

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **034313**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.01.28

(21) Номер заявки
201890212

(22) Дата подачи заявки
2016.07.15

(51) Int. Cl. **A61K 31/721** (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
C08B 37/02 (2006.01)
C08L 5/02 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ СУЛЬФАТА ДЕКСТРАНА

(31) 1551050-6

(32) 2015.07.30

(33) SE

(43) 2018.06.29

(86) PCT/SE2016/050720

(87) WO 2017/018922 2017.02.02

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ТХ МЕДИК АБ (SE)

(72) Изобретатель:
**Брюс Ларс, Брюс Адам, Ваас Андерс
(SE)**

(74) Представитель:
**Харин А.В., Буре Н.Н., Стойко Г.В.
(RU)**

(56) BANZ, Y. et al., "Locally targeted cytoprotection with dextran sulfate attenuates experimental porcine myocardial ischaemia/reperfusion injury", Eur Heart J, 2005, vol. 26, p. 2334-2343; whole document; page 2335, column 1, paragraph [0003]; page 2335, column 1, paragraph [0005]; page 2339, column 2, paragraph [0001]; page 2341, column 1, paragraph [0001]

KRENNING, G. et al., "The Origin of Fibroblasts and Mechanism of Cardiac Fibrosis", J Cell Physio, 2010, vol. 225, p. 631-637; page 631, column 1, paragraph [0002]

MERCER, P.F. et al., "Coagulation and coagulation signalling in fibrosis", Biochim Biophys Acta, 2013, p. 1018-1027; whole document; page 1022, paragraph [0044]

Dextran sulfate product specification [online], Sigma Aldrich [retrieved on 19-09-2016], Retrieved from the Internet: <URL:http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/COFAInfo/SigmaSAPQM/SPEC/D7/D7037/D7037-BULK_SIAL_.pdf>; whole document

Dextran sulfate product information [online], Sigma Aldrich [retrieved on 19-09-2016], Retrieved from the Internet: <URL:https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/d8906pis.pdf>; whole document

WO-A1-2008134430

(57) Изобретение относится к способу лечения, ингибирования или предупреждения фиброза миокарда у субъекта, включающему внутривенное или подкожное введение водного раствора для инъекций, содержащего сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемую соль и водный растворитель, указанному субъекту.

034313
B1

034313
B1

Область техники

Настоящие варианты осуществления в целом относятся к лечению фиброза и, в частности, к применению сульфата декстрана для лечения, ингибирования или предупреждения фиброза миокарда у субъекта.

Предшествующий уровень техники

Фиброз представляет собой процесс, включающий образование избыточной волокнистой соединительной ткани в органе или ткани в ходе репаративного или реактивного процесса. Фиброз может быть реактивным, доброкачественным или патологическим состоянием. Процесс фиброза в ответ на повреждение иногда называют рубцеванием.

Физиологически фиброз включает образование соединительной ткани, которая может нарушить структуру и функцию подлежащего органа или ткани. Фиброз подобен процессу рубцевания, поскольку оба они вовлекают простимулированные клетки в формирование соединительной ткани, включая коллаген и гликозаминогликаны. Макрофаги и поврежденные ткани высвобождают трансформирующий фактор роста бета (TGF β) в ответ, например, на воспаление или повреждение тканей. Это, в свою очередь, стимулирует пролиферацию и активацию фибробластов, которые образуют соединительную ткань.

В US 5605938 раскрыто, что биосовместимые анионные полимеры, включая сульфат декстрана со средней молекулярной массой от приблизительно 40000 до 20000000 Да, могут ингибировать фиброз, образование рубцов и хирургических спаек, обычно связанных с проведением операции. Анионные полимеры вводят локально при фиброзных поражениях или они могут быть нанесены на орган или имплантат в виде вязкой жидкости или геля, который предпочтительно также содержит адгезивный белок, содержащий дигидроксифенилаланин (ДОФА) и гидроксилсодержащие аминокислотные остатки.

В CN 102973593 раскрыто применение сульфата декстрана для получения лекарственного средства для лечения фиброза печени. В документе упоминается, что сульфат декстрана ингибирует активацию астроцитов и стимулирует макрофаги для секреции металлопротеиназы.

Краткое описание изобретения

Общей целью является лечение, ингибирование или уменьшение фиброза миокарда у субъекта.

Эта и другие цели достигаются вариантами осуществления, раскрытыми в данном документе.

Один аспект вариантов осуществления относится к сульфату декстрана или его фармацевтически приемлемой соли, представленным в виде, пригодном для системного введения субъекту для применения при лечении, ингибировании или предупреждении фиброза миокарда у субъекта.

Другой аспект вариантов осуществления относится к применению сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства, представленного в виде, пригодном для системного введения, для лечения, ингибирования или предупреждения фиброза миокарда у субъекта.

Дополнительный аспект вариантов осуществления относится к способу лечения, ингибирования или предупреждения фиброза миокарда у субъекта. Способ включает системное введение сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли субъекту.

Краткое описание графических материалов

Варианты осуществления вместе с другими объектами и преимуществами лучше всего будут поняты со ссылкой на следующее описание вместе с прилагаемыми графическими материалами, где:

на фиг. 1 представлена оценка степени интерстициального фиброза. По относительной площади интерстициального фиброза видно значительное подавление интерстициального фиброза, индуцированного инфарктом миокарда, в группе 2М, получавшей сульфат декстрана, по сравнению с контрольной группой 1М (**P<0,01 в соответствии с однофакторным дисперсионным анализом ANOVA с последующим апостериорным сравнением Бонферрони);

фиг. 2А-2D представляют собой иллюстрации степени фиброза у двух животных из контрольной группы 1М и двух животных из группы 2М, получавшей сульфат декстрана.

Подробное описание изобретения

Настоящие варианты осуществления в целом относятся к лечению фиброза и, в частности, к применению сульфата декстрана для лечения, ингибирования или предупреждения фиброза миокарда у субъекта.

Варианты осуществления основаны на обнаружении того, что системно введенные сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль способны уменьшать образование нежелательного фиброза у субъекта и, в частности, уменьшать или ингибировать такое образование фиброза в ишемической ткани, в частности ишемической сердечной ткани.

Фиброзные заболевания включают широкий спектр патологических состояний, потенциально влияющих на различные органы и ткани в организме субъекта. Эти патологические состояния характеризуются повышенной экспрессией генов, кодирующих матричные белки, и возникающий фиброз нарушает нормальную структуру пораженного органа или ткани, что в конечном итоге приводит к их дисфункции или недостаточности.

Варианты осуществления эффективны при лечении, ингибировании или предупреждении фиброза миокарда с точки зрения лечения, ингибирования или предупреждения побочных эффектов фиброзных

заболеваний путем уменьшения количества образованного фиброза в сердце или сердечной ткани. Таким образом, сульфат декстрана в соответствии с вариантами осуществления эффективен при лечении, ингибировании или предупреждении фиброза миокарда, оказывающего вредное или повреждающее воздействие.

Соответственно один аспект вариантов осуществления относится к сульфату декстрана или его фармацевтически приемлемой соли, представленным в виде, пригодном для системного введения субъекту для применения при лечении, ингибировании или предупреждении фиброза миокарда у субъекта.

В свете US 5605938 было крайне неожиданным, что системно доставленный сульфат декстрана может значительно уменьшать образование фиброза, оказывающего вредное воздействие. В данном патентном документе раскрыто, что вводимый локально сульфат декстрана может ингибировать фиброз и образование рубцов на фоне, среди прочего, имплантации различных имплантатов. Было высказано предположение, что отрицательные заряды полимера сульфата декстрана были вовлечены в ингибирование инвазий различных клеток на участке имплантации. Для того чтобы такие отрицательные заряды обладали эффектом ингибирования клеточных инвазий, сульфат декстрана необходимо вводить локально на желаемом участке. Соответственно в US 5605938 имплантат преимущественно покрывали сульфатом декстрана.

Экспериментальные данные, представленные в настоящем документе, показывают, что сульфат декстрана в соответствии с вариантами осуществления можно вводить системно, т.е. не локально на целевом участке, и при этом он будет оказывать желаемый противоишемный эффект.

Сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль представлены в виде, пригодном для системного введения субъекту. В одном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль представлены в виде, пригодном для парентерального введения в качестве примера системного введения для достижения системного эффекта у субъекта.

Примеры путей парентерального введения включают внутривенное (i.v.) введение, внутриартериальное введение, внутримышечное введение, внутримозговое введение, интрацеребровентрикулярное введение, интратекальное введение и подкожное (s.c.) введение.

В одном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль предпочтительно представлены в виде, пригодном для внутривенного (i.v.) или подкожного (s.c.) введения субъекту. Соответственно внутривенное и подкожное введения являются предпочтительными примерами системного введения сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли.

Известно, что при пероральном введении сульфат декстрана индуцирует колит и фиброз кишечника у мышей, крыс, хомяков и морских свинок. Соответственно системное введение в контексте настоящего документа предпочтительно исключает пероральное введение сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли. В конкретном варианте осуществления системное введение сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли представляет собой системное введение, отличное от перорального, предпочтительно отличное от энтерального введения.

В одном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль представлены в форме водного раствора для инъекций, предпочтительно в форме водного раствора для внутривенных или подкожных инъекций. Таким образом, сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль в соответствии с вариантами осуществления предпочтительно представлены в форме водного раствора для инъекций с выбранным растворителем или эксципиентом. Растворитель предпочтительно представляет собой водный растворитель и, в частности, буферный раствор. Неограничивающим примером такого буферного раствора является буфер лимонной кислоты, такой как буфер моногидрата лимонной кислоты (САМ) или фосфатный буфер. Например, сульфат декстрана в соответствии с вариантами осуществления может быть растворен в физиологическом растворе, таком как 0,9% раствор NaCl, и затем необязательно забуферирован 75 мМ САМ, и рН доведен до значения приблизительно 5,9 с применением гидроксида натрия. Также возможно применение не забуференных растворов, включая водные растворы для инъекций, такие как физиологический раствор, т.е. NaCl (водный). Кроме того, могут быть применены другие буферные системы, отличные от САМ и фосфатных буферов, в случае если требуется забуференный раствор.

Сульфат декстрана предпочтительно представляет собой так называемый низкомолекулярный сульфат декстрана.

В дальнейшем ссылка на (среднюю) молекулярную массу и содержание серы сульфата декстрана также относится к любой фармацевтически приемлемой соли сульфата декстрана. Следовательно, фармацевтически приемлемая соль сульфата декстрана предпочтительно имеет среднюю молекулярную массу и содержание серы, как описано в следующих вариантах осуществления.

Сульфат декстрана представляет собой сульфатированный полисахарид и, в частности, сульфатированный глюкан, т.е. полисахарид, образованный молекулами глюкозы. Средняя молекулярная масса, в контексте данного документа, указывает на то, что молекулярная масса отдельных сульфатированных полисахаридов может отличаться от этой средней молекулярной массы, но средняя молекулярная масса представляет собой среднее значение молекулярной массы сульфатированных полисахаридов. Это также подразумевает естественное распределение молекулярных масс вокруг этой средней молекулярной мас-

сы для образца сульфата декстрана.

Среднюю молекулярную массу (M_w) сульфата декстрана обычно определяют с применением косвенных методов, таких как гель-проникающая хроматография, методы, основанные на рассеянии света или измерении вязкости. Определение средней молекулярной массы с применением таких косвенных методов будет зависеть от ряда факторов, включая выбор колонки и элюента, скорость потока, способ калибровки и т.д.

Средняя молекулярная масса (M_w): $\frac{\sum M_i^2 N_i}{\sum M_i N_i}$, характерна для методов, чувствительных к размеру молекул, а не численному значению, например методов, основанных на рассеянии света и методов эксклюзионной хроматографии (SEC). Если предположить нормальное распределение, то по обе стороны от M_w будут расположены одни и те же значения массы, т.е. общая масса молекул сульфата декстрана в образце с молекулярной массой ниже M_w равна общей массе молекул сульфата декстрана в образце с молекулярной массой выше M_w .

В одном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль предпочтительно имеют среднюю молекулярную массу 40000 Да или менее, более предпочтительно 20000 Да или менее и, в частности, 10000 Да или менее.

Сульфат декстрана с молекулярной массой более 10000 Да обычно имеет более слабый эффект в отношении токсического воздействия по сравнению с сульфатом декстрана, имеющим меньшую среднюю молекулярную массу. Это означает, что максимальная доза сульфата декстрана, которую можно безопасно вводить субъекту, ниже для более крупных молекул сульфата декстрана (более 10000 Да) по сравнению с молекулами сульфата декстрана, имеющими среднюю молекулярную массу в пределах предпочтительного диапазона. Как следствие, такие крупные молекулы сульфата декстрана менее подходят для клинических применений, когда сульфат декстрана должен быть системно введен субъектам *in vivo*.

В одном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль имеют среднюю молекулярную массу от 2000 до 10000 Да. В другом варианте осуществления средняя молекулярная масса составляет от 2500 до 10000 Да. В конкретном предпочтительном варианте осуществления средняя молекулярная масса составляет от 3000 до 10000 Да.

В необязательном, но предпочтительном варианте осуществления менее 40% молекул сульфата декстрана имеют молекулярную массу ниже 3000 Да, предпочтительно менее 35%, например менее 30% или менее 25% молекул сульфата декстрана имеют молекулярную массу ниже 3000 Да. Дополнительно или альтернативно, менее 20% молекул сульфата декстрана имеют молекулярную массу выше 10000 Да, предпочтительно менее 15%, например менее 10 или менее 5% молекул сульфата декстрана имеют молекулярную массу выше 10000 Да. Таким образом, в конкретном варианте осуществления сульфат декстрана имеет существенно узкое распределение молекулярной массы вокруг средней молекулярной массы.

В конкретном варианте осуществления средняя молекулярная масса сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли составляет от 3500 до 9500 Да, например от 3500 до 8000 Да.

В другом конкретном варианте осуществления средняя молекулярная масса сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли составляет от 4500 до 7500 Да.

В дополнительном конкретном варианте осуществления средняя молекулярная масса сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли составляет от 4500 до 5500 Да.

Таким образом, в текущем предпочтительном варианте осуществления средняя молекулярная масса сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли предпочтительно составляет приблизительно 5000 Да или по меньшей мере по существу близка к 5000 Да, например 5000 ± 500 Да, например 5000 ± 400 Да, предпочтительно 5000 ± 300 Да или 5000 ± 200 Да, например 5000 ± 100 Да. Следовательно, в одном варианте осуществления средняя молекулярная масса сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли составляет 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4 или 5,5 кДа.

В конкретном варианте осуществления средняя молекулярная масса сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли, как указано выше, представляет собой среднюю M_w и предпочтительно определяется методами гель-проникающей хроматографии, эксклюзионной хроматографии, методами, основанными на рассеянии света, или методами, основанными на измерении вязкости.

В конкретном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль состоят, в среднем, из приблизительно или немного более чем 5 единиц глюкозы и имеют среднее количество сульфата на единицу глюкозы по меньшей мере 2,0, например по меньшей мере 2,5.

Сульфат декстрана представляет собой полианионное производное декстрана и содержит серу. Среднее содержание серы для сульфата декстрана в соответствии с вариантами осуществления предпочтительно составляет от 15 до 20% и более предпочтительно приблизительно 17%, что обычно соответствует приблизительно или по меньшей мере двум сульфатным группам на глюкозильный остаток. В конкретном варианте осуществления содержание серы в сульфате декстрана предпочтительно равно или по меньшей мере близко к максимально возможной степени содержания серы в соответствующих молекулах декстрана.

В конкретном варианте осуществления сульфат декстрана в соответствии с вариантами осуществ-

ления имеет среднечисленную молекулярную массу (M_n), определяемую с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР), в интервале от 1850 до 2000 Да.

В другом конкретном варианте осуществления сульфат декстрана в соответствии с вариантами осуществления имеет в среднем 5,1 единиц глюкозы и среднее количество сульфата на единицу глюкозы от 2,6 до 2,7, что обычно приводит к тому, что среднечисленная молекулярная масса (M_n), определяемая с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР), составляет от 1850 до 2000 Да.

Среднечисленная молекулярная масса (M_n): $\frac{\sum M_i N_i}{\sum N_i}$, обычно определяется с помощью анализа концевых групп, например ЯМР-спектроскопии или хроматографии. Если предположить нормальное распределение, то по обе стороны от M_n будет расположено одно и то же количество молекул сульфата декстрана, т.е. количество молекул сульфата декстрана в образце с молекулярной массой ниже M_n равно числу молекул сульфата декстрана в образце с молекулярной массой выше M_n .

Сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль, которые могут быть применены в соответствии с вариантами осуществления, описаны в WO 2016/076780.

Сульфат декстрана в соответствии с вариантами осуществления может быть представлен в виде фармацевтически приемлемой соли сульфата декстрана. Такие фармацевтически приемлемые соли включают, например, натриевую или калиевую соль сульфата декстрана.

Подходящие диапазоны доз для сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли в соответствии с вариантами осуществления могут варьироваться в зависимости от размера и массы субъекта, состояния, в отношении которого субъект получает лечение, и других факторов. В частности, для людей диапазон возможных доз может составлять от 1 мкг/кг до 150 мг/кг массы тела, предпочтительно от 10 мкг/кг до 100 мг/кг массы тела.

В предпочтительных вариантах осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль представлены в виде, пригодном для системного введения в дозировке в диапазоне от 0,05 до 50 мг/кг массы тела субъекта, предпочтительно от 0,05 или 0,1 до 40 мг/кг массы тела субъекта и более предпочтительно от 0,05 или 0,1 до 30 мг/кг, или от 0,1 до 25 мг/кг, или от 0,1 до 15 мг/кг, или от 0,1 до 10 мг/кг массы тела субъекта.

Системное введение сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли в соответствии с вариантами осуществления предпочтительно начинают как можно быстрее после возникновения события или состояния, которые в противном случае могут вызывать фиброз и, в частности, фиброз, оказывающий вредное воздействие, у субъекта. Например, фиброз часто возникает после повреждения или другого состояния, вызывающего ишемию или сердечно-сосудистое заболевание у субъекта. В таком случае, системное введение сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли предпочтительно выполняют как можно быстрее после обнаружения или диагностики повреждения или другого состояния, вызывающего ишемию или сердечно-сосудистое заболевание.

Системное введение сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли необязательно должно ограничиваться лечением настоящего патологического состояния, но может альтернативно или в дополнение быть применено для профилактики. Другими словами, сульфат декстрана в соответствии с вариантами осуществления может быть системно введен субъекту, который подвергнется медицинской процедуре, такой как операция, которая может стать причиной или запустить фиброз миокарда.

Сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль в соответствии с вариантами осуществления могут быть системно введены однократным введением, например в виде однократной болюсной инъекции. Эта болюсная доза может быть введена довольно быстро пациенту, но более эффективно введение в течение продолжительного периода, так чтобы раствор сульфата декстрана вводили пациенту в течение нескольких минут, например в течение от 5 до 10 мин или более.

Альтернативно, сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль в соответствии с вариантами осуществления могут быть системно введены многократным введением, т.е. по меньшей мере дважды в течение периода лечения. Таким образом, сульфат декстрана в соответствии с вариантами осуществления может быть системно введен один или несколько раз в день, один или несколько раз в неделю, один или несколько раз в месяц в качестве иллюстративных примеров.

В конкретном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль представлены в виде, пригодном для многократного системного введения, например от 2 до 5 раз, предпочтительно 3 раза в неделю в течение нескольких последующих недель, например по меньшей мере от 2 до 5, предпочтительно по меньшей мере 3 последующих недель.

В одном варианте осуществления системное введение сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли может быть начато как можно быстрее после события или состояния, вызывающего фиброз, оказывающий вредное воздействие, у субъекта, например, как можно скорее после ишемического события или инфаркта миокарда, как указано выше. Альтернативно, системное введение может быть начато в некоторый период после события или состояния, вызывающего фиброз, оказывающий вредное воздействие. Причиной такой задержки системного введения является то, что процесс фиброза обычно занимает период времени после возникновения события или состояния, вызывающего фиброз. Например, системное введение сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли может быть

начато в течение первой недели или через неделю после события или состояния, вызывающего фиброз, оказывающий вредное воздействие, у субъекта.

В одном варианте осуществления субъект представляет собой млекопитающее, предпочтительно примата и более предпочтительно человека. Хотя варианты осуществления, в частности, направлены на лечение, ингибирование или предупреждение фиброза миокарда у людей, варианты осуществления могут также или альтернативно быть применены в ветеринарии. Неограничивающий пример животных включает приматов, кошек, собак, свиней, лошадей, мышей, крыс.

В одном варианте осуществления субъект страдает заболеванием, состоянием или расстройством, вызывающим фиброз миокарда и, в частности, фиброз, оказывающий пагубные, вредные или повреждающие воздействия. Такой фиброз, оказывающий пагубные, вредные или повреждающие воздействия, вызывает нарушение нормальной структуры пораженного органа или ткани, что в конечном итоге приводит к их дисфункции или недостаточности. Это означает, что фиброз, оказывающий пагубные, вредные или повреждающие воздействия, является патологическим состоянием или патологическим фиброзом избыточного образования волокнистой ткани, которое будет оказывать негативное и вредное воздействие на орган или ткань, где имеет место фиброз.

Соответственно в одном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемую соль применяют для лечения, ингибирования или предупреждения патологического фиброза, вызывающего избыточное образование волокнистой ткани в сердце или сердечной ткани субъекта, приводящее к дисфункции органа или ткани.

В конкретном варианте осуществления заболевание, состояние или расстройство, вызывающее фиброз, выбрано из группы, состоящей из эндомиокардиального фиброза, фиброза после инфаркта миокарда или фиброза предсердий.

Таким образом, сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемую соль применяют для лечения, ингибирования или предупреждения фиброзного компонента при любом из вышеупомянутых заболеваний, состояний или расстройств. Соответственно сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль не обязательно лечат, ингибируют или предупреждают заболевание, состояние или расстройство как таковое, но уменьшают процесс фиброза и, следовательно, количество фиброзной ткани, возникающей в результате заболевания, состояния или расстройства.

В одном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемую соль, представленные в виде, пригодном для системного введения, применяют для лечения, ингибирования или предупреждения фиброза миокарда у субъекта, страдающего фиброзом миокарда.

Патологическое накопление внеклеточного матрикса (волокнистая соединительная ткань) является ключевым фактором появления сердечной недостаточности (СН) у пациентов с диабетом и без диабета, что приводит к постепенному утолщению стенок желудочков и ухудшению сократимости сердца. Сердечная недостаточность представляет собой глобальную проблему со здоровьем, которая чаще всего проявляется у пациентов уже перенесших инфаркт миокарда (ИМ). Ремоделирование сердца, вызванное фиброзом, наблюдается как при инфаркте миокарда, так и без него, признано основным фактором, определяющим развитие нарушения функции желудочков, что приводит к неблагоприятным прогнозам.

Соответственно фиброз может встречаться в сердце (фиброз миокарда) в виде, например, эндомиокардиального фиброза, фиброза после инфаркта миокарда или фиброза предсердий. Фиброз часто возникает вследствие ишемии на участке в сердечной мышце, что может иметь серьезные и негативные последствия в виде утолщения стенки сердца, ухудшения сократимости и ремоделирования сердца.

В одном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемая соль представлены в виде, пригодном для лечения, ингибирования или предупреждения фиброза миокарда у субъекта, страдающего инфарктом миокарда или другим ишемическим состоянием сердца, например ишемией миокарда.

В конкретном варианте осуществления сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемую соль применяют для лечения, ингибирования или предупреждения интерстициального фиброза в области инфаркта сердца субъекта.

Экспериментальные данные, представленные в настоящем документе, показывают, что сульфат декстрана обладает противофиброзным эффектом в модели инфаркта миокарда. Сульфат декстрана приводил к значительно меньшему фиброзу миокарда и, в частности, значительно меньшему интерстициальному фиброзу в области инфаркта испытуемых субъектов.

Фиброз может также возникать при трансплантации сердца или сердечной ткани у субъекта. Сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемую соль могут соответственно системно вводить субъекту, который будет подвергнут или недавно перенес трансплантацию сердца или сердечной ткани. Неограничивающие примеры такой трансплантированной сердечной ткани включают клапаны сердца и т.д.

Сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемую соль также могут системно вводить субъекту при имплантации медицинского устройства, такого как кардиостимулятор, стент, протез, в или применительно к сердцу субъекта. Таким образом, патологический фиброз миокарда может также возникать после имплантации медицинских устройств.

Другой аспект вариантов осуществления относится к применению сульфата декстрана или его фар-

мацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства, представленного в виде, пригодном для системного введения для лечения, ингибирования или предупреждения фиброза миокарда у субъекта.

Дополнительный аспект вариантов осуществления относится к способу лечения, ингибирования или предупреждения фиброза миокарда у субъекта. Способ включает системное введение субъекту сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли.

Примеры

Оценка противоишемического эффекта сульфата декстрана в модели инфаркта миокарда.

В настоящем исследовании оценивали влияние сульфата декстрана на ингибирование или уменьшение фиброза в модели инфаркта миокарда (ИМ) крысы.

Материалы и методы.

Модель инфаркта миокарда у крыс включала необратимое лигирование левой коронарной артерии интрамуральным швом. Операция вызвала обструкцию кровотока, а затем тяжелое ишемическое повреждение и инфаркт сердечной стенки.

В общем 120 самок крыс SD, имеющих средний вес тела 178 г в начале исследования (сутки 0), были получены от Harlan Laboratories, Израиль. Животных кормили неограниченно коммерчески доступным кормом для грызунов (Teklad Certified Global 18% белковая диета). Животные имели свободный доступ к автоклавированной и подкисленной питьевой воде (pH от 2,5 до 3,5), полученной из городского обеспечения. Животных размещали в стандартных лабораторных условиях, воздух кондиционировали и фильтровали (HEPA F6/6) с подходящей подачей свежего воздуха (минимум 15 воздухообменов/ч). Животных содержали в климатически контролируемой среде при температуре от 20 до 24°C и относительной влажности от 30 до 70%, с 12-часовым циклом дня и 12-часовым циклом ночи.

Сульфат декстрана со средней молекулярной массой от 5 до 7 кДа растворяли в 0,9% NaCl (физиологический раствор) (Teva Pharmaceutical Industries Ltd) для подкожного введения в дозах 15 мг/кг или 3 мг/кг.

В день операции животных анестезировали комбинацией 90 мг/кг кетамина и 10 мг/кг ксилазина, и животных интубировали и механически вентилировали. Для того чтобы индуцировать ИМ под анестезией, грудную клетку крысы вскрывали торакотомией с левой стороны, перикард удаляли и проксимальную левую коронарную артерию необратимо лигировали интрамуральным швом (Circulation 2008, 117: 1388-1396). Через 2 ч после операции каждому животному во всех группах лечения подкожно вводили сульфат декстрана или солевой растворитель в соответствии с таблицей.

Распределение групп

Группа	Лечение	Объем	Подкожное введение
1М (n=23)	Контроль растворителем	0,5 мл/кг	3 раза в неделю, начиная с суток 1 в течение 3 недель
2М (n=23)	Сульфат декстрана 15 мг/кг		3 раза в неделю, начиная с суток 1 в течение 3 недель
3М (n=26)	Сульфат декстрана 15 мг/кг		3 раза в неделю, начиная с суток 1 в течение 1 недели
4М (n=21)	Сульфат декстрана 15 мг/кг		Однократная доза в сутки 1
5М (n=27)	Сульфат декстрана 3 мг/кг		3 раза в неделю, начиная с суток 1 в течение 1 недели

На сутки 36 после индукции ИМ крыс умерщвляли путем ингаляции CO₂, а сердца собирали и фиксировали в забуференном растворе формалина. Обычную заливку в парафин выполняли с применением стандартных гистологических процедур.

Для оценки фиброза применяли окраску трихром по Массону. Сердца разделяли поперечно на пять срезов и заливали парафином. Пять парафиновых срезов толщиной 5 мкм были выполнены на микротоме Lika. Все срезы окрашивали в соответствии со стандартным протоколом окраски трихром по Массону. Коллагеновые волокна окрашивались в синий цвет, ядра окрашивались в черный цвет, а фон окрашивался в красный цвет. Срезы визуализировали в компьютерной системе обработки изображений, а размер инфаркта отмечали и рассчитывали с применением программы ImageJ. Для каждого животного проанализировали пять срезов, включая один, содержащий лигатуру, и среднее значение всех срезов для каждого сердца рассматривали как одно значение для статистического анализа.

Статистический анализ выполняли с помощью двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA для повторных измерений, с последующим апостериорным тестом Бонферрони.

Результаты анализа фиброза миокарда.

Интерстициальный фиброз в краевой области инфаркта оценивали вручную в срезах сердца, окрашенных способом трихром по Массону. Площадь интерстициального фиброза рассчитывали, как процент от общей площади левого желудочка. Для каждой крысы проанализировали пять поперечных срезов. Степень интерстициального фиброза в краевой зоне инфаркта представлена на фиг. 1.

Степень интерстициального фиброза была значительно ниже в группе 2М, получавшей сульфат декстрана ($11,9 \pm 0,9\%$), по сравнению с контрольной группой 1М, получавшей растворитель ($22,7 \pm 1,9\%$). Степень интерстициального фиброза была также ниже в других группах 3М-5М, получавших сульфат декстрана, хотя разница не была значимой.

Эффект сульфата декстрана, по-видимому, в первую очередь заключается в том, что фиброз развивается после ИМ. Соответственно группа лечения 2М, включающая лечение сульфатом декстрана в течение 3 недель, показала значительное уменьшение фиброза, тогда как эффект в других группах (3М-5М), получавших менее длительное лечение, был менее выраженным. Это, по-видимому, согласуется с патогенезом фиброза в модели инфаркта миокарда крысы (American Journal of Pathology 1995, 147(2): 325-338). В этой статье раскрыто, что процесс фиброза в инфарктной сердечной ткани регулируется иначе, чем процесс фиброза в кожных ранах и в неинфарктных областях сердца.

Фиг. 2А-2D представляют собой изображения степени фиброза у двух животных из группы 1М (фиг. 2А и 2В) и двух животных из группы 2М (фиг. 2С и 2D). Фиброзная область, окрашенная в синий цвет, обозначена стрелками на чертежах.

Таким образом, результаты показали, что лечение сульфатом декстрана значительно уменьшало фиброз через пять недель после инфаркта по сравнению с контрольной группой, получавшей растворитель. Таким образом, сульфат декстрана способен уменьшать фиброгенез после инфаркта миокарда.

Варианты осуществления, описанные выше, следует рассматривать в качестве нескольких иллюстративных примеров настоящего изобретения. Специалистам в данной области техники будет понятно, что различные варианты, комбинации и изменения могут быть внесены в варианты осуществления без выхода за пределы объема настоящего изобретения. В частности, различные решения в различных вариантах осуществления могут быть объединены в других конфигурациях, где это технически возможно. Однако объем настоящего изобретения определен прилагаемой формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения, ингибирования или предупреждения фиброза миокарда у субъекта, включающий внутривенное или подкожное введение водного раствора для инъекций, содержащего сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемую соль и водный растворитель, указанному субъекту.

2. Способ по п.1, где указанный субъект перенес инфаркт миокарда или ишемию миокарда.

3. Способ по п.1 или 2, где средняя молекулярная масса сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли составляет 10000 Да или ниже.

4. Способ по п.3, где средняя молекулярная масса сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли составляет от 2000 до 10000 Да, предпочтительно от 3000 до 10000 Да, более предпочтительно от 3500 до 9500 Да, например от 4500 до 7500 Да, и предпочтительно от 4500 до 5500 Да.

5. Способ по п.3, где среднечисленная молекулярная масса (M_n) сульфата декстрана или его фармацевтически приемлемой соли, определяемая с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР), составляет от 1850 до 2000 Да.

6. Способ по п.5, где количество единиц глюкозы в сульфате декстрана или в его фармацевтически приемлемой соли в среднем составляет 5,1 и среднее количество сульфата на единицу глюкозы составляет от 2,6 до 2,7.

7. Способ по любому из пп.1-6, где среднее содержание серы в сульфате декстрана или в его фармацевтически приемлемой соли составляет от 15 до 20%.

8. Способ по п.7, где среднее содержание серы в сульфате декстрана или его фармацевтически приемлемой соли составляет приблизительно 17%.

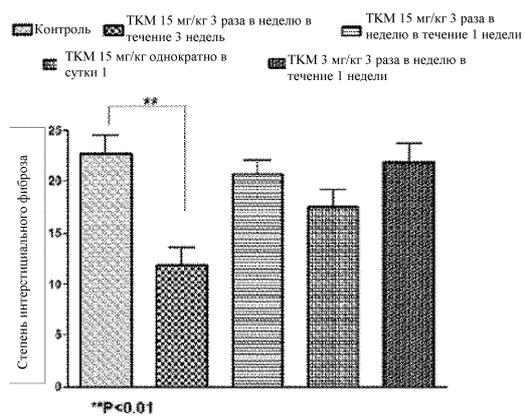
9. Способ по любому из пп.1-8, где водный раствор для инъекций, содержащий сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемую соль и водный растворитель, вводят несколько раз в неделю в течение нескольких последующих недель.

10. Способ по любому из пп.1-9, где водный раствор для инъекций, содержащий сульфат декстрана или его фармацевтически приемлемую соль, вводят в дозировке в диапазоне от 0,05 до 50 мг/кг массы тела указанного субъекта.

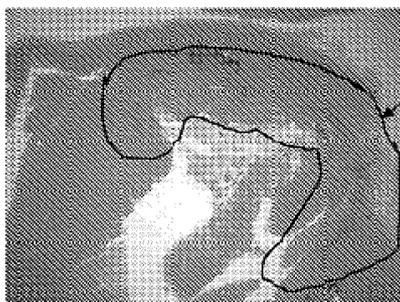
11. Способ по любому из пп.1-10, где указанный субъект страдает заболеванием или расстройством, выбранным из группы, состоящей из эндомиокардиального фиброза, фиброза после инфаркта миокарда или фиброза предсердий.

12. Способ по любому из пп.1-11, предназначенный для лечения, ингибирования или предупреждения интерстициального фиброза в области инфаркта сердца указанного субъекта.

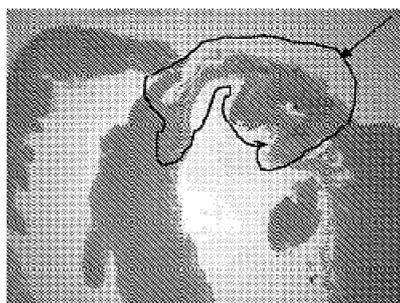
13. Способ по любому из пп.1-12, где фармацевтически приемлемая соль сульфата декстрана представляет собой натриевую соль.



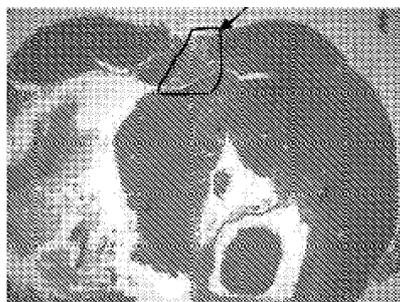
Фиг. 1



Фиг. 2А

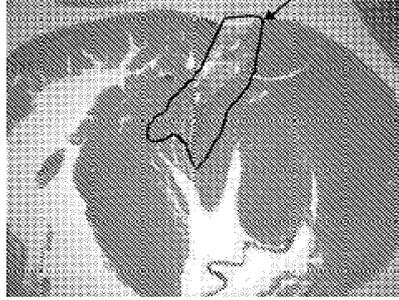


Фиг. 2В



Фиг. 2С

034313



Фиг. 2D

