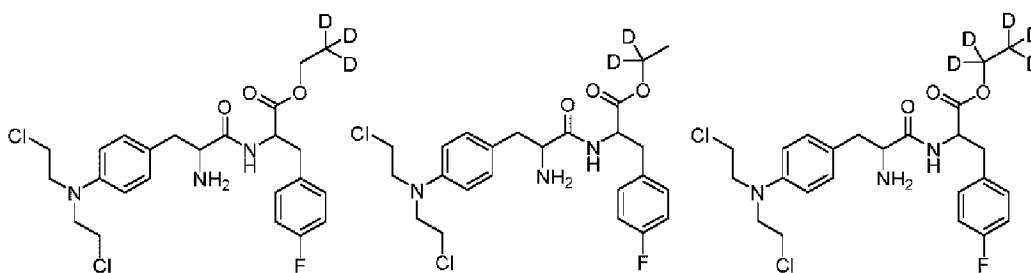
или структурную формулу, выбранную из следующей группы:



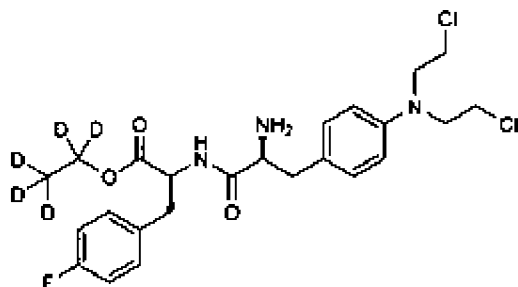
или структурную формулу, выбранную из следующей группы:



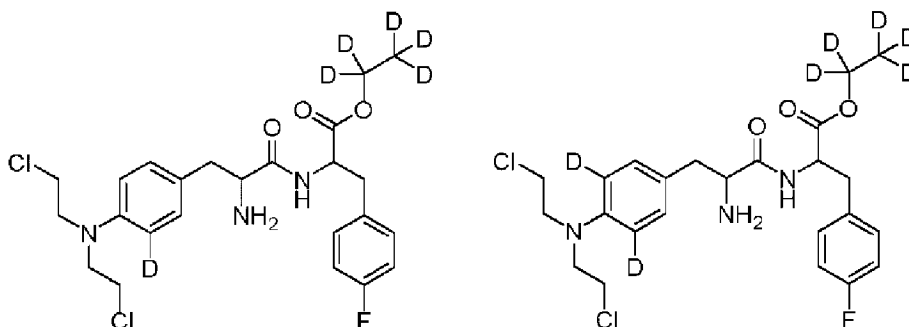
или структурную формулу, выбранную из следующей группы:



В некоторых вариантах осуществления, дейтерированное производное мелфлуфена, подходящее для использования в настоящем изобретении, представляет собой OPD-5, который имеет следующую структуру:



В некоторых вариантах осуществления, дейтерированное производное мелфлуфена, подходящее для использования в настоящем изобретении, выбрано из



следующей группы:

Также, во избежание неоднозначного толкования, в случае, когда в настоящем документе упоминается масса мелфлуфена, масса мелфлуфена соответствует массе молекулы мелфлуфена, исключая массу любого противоиона, если явно не указано иное. Молекулярная масса мелфлуфена, не содержащего противоион (с природным изотопным составом), составляет 498,42 г/моль. Мелфлуфен и его соли, в частности его гидрохлоридная соль, известны, например, из WO 01/96367 и WO 2014/065751, и аналогичные соли подходят для использования в настоящем изобретении.

Соли мелфлуфена, подходящие для использования в настоящем изобретении, представляют собой соли, в которых противоион является фармацевтически приемлемым. Подходящие соли включают соли, образованные с органическими или неорганическими кислотами. В частности, подходящие соли, образованные кислотами по изобретению, включают соли, образованные минеральными кислотами, сильными органическими карбоновыми кислотами, такие как алканкарбоновые кислоты с 1-4 атомами углерода, которые не замещены или замещены, например, галогеном, такие как насыщенные или

ненасыщенные дикарбоновые кислоты, такие как гидроксикарбоновые кислоты, такие как аминокислоты, или органическими сульфоновыми кислотами, такими как (C₁-C₄) алкил-или арилсульфоновые кислоты, которые незамещены или замещены, например, галогеном. Фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты включают соли, образованные из соляной, бромистоводородной, серной, азотной, лимонной, винной, уксусной, фосфорной, молочной, пировиноградной, уксусной, трифторуксусной, янтарной, перхлорной, фумаровой, малеиновой, гликолевой, молочной, салициловой, щавелевой, щавелевоуксусной, метансульфоновой, этансульфоновой, п-толуолсульфоновой, муравьиной, бензойной, малоновой, нафталин-2-сульфоновой, бензолсульфоновой, изетионовой, аскорбиновой, яблочной, фталевой, аспарагиновой и глутаминовой кислоты, лизина и аргинина.

Предпочтительные соли мелфлуфена включают соли присоединения кислоты, такие как соли, образованные соляной, бромистоводородной, уксусной, п-толуолсульфоновой, винной, серной, янтарной, фосфорной, щавелевой, азотной, метансульфоновой, яблочной, малеиновой и лимонной кислотами. Более предпочтительно, соль мелфлуфена для использования по настоящему изобретению представляет собой гидрохлоридную соль (т.е. аддитивную соль, образованную соляной кислотой).

Другие предпочтительные соли мелфлуфена включают хлористоводородную, бромистоводородную, азотную, метансульфоновую, серную, фосфорную, трифторуксусную, пара-толуолсульфоновую, 2-мезитилен-сульфоновую, лимонную, уксусную, винную, фумаровую, молочную, янтарную, яблочную, малоновую, малеиновую, 1,2-этандисульфоновую, адипиновую, аспарагиновую, бензолсульфоновую, бензойную, этансульфоновую или никотиновую кислоты.

В другом варианте осуществления, предпочтительные соли мелфлуфена включают соли присоединения кислоты, такие как соли, образованные из соляной, бромистоводородной, уксусной, п-толуолсульфоновой, винной, серной, янтарной, фосфорной, щавелевой, азотной, метансульфоновой, яблочной, малеиновой, лимонной или этансульфоновой кислоты. Предпочтительно соль мелфлуфена для использования по настоящему изобретению представляет собой гидрохлоридную соль (т.е. аддитивную соль, образованную из хлороводородной кислоты), этансульфонатную соль (т.е. аддитивную соль, образованную из этансульфоновой кислоты), гидробромидную соль (т.е. аддитивную соль, образованную из бромистоводородной кислоты), малеатную соль (т.е. аддитивная соль, образованная из малеиновой кислоты) или п-толуолсульфонатную соль (аддитивная соль, образованная из п-толуолсульфоновой кислоты).

В другом предпочтительном варианте осуществления, соль мелфлуфена для использования по настоящему изобретению представляет собой гидрохлоридную соль (т.е. аддитивную соль, образованную из бромистоводородной кислоты), этансульфонатную соль (т.е. аддитивную соль, образованную из этансульфоновой кислоты), малеатную соль (т.е. соль, образованная из малеиновой кислоты) или п-

толуолсульфонатную соль (аддитивная соль, образованная из п-толуолсульфоновой кислоты) (например, гидрохлоридная соль, этансульфонатная соль или п-толуолсульфонатная соль).

Более предпочтительно, соль мелфлуфена представляет собой этансульфонатную соль или гидрохлоридную соль.

Специалистам в области органической химии будет понятно, что многие органические соединения могут образовывать комплексы с растворителями, в которых они взаимодействуют или из которых они осаждаются или кристаллизуются. Эти комплексы известны как “сольваты”. Например, комплекс с водой известен как “гидрат”. Комплекс может включать растворитель в стехиометрических или нестехиометрических количествах. Сольваты описаны в Water-Insoluble Drug Formulation, 2nd ed R. Lui CRC Press, page 553 и Byrn et al Pharm Res 12(7), 1995, 945-954. Перед его приготовлением в растворе, мелфлуфен или его соль, для использования в настоящем изобретении, могут быть в форме сольвата. Сольваты мелфлуфена, которые подходят для использования в соответствии с настоящим изобретением, представляют собой сольваты, в которых связанный растворитель является фармацевтически приемлемым. Например, гидрат представляет собой фармацевтически приемлемый сольват.

Композиции

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, как определено выше.

Фармацевтические композиции по изобретению в частности подходят для длительного хранения мелфлуфена и его солей. Под длительным хранением понимается то, что фармацевтическая композиция может храниться от 1 до 3 месяцев, от 3 до 6 месяцев, от 6 до 9 месяцев, от 9 до 12 месяцев или дольше без снижения чистоты мелфлуфена более чем на 0% до 5%, от 5% до 10%, от 10% до 15% или от 15% до 20% относительно чистоты мелфлуфена композиции в начале хранения.

Для длительного хранения фармацевтическую композицию по изобретению хранят при температуре ниже 10°C, например 5°C (например, $5 \pm 3^\circ\text{C}$) или ниже. Предпочтительно фармацевтическая композиция по изобретению хранится при температуре ниже 0°C, например от 0 до -30°C, от -30 до -60°C или от -60 до -90°C. Более предпочтительно, фармацевтическая композиция по изобретению хранится при температуре от -15 до -25°C или от -75 до -85°C.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по изобретению включает (или в основном состоит из) мелфлуфен или его соль и пропиленгликоль.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению в основном состоит из мелфлуфена или его соли и пропиленгликоля.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению включает (или в основном

состоит из) мелфлуфен или его соль и ПЭГ.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению в основном состоит из мелфлуфена или его соли и ПЭГ.

Предпочтительно ПЭГ имеет среднюю молекулярную массу от 150 до 650 Да, например от 150 до 250, от 250 до 350, от 350 до 450, 450 до 550 и от 550 до 650 Да. Например, ПЭГ может представлять собой ПЭГ 200, ПЭГ 300, ПЭГ 400 или ПЭГ 600, как определено в национальных фармакопеях. Более предпочтительно, ПЭГ имеет среднюю молекулярную массу от 250 до 350 Да. Еще более предпочтительно ПЭГ представляет собой ПЭГ 300.

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению включает (или в основном состоит из) мелфлуфен или его соль и ПЭГ, причем состав ПЭГ образован смесью двух или больше различных соединений ПЭГ, например, смесь, содержащая один или несколько из следующего: ПЭГ 200, ПЭГ 300, ПЭГ 400 и ПЭГ 600.

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению состоит в основном из мелфлуфена или его соли и ПЭГ, причем состав ПЭГ образован смесью двух или более различных соединений ПЭГ, например, смеси, содержащей один или несколько ПЭГ 200, ПЭГ 300, ПЭГ 400 и ПЭГ 600.

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит (или в основном состоит из) мелфлуфен или его соль, пропиленгликоль и ПЭГ.

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению состоит в основном из мелфлуфена или его соли, пропиленгликоля и ПЭГ.

В вариантах осуществления изобретения, где фармацевтическая композиция содержит ПЭГ и пропиленгликоль, состав ПЭГ может быть образован одним ПЭГ соединением, как описано выше, или образован смесью двух или более различных соединений ПЭГ, как описано выше.

Для фармацевтических композиций по изобретению, содержащих ПЭГ и пропиленгликоль, массовое соотношение (масса/масс.) содержания ПЭГ и пропиленгликоля может составлять, например, около 0,5:1, 1:1, 1:2, 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40, 1:45, 1:50, 1:0,5, 2:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1, 35:1, 40:1, 45:1 или 50:1.

Пропиленгликоль и ПЭГ, подходящие для использования в соответствии с изобретением, легко доступны из коммерческих источников.

Предпочтительные варианты осуществления фармацевтических композиций по настоящему изобретению не содержат дополнительного физиологически приемлемого растворителя (iii).

Фармацевтические композиции по изобретению могут необязательно содержать

один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей. Подходящие водные растворители включают нетоксичные парентерально приемлемые разбавители или растворители, такие как вода, раствор Рингера, раствор глюкозы и растворы хлорида натрия (например, изотонические растворы хлорида натрия).

Фармацевтические композиции по изобретению могут необязательно дополнительно содержать дополнительные компоненты, такие как антиоксиданты, буферные вещества, бактериостатики и растворенные вещества, которые делают фармацевтическую композицию по изобретению изотонической с кровью предполагаемого реципиента.

В одном предпочтительном варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению в основном не содержит органических растворителей, которые не являются ПЭГ или пропиленгликолем. Термин “в основном не содержащий” органических растворителей используется в настоящем документе для обозначения того, что фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит только следовые количества органического растворителя, отличного от пропиленгликоля и ПЭГ. Например, меньше, чем около 1% масса/об. органического растворителя, отличного от пропиленгликоля или ПЭГ. Предпочтительно меньше, чем 0,5% масса/об. и более предпочтительно меньше, чем 0,1% масса/об. органического растворителя, отличного от пропиленгликоля и ПЭГ.

В одном предпочтительном варианте осуществления, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению в основном не содержит соли щелочноземельного металла. Соли щелочноземельных металлов включают соли бериллия, магния, кальция, стронция, бария и радия. Предпочтительно, фармацевтическая композиция по изобретению в основном не содержит соли кальция и/или магния. Анион соли щелочноземельного металла может быть глюконатом, ацетатом хлорида, лактатом или бромидом. Например, солями щелочноземельных металлов могут быть хлорид кальция или хлорид магния. Термин “в основном не содержащий соль щелочноземельного металла” используется в настоящем документе для обозначения того, что фармацевтическая композиция по изобретению содержит только следовые количества солей щелочноземельного металла. Например, меньше, чем около 1% масса/об. соли щелочноземельного металла. Предпочтительно меньше, чем 0,5% масса/об. и более предпочтительно меньше, чем 0,1% масса/об. соли щелочноземельного металла.

Фармацевтические композиции по изобретению содержат мелфлуфен в концентрации от около 1 мг/мл до около 50 мг/мл. Например, от 1 до 5, от 5 до 10, от 10 до 15, от 15 до 20, от 20 до 25, от 25 до 30, от 30 до 35, от 35 до 40 до 45 и от 45 до 50 мг/мл. Предпочтительно мелфлуфен находится в концентрации около от 10 до 30 мг/мл. Более предпочтительно от 15 до 25 мг/мл, например 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 и 25 мг/мл.

Вследствие неожиданно высокой растворимости мелфлуфена в пропиленгликоле и ПЭГ, можно получить фармацевтическую композицию по изобретению, которая имеет

терапевтически эффективную концентрацию мелфлуфена или его соли. Таким образом, одним из преимуществ настоящего изобретения является то, что мелфлуфен или его соль находятся в концентрации, которая позволяет вводить высокую дозу (например, однократную высокую дозу от около 150 до 800 мг (исключая массу любого противоиона)) мелфлуфена или его соли субъекту в объеме, который физиологически приемлем и хорошо переносится субъектом.

Хотя мелфлуфен или его соль могут присутствовать в композиции по настоящему изобретению в качестве единственного активного ингредиента, также возможно, чтобы фармацевтическая композиция по настоящему изобретению дополнительно содержала одно или несколько дополнительных терапевтических средств. Такие средства известны в данной области. Примеры дополнительных терапевтических средств для использования в настоящем изобретении включают стероиды (преднизон, преднизолон и дексаметазон), иммуномодуляторы (IMiD) (талидомид, леналидомид и помалидомид), ингибиторы протесом (PI) (бортезомиб, карфилзомиб и иксазомиб), ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC) (панобиностат), обычные химиотерапевтические средства (алкиляторы (например, мелфалан, циклофосфамид, бендамустин), доксорубицин), антитела против CD38 (даратумумаб) и антитела против SLAMF7 (элотузумаб).

Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит (или в основном состоит из) мелфлуфен или его соль, пропиленгликоль и необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция изобретения состоит в основном из мелфлуфена или его соли, пропиленгликоля и необязательно одного или нескольких дополнительных терапевтических средств.

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит (или в основном состоит из) мелфлуфен или его соль, ПЭГ и необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению в основном состоит из мелфлуфена или его соли, пропиленгликоля, ПЭГ и необязательно одного или нескольких дополнительных терапевтических средств.

Точное количество и концентрация дополнительного терапевтического средства, которое может присутствовать в фармацевтической композиции по изобретению, может изменяться в зависимости от схемы дозирования, эффективности конкретного выбранного средства, возраста, размера, пола и состояния субъекта (обычно млекопитающее, например человек), характера и серьезности заболевания или состояния и других соответствующих медицинских и физических факторов. Специалист может легко определить количество и концентрацию мелфлуфена или его соли и, возможно, одного или нескольких дополнительных терапевтических средств, подходящих для использования в соответствии с настоящим изобретением.

Терапии

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению находят применение в качестве лекарственных средств.

В одном варианте осуществления изобретения, фармацевтические композиции по настоящему изобретению находят применение в лечении и/или профилактике заболеваний или состояний, которые можно лечить с помощью обычных химиотерапевтических средств, например, с помощью алкилятора (например, мелфалана, циклофосфида и бендамустина).

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтические композиции по изобретению находят применение в лечении и/или профилактике злокачественной опухоли, уменьшении роста опухоли и/или уничтожении опухолевых клеток. Таким образом, фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно использовать для лечения и/или продления выживаемости пациентов со злокачественными опухолями.

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтические композиции по изобретению находят применение в лечении и/или профилактике амилоидоза.

Количество мелфлуфена, необходимое для достижения терапевтического эффекта, будет изменяться в зависимости от конкретного способа введения и характеристик пациента, подвергаемого лечению, например вида, возраста, массы, пола, состояния здоровья, конкретного заболевания и его тяжести, и других соответствующих медицинских и физических факторов. Обычный квалифицированный врач может легко определить и ввести эффективное количество мелфлуфена, необходимое для лечения или профилактики злокачественной опухоли.

Фармацевтические композиции по изобретению находят применение в способе лечения субъекта, который включает введение субъекту фармацевтически эффективного количества фармацевтической композиции по изобретению. Предпочтительно фармацевтическую композицию по изобретению вводят непосредственно субъекту, например, без предварительного разбавления, например, без предварительного разбавления физиологически приемлемым растворителем или разбавителем.

Фармацевтические композиции по изобретению можно вводить субъекту сразу после приготовления или после хранения, например, после хранения в течение от 1 до 3 месяцев, от 3 до 6 месяцев, от 6 до 9 месяцев, от 9 до 12 месяцев или дольше, как описано в настоящем документе.

Экстемпоральные растворы для инъекции и инфузий, и суспензии могут быть приготовлены с использованием фармацевтической композиции по изобретению. Примеры композиций для парентерального введения включают растворы или суспензии для инъекций, которые могут содержать, например, подходящие нетоксичные, физиологически приемлемые растворители или разбавители (например, парентерально приемлемые растворители или разбавители), такие как маннит, глюкоза, 1,3-бутандиол, вода, раствор Рингера, изотонический раствор хлорида натрия или другие подходящие диспергирующие или смачивающие и суспендирующие вещества, включая синтетические

моно- или диглицериды и жирные кислоты, включая олеиновую кислоту или кремафор.

В одном варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция по изобретению вводится субъекту после разбавления, например, после разбавления физиологически приемлемым растворителем или разбавителем (например, парентерально приемлемым растворителем или разбавителем), таким как физиологический раствор, раствор глюкозы или их смесь. Предпочтительно, физиологически приемлемый растворитель представляет собой раствор глюкозы (такой как примерно 4,5-5,5% по массе глюкозы, например, примерно 5% по массе глюкозы), физиологический раствор (такой как примерно 0,9% по массе NaCl) или их смесь. Любой такой раствор может быть необязательно буферизован. Например, фармацевтическая композиция может быть разбавлена физиологически приемлемым растворителем, например, до концентрации мелфлуфена, составляющей примерно от 0,001 мг/мл до 1,2 мг/мл (например, от 0,01 мг/мл до 1,2 мг/мл, от 0,05 мг/мл до 1,2 мг/мл, от 0,05 мг/мл до 1,0 мг/мл, от 0,05 мг/мл до 0,5 мг/мл, от 0,1 мг/мл до 0,4 мг/мл или от 0,1 мг/мл до 0,3 мг/мл), например, примерно 0,2 мг/мл, перед введением субъекту.

Стандартные дозы

Фармацевтические композиции по изобретению могут быть предоставлены в виде стандартных доз. Предпочтительными стандартными дозами являются те, которые содержат необходимую дозу мелфлуфена или его соли, подходящую для использования в соответствии с настоящим изобретением.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, фармацевтические композиции по изобретению могут быть предоставлены в сосуде, содержащем стандартную дозу мелфлуфена или его соли. Например, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть предоставлена в сосуде, содержащем стандартную дозу от 10 до 800 мг мелфлуфена (исключая массу любого противоиона), например, сосуд может содержать стандартную дозу, составляющую от 50 до 150 мг, от 150 до 250, от 250 до 350, от 350 до 450, от 450 до 550, от 550 до 650 или от 650 до 750 мг мелфлуфена (исключая массу любого противоиона). Предпочтительно сосуд содержит стандартную дозу, составляющую от 75 до 125, от 125 до 175 или от 175 до 225 мг мелфлуфена, например 100, 150 и 200 мг мелфлуфена (исключая массу любого противоиона). Более предпочтительно сосуд содержит стандартную дозу мелфлуфена, составляющую 100 мг (исключая массу любого противоиона). В одном из вариантов осуществления, сосуд содержит стандартную дозу мелфлуфена, составляющую 20 мг (исключая массу любого противоиона). В одном из вариантов осуществления, сосуд содержит стандартную дозу мелфлуфена, составляющую 40 мг (исключая массу любого противоиона).

Способы получения и хранения

Настоящее изобретение обеспечивает способ получения фармацевтической композиции по изобретению.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, способ получения фармацевтической композиции по изобретению включает стадию растворения

мелфлуфена или его соли в пропиленгликоле.

В одном из вариантов осуществления изобретения, способ по изобретению включает дополнительную стадию растворения одного или нескольких дополнительных терапевтических средств в пропиленгликоле, так что фармацевтическая композиция содержит (или в основном состоит из) мелфлуфен или его соль, пропиленгликоль и одно или несколько дополнительных терапевтических средств, как описано в настоящем документе.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения, способ получения фармацевтической композиции изобретения включает стадию растворения мелфлуфена или его соли в ПЭГ. ПЭГ предпочтительно представляет собой соединение ПЭГ, как описано в настоящем документе, или смесь двух или больше различных соединений ПЭГ, как описано в настоящем документе.

В одном из вариантов осуществления изобретения, способ по изобретению включает дополнительную стадию растворения одного или нескольких дополнительных терапевтических средств в ПЭГ, так что фармацевтическая композиция содержит (или в основном состоит из) мелфлуфен или его соль, ПЭГ и одно или несколько дополнительных терапевтических средств, как описано в настоящем документе.

В другом варианте осуществления изобретения, способ получения фармацевтической композиции по изобретению включает стадию растворения мелфлуфена или его соли в пропиленгликоле и ПЭГ. ПЭГ предпочтительно представляет собой соединение ПЭГ, как описано в данном документе, или смесь двух или более различных соединений ПЭГ, как описано в настоящем документе.

В другом варианте осуществления изобретения, способ по изобретению включает дополнительную стадию растворения одного или нескольких дополнительных терапевтических средств в пропиленгликоле и PEG, так что фармацевтическая композиция содержит (или в основном состоит из) мелфлуфен или его соль, пропиленгликоль, ПЭГ и одно или несколько дополнительных терапевтических средств, как описано в настоящем документе.

Настоящее изобретение также относится к способу хранения мелфлуфена или его соли, включающему стадии приготовления фармацевтической композиции по изобретению и хранения фармацевтической композиции при температуре около от -90 до 25°C. Предпочтительно фармацевтическая композиция по изобретению хранится при температуре около 5°C (например, $5 \pm 3^\circ\text{C}$ или $5 \pm 1^\circ\text{C}$) или ниже, например от 0 до 4°C.

В одном из вариантов осуществления изобретения, фармацевтическая композиция хранится при температуре от -30 до -10°C, например, от -30 до -25, от -25 до -15 и от -15 до -10°C. Предпочтительно от -25 до -5°C, например, около -20°C (например, $-20 \pm 3^\circ\text{C}$ или $-20 \pm 1^\circ\text{C}$).

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция хранится при температуре около от -90 до -60°C, например, от -90 до -85°C, от -85 до -75°C (например, около -70°C, например, $-70 \pm 3^\circ\text{C}$) или $-70 \pm 1^\circ\text{C}$), от -75 до -60°C.

Предпочтительно от -85 до -75°C , например, около -80°C (например, $-80 \pm 3^{\circ}\text{C}$ или $-80 \pm 1^{\circ}\text{C}$).

В другом варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция хранится при температуре около от 5 до 25°C , например, около от 5 до 12°C , от 12 до 18 , от 18 до 25°C , от 20 до 25°C . В частности, от 18 до 25°C или от 20 до 25°C , например, около 25°C (например, $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$).

Наборы

Настоящее изобретение обеспечивает набор, подходящий для приготовления фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, набор по настоящему изобретению включает мелфлуфен или его соль(соли) и пропиленгликоль.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения, набор по настоящему изобретению включает мелфлуфен или его соль(соли) и одно или несколько соединений ПЭГ. Одно или несколько соединений ПЭГ предпочтительно представляют собой одно или несколько соединений ПЭГ, описанных в настоящем документе.

В одном из вариантов осуществления изобретения, набор по настоящему изобретению включает мелфлуфен или его соль(соли), пропиленгликоль и одно или несколько соединений ПЭГ. Одно или несколько соединений ПЭГ предпочтительно представляют собой одно или несколько соединений ПЭГ, описанных в настоящем документе.

Во избежание разночтений, пропиленгликоль и/или ПЭГ присутствуют в наборе по изобретению в форме и количестве, подходящих для получения фармацевтической композиции по изобретению. Специалист может легко определить количество пропиленгликоля и ПЭГ, подходящее для получения фармацевтической композиции по изобретению.

В одном из вариантов осуществления изобретения, набор по настоящему изобретению дополнительно включает одно или несколько дополнительных терапевтических средств, как описано в настоящем документе.

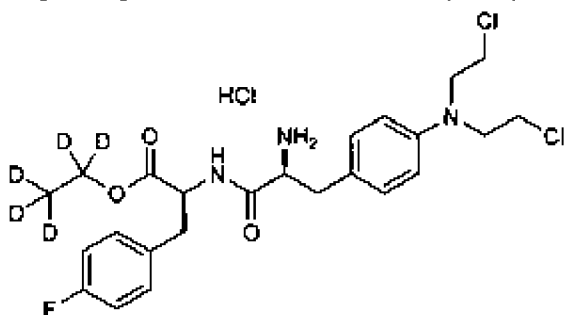
В другом варианте осуществления изобретения, набор согласно настоящему изобретению дополнительно включает один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей, как описано в настоящем документе.

Во избежание двусмысленного толкования, мелфлуфен или его соль, и необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств, присутствуют в наборе по настоящему изобретению в форме и количестве, подходящем для получения фармацевтической композиции по изобретению. Квалифицированный специалист может легко определить количество мелфлуфена или его соли и, необязательно, одного или нескольких дополнительных терапевтических средств, подходящих для использования в соответствии с настоящим изобретением.

Следующие ниже примеры иллюстрируют настоящее изобретение.

Примеры

Мелфлуфен, используемый в примерах 1, 2 и 3, представляет собой дейтерированное соединение мелфлуфена OPD-5 в форме гидрохлоридной соли. OPD-5 в форме гидрохлоридной соли имеет следующую структуру:



Мелфлуфен, используемый в примере 5, представляет собой мелфлуфен в одной из следующих солевых форм: гидрохлорид, этансульфонат, малеат или п-толуолсульфонат. Структуры мелфлуфена в форме гидрохлоридной соли, форме этансульфонатной соли, форме малеатной соли и форме п-толуолсульфонатной соли показаны ниже в примере 4, который обеспечивает синтез этих солевых форм мелфлуфена.

Пример 1: Исследование стабильности композиций, содержащих мелфлуфен (OPD-5) и пропиленгликоль, при температуре 2-8°C, 25°C и 40°C.

Материалы и методы

Сосуды (стеклянные 2R сосуды типа 1, Gerresheimer, # 35601558) промывали очищенной водой ($\leq 0,2$ мкмСм/см, < 10 частей на миллиард общего количества органического углерода (ТОС)). Затем сосуды сушили и подвергали термообработке при температуре 300°C в течение 2 часов. Резиновые пробки обрабатывали в автоклаве при температуре 121°C и давлении 2 бара в течение 15 мин.

Композицию получали растворением мелфлуфена (OPD-5) в концентрации приблизительно 20 мг/мл (исключая массу противоиона) в пропиленгликоле (1,2-пропандиол, EMPROVE® exp Ph Eur, BP, USP, Merck Chemicals, #K49954578). В каждый сосуд добавляли 1 мл раствора мелфлуфена. Затем заполненные сосуды закрывали резиновой пробкой и укупоривали обжимным колпачком. Образцы объемом 1 мл анализировали в момент T_0 (т.е. перед хранением) и после хранения в течение приблизительно 4 недель (T_1), 8 недель (T_2), 12 недель (T_3) и 24 недель (T_4) при температуре 2-8°C, 25°C или 40°C.

Анализ методом ВЭЖХ с обращенной фазой (ОФ ВЭЖХ) выполняли с использованием системы жидкостной хроматографии Agilent серии 1100 и колонки XBridge® Shield (RP18, 3,5 мкм, 4,6 × 150 мм). В методе использовали градиент В 0-80% в течение 20 мин и поток 1,0 мл/мин (подвижная фаза А: 10 mM ацетат аммония, pH 5,0/ацетонитрил 86/14 об./об.; подвижная фаза В: ацетонитрил), температуру колонки, составляющую 20°C, температуру дозатора 5°C и УФ-детекцию при 262 нм. Перед проведением анализа методом ОФ ВЭЖХ, фармацевтические композиции разбавляли до концентрации мелфлуфена 0,8 мг/мл с использованием разбавителя этанол/ацетонитрил (3:7 об./об.).

Результаты

Композицию получали согласно описанному выше способу. Примечательно, что мелфлуфен хорошо растворяется в пропиленгликоле. Концентрация мелфлуфена в композиции составляла приблизительно 20 мг/мл.

На фигуре 1 показано изображение композиции после хранения в течение приблизительно 4 недель (T_1 -31 день) при температуре 2-8°C и 25°C и в условиях “ускоренного хранения” при 40°C. На фигуре 2 показано изображение композиции после хранения в течение приблизительно 8 недель (T_2 -59 дней) при температуре 2-8°C и 25°C; На фигуре 3 показано изображение композиции после хранения в течение приблизительно 12 недель (T_3 -98 дней) при температуре 2-8°C и 25°C; и на фигуре 4 показано изображение композиции после хранения в течение приблизительно 24 недель (T_4 -168 дней) при температуре 2-8°C и 25°C. Примечательно, что в каждый момент времени (T_1 , T_2 , T_3 и T_4) образцы, хранящиеся при температуре 2-8°C, не показывали видимого окрашивания. Образцы, хранящиеся при температуре 25°C и 40°C, имели окраску от желтого до коричневого, интенсивность которой со временем увеличивалась. Предполагается, что окрашивание вызвано окислением мелфлуфена.

Концентрацию мелфлуфена в композиции исследовали методом ОФ ВЭЖХ (таблица 1). Перед хранением (т.е. T_0), концентрация мелфлуфена в композиции составляла приблизительно 20 мг/мл. Для образцов, хранящихся при температуре 25°C, концентрация мелфлуфена снижалась с течением времени (таблица 1 и фигура 5). Для образцов, хранящихся при температуре 2-8°C, не наблюдалось значительное изменение концентрации мелфлуфена (таблица 1 и фигура 6).

Таблица 1: Анализ концентрации мелфлуфена (OPD-5) в композиции, содержащей мелфлуфен (OPD-5) и пропиленгликоль, методом ОФ ВЭЖХ.

Контрольный момент времени (Т)	Образец №	Температура хранения/Концентрация мелфлуфена (OPD-5) [мг/мл]	
		2-8°C	25°C
T_0	1	18,8	18,8
	2	17,7	17,7
T_1 (31 дней)	1	20,1	15,7
	2	20,2	15,8
T_2 (59 дней)	1	19,8	14,1
	2	20,3	12,2
T_3 (98 дней)	1	20,5	8,8
	2	20,5	8,4
T_4 (168 дней)	1	18,4	5,1

	2	18,3	4,9
--	---	------	-----

Чистоту мелфлуфена (% относительной площади пика) в композиции исследовали методом ОФ ВЭЖХ (таблица 2). Перед хранением (т.е. T_0) чистота мелфлуфена в композиции составляла приблизительно 99%. Для образцов, хранящихся при температуре 25°C, чистота мелфлуфена снижалась со временем, при этом чистота 49,9% (образец №1) и 48,7% (образец №2) наблюдалась после хранения в течение 168 дней (T_4) (таблица 2 и фигура 7). Для образцов, хранящихся при температуре 2-8°C, наблюдалось только незначительное снижение чистоты мелфлуфена с чистотой 95,4% (образец №1) и 95,8% (образец №2) после хранения в течение 168 дней (T_4) (таблица 2 и фигура 8).

Таблица 2: Анализ методом ОФ ВЭЖХ чистоты мелфлуфена (OPD-5) в композиции, содержащей мелфлуфен (OPD-5) и пропиленгликоль.

Контрольный момент времени (Т)	Образец №	Температура хранения/чистота мелфлуфена (OPD-5) [% относительной площади пика]	
		2-8°C	25°C
T_0	1	99,2	99,2
	2	99,2	99,2
T_1 (31 дней)	1	99,1	89,0
	2	99,3	89,3
T_2 (59 дней)	1	99,2	81,3
	2	99,2	81,3
T_3 (98 дней)	1	99,0	68,1
	2	98,5	66,6
T_4 (168 дней)	1	95,4	49,9
	2	95,8	48,7

Пример 2: Исследование стабильности композиции, содержащей мелфлуфен (OPD-5) и PEG, при температуре 2-8°C, 25°C и 40°C.

Материалы и методы

Сосуды (стеклянные 2R сосуды типа 1, Gerresheimer, # 35601558) промывали очищенной водой ($\leq 0,2$ мкмСм/см, < 10 частей на миллиард общего количества органического углерода (ТОС)). После этого сосуды сушили и подвергали термообработке при 300°C в течение 2 часов. Резиновые пробки обрабатывали в автоклаве при 121°C и давлении 2 бар в течение 15 мин.

Композицию получали растворением мелфлуфена (OPD-5) в концентрации около 20 мг/мл (исключая массу противоиона) в полиэтиленгликоле (полиэтиленгликоль 300,

Emprove exp., Ph. Eur, Merck Chemicals, # K47544702). В каждый сосуд добавляли по 1 мл раствора мелфлуфена. Затем заполненные сосуды закрывали резиновой пробкой и укупоривали обжимным колпачком. Образцы объемом 1 мл анализировали в момент T_0 (т.е. перед хранением), а также после хранения в течение приблизительно 4 недель (T_{1a}), 8 недель (T_{2a}), 12 недель (T_{3a}) и 24 недель (T_{4a}) при температуре 2-8°C, 25°C или 40°C.

Анализ методом ВЭЖХ с обращенной фазой (ОФ ВЭЖХ) осуществляли с использованием системы жидкостной хроматографии Agilent серии 1100 и колонки XBridge® Shield (RP18, 3,5 мкм, 4,6 × 150 мм). В методе использовали градиент В 0-80% в течение 20 мин и поток 1,0 мл/мин (подвижная фаза А: 10 mM ацетат аммония, pH 5,0/ацетонитрил 86/14 об./об.; подвижная фаза В: ацетонитрил), температуру колонки 20°C, температуру дозатора 5°C и УФ-обнаружение при 262 нм. Перед проведением анализа методом ОФ ВЭЖХ фармацевтические композиции разбавляли до концентрации мелфлуфена 0,8 мг/мл с использованием разбавителя этанол/ацетонитрил (3:7 об./об.).

Результаты

Композицию получали согласно способу, описанному выше. В частности, было обнаружено, что мелфлуфен легко растворим в ПЭГ 300. Концентрация мелфлуфена в композиции составляла приблизительно 20 мг/мл.

На фигуре 9 показано изображение композиции после хранения в течение приблизительно 4 недель (T_{1a} - 26 дней) при температуре 2-8°C, 25°C и в условиях ускоренного хранения при 40°C. На фигуре 10 показано изображение композиции после хранения в течение приблизительно 8 недель (T_{2a} - 54 дня) при температуре 2-8°C и 25°C; на фигуре 11 показано изображение композиции после хранения в течение приблизительно 12 недель (T_{3a} - 94 дня) при температуре 2-8°C и 25°C; на фигуре 12 показано изображение композиции после хранения в течение приблизительно 24 недель (T_{4a} - 164 дня) при температуре 2-8°C и 25°C. Образцы, хранящиеся при температуре 2-8°C, показали светло-желтую окраску примерно через 4 недели (T_{1a}), и с течением времени наблюдалось незначительное увеличение интенсивности желтой окраски. Образцы, хранящиеся при температуре 25°C и 40°C, имели окраску от желтого до коричневого цвета, интенсивность которой со временем увеличивалась. Как указано выше, предполагается, что окрашивание вызвано окислением мелфлуфена.

Концентрацию мелфлуфена в композиции исследовали методом анализа ОФ ВЭЖХ (таблица 3). Перед хранением (т.е. T_0) концентрация мелфлуфена в композиции составляла приблизительно 20 мг/мл. Для образцов, хранящихся при 25°C, концентрация мелфлуфена снижалась с течением времени (таблица 3 и фигура 13). Для образцов, хранящихся при температуре 2-8°C, не наблюдалось значительного изменения концентрации мелфлуфена (таблица 3 и фигура 14).

Таблица 3: Анализ чистоты мелфлуфена (OPD-5) в композиции, содержащей мелфлуфен (OPD-5) и ПЭГ, методом ОФ ВЭЖХ.

Контрольный момент времени	Образец №	Температура хранения/Концентрация
----------------------------	-----------	-----------------------------------

(T)		мелфлуфена (ODP-5) [мг/мл]	
		2-8°C	25°C
T ₀	1	19,0	19,0
	2	19,1	19,1
T _{1a} (26 дней)	1	19,9	18,1
	2	19,8	17,9
T _{2a} (54 дней)	1	19,9	14,4
	2	19,3	15,3
T _{3a} (94 дней)	1	18,7	11,2
	2	18,9	11,3
T _{4a} (164 дней)	1	18,7	9,8
	2	18,7	9,5

Чистоту мелфлуфена (% относительной площади пика) в композиции исследовали методом ОФ ВЭЖХ (таблица 4). Перед хранением (т.е. T₀) чистота мелфлуфена (% относительной площади пика) композиции составляла приблизительно 99%. Для образцов, хранящихся при температуре 25°C, чистота мелфлуфена (% относительной площади пика) со временем снижалась, при этом чистота 70% (образец №1) и 68,1% (образец №2) наблюдалась после хранения в течение 164 дней (T_{4a}) (таблица 4 и фигура 15). Для образцов, хранившихся при 2-8°C, наблюдалось только незначительное снижение чистоты мелфлуфена, с чистотой 91,4% (образец №1) и 91,3% (образец №2) после хранения в течение 164 дней (T_{4a}) (таблица 4 и фиг.16).

Таблица 4: Анализ чистоты мелфлуфена (OPD-5) в композиции, содержащей мелфлуфен (OPD-5) и ПЭГ, методом ОФ ВЭЖХ.

Контрольный момент времени (T)	Образец №	Температура хранения/чистота мелфлуфена (ODP-5) [% относительной площади пика]	
		2-8°C	25°C
T ₀	1	99,2	99,2
	2	99,2	99,2
T _{1a} (26 дней)	1	96,7	89,3
	2	96,9	89,6
T _{2a} (54 дней)	1	95,2	83,8
	2	95,5	85,1

T _{3a} (94 дней)	1	92,7	74,2
	2	92,6	74,7
T _{4a} (164 дней)	1	91,4	70,0
	2	91,3	68,1

Пример 3: Исследование стабильности композиции, содержащей мелфлуфен (OPD-5) и пропиленгликоль, при температуре -20°C и -70°C.

Материалы и методы

В мерную колбу объемом 20 мл дозировали 536,25 мг мелфлуфена (OPD-5). Затем колбу наполняли пропиленгликолем (W294004-1Kg-K, номер партии: MKCD8681, Sigma-Aldrich). Полученную смесь перемешивали с завихрением в течение 3 минут. Далее смесь перемешивали в течение 15 минут при температуре 28°C, периодически перемешивая с завихрением, с получением прозрачного раствора, имеющего концентрацию мелфлуфена около 20 мг/мл (исключая массу противоиона). Раствор аликвотировали в сосуды объемом 1 мл и хранили при температуре -70°C или -20°C.

Концентрацию и чистоту (% относительной площади пика) мелфлуфена в композиции пропиленгликоля анализировали в момент времени 0 (T_{0b}), и затем каждый месяц посредством ОФ ВЭЖХ. Для каждого контрольного момента времени анализировали два реплицированных образца (то есть два отдельных сосуда с композицией). В каждый контрольный момент времени сосуды визуально проверяли на изменение цвета или выпадение осадка.

Анализ методом ОФ ВЭЖХ осуществляли с использованием системы жидкостной хроматографии Agilent серии 1100 и колонки XBridge® C18 (2,1 × 100 мм, 3,5 мкм). В методе использовали градиент В 5-95% в течение 6 минут и поток 0,8 мл/мин (подвижная фаза А: 0,1% муравьиная кислота в воде; подвижная фаза В: 0,1% муравьиная кислота в ацетонитриле), температуру колонки 55°C, температуру дозатора 25°C и УФ-обнаружение при 262 нм. Затем образцы разбавляли до концентрации 200 мкг/мл в ДМА перед введением в систему ОФ ВЭЖХ. Использовали объем введения, составляющий 5 мкл.

Результаты

Исследовали стабильность гидрохлоридной соли мелфлуфена (OPD-5) в растворе пропиленгликоле (PG) при -70°C и -20°C. Не наблюдалось какого-либо изменения цвета или выпадения осадков ни в одном из образцов в течение 6-8-месячного периода исследования. Как показано на фигуре 17, мелфлуфен (OPD-5) в композиции пропиленгликоля был стабильным при температуре -20°C в течение, по меньшей мере, 6 месяцев без значительного изменения концентрации мелфлуфена (OPD-5) в течение 6-месячного периода исследования. Как показано на фигуре 18, мелфлуфен (OPD-5) в композиции пропиленгликоля был стабильным при температуре -70°C в течение, по меньшей мере, 6 месяцев без значительного изменения концентрации мелфлуфена (OPD-5) в течение 8-месячного периода исследования. Было обнаружено, что мелфлуфен (OPD-5) сохраняет чистоту мелфлуфена, составляющую больше 99,5% (относительно чистоты

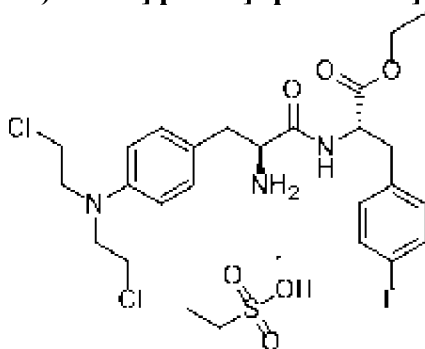
мелфлуфена до хранения композиции) при хранении при температуре -20°C в течение 6 месяцев и при хранении при температуре -70°C в течение 8 месяцев.

Пример 4: Получение солей мелфлуфена.

Гидрохлоридная соль мелфлуфена может быть получена способом, описанным в WO 01/96367, которая включена в настоящем документе посредством ссылки. Этансульфонатные, малеатные и п-толуолсульфонатные соли мелфлуфена получали обработкой свободного основания мелфлуфена одним эквивалентом соответствующей кислоты в дихлорметане или этилацетате. При необходимости добавляли гептан для инициирования осаждения соли. Все соли выделяли в виде белого твердого вещества при соотношении мелфлуфена и противоиона 1:1 и сушили в высоком вакууме.

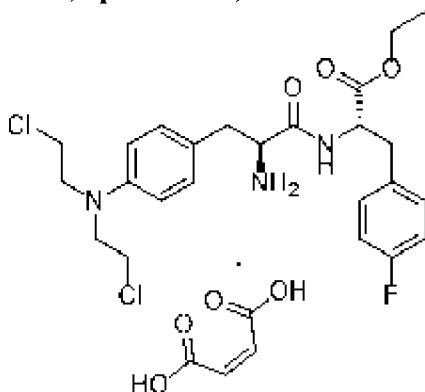
Свободное основание мелфлуфена получали из гидрохлорида мелфлуфена с использованием NaHCO_3 и дихлорметана (DCM). Гидрохлорид мелфлуфена суспендировали в 100 мл дихлорметана перед добавлением охлажденного льдом раствора(водн.) NaHCO_3 . Смесь встряхивали в течение 30 секунд и фазы оставляли отстаиваться. Перед удалением растворителя в вакууме при температуре 0°C , органическую фазу собирали и сушили над MgSO_4 . Свободное основание мелфлуфена выделяли в виде бесцветного масла. Анализ методом ВЭЖХ не показал распад мелфлуфена, и масло было стабильным при комнатной температуре в течение нескольких дней.

4.1: Получение соли этансульфоновой кислоты мелфлуфена (этансульфоновая кислота; этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[4-бис(2-хлорэтил)амино]фенил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат])



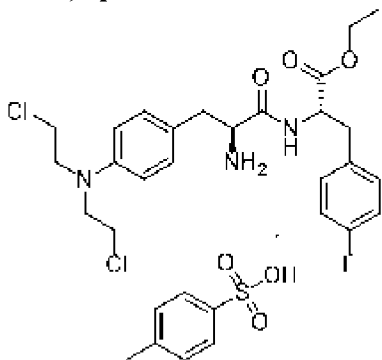
Свободное основание мелфлуфена (120 мг, 0,24 ммоль) растворяли в DCM (1 мл) и добавляли этансульфоновую кислоту (26,4 мг, 0,24 ммоль) в дихлорметане (DCM) (200 мкл). Добавляли гептан (500 мкл) и смесь перемешивали в течение 10 минут перед концентрированием в вакууме с получением твердого вещества белого цвета. Твердое вещество белого цвета растирали с гептаном (1 мл) и сушили в вакууме с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета. Выход 97 мг (66%). ЯМР показывает образование соли 1:1 (моль). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,94 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 8,12-7,95 (м, 2H), 7,35-7,21 (м, 2H), 7,19-7,04 (м, 4H), 6,77-6,64 (м, 2H), 4,61-4,51 (м, 1H), 4,07 (кв, $J=7,1$ Гц, 2H), 3,93 (с, 1H), 3,71 (с, 8H), 3,14-2,92 (м, 3H), 2,80 (дд, $J=14,3$, 8,2 Гц, 1H), 2,38 (кв, $J=7,4$ Гц, 2H), 1,13 (т, $J=7,1$ Гц, 3H), 1,06 (т, $J=7,4$ Гц, 3H),

4.2: Получение соли maleиновой кислоты мелфлуфена (этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; maleиновая кислота)



Свободное основание мелфлуфена (108 мг, 0,22 ммоль) растворяли в 1080 мкл EtOAc и порциями добавляли maleиновую кислоту (25 мг, 0,22 ммоль) при перемешивании. Через 5-10 минут образовывался тяжелый осадок, и смесь разбавляли 1 мл EtOAc и перемешивали в течение еще 30 минут. Осадок собирали фильтрованием с отсасыванием, промывали 300 мкл EtOAc и сушили в вакууме. Выход 104 мг (78%). Чистота по ВЭЖХ 95%. МС m/z 498 $[M+H]^+$. ЯМР показывает образование соли 1:1. 1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 8,92 (д, $J=7,7$ Гц, 1H), 7,97 (с, 3H), 7,35-7,22 (м, 2H), 7,18-7,05 (м, 4H), 6,78-6,65 (м, 2H), 6,02 (с, 2H), 4,55 (тд, $J=8,0$, 6,2 Гц, 1H), 4,12-4,05 (м, 2H), 3,92 (дд, $J=8,4$, 5,0 Гц, 1H), 3,71 (с, 8H), 3,11-2,93 (м, 3H), 2,78 (дд, $J=14,3$, 8,4 Гц, 1H), 1,13 (т, $J=7,1$ Гц, 3H).

4.3: Получение соли п-толуолсульфоновой кислоты мелфлуфена (этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; 4-метилбензолсульфоновая кислота)



Свободное основание мелфлуфена (100,8 мг, 0,20 ммоль) растворяли в 1008 мкл EtOAc и добавляли моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (41 мг, 0,20 ммоль) в EtOAc (850 мкл). Через 5-10 минут образовывался тяжелый осадок и смесь разбавляли 2 мл EtOAc и перемешивали в течение 1 часа. Осадок собирали отсасыванием. Осадок промывали EtOAc (500 мкл) и сушили в вакууме с получением 65 мг (48%) указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета. Чистота в соответствии с ВЭЖХ составляет 95%. МС m/z 498 $[M+H]^+$. ЯМР показывает образование соли 1:1. 1H

ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,94 (д, J=7,6 Гц, 1H), 8,10-7,95 (м, 3H), 7,55-7,44 (м, 2H), 7,33-7,24 (м, 2H), 7,19-7,06 (м, 6H), 6,76-6,65 (м, 2H), 4,55 (тд, J=8,0, 6,2 Гц, 1H), 4,07 (кв, J=7,1 Гц, 2H), 3,94 (с, 1H), 3,71 (с, 8H), 3,11-2,92 (м, 3H), 2,79 (дд, J=14,3, 8,3 Гц, 1H), 2,29 (с, 3H), 1,13 (т, J=7,1 Гц, 3H).

Пример 5: Исследование растворимости и стабильности жидких композиций, содержащих соль мелфлуфена и пропиленгликоль.

Материалы и методы

Исследовали растворимость и стабильность солей этансульфоновой кислоты, п-толуолсульфоновой кислоты и хлористоводородной кислоты мелфлуфена в пропиленгликоле. В прозрачный сосуд объемом 4 мл переносили 10 мг каждой соли мелфлуфена и добавляли пропиленгликоль (Merck Lot # K51750378936, 1.07478.2500) до концентрации 20 мг/мл. Сосуды кратковременно встряхивали и хранили при комнатной температуре (RT, 20-25°C).

Стабильность растворов солей мелфлуфена анализировали в еженедельные контрольные моменты времени методом аналитической ВЭЖХ-МС с использованием жидкостного хроматографа Agilent серии 1100/масс-селективного детектора (MSD) (одноквадрупольный), снабженного электрораспылительным интерфейсом и УФ-детектором с диодной матрицей. Анализ осуществляли с использованием колонки ACE 3 C8 (3,0 × 50 мм) с градиентом ацетонитрила 10-97% в 0,1% водном растворе ТФУ в течение 3 минут и потоком 1 мл/мин. Осуществляли УФ-детекцию при 305 нм. В каждый контрольный момент времени (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 и 7 недель) 10 мкл раствора мелфлуфена разбавляли 490 мкл ацетонитрила перед проведением анализа методом ВЭЖХ-МС.

Растворимость и стабильность соли малеиновой кислоты мелфлуфена исследовали с использованием аналогичного протокола, который описан выше в отношении солей этансульфоновой кислоты, п-толуолсульфоновой кислоты и соляной кислоты мелфлуфена.

Результаты

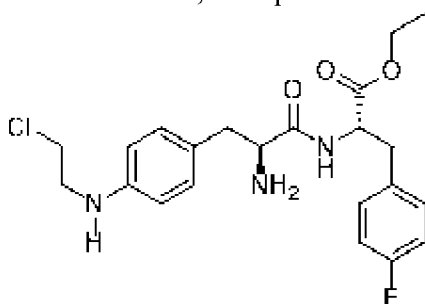
Композиции получали в соответствии с описанным выше методом. Было обнаружено, что каждая из солей мелфлуфена обладает хорошей растворимостью в пропиленгликоле, при этом легко получить раствор мелфлуфена с концентрацией 20 мг/мл.

Таблица 5: Анализ чистоты мелфлуфена в жидкой композиции, содержащей соль мелфлуфена и пропиленгликоль, методом ОФ ВЭЖХ.

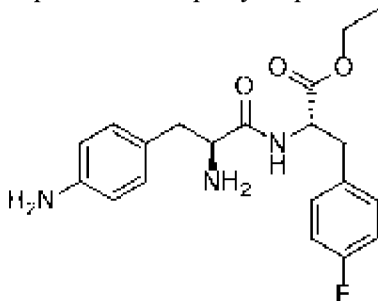
Контрольный момент времени (недели)	Чистота мелфлуфена [% относительной площади пика] в жидкой композиции, содержащей соль мелфлуфена и пропиленгликоль, при комнатной температуре.		
	этансульфоновая кислота	п-толуолсульфоновая кислота	хлористоводородная кислота

0	100	100	100
1	95	96	100
2	94	95	95
3	93	93	94
4	94	91	92
5	89	89	89
6	88	88	87
7	87	87	85

Было обнаружено, что каждая из солей этансульфоновой, п-толуолсульфоновой и хлористоводородной кислот мелфлуфена обладает хорошей стабильностью в течение 7 недель при хранении при комнатной температуре (RT). Было обнаружено, что каждый из растворов имел чистоту мелфлуфена больше 90% после 4 недель хранения при комнатной температуре и, по меньшей мере, 85% после 7 недель хранения при комнатной температуре. Для каждого раствора основным продуктом распада был продукт N-монодеалкиланилин, который имеет следующую структуру:



Для раствора гидрохлоридной соли мелфлуфена следовое (т.е. меньше, чем 0,5% относительной площади пика) количество N-бис-деалкилированного продукта распада было обнаружено после 7 недель хранения при комнатной температуре. N-бис-деалкилированный продукт распада имеет следующую структуру:

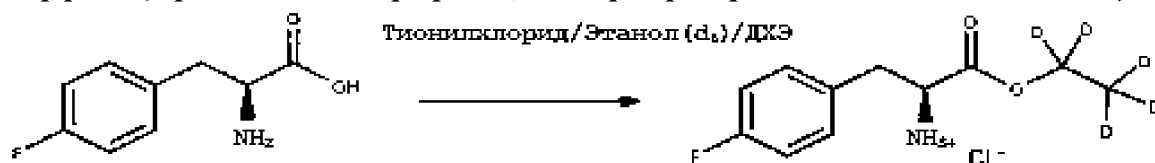


Пример 6: Синтез OPD5 в килограммовом масштабе

OPD-5 можно синтезировать, например, в килограммовом масштабе, используя следующий метод:

Стадия (i): Получение гидрохлорида (²H₅)этил(2S)-2-амино-3-(4-

фторфенил)пропаноата этерификацией *n*-фтор-L-фенилаланина с этанолом (d_6).



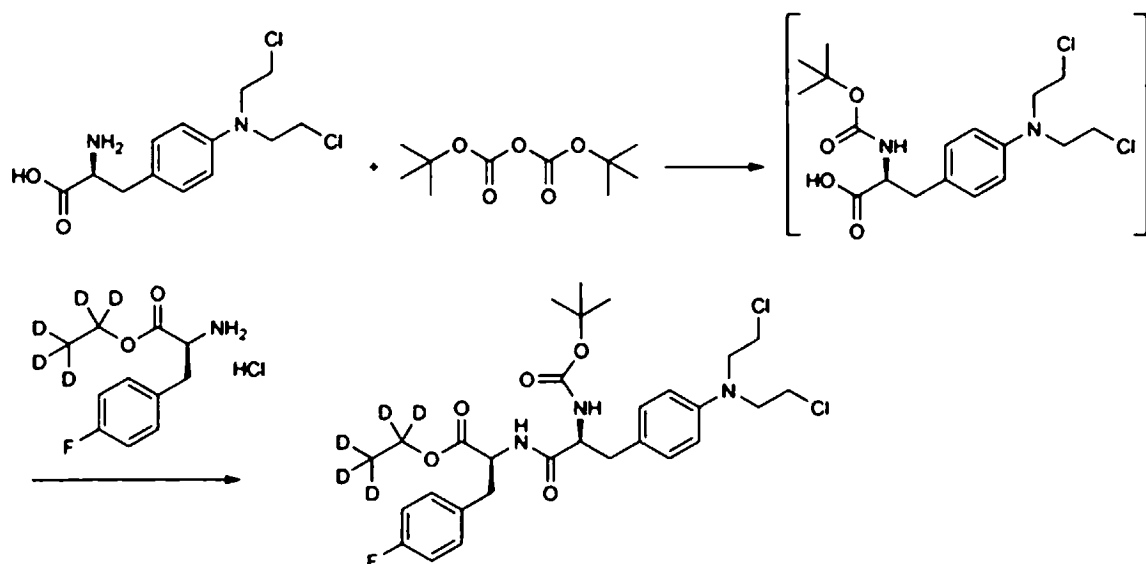
n-Фтор-L-фенилаланин (1,0 кг, номер CAS 1132-68-9) суспендировали в смеси этанола- d_6 (2,5 л, номер CAS: 1516-08-1) и 1,2-дихлорэтана (2,0 л). Скруббер, содержащий NaOH (5 М раствор), подсоединяли к выпускному отверстию реактора после конденсатора. Для наблюдения за распадом скрубберной жидкости, добавляли бромотимольный синий краситель (1-2 мг).

Реактор нагревали до внутренней температуры, составляющей 60°C. Когда внутренняя температура достигала 60°C, начинали добавление тионилхлорида (600 мл) с низкой скоростью. Первоначально образовывался очень густой осадок. В процессе реакции, первоначально очень густая взвесь разжижалась. Общее время добавления составляло около 3 ч. Внутренняя температура достигала максимального значения, составляющего 70°C, и соответственно контролировалась регулированием температуры обшивки. После полного добавления, температуру обшивки довели, чтобы поддерживать внутреннюю температуру в диапазоне 65-70°C.

Полное превращение в желаемый гидрохлорид (2H_5)этил(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноата достигалось через 3 часа после момента полного добавления тионилхлорида. После подтверждения полного превращения (анализ методом ЖХ-МС в следующих условиях: колонка ACE 3 C8 (3,0 × 50 мм) с градиентом В 10-90% в течение 3 мин; подвижная фаза А, вода+0,1% ТФУ, подвижная фаза В, чистый ацетонитрил, поток 1 мл/мин, УФ-детекция при 215-395, 254 и 220 нм), реакционную смесь охлаждали (внутренняя температура около 45°C) и добавляли трет-бутилметилового эфира (12,5 л), получая продукт в виде осадка белого цвета. Смесь перемешивали до получения однородной смеси.

Затем смесь охлаждали до внутренней температуры 0°C и выдерживали при этой температуре в течение около 30 мин перед фильтрованием. Твердый гидрохлорид (2H_5)этил(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноата промывали приблизительно 1 л трет-бутилметилового эфира и потом сушили при максимальной температуре 30°C при пониженном давлении. В случае присутствия комков, продукт тщательно просеивали для их удаления. Фактический выход гидрохлорида (2H_5)этил(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноата составлял 92%. ЖХ-МС: t_R 1,43 мин, m/z [M+H] 217.

Стадия (ii): Получение (2H_5)этил (2S)-2-[(2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата в килограммовом масштабе



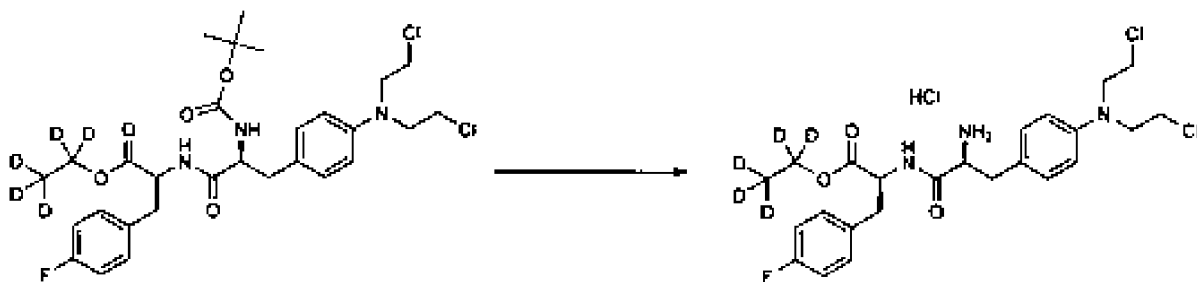
Мелфалан (1,663 кг, 5,45 моль, 1 экв.) добавляли к смеси очищенной воды (16,0 кг), NaOH (32%, водный, 1,04 кг) и тетрагидрофурана (10,0 кг) при температуре 10-15°C. Добавляли смесь ди-трет-бутилдикарбоната (1,308 кг, 5,99 моль, 1,1 экв.) и тетрагидрофурана (4,75 кг) при температуре 10-15°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 4-5 ч при температуре 18-23°C до достижения минимального 97,0% (ВЭЖХ) превращения мелфалана. Температуру доводили до 15-20°C, и, поддерживая эту температуру, pH доводили до значения 2,5-3,0 с помощью 1,5 М HCl. Добавляли этилацетат (7,34 кг) и фазы разделяли. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (7,34 кг). Объединенные органические фазы сушили сульфатом магния, фильтровали и осадок на фильтре промывали этилацетатом. Растворители удаляли отгонкой в вакууме, и остаток, содержащий (2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-{[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропановую кислоту, сушили в вакууме не менее 12 ч при температуре 20-25°C. **ВЭЖХ:** время удерживания 11,9 мин. (Условия ВЭЖХ были следующие: растворитель пробы ацетонитрил:вода, 1:1 (об./об.), колонка Waters, Atlantic T3 (3 мкм, 4,6 × 150 мм), градиент В 10-90-10% в течение 23 мин, поток 1 мл/мин, подвижная фаза А: 500 мкл 85% фосфорной кислоты в 1,0 л MQ-воды, подвижная фаза В: 500 мкл 85% фосфорной кислоты в 1,0 ацетонитриле, с УФ-детекцией при 262 нм).

Остаток (2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-{[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропановой кислоты повторно растворяли в дихлорметане (44,0 кг). Добавляли 4-метилморфолин (1,378 кг, 13,63 моль, 2,5 экв.), затем гидрохлорид (²H₅)этил(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноата (1,377 кг, 5,45 моль, 1,0 экв.), 1-гидроксibenзотриазол, H₂O (0,083 кг, 0,54 моль, 0,1 экв.) и N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид, HCl (1,045 кг, 5,45 моль, 1,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3-4 ч при 18-23°C до достижения минимального 97,0% (ВЭЖХ) превращения (2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-{[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропановой кислоты в (²H₅)этил (2S)-2-[(2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-{[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноат (условия ВЭЖХ были

следующими: растворитель пробы ацетонитрил, колонка Waters, Atlantic T3 (3 мкм, 4,6 × 150 мм), 10-90-10% градиент В в течение 23 мин, поток 1 мл/мин, подвижная фаза А: 500 мкл 85% фосфорной кислоты в 1,0 л MQ-воды, подвижная фаза В: 500 мкл 85% фосфорной кислоты в 1,0 ацетонитриле, с УФ-детекцией при 262 нм).

Значение pH довели до 3,0-4,0 с помощью 5% KHSO_4 (водн.). Органическую фазу отделяли и водную фазу экстрагировали дихлорметаном (29,0 кг). Первую органическую фазу промывали 6% NaHCO_3 . Органическую фазу отделяли и оставшуюся водную фазу реэкстрагировали второй органической фазой. Объединенные органические фазы сушили сульфатом магния, фильтровали и промывали дихлорметаном. Высушенную органическую фазу концентрировали перегонкой в вакууме до 22-26 л. Восстановленную органическую фазу использовали для колоночной хроматографии (силикагель (40-63 мкм, 22,4 кг), н-гептан (6,7 кг) и дихлорметан (52,2 кг)). Колонку элюировали 6% этилацетатом/дихлорметаном. Фракции, содержащие ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-{[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноат (ТСХ), объединяли и упаривали при пониженном давлении до объема 26-28 л. Добавляли этилацетат (5,8 кг), и упаривание продолжали до объема 26-28 л. Эту процедуру повторяли. После добавления этилацетата начиналось осаждение ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-{[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата. Для облегчения осаждения необязательно могут добавляться затравочные кристаллы ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-{[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата. Вновь добавляли этилацетат (5,8 кг), и необязательная стадия затравливания может повторяться. Смесь упаривали при пониженном давлении до объема 19-21 л и добавляли н-гептан (22,1 кг) при температуре 35-45°C. Суспензию охлаждали до -2-2°C и перемешивали в течение 2-18 часов. Твердое вещество выделяли центрифугированием, и осадок на фильтре промывали н-гептаном. Твердое вещество сушили в вакууме при 30°C с получением ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-{[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата (2,6 кг, 80%) в виде твердого вещества от белого до слегка желтого цвета. **ВЭЖХ**: время удерживания 13,4 мин.

Стадия (iii): Получение OPD5 в форме своей соли HCl (гидрохлорида ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-2-амино-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата) в килограммовом масштабе



Раствор ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-{[(трет-бутокси)карбонил]амино}пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата (3,10 кг, 5,14 моль) в 1,3 М HCl в ацетонитриле, полученный из хлороводорода (1,31 кг, 35,9 моль) и ацетонитрила (21,7 кг), перемешивали в течение 12-24 часов при температуре 29-33°C. Осуществлялось превращение, не менее 99,0% (ВЭЖХ), ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}-2-{[(трет-бутокси)карбонил]амино}пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата в гидрохлорид ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-2-амино-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата (условия ВЭЖХ были следующие: растворитель пробы ДМСО ацетонитрил, 1:9 (об./об.), колонка Waters, Atlantic T3 (3 мкм, 4,6 × 150 мм), градиент 10-90-10% В в течение 23 мин, поток 1 мл/мин, подвижная фаза А: 500 мкл фосфорной кислоты 85% в 1,0 л MQ-воды, подвижная фаза В: 500 мкл фосфорной кислоты 85% в 1,0 ацетонитриле с УФ-детекцией при 262 нм).

Реакционную смесь подвергали окончательной фильтрации и разбавляли ацетонитрилом (68,9 кг). Затем проводили отгонку при пониженном давлении, используя температуру рубашки 45°C. Когда объем реакционной смеси составил 86 л, добавляли ацетонитрил (22,7 кг) и перегонку продолжали. Когда оставалось 86 л реакционной смеси, добавляли ацетонитрил (22,7 кг) и перегонку продолжали. Когда объем в реакторе составлял 86 л, добавляли ацетонитрил (22,7 кг) и перегонку продолжали до достижения объема в реакторе 86 л.

Добавляли трет-бутилметилловый эфир (68,4 кг) в течение 25-45 минут при температуре 35-45°C с последующим охлаждением до 22-28°C. После перемешивания при этой температуре в течение 60-120 мин, неочищенный гидрохлорид ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-2-амино-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата фильтровали и промывали трет-бутилметилловым эфиром (12,5 кг). Неочищенный материал сушили в реакторе в вакууме, используя заданную температуру рубашки 30°C.

Добавляли ацетонитрил (84,0 кг) и полученную суспензию перемешивали в течение 30-90 мин при температуре 48-54°C с последующим охлаждением до 40-45°C. Добавляли трет-бутилметилловый эфир (74,6 кг) в течение 40-70 минут при 38-45°C с последующим охлаждением до 22-28°C. После перемешивания при этой температуре в течение 60-120 мин, неочищенный гидрохлорид ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-2-амино-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата фильтровали и промывали трет-бутилметилловым эфиром (14,0 кг). Сушка в вакууме при 30-35°C обеспечивала гидрохлорид ($^2\text{H}_5$)этил (2S)-2-[(2S)-2-амино-3-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}пропанамидо]-3-(4-фторфенил)пропаноата (OPD5 в форме своей соли HCl) (2,5 кг, 90%) в виде твердого вещества от белого до не совсем белого цвета. ВЭЖХ: время удерживания 9,0 мин.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая (или состоящая в основном из) следующие компоненты:

- i) мелфлуфен или его соль;
- ii) пропиленгликоль;
- iii) необязательно один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей; и
- iv) необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что мелфлуфен, или его соль, находится в концентрации от около 10 мг/мл до около 50 мг/мл.

3. Фармацевтическая композиция по п.3, отличающаяся тем, что мелфлуфен, или его соль, находится в концентрации от около 15 мг/мл до около 25 мг/мл.

4. Фармацевтическая композиция, содержащая (или состоящая в основном из) следующие компоненты:

- i) мелфлуфен или его соль;
- ii) полиэтиленгликоль;
- iii) необязательно один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей; и
- iv) необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

5. Фармацевтическая композиция по п.4, отличающаяся тем, что мелфлуфен, или его соль, находится в концентрации от около 10 мг/мл до около 50 мг/мл.

6. Фармацевтическая композиция по п.5, отличающаяся тем, что мелфлуфен, или его соль, находится в концентрации от около 15 мг/мл до около 25 мг/мл.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп.4-6, отличающаяся тем, что полиэтиленгликоль имеет среднюю молекулярную массу от 150 до 650 Да, например от 150 до 250, от 250 до 350, 350 до 450, от 450 до 550 и 550 до 650 Да.

8. Фармацевтическая композиция по п.7, отличающаяся тем, что полиэтиленгликоль имеет среднюю молекулярную массу от 250 до 350 Да.

9. Фармацевтическая композиция по п.8, отличающаяся тем, что полиэтиленгликоль представляет собой ПЭГ 300.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-3, состоящая в основном из мелфлуфена или его соли, пропиленгликоля и, необязательно, одного или нескольких дополнительных терапевтических средств.

11. Фармацевтическая композиция по любому из пп.4-9, состоящая в основном из мелфлуфена или его соли, полиэтиленгликоля и необязательно одного или нескольких дополнительных терапевтических средств.

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-9, отличающаяся тем, что один или несколько физиологически приемлемых растворов представляют собой раствор глюкозы, солевой раствор или их смесь.

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-12, отличающаяся тем, что,

по меньшей мере, один из одного или нескольких дополнительных терапевтических средств представляет собой ингибитор протеазы (PI), иммуномодулирующее средство (IMiD) или алкилятор.

14. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-13 для применения в качестве лекарственного средства.

15. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-13 для применения в лечении или профилактике заболевания или состояния, которое можно лечить с помощью обычных химиотерапевтических средств, например, с помощью алкилятора (например, мелфалана, циклофосфида и бендамустина).

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-13 для применения в лечении или профилактике злокачественной опухоли или применения в лечении или профилактике амилоидоза.

17. Фармацевтическая композиция для применения по п.16 для применения в лечении или профилактике злокачественной опухоли, отличающаяся тем, что злокачественная опухоль выбрана из множественной миеломы, злокачественной опухоли груди, злокачественной опухоли легких, злокачественной опухоли яичников, лейкоза и лимфом.

18. Способ лечения пациента, который включает введение субъекту фармацевтически эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

19. Способ лечения или профилактики злокачественной опухоли, включающий введение субъекту эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

20. Способ по п.19, отличающийся тем, что фармацевтическую композицию непосредственно вводят субъекту.

21. Способ получения фармацевтической композиции по любому из пп.1-13, включающий растворение мелфлуфена или его соли в пропиленгликоле.

22. Способ получения фармацевтической композиции по любому из пп.1-13, включающий растворение мелфлуфена или его соли в полиэтиленгликоле.

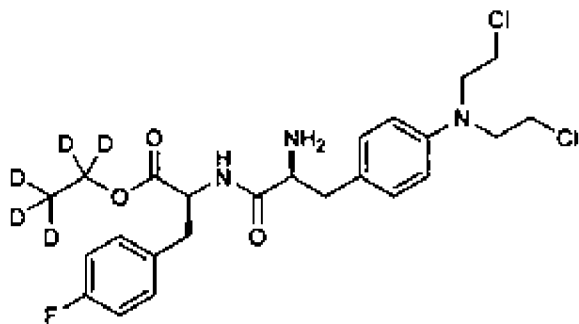
23. Способ хранения мелфлуфена или его соли, включающий стадии получения фармацевтической композиции по любому из пп.1-13 и хранения фармацевтической композиции при температуре около от -90 до 25°C, предпочтительно при температуре около 5°C (например, $5 \pm 3^\circ\text{C}$) или ниже, например от около 0 до 4°C, около -20°C (например, $20 \pm 3^\circ\text{C}$) и около -80°C (например, $-80 \pm 3^\circ\text{C}$).

24. Набор, содержащий мелфлуфен или его соль; пропиленгликоль; необязательно один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей; и необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

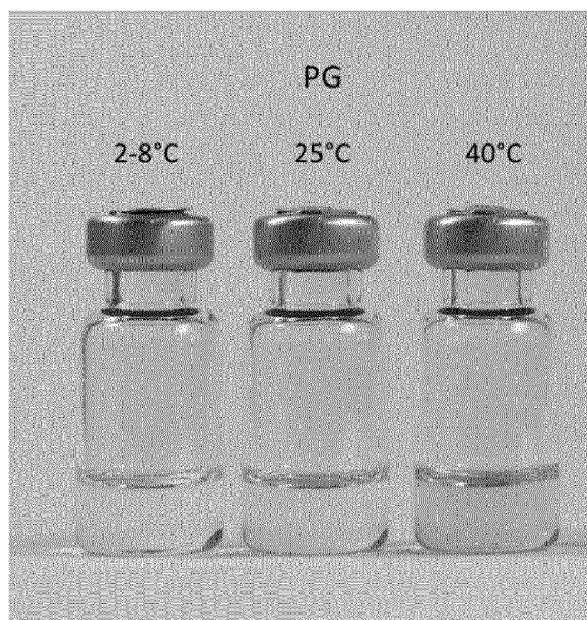
25. Набор, содержащий мелфлуфен или его соль; полиэтиленгликоль; необязательно один или несколько физиологически приемлемых водных растворителей; и необязательно одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

26. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-17, способ по любому из пп.18-23 или набор по любому из пп.24 и 25, отличающиеся тем, что мелфлуфен находится в форме своей гидрохлоридной, этансульфонатной, малеатной или п-толуолсульфонатной соли, предпочтительно своей гидрохлоридной соли.

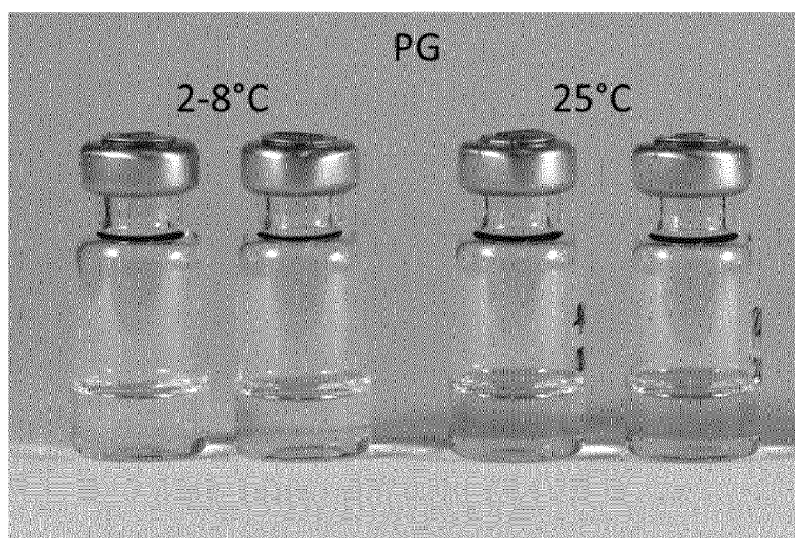
27. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-17 или 26, способ по любому из пп.18-23 или 26 или набор по любому из пп.24-26, отличающиеся тем, что мелфлуфен представляет собой дейтерированный мелфлуфен, например мелфлуфен представляет собой OPD-5:



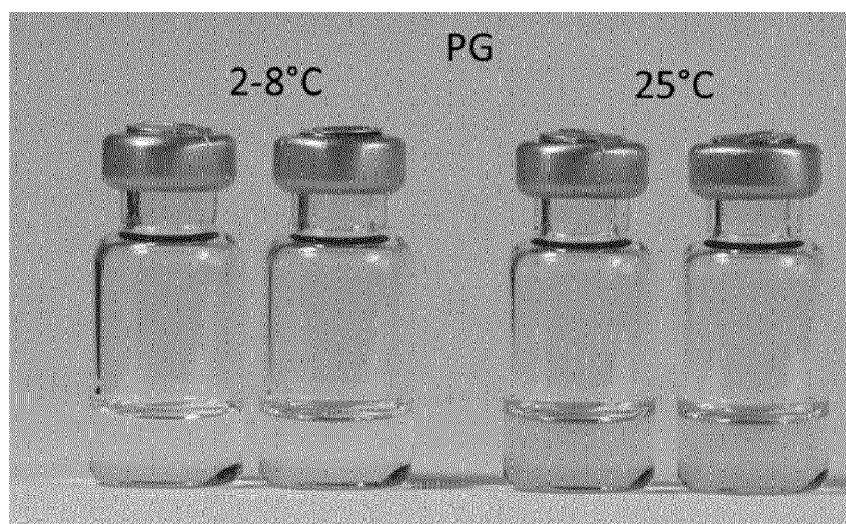
ФИГ.1



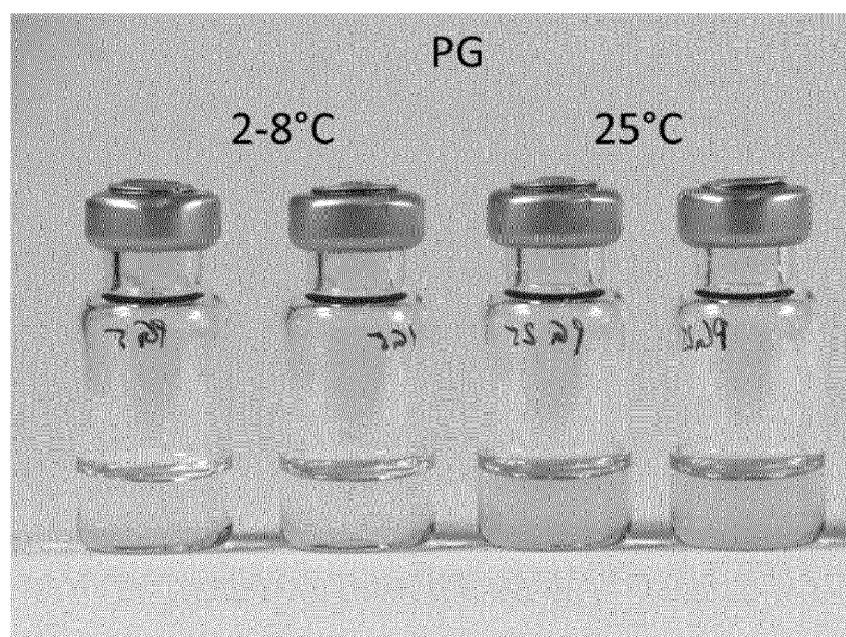
ФИГ.2



ФИГ.3

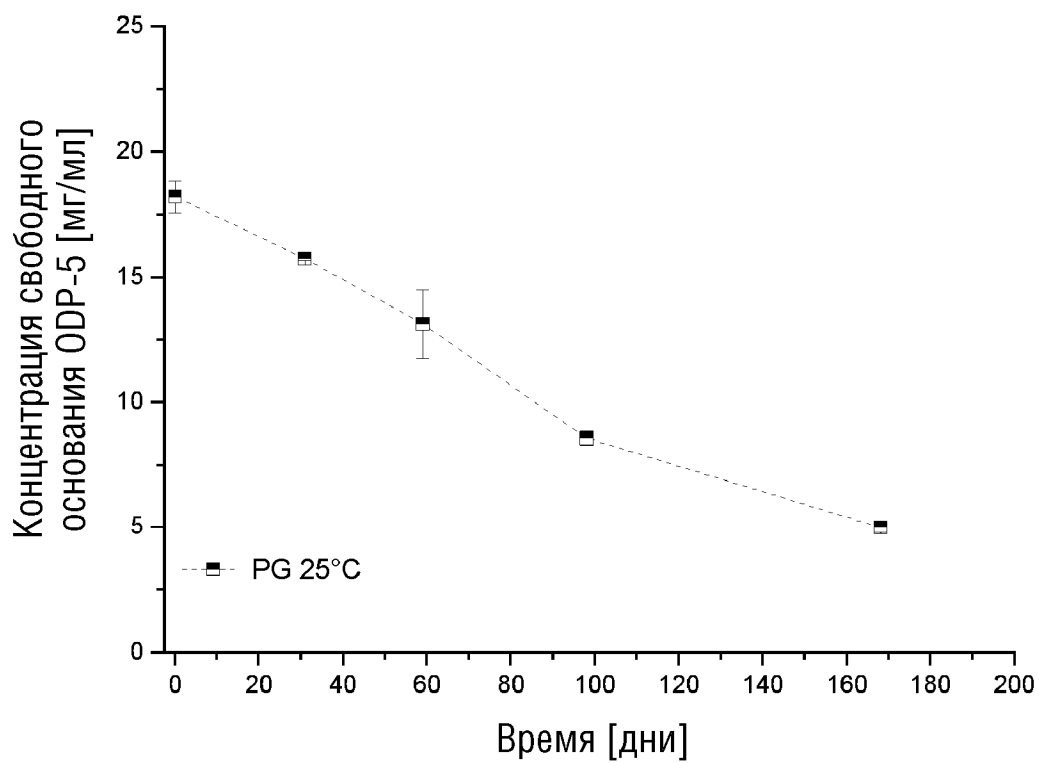


ФИГ.4



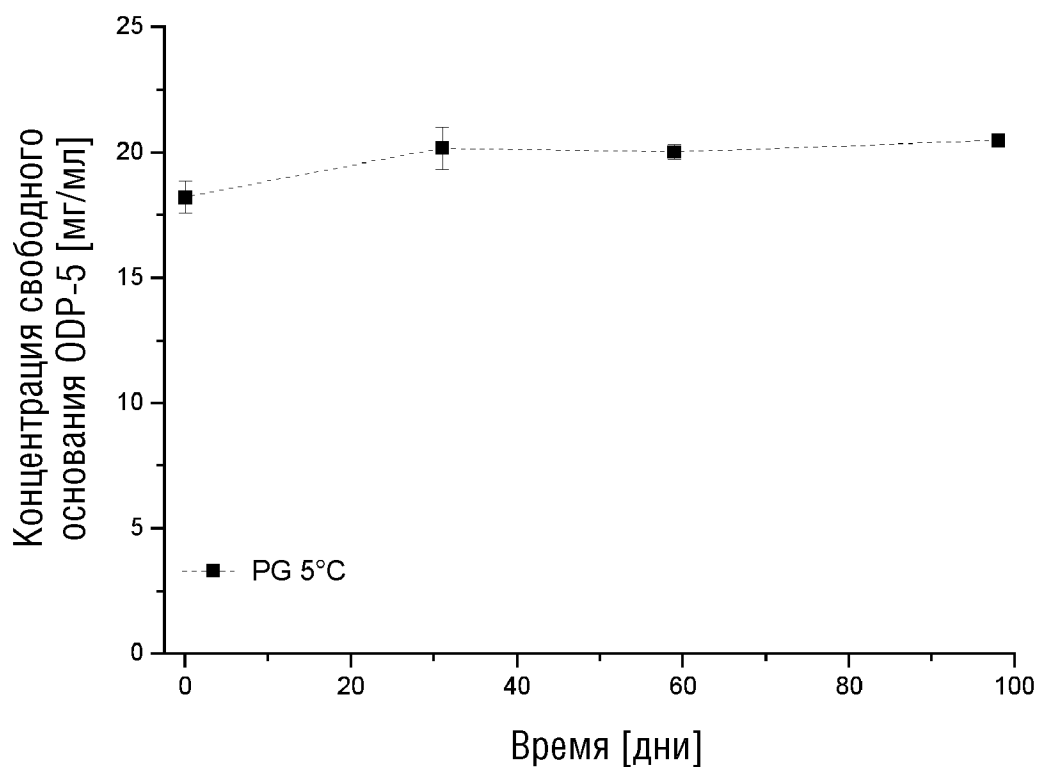
ФИГ.5

Концентрация свободного основания ODP-5 при хранении при 25°C

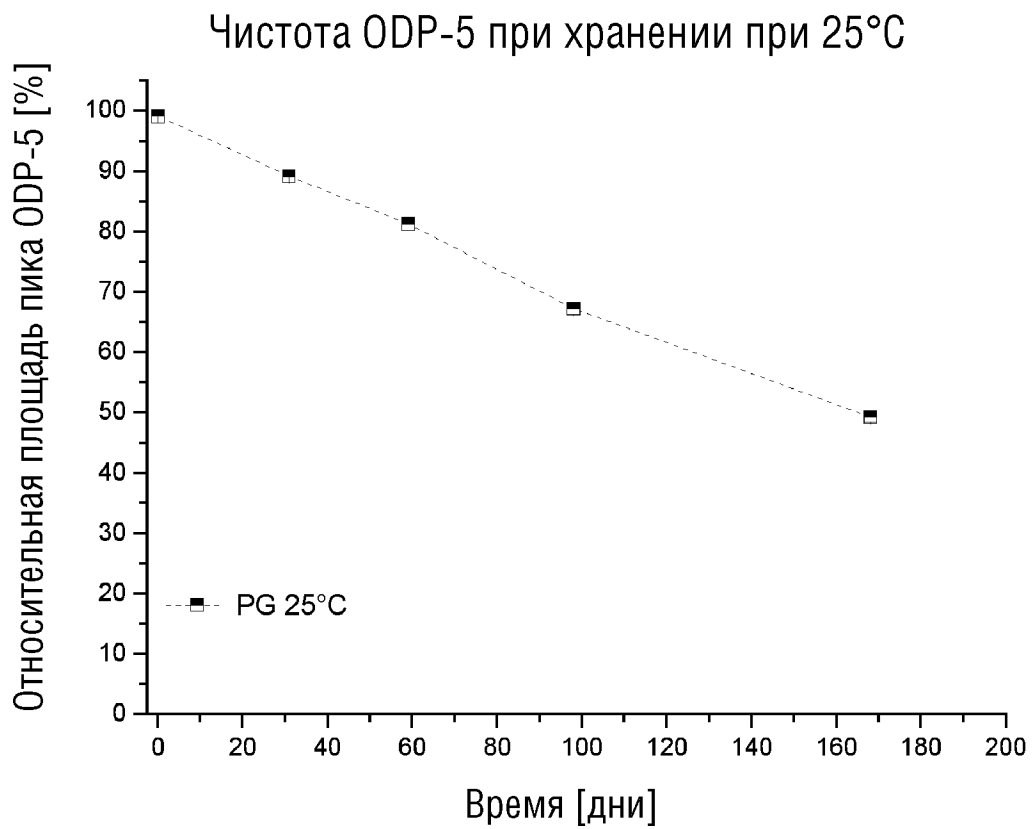


ФИГ.6

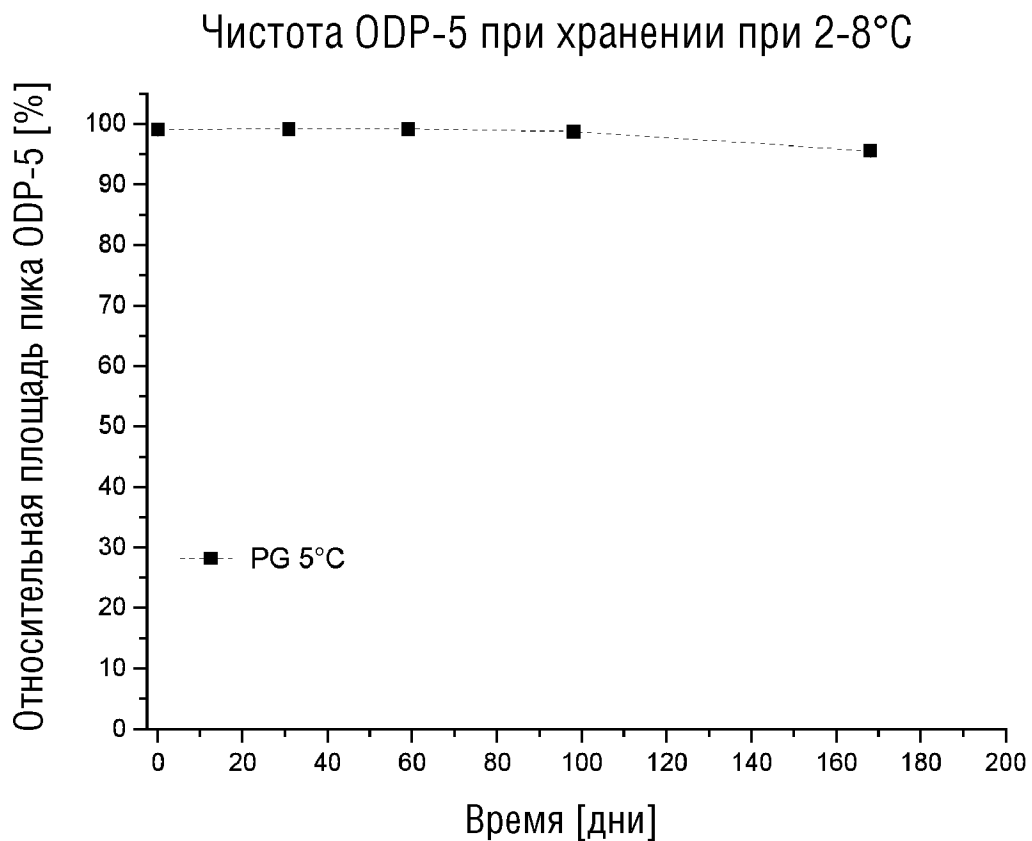
Концентрация свободного основания ODP-5 при хранении при 2-8°C



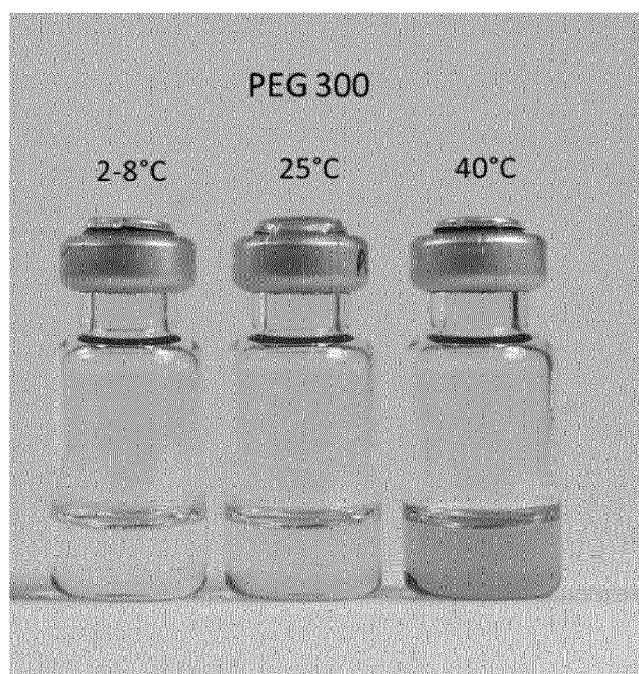
ФИГ.7



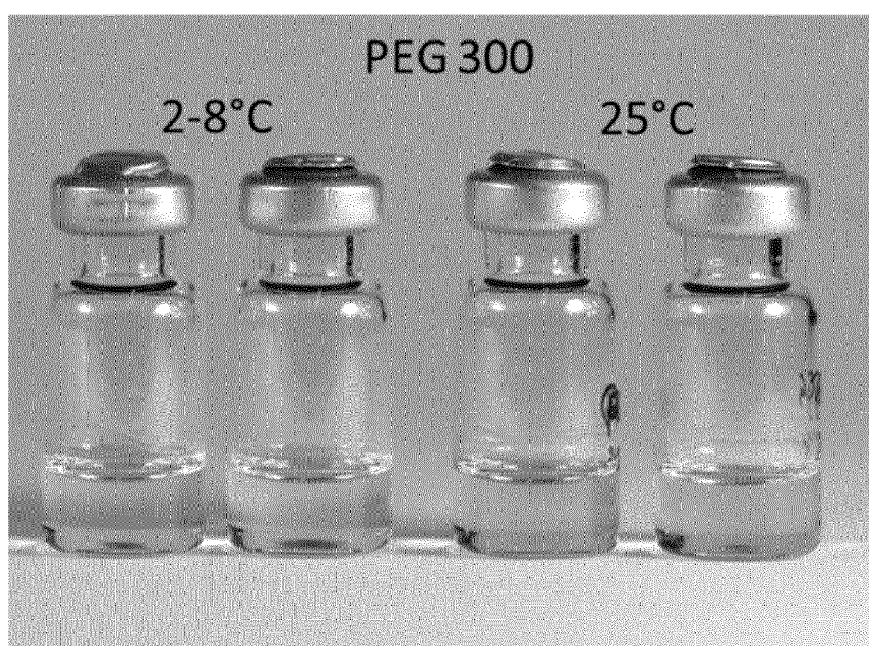
ФИГ.8



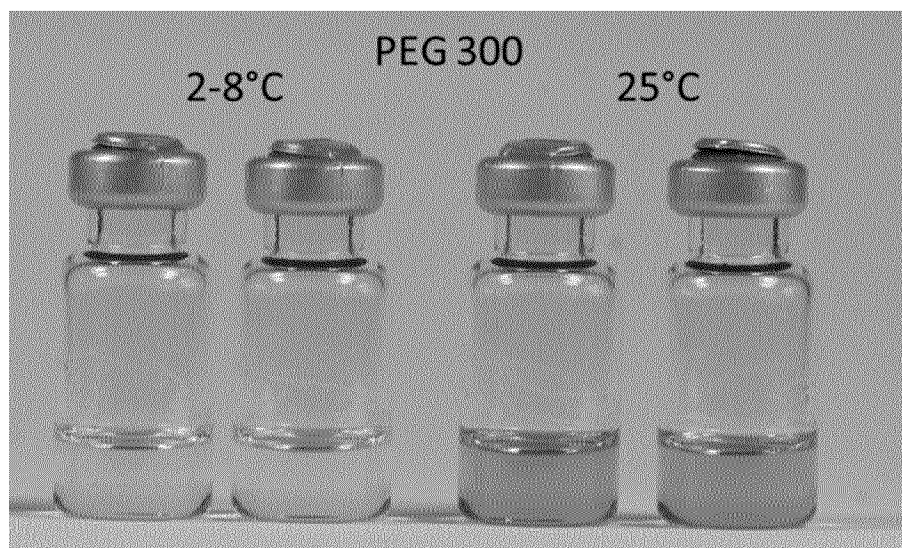
ФИГ.9



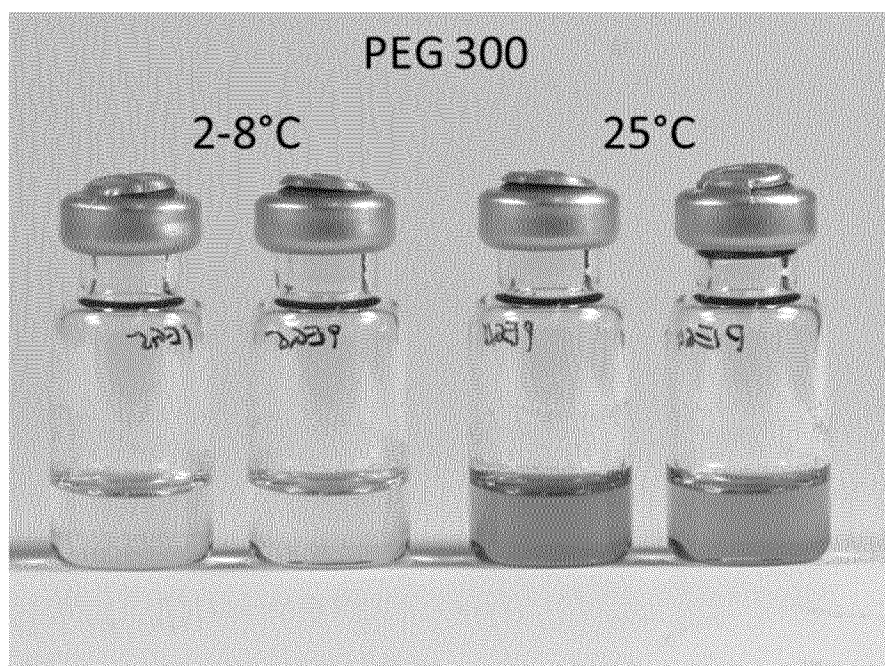
ФИГ.10



ФИГ.11

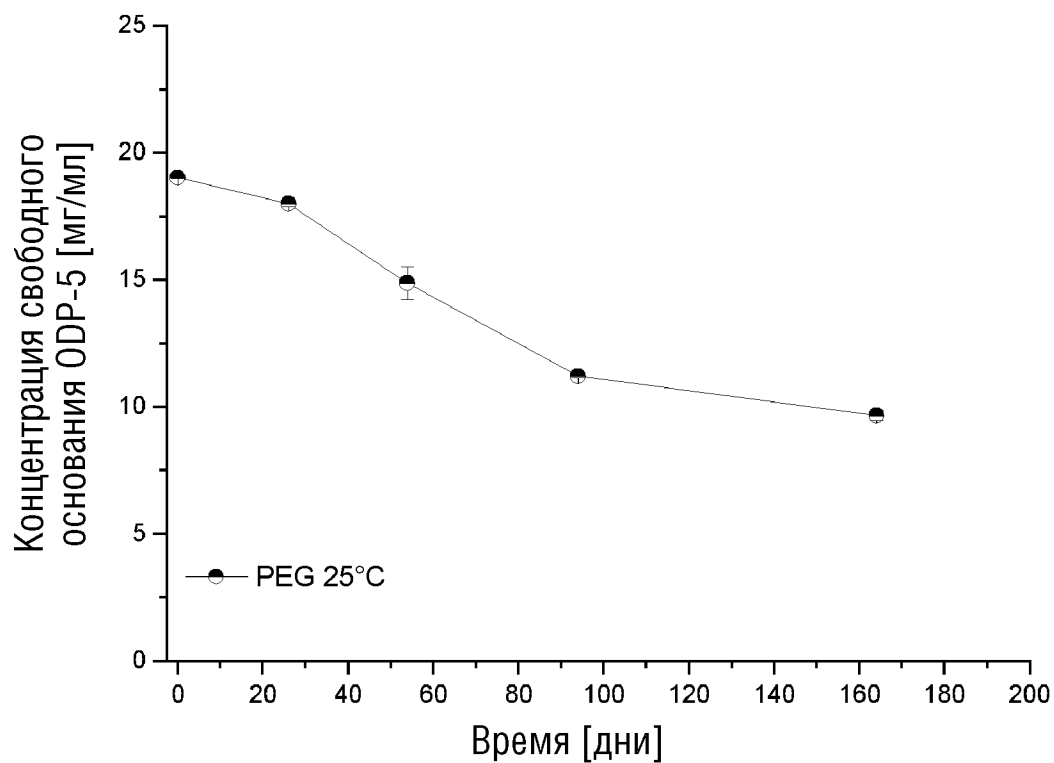


ФИГ.12



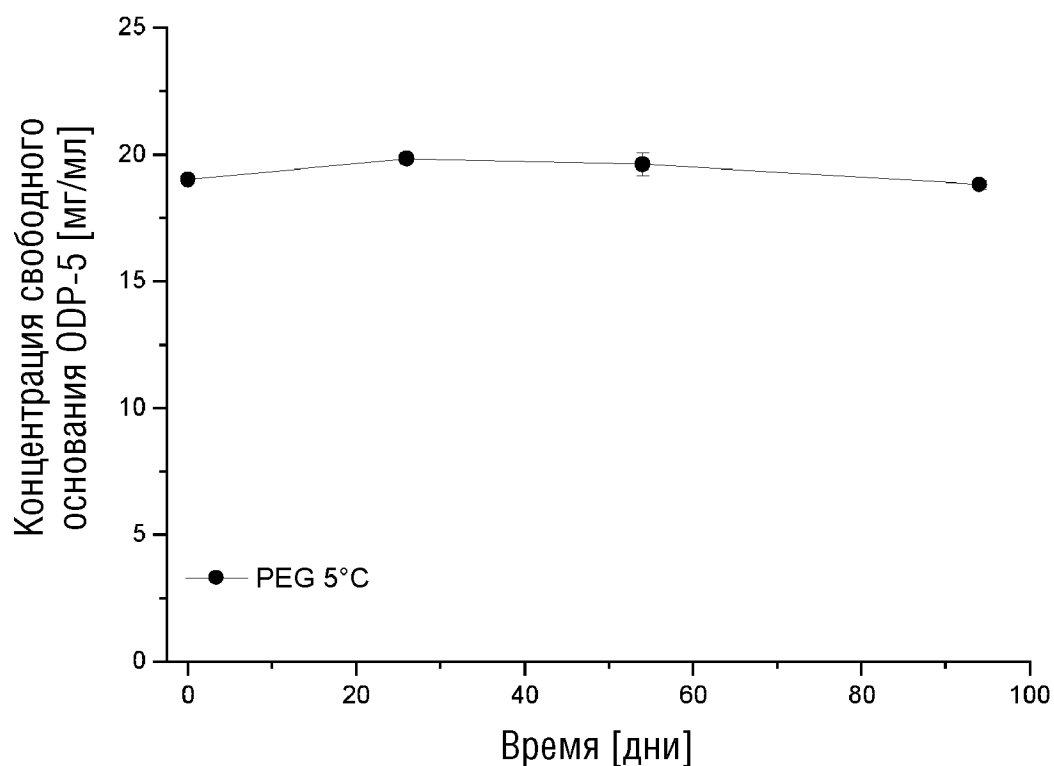
ФИГ.13

Концентрация свободного основания ODP-5 при хранении при 25°C



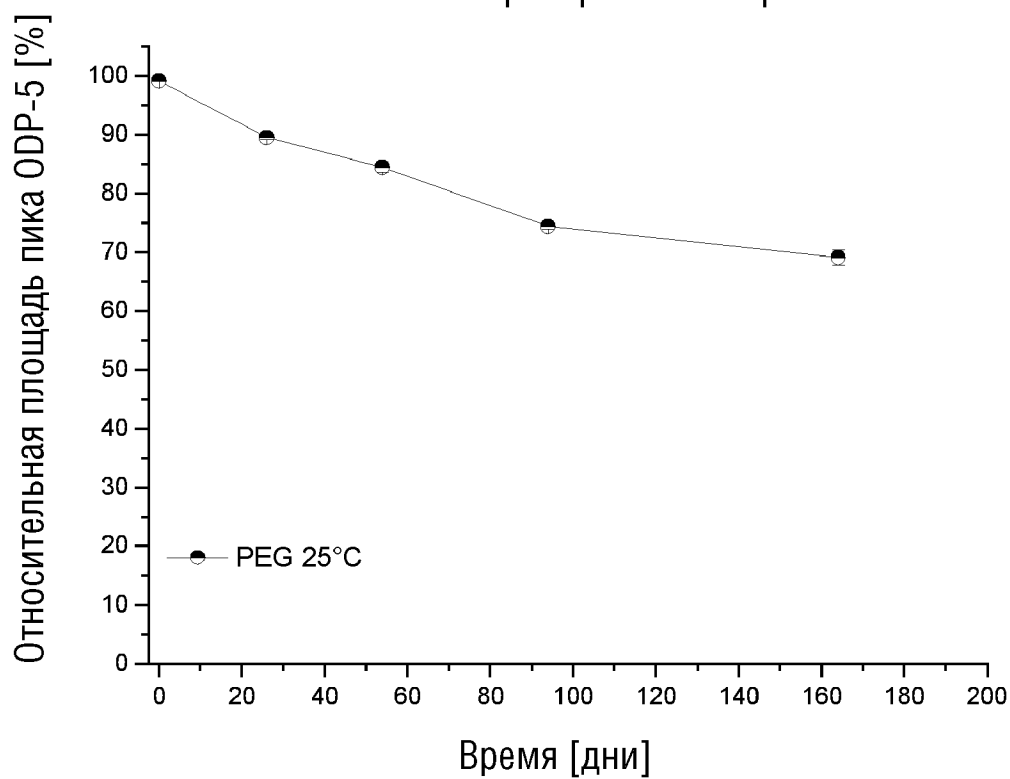
ФИГ.14

Концентрация свободного основания ODP-5 при хранении при 2-8°C



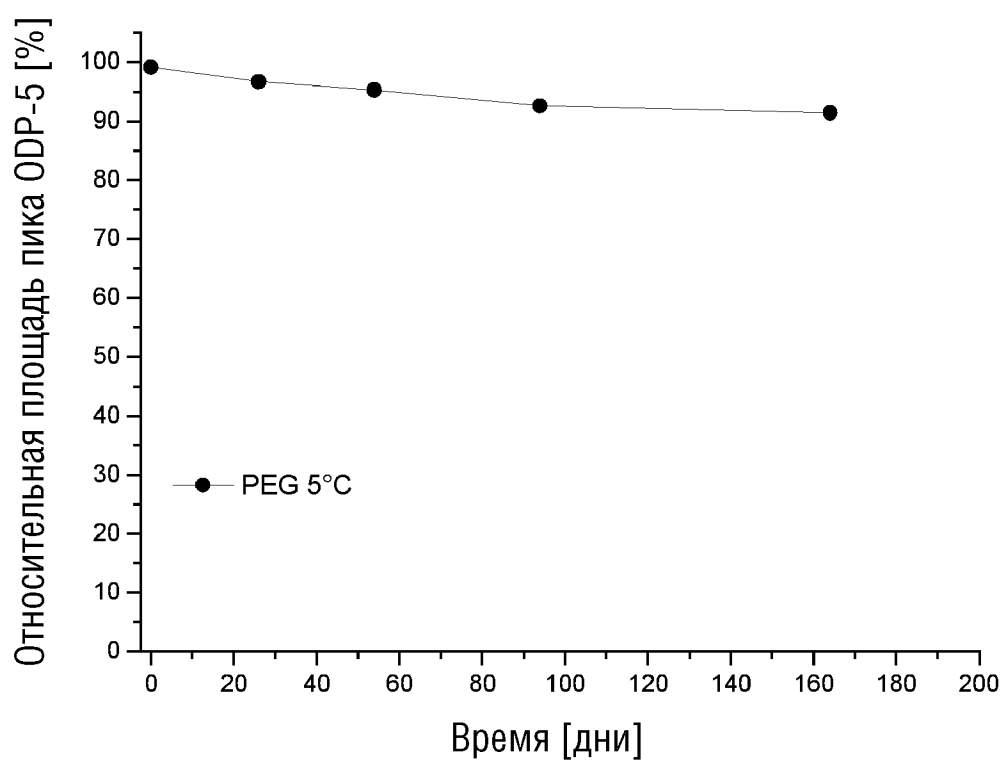
ФИГ.15

Чистота ODP-5 при хранении при 25°C

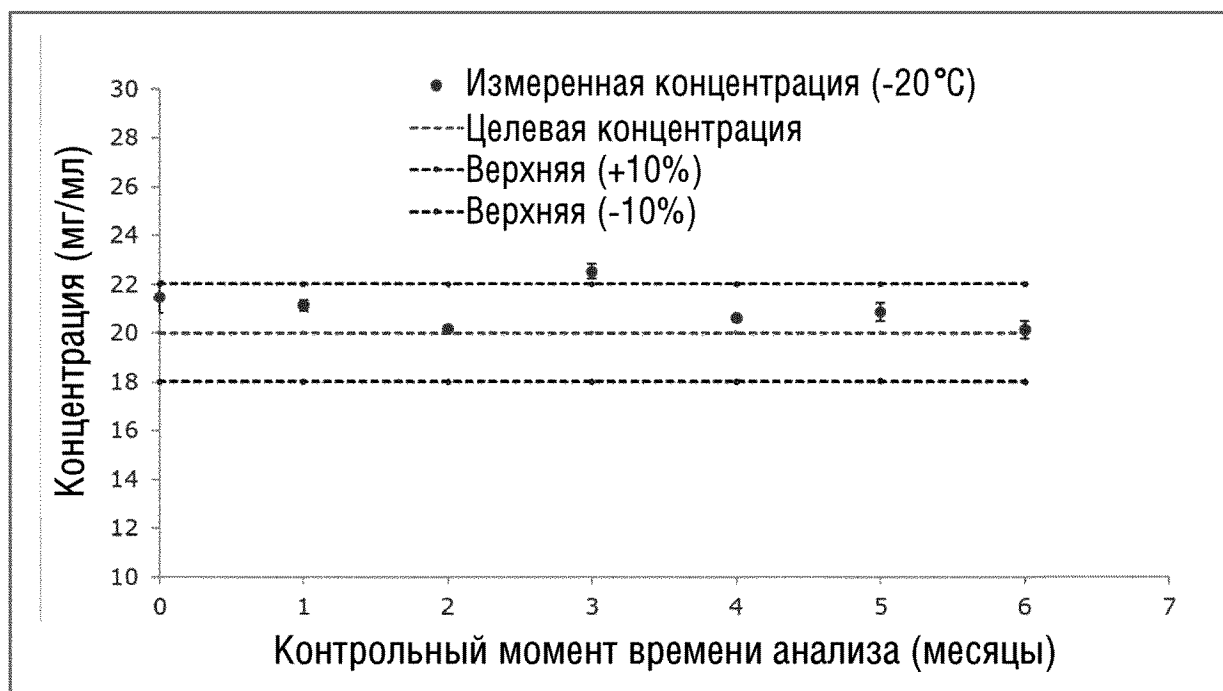


ФИГ.16

Чистота ODP-5 при хранении при 2-8°C



ФИГ.17



ФИГ.18

