

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В  
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРОМ О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация  
Интеллектуальной Собственности  
Международное бюро

(43) Дата международной публикации  
04 июля 2019 (04.07.2019)



(10) Номер международной публикации  
WO 2019/132729 A2

- (51) Международная патентная классификация : SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.  
А 61К 31/405 (2006.01)
- (21) Номер международной заявки : PCT/RU20 18/000884
- (22) Дата международной подачи : (84) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 27 декабря 2018 (27.12.2018)
- (25) Язык подачи : Русский
- (26) Язык публикации : Русский
- (30) Данные о приоритете :  
2017146694 28 декабря 2017 (28.12.2017) RU
- (71) Заявитель : ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТ-  
ВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ФОРБОС " (ООО "ФОР -  
БОС ") (OBSHESTVO S OGRANICHENNOI  
OTVETSTVENNOSTJU "FORBOS" ("FORBOS"))  
[RU/RU]; территория инновационного центра Сколко -  
во, ул. Нобеля , 7, часть помещения 51 Москва , 143026,  
Moscow (RU).  
Опубликована :  
— без отчёта о международном поиске и с повторной  
публикацией по получении отчёта (правило 48.2(g))
- (72) Изобретатели : ШВАРЦ , Джозеф (SCHWARZ,  
Joseph); 10 Тангрин корт Онтарио , Торонто , М2М  
4В9, Ontario, Toronto (CA). ВАЙССПАПИР , Майкл  
(WEISSPAPIR, Michael); 17 Овербрук плейс Онтарио ,  
Торонто , М3Н 4Р1, Ontario, Toronto (CA). ШМЫКО -  
ВА , Наталья Анатольевна (SCHMYKOVA, Natalya  
Anatolyevna); ул. Сибирская ,83, кв. 81 Томск , 634021,  
Tomsk (RU). СТАНКЕВИЧ , Сергей Александрович  
(STANKEVICH, Sergey Aleksandrovich); ул. Иркут -  
ский тракт , 124, кв. 40 Томск , 634062, Tomsk (RU).  
ХАЗАНОВ , Вениамин Абрамович (KHAZANOV,  
Veniamin Abramovich); ул. Студенческая , 8, кв. 22  
Томск , 634034, Tomsk (RU).
- (81) Указанные государства (если не указано иначе, для  
каждого вида национальной охраны) : AE, AG, AL, AM,  
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,  
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,  
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,  
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP,  
KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,  
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,  
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,

(54) Title: INDOMETHACIN METHYL ESTER-BASED PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS AND USE THEREOF AS ANTI-INFLAMMATORY AGENTS

(54) Название изобретения : ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ МЕНТИЛОВОГО ЭФИРА ИНДОМЕТАЦИНА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ

(57) Abstract: The invention relates to indomethacin methyl ester-based pharmaceutical compositions that can be used as anti-inflammatory agents for treating acute and chronic inflammatory diseases. The present pharmaceutical compositions exhibit anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic action, and are characterized by an absence of an ulcerogenic side effect in therapeutic doses.

(57) Реферат : Изобретение касается фармацевтических композиций на основе метилового эфира индометацина , которые могут быть использованы в качестве противовоспалительных средств для лечения острых и хронических воспалительных заболеваний . Фармацевтические композиции обладают противовоспалительным , анальгетическим и жаропонижающим дей-  
ствие и отличаются отсутствием побочного ulcerогенного действия в терапевтических дозах .



WO 2019/132729 A2

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ МЕНТИЛОВОГО  
ЭФИРА ИНДОМЕТАЦИНА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ  
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ

- 5 Область техники , к которой относится изобретение
- Изобретение относится к области медицины и касается противовоспалительных средств , в частности фармацевтических композиций на основе производного индометацина , которые могут быть использованы для лечения острых и хронических воспалительных заболеваний .
- 10 Предшествующий уровень техники
- Наиболее близким к заявляемому средству прототипом является индометацин (1-(4-хлоробензоил )-5-метокси -2-метил -1Н -индол -3-уксусная кислота ) - известное нестероидное противовоспалительное средство (НПВС ), которое оказывает мощное противовоспалительное , обезболивающие и жаропонижающее действие . Индометацин широко используется в виде капсул , таблеток , свечей , инъекций и других лекарственных форм системного действия для лечения артритов и других воспалительных и дегенеративных заболеваний опорно -двигательного аппарата , для снятия болевого синдрома различной этиологии , в комплексной терапии ряда инфекционно - воспалительных и онкологических заболеваний .
- 15
- 20 Однако индометацин отличается высокой токсичностью (ЛД<sub>50</sub> для крыс - менее 15 мг/кг при пероральном введении ), а при системном применении вызывает серьезные системные побочные эффекты . В частности , индометацин оказывает так называемое ulcerогенное действие - сильно раздражает слизистые оболочки органов желудочно - кишечного тракта (ЖКТ ), вызывая язвообразование и опасные кровотечения .
- 25
- Ульцерогенное действие непосредственно связано с особенностями механизма действия индометацина и других НПВС . Индометацин является ингибитором обеих изоформ фермента циклооксигеназы (ЦОГ -1 и ЦОГ -2), ответственных за синтез простагландинов . При достижении определенных концентраций индометацина в крови нарушается синтез простагландинов как в очаге воспаления , так и в слизистой желудка , что приводит к
- 30 образованию эрозий и язв .
- Для снижения желудочно -кишечной токсичности индометацина изучались различные его производные . Были синтезированы многочисленные эфиры , амиды , основания Манниха и некоторые другие гидролизуемые вещества . Такое модифицирование в некоторых случаях снижало ульцерогенный эффект или приводило
- 35 к изменению селективности ингибирования циклооксигеназы [1; 2]. В патенте [3]

предложено использование фармацевтического состава, содержащего ментилловый эфир индометацина (МЭИ) в качестве офтальмологического средства местного применения для лечения воспалительных заболеваний глаз. В работе [4] также описан синтез ряда производных индометацина, включая его ментилловый эфир, и их использование в качестве НПВС. Эффективность МЭИ связана с его гидролизом в организме и образованием свободного индометацина, который обладает сильным противовоспалительным действием. Однако, до настоящего времени не разработаны лекарственные средства системного действия на основе производных индометацина, включая МЭИ, которые бы сочетали высокую противовоспалительную активность с безопасностью применения, в частности с низкой желудочно-кишечной токсичностью. Одна из причин этого заключается в сохранении стойкой зависимости между силой противовоспалительного действия и выраженностью побочного ulcerогенного действия. В случае с МЭИ вторая проблема заключается в низкой биодоступности данного вещества: при пероральном введении МЭИ, в отличие от индометацина, практически не всасывается в желудочно-кишечном тракте. Поэтому для достижения системного противовоспалительного эффекта необходимо создать специальные фармацевтические композиции, которые бы обеспечивали биодоступность МЭИ с достижением эффективных концентраций индометацина в крови.

Сущность изобретения

Задача, на решение которой направлено изобретение, заключается в создании фармацевтических композиций на основе МЭИ, которые бы обеспечивали его биодоступность и достижение в крови эффективных концентраций индометацина, обеспечивающих противовоспалительную активность при отсутствии (или слабой выраженности) побочного ulcerогенного действия, что позволило бы применять фармацевтические композиции на основе МЭИ в качестве эффективного и безопасного НПВС системного действия.

Поставленная задача решается путем создания фармацевтических композиций на основе МЭИ, которые обеспечивают его высокую биодоступность, противовоспалительную активность при отсутствии побочного ulcerогенного действия. Фармацевтические композиции содержат в своем составе: в качестве активного ингредиента - МЭИ (5-Метил-2-(пропан-2-ил)циклогексан-1-ил){[2-метил-5-метокси-7-(4-хлорбензоил)-1H-индол-3-ил]ацетат}) и различные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества.

В одном из вариантов фармацевтическая композиция включает в состав липосомированный МЭИ (липосомы, загруженные МЭИ). Для получения

липосомированного МЭИ в качестве структурообразующего компонента липосом использовали липиды, предпочтительно фосфолипиды, такие как лецитин, например, гидрогенизированный соевый лецитин в форме порошка или лецитин в жидкой форме. В последнем случае требовалось добавление солюбилизаторов для образования пролипосом, например, глицерина, спирта этилового или другого фармацевтически приемлемого солюбилизатора. В качестве растворителя (молекулярного носителя) для МЭИ использовали фармацевтически приемлемые неполярные растворители, такие как триглицериды, в том числе среднецепочечные триглицериды каприловой и каприновой кислот. Дополнительно для получения липосом, загруженных МЭИ, использовали гидрофобные антиокислители, такие как аскорбил пальмитата, а также осмотические агенты, такие как мальтодекстрин, и другие фармацевтически приемлемые ингредиенты, такие как токоферола ацетат, ретинола пальмитат, красное пальмовое масло, коэнзим Q10 и иные ингредиенты, необходимые для получения стабильной фармацевтической композиции на основе липосомированного МЭИ.

В других вариантах фармацевтическая композиция представляет собой раствор или дисперсную систему на основе МЭИ и вспомогательных веществ: неполярных растворителей, таких как моно-, ди- и триглицериды жирных кислот и других фармацевтически приемлемых неполярных растворителей; спиртов, воды и других полярных растворителей; эмульгаторов, поверхностно-активных веществ, таких как лецитины, полисорбаты и других фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, необходимых для получения стабильной дисперсной системы или раствора, переходящего в водном растворе и в биологических средах в стабильную дисперсную систему.

Фармацевтические композиции на основе МЭИ могут представлять собой суппозитории, например ректальные, содержащие в качестве основы для получения суппозитория полиэтиленгликоли, такие как ПЭГ 400, ПЭГ (Макрогол) 1500, 4000 или 6000, или твердые жиры (триглицериды жирных кислот), такие как витепсол или суппосир.

Фармацевтические композиции на основе МЭИ могут применяться в составе лекарственных форм для энтерального применения, в том числе - для перорального и ректального введения, или для парентерального применения, в том числе - путем нанесения на кожу и слизистые оболочки организма или путем инъекций, например, внутривенных, подкожных, внутримышечных, в полость сустава или иным способом, оказывающим системное действие, а также для местного применения, за исключением глазных капель и прочих офтальмологических средств. Фармацевтические композиции

на основе МЭИ могут применяться в составе жидких лекарственных форм, включая растворы, суспензии и эмульсии, мягких лекарственных форм, включая мази, суппозитории и пластыри, твердых лекарственных форм, включая таблетки, капсулы, и других лекарственных форм, обеспечивающих доставку МЭИ и продукта его

5 метаболизма - индометацина в зону воспаления для лечения острых и хронических воспалительных заболеваний.

Полученные фармацевтические композиции на основе МЭИ изучены на моделях *in vitro* и *in vivo* для оценки биодоступности и фармакокинетического профиля в крови, а также для оценки противовоспалительной активности и побочного ulcerогенного

10 действия.

#### Пример 1

Для получения фармацевтической композиции на основе липосомированного МЭИ в виде эмульсии использовали следующие ингредиенты (в расчете 1 терапевтическую дозу МЭИ):

15 1) Субстанция МЭИ (порошок) - от 10 до 100 мг;

2) Лецитин 60% - от 10 до 100 мг;

Другие ингредиенты в количестве, необходимом для получения стабильной липосомальной эмульсии, включая:

3) Спирт этиловый 96%;

20 4) Глицерин фармацевтический;

5) Мальтодекстрин порошок;

6) Каррагинан GS;

7) Калия сорбат;

8) Натрия бензоат;

25 9) Антиокислитель «Гриндокс»;

10) Вода очищенная.

Поскольку МЭИ имеет липофильную природу, то объединение фосфолипида с МЭИ производили сплавлением его с лецитином при соотношении лецитин /МЭИ от 0,5/1 до 10/1, предпочтительно при соотношении лецитин /МЭИ равном 2/1. При таком

30 соотношении полученные липосомы остаются стабильными при хранении в геле и достигается большая концентрация активного вещества в мембране липосом и в конечной гелевой липосомированной форме. Температура плавления лецитина и субстанции МЭИ была выбрана исходя из физических свойств МЭИ и составляла  $75 \pm 5^\circ\text{C}$ . При такой температуре смесь обладает необходимой текучестью и вязкостью

для образования бислоев пролипосом с последующим замыканием их на себя с образованием везикул шарообразной формы. При этом МЭИ существует в расплаве в молекулярной форме, что гарантирует равномерное распределение её внутри бислоя липосом. Пролипосомы готовили смешиванием расплава лецитин /МЭИ со спиртовой -  
5 глицериновой смесью в соотношении 2/1 и при температуре от 25 до 55 °С, предпочтительно при 40±5 °С. Липосомальную эмульсию готовили при той же температуре, что и пролипосомы, предпочтительно при 40±5 °С, путем гомогенизации в режиме от 1000 до 10000 об./мин, предпочтительно при 2000-3000 об./мин, в течение от 1 до 10 мин, предпочтительно в течение 1-2 мин. Стабилизацию липосомальной  
10 эмульсии смесью каррагинанов (каррагинан GS) проводили при температуре 75 °С.

#### Пример 2

Для получения фармацевтической композиции на основе липосомированного МЭИ в виде порошка использовали следующие ингредиенты (в расчете на 1 терапевтическую дозу МЭИ):

- 15 1) Субстанция МЭИ (порошок) - от 10 до 100 мг;
- 2) Лецитин гидрогенизированный (порошок) - от 10 до 100 мг;
- 3) Мальтодекстрин - от 20 до 100 мг;
- 4) Среднецепочечные триглицериды каприловой и каприновой кислот (СЦТГ) - от 50 до 200 мг;
- 20 Другие ингредиенты в количестве, необходимом для получения стабильного мелкодисперсного порошка на основе МЭИ, включая:
  - 5) Антиокислитель «Гриндокс»;
  - б) Вода очищенная.

Лецитин гидрогенизированный и мальтодекстрин смешивали в соотношении от 5/1  
25 до 1/5, предпочтительно 1/1, и растворяли в воде очищенной до образования вязкой массы, содержащей бислои фосфолипидов, затем при температуре не ниже 50 °С добавляли смесь жирорастворимых компонентов (расплав МЭИ в молекулярном носителе - СЦТГ) и оставшееся количество воды очищенной. Расплав МЭИ в СЦТГ получали при соотношении СЦТГ /МЭИ от 0,5/1 до 10/1, предпочтительно при  
30 соотношении 1/1. Использовали температуру 75 ± 5 °С, при которой МЭИ существует в расплаве в молекулярной форме, что гарантирует равномерное распределение её внутри бислоя пролипосом, а расплав обладает необходимой текучестью для введения в пролипосомы. Антиокислитель «Гриндокс», состоящий из бутилгидрокситолуола, бутилгидроксианизола, аскорбил пальмитата, лецитина и рапсового масла, добавляли до

концентрации 0,02-0,1 % от жировой части . Для получения липосомальной эмульсии полученную смесь с концентрацией сухих веществ в воде 20 % гомогенизировали в течение от 1 до 10 мин , предпочтительно 1-2 мин , при температуре от 35 до 70 °С, предпочтительно при 55±5 °С. Липосомальную эмульсию фильтровали через нейлоновый фильтр 0,16-0,2 мм и подвергали сушке на распылительной сушилке при температуре от 60 до 80 °С, предпочтительно 70 °С, до получения мелкодисперсного порошка с содержанием влаги не более 5 % .

### Пример 3

Для получения фармацевтической композиции на основе МЭИ в виде раствора в триглицеридах , образующего эмульсию в водной среде, использовали следующие ингредиенты :

- 1) Субстанция МЭИ (порошок ) - от 10 до 100 мг;
- 2) Липоид С 80 - от 20 до 100 мг;
- 3) Полиоксиэтилена сорбитанмоноолеат (твин 80) - от 1 до 20 мг;
- 4) Среднепечечные триглицериды (миглиол 812 N) - от 200 до 1000 мг.

Предварительно отвешенный миглиол 812 N загружали в стакан вместимостью 100 мл помещали на водяную баню , включали мешалку и нагревали до температуры 40-50 °С. По достижении температуры 40-50 °С при перемешивании загружали предварительно измельченный и отвешенный липоид С 80 и перемешивали до полного растворения липоида С 80 в течение 30 мин . Затем при постоянном перемешивании при температуре 40-50 °С небольшими порциями загружали предварительно отвешенную субстанцию МЭИ при соотношении липоид С 80/МЭИ от 1/5 до 2/1, предпочтительно от 1/2 до 1/1, и перемешивали до полного растворения субстанции в течение 15 мин . После получения однородного раствора при постоянном перемешивании при комнатной температуре 40-50 °С загружали предварительно отвешенный твин 80 и перемешивали в течение 5 мин . По окончании времени перемешивания при комнатной температуре 40-50 °С загружали оставшийся миглиол 812 N и перемешивали до получения однородного прозрачного раствора в течение 10 мин . Хорошая растворимость МЭИ в миглиоле 812 N и совместное внесение двух поверхностно -активных веществ , липоида С 80 и полиоксиэтилена сорбитанмоноолеата , обеспечивает образование стойкой эмульсии при попадании композиции в желудок , тем самым увеличивается биодоступность МЭИ .

### Пример 4

Для получения фармацевтической композиции на основе МЭИ в виде раствора в моно - и диглицеридах жирных кислот , образующего эмульсию в водной среде , использовали следующие ингредиенты :

- 1) Субстанция МЭИ (порошок ) - от 10 до 100 мг ;
- 5 2) Полисорбат 20 NF - от 5 до 15 мг ;
- 3) Моно - и диглицериды жирных кислот пищевого качества (Е471) - от 200 до 1000 мг .

Предварительно отвешенный Е471 загружали в стакан вместимостью 100 мл помещали на водяную баню , включали мешалку и нагревали до температуры 40-50 °С .  
10 Затем при постоянном перемешивании при комнатной температуре 40-50 °С небольшими порциями загружали предварительно отвешенную субстанцию МЭИ при соотношении Е471/МЭИ от 1/1 до 20/1, предпочтительно от 5/1 до 10/1, и перемешивали до полного растворения субстанции в течение 20 мин . После получения однородного раствора при постоянном перемешивании при температуре 40 °С загружали  
15 предварительно отвешенный полисорбат 20 NF в количестве от 2 до 15% и перемешивали в течение 10-15 мин до получения однородного прозрачного раствора . Полученная фармацевтическая композиция при смешивании с водой или содержимым желудка образует стойкую эмульсию .

#### Пример 5

20 Для получения фармацевтической композиции на основе МЭИ для изготовления суппозитория ректальных использовали следующие ингредиенты (в расчете на 1 суппозиторий , содержащий 1 терапевтическую дозу МЭИ ):

- 1) Субстанция МЭИ (порошок ) - от 10 до 100 мг ;
- 2) Диметилсульфоксид (ДМСО ) - от 200 до 400 мг ;
- 25 3) Твин 80 - от 5 до 20 мг ;
- 4) Бензиловый спирт - от 5 до 20 мг ;
- 5) Вода очищенная - от 3 до 10 мг ;
- 6) Основа до получения суппозитория массой от 1,3 до 2,36 г .

Суппозитории имеют следующие физико -химические характеристики : цвет -  
30 светло -желтый , температура плавления - не выше 35,5°С .

#### Пример 6

Для получения фармацевтической композиции на основе МЭИ в виде мази использовали следующие ингредиенты (в расчете на 1 г мази )

- 1) Субстанция МЭИ (порошок ) - от 25 до 100 мг ;



- 2) Диметилсульфоксид (ДМСО) - от 150 до 300 мг;
- 3) Полиэтиленгликоль (ПЭГ 400) - от 200 до 300 мг;

Мазевая основа в составе :

5

- 4) Полиэтиленгликоль (ПЭГ 4000) - от 200 до 300 мг;
- 5) Пропиленгликоль - от 100 до 200 мг.

10

Мазевую основу помещали в ступку и расплавляли на ультразвуковой бане при нагревании. Субстанцию помещали в ступку, добавляли ДМСО и ПЭГ 400, смешивали в ступке до полного растворения субстанции, затем добавляли мазевую основу, перемешивали до получения однородной мази. Полученная мазь с содержанием 2,5 до 10 % МЭИ не расслаивалась при температуре 60 °С в течение 30 мин.

15

МЭИ в организме подвергается метаболизму с образованием активного метаболита - индометацина, который, как известно, обладает сильным противовоспалительным действием и, в тоже время, обладает выраженным побочным ulcerогенным действием. Однако, МЭИ при его пероральном введении без специально подобранных вспомогательных веществ, например, в виде суспензии МЭИ в растворе крахмала или карбоксиметилцеллюлозы, практически не биодоступен - не всасывается в кровь и по этой причине не способен оказывать системное действие. Поэтому важно было установить фармакокинетические характеристики композиций на основе МЭИ, в частности, определить концентрацию индометацина в крови после перорального введения композиций на основе МЭИ.

20

#### Пример 7

25

Оценивали фармакокинетические характеристики 2-х композиций на основе МЭИ: композиции 1 (МЭИ липосомированный), полученной как описано в примере 1, и композиции 3 (МЭИ раствор), полученной как описано в примере 3. В качестве объектов сравнения использовали МЭИ субстанцию (в виде суспензии вещества в растворе крахмала) и индометацин. Были использованы крысы стока Sprague Dawley. Все объекты вводили крысам перорально (внутрижелудочно) в дозе 25 мг/кг. В определенные временные точки (0; 0,25; 0,5; 1, 2, 4, 8, 16 и 24 часа) у животных отбирали кровь для анализа. Для анализа содержания индометацина в плазме крови животных использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Фармакокинетические профили индометацина в плазме крови после введения исследуемых объектов представлены на фиг. 1.

30

Представленные данные показывают, что после перорального введения индометацина в дозе 25 мг/кг его максимальная концентрация в плазме крови (C<sub>max</sub>) крыс

составила 65496 нг/мл, время достижения максимальной концентрации  $T_{\text{тах}}$  - 4 ч (фиг. 1 А). После введения МЭИ субстанции (в виде суспензии в растворе крахмала) в дозе 25 мг/кг индометацин не обнаруживался в плазме крови ни в одной из временных точек - его концентрация была ниже предела количественного определения. Т.е. МЭИ в такой форме практически не биодоступен и не способен оказывать противовоспалительное действие. После введения созданных фармацевтических композиций на основе МЭИ в дозе 25 мг/кг  $St_{\text{ах}}$  индометацина составила 6647 и 4061 нг/мл,  $T_{\text{тах}}$  составило 8 и 4 ч соответственно у композиций 1 и 3 (фиг. 1 Б). Таким образом, МЭИ, введенный в составе специально разработанных композиций (в форме липосом или раствора) биодоступен. При этом, максимальная концентрация индометацина в плазме крови, определяемая после введения композиций на основе МЭИ примерно в 10-15 раз меньше, чем после введения индометацина, что позволяет снизить побочные системные токсические эффекты, например, язвцерогенное действие.

#### Пример 8

Противовоспалительная активность фармацевтических композиций на основе МЭИ в сравнении с МЭИ субстанцией (в виде суспензии вещества в растворе крахмала) и индометацином при их пероральном введении была изучена на модели острого воспаления - отека лап, вызванного медиатором воспаления серотонином. Были использованы крысы стока Sprague Dawley. Для индукции воспаления крысам в одну из задних лап субплантарно вводили раствор серотонина (0,1 мг/мл), а в другую - физиологический раствор (контрольная лапа). Тестируемые объекты вводили внутривенно за 2 ч до введения серотонина. Оценку величины воспаления проводили через 30 мин после введения медиатора при помощи плетизмометра (UGO BASIL, Италия). Величину воспалительной реакции оценивали методом плетизмографии как разницу между массой контрольной и опытной лап и выражали в м.л. Противовоспалительную активности тестируемых объектов оценивали по величине индекса ингибирования, рассчитанного как по формуле:

$$ИИ = ((V_k - V_0) / V_k) \times 100\%$$

где ИИ - индекс ингибирования воспаления в %;

$V_k$  - величина воспалительной реакции в контрольной группе, м.л.;

$V_0$  - величина воспалительной реакции в опытной группе, м.л.

Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Противовоспалительная активность фармацевтических композиций на основе МЭИ на модели серотонин -индуцированного отека (индекс ингибирования воспаления, %, n = 8)

Группа	Доза, мг/кг действующего вещества	Индекс ингибирования воспаления, %	Уровень значимости различий с контролем, p
Контроль	0	—	—
МЭИ	25	4,3	> 0,5
Композиция 1 (МЭИ липосомированный)	25	38,8	< 0,001
Композиция 3 (МЭИ раствор)	25	33,4	< 0,01
Индометацин	10	43,5	< 0,01

Представленные результаты демонстрируют, что МЭИ (в виде суспензии вещества в растворе крахмала) при пероральном введении не оказывает достоверного противовоспалительного эффекта на модели острого воспаления, тогда как фармацевтические композиции на основе МЭИ при пероральном введении в дозе оказывают выраженное противовоспалительное действие, незначительно уступая по силе действия препарату сравнения - индометацину. Таким образом, созданные композиции обеспечивают биодоступность МЭИ и его системное противовоспалительное действие.

#### Пример 9

Противовоспалительное и анальгетическое действие фармацевтической композиции на основе МЭИ при ее пероральном введении была изучена на модели хронического воспаления - адьювант -индуцированного ревматоидного артрита у крыс. Для индукции артрита крысам в плантарную поверхность правой тазовой конечности вводили полный адьювант Фрейнда (complete Freund adjuvant (CFA)) производства Sigma Aldrich в объеме 100 мкл. Контрольная («интактная») группа 1 получала физиологический раствор в объеме 100 мкл. После инъекции CFA в течение нескольких часов развивается местная воспалительная реакция, с последующим распространением патологических изменений на область пястнофаланговых и дистальных межфаланговых суставов.

Тестируемый объект (композиция 3 — МЭИ раствор) и препарат сравнения (индометацин) вводили в течение 22-х дней внутривентриально, 1 раз в день, начало введения - на 7-й день после индукции патологии. Тестируемый объект вводили в дозах

6,25 мг/кг, 12,5 мг/кг, 25 мг/кг. Препарат сравнения индометацин вводили в дозе 1 мг/кг, (в более высокой дозе - 5 мг/кг отмечается гибель животных ).

5 Для оценки противовоспалительного действия МЭИ у животных методом плетизмографии измеряли величину воспалительной реакции как разницу между массой контрольной и опытной лап и выражали ее в мл. Для оценки анальгетического действия МЭИ у животных измеряли порог тактильной реактивности по методу Чаплан и соавторов [5] с помощью набора из 8 стандартных волосков фон Фрея (Stoelting, США ).

Результаты эксперимента представлены в таблицах 2 и 3.

10 Таблица 2 - Противовоспалительная активность фармацевтической композиции на основе МЭИ на модели адъювант -индуцированного ревматоидного артрита (величина воспалительной реакции , мл,  $X \pm SE$ ,  $n=8$ ).

Группа	Доза препарата, мг/кг	Дни эксперимента			
		7**	14	21	28
Контроль 1 («интактные» животные)	0	0±0,03	0±0,03	0±0,04	0±0,04
Контроль 2 (патология, без лечения)	0	3,0±0,61	4,3±0,59	3,9±0,48	3,6±0,45
МЭИ	6,25	2,8±0,54	2,5±0,76*	1,8±0,49*	1,9±0,51*
	12,5	2,6±0,38	1,9±0,37*	2,0±0,40*	1,1±0,21*
	25	2,4±0,43	1,5±0,22 *	0,9±0,07*	0,8±0,12*
Индометацин	1	3,0±0,59	1,8±0,24 *	1,5±0,18*	1,4±0,28*

Примечания :

- 15 1 - \* - различия статистически значимы в сравнении с показателем контрольной группы 2 в соответствующий день исследования , критерий Фишера (LSD-test),  $p < 0,05$ ;  
2 - \*\* - тестирование на 7-ой день проводили до введения препаратов .

Таблица 3 - Анальгетическая активность фармацевтической композиции на основе МЭИ на модели адъювант -индуцированного ревматоидного артрита (средне -эффективный порог тактильной чувствительности на инъекционной конечности , г,  $X \pm SE$ ,  $n=8$ )

Группа	Доза препарата, мг/кг	Дни эксперимента		
		7**	21	28
Контроль 1 («интактные» животные)	0	25,7±1,17	25,6±1,75	24,8±1,72
Контроль 2 (патология, без лечения)	0	11,5±2,92	6,5±1,65	8,9±1,98
МЭИ	6,25	11,7±2,93	10,4±3,09	9,6±2,67

	12,5	11,8±3,12	13,3±2,55*	14,8±2,35*
	25	9,8±2,14	16,6±2,64*	18,2±2,57*
Индометацин	1	9,9±2,34	14,5±3,18*	16,0±3,04*

Примечания :

1 - \* - различия статистически значимы в сравнении с показателем контрольной группы 2 в соответствующий день исследования, критерий Фишера (LSD-test),  $p < 0,05$ ;  
2 - \*\* - тестирование на 7-й день проводили до введения препаратов.

- 5 Представленные результаты демонстрируют, что фармацевтическая композиция на основе МЭИ во всех использованных дозах (от 6,25 до 25 мг/кг) оказывает выраженное противовоспалительное действие, а в дозах 12,5 и 25 мг/кг оказывает выраженное анальгетическое действие на модели хронического воспаления - адьювант-индуцированного ревматоидного артрита, не уступая по эффективности препарату сравнения индометацину.

#### Пример 10

- 15 Противовоспалительная активность фармацевтической композиции на основе МЭИ при ее парентеральном введении была изучена на модели каррагинин-индуцированного отека [6]. Были использованы крысы стока Sprague Dawley. Для этого в одну из задних лап интраплаттарно вводили 50 мкл физиологического раствора («Натрия хлорид раствор для инфузий 0,9%», ОАО «НПК «ЭСКОМ», Россия) (контрольная лапа), а в другую - 50 мкл 1 %-го раствора  $\lambda$ -каррагинина. Оценку величины воспаления проводили через 4 ч при помощи плетизмометра (ПТС Life Science, США). Величину реакции оценивали как разницу между объемом контрольной и
- 20 опытной лап и выражали в миллилитрах. Тестируемый объект - фармацевтическую композицию №4 (МЭИ раствор) вводили парентерально (внутрибрюшинно) за 1 ч до введения  $\lambda$ -каррагинина, контролем в исследовании были крысы, получавшие в том же объеме. Накануне исследования животных лишали пищи на 24 ч при свободном доступе к воде.

- 25 Результаты эксперимента представлены в таблице 4.  
Таблица 4 - Противовоспалительная активность фармацевтической композиции на основе МЭИ при внутрибрюшинном введении на модели каррагинин-индуцированного отека у крыс ( $X \pm SE$ ,  $n=7$ )

Группа	Доза, мг/кг	Величина отека:	
		мл	% от контроля
Контроль	0	1,109±0,090	100,0
МЭИ	0,1	1,011±0,115	91,2

	0,5	0,675±0,065*	60,9
	1,0	0,552±0,097*	45,0
	10	0,201±0,176*	18,1
	50	0,288±0,152*	26,0

Примечание - \*различия с контролем достоверны ,  $p < 0,05$ .

Представленные результаты демонстрируют , что фармацевтическая композиция на основе МЭИ при парентеральном (внутрибрюшинном введении ) в дозах от 0,5 до 50 мг/кг оказывает выраженное противовоспалительное действие на модели острого воспаления .

#### Пример 11

Локальное противовоспалительное действие фармацевтической композиции на основе МЭИ в форме мази при ее наружном применении была изучена на модели каррагенин -индуцированного отека . Были использованы крысы стока Sprague Dawley. Каррагенин -индуцированный отек воспроизводили у животных как описано в примере 10. Тестируемый объект - фармацевтическую композицию на основе МЭИ в форме мази 10% наносили на поверхность задней лапы крыс наносили сразу после введения каррагенина и затем еще трижды с интервалом 1 ч. После нанесения тестируемого объекта животное оставляли обездвиженным на 4-5 мин , после чего возвращали в клетку . Животным контрольной группы наносили мазевую основу , не содержащую МЭИ . Накануне исследования животных лишали пищи на 24 ч при свободном доступе к воде .

Результаты эксперимента представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Противовоспалительное действие фармацевтической композиции на основе МЭИ (мазь 10%) на модели каррагенин -индуцированного отека у крыс ( $X \pm SE$ ,  $n=8$ )

Группа	Величина отека:	
	мл	% от контроля
Контроль	0,993 ± 0,151	100,0
МЭИ (мазь 10%)	0,527 ± 0,075*	53,0

Примечание - \*различия с контролем достоверны ,  $p < 0,05$ .

Представленные результаты демонстрируют , что фармацевтическая композиция на основе МЭИ при наружном применении в форме мази , содержащей 10% МЭИ , оказывает выраженное локальное противовоспалительное действие на модели острого воспаления .

Пример 12

- Жаропонижающее действие фармацевтической композиции на основе МЭИ оценивали на модели дрожжевой лихорадки у крыс. Были использованы крысы стока Sprague Dawley. Для индукции лихорадки животным подкожно в холку вводили суспензию пекарских дрожжей в дозе 2000 мг/кг (в расчете на сухие дрожжи) в объеме 2 мл. Замерялась температура тела животных при помощи ректального электрического термометра (ректальный датчик температуры MLT1403 и модуль 4-канальной системы регистрации PowerLab 4/35, ADInstruments PtyLtd, Австралия). Замер температуры проводили до введения дрожжей, через 18 ч после введения дрожжей. После этого животным перорально вводили тестируемый объект - фармацевтическую композицию на основе МЭИ (композиция 3 - МЭИ раствор, полученный как описано в примере 3) в дозах 25, 50 и 100 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали индометацин в дозе 10 мг/кг. Животным контрольной группы вводили носитель. Замер температуры проводили через 2 и 4 ч. Результаты эксперименты представлены в таблице 6.
- Таблица 6 - Жаропонижающее действие фармацевтической композиции на основе МЭИ на модели дрожжевой лихорадки у крыс (n=6)

Группа	Доза, мг/кг действующего вещества	Изменение средней температуры после введения ОИ через 2 ч, °С	Изменение средней температуры после введения ОИ через 4 ч, °С
Контроль	0	-0,1	+0,15
МЭИ	25	-0,53	-0,45
	50	-0,93	-0,82
	100	-0,78	-0,68
Индометацин	10	-0,98	-0,85

Представленные результаты демонстрируют, что фармацевтическая композиция на основе МЭИ в виде раствора при пероральном применении оказывает выраженное жаропонижающее действие на модели дрожжевой лихорадки.

20 Пример 13

Для оценки выраженности побочного ульцерогенного действия тестируемый объект (композиция 1 - МЭИ раствор) и препарат сравнения (индометацин) вводили крысам 4-кратно внутривентрикулярно. Через 3 ч после последнего введения животных подвергли эвтаназии, извлекли желудки, рассекли их по малой кривизне и промыли в

физиологическом растворе для удаления содержимого . Оценка ульцерогенного эффекта проводилась в 4-балльной шкале согласно следующей схеме :

0 - отсутствие повреждений ;

0,5 - незначительная гиперемия слизистой желудка ;

5 1 - единичные незначительные повреждения слизистой желудка (единичные точечные кровоизлияния , значительная гиперемия ) ;

2 - множественные незначительные повреждения слизистой желудка (точечные язвы , эрозии , множественные кровоизлияния ) ;

10 3 - значительные и множественные повреждения слизистой желудка (эрозии , язвы кровоизлияния ) ;

4 - грубые повреждения , охватывающие всю поверхность слизистой желудка (массивные кровоизлияния , эрозии , язвы , перфорации ) .

Результаты эксперимента представлены в таблице 7.

15 Таблица 7 - Выраженность ульцерогенного действия фармацевтической композиции на основе МЭИ

Группа	Доза, мг/кг действующего вещества	Количество эрозий, ср	Количество язв, ср	Баллы, ср
Контроль	0	0	0	0
МЭИ	25	0	0	0
	50	0	0	0
	100	0	0,8	0,4
Индометацин	5	3,2	8	3

20 Представленные результаты демонстрируют , что в группе животных , получивших индометацин в дозе 5 мг/кг 4-кратно , наблюдались множественные выраженные язвенные и эрозивные дефекты . В тоже время у животных , получивших композицию на основе МЭИ в дозах 25 и 50 мг/кг отсутствовали какие -либо нарушения со стороны слизистой желудка , а у животных , получивших композицию на основе МЭИ в максимальной дозе 100 мг/кг наблюдались только незначительные единичные повреждения . Таким образом , в отличие от индометацина тестируемая фармацевтическая композиция на основе МЭИ при 4-кратном введении в использованном диапазоне доз не обладает ульцерогенным действием .

25 Приведенные примеры убедительно показывают , что созданные фармацевтические композиции на основе ментилового эфира индометацина позволяют при их энтеральном , парентеральном и местном применении достигать эффективных концентраций индометацина , достаточных для проявления выраженной



противовоспалительной активности , но при этом не вызывающих негативного побочного ульцерогенного действия . Благодаря этому созданные фармацевтические композиции на основе МЭИ могут применяться в качестве эффективных и безопасных НПВС .

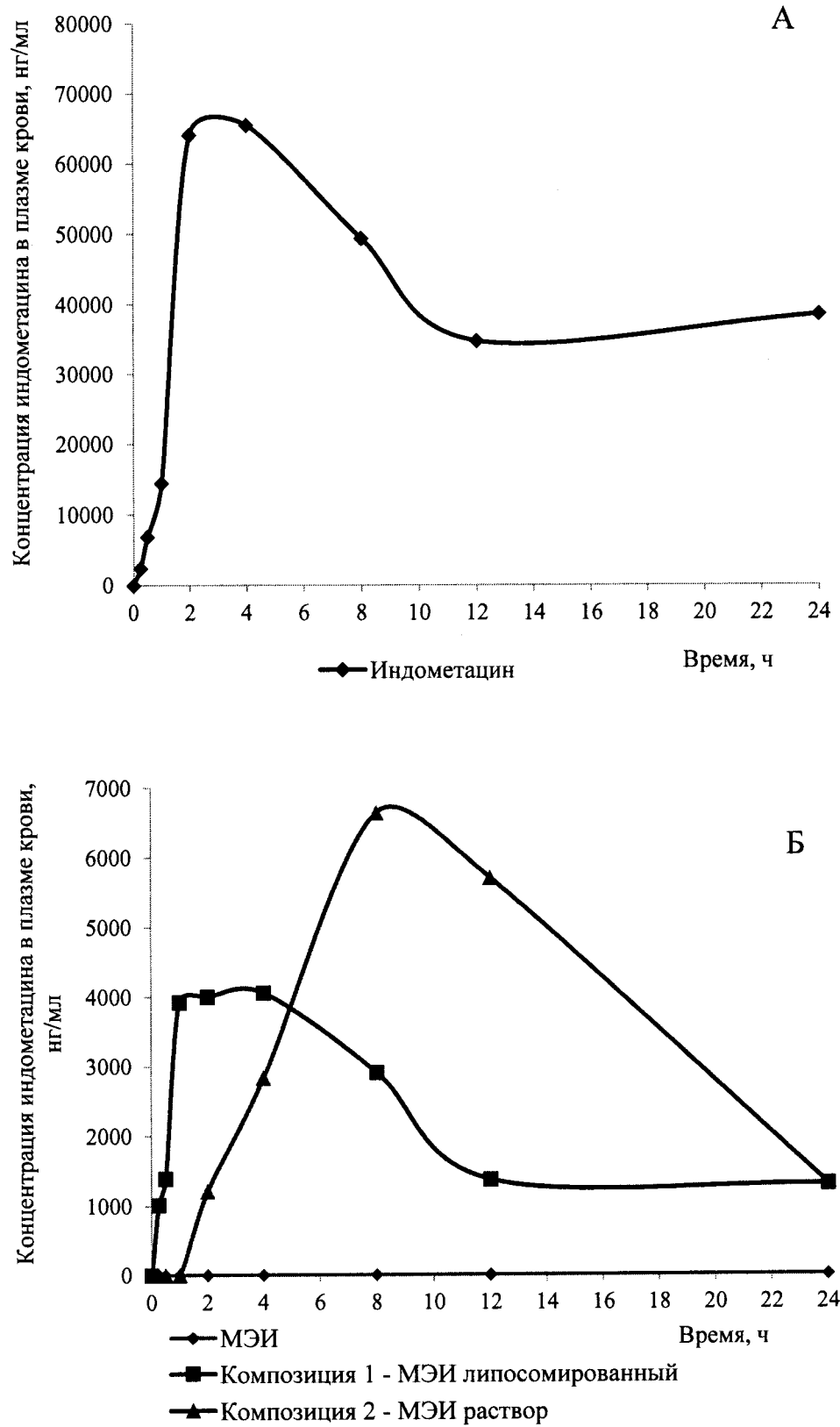
5

## Источники информации

1. US Patent No. 6,306,890.
2. US Patent No. 6,762,182.
3. US Patent No. 8,097,646.
- 10 4. Sawraj Sh., Bhardawaj T.R., Shamia P.D Design, synthesis, and evaluation of novel indomethacin-antioxidant codrugs as gastrosparing NSAIDs. *Med Chem Res* (2012) 21:834-843 DOI 10.1007/s00044-0 11-9589-1
5. Chaplan, S. R., et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. // *J.Neurosci.Methods*. 1994. Vol. 53.P. 55-63.
- 15 6. Методические рекомендации по доклиническому изучению нестероидных противовоспалительных лекарственных средств . / Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств . Москва : Гриф и К . Часть первая . 2012. С . 748-760.

## Формула изобретения

1. Применение фармацевтической композиции, обладающей противовоспалительным, анальгетическим и жаропонижающим действием, на основе ментилового эфира индометацина, содержащей в своем составе 5-Метил-2-(пропан-2-ил)циклогексан-1-ил {[2-метил-5-метокси-7-(4-хлорбензоил)-1H-индол-3-ил]ацетат} и фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, обеспечивающие биодоступность ментилового эфира индометацина, в качестве противовоспалительного средства для лечения острых и хронических воспалительных заболеваний путем введения в организм млекопитающего энтерально, в том числе - перорально и ректально, или парентерально, в том числе - путем инъекций или путем нанесения на кожу.



Фиг.1