



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.02.04

(21) Номер заявки
201890196

(22) Дата подачи заявки
2016.07.12

(51) Int. Cl. **A61K 9/00** (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/047 (2006.01)
A61K 31/731 (2006.01)
A61K 33/14 (2006.01)
A61P 11/02 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ УСТРАНЕНИЯ ЗАЛОЖЕННОСТИ НОСА, ОБЛАДАЮЩАЯ ПРОТИВОВИРУСНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

(31) **15176670.6**

(32) **2015.07.14**

(33) **EP**

(43) **2018.06.29**

(86) **PCT/EP2016/066565**

(87) **WO 2017/009351 2017.01.19**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
МАРИНОМЕД БИОТЕК АГ (АТ)

(72) Изобретатель:
**Грассауэр Андреас, Пришл-Грассауэр
Ева, Бодентайк Анжелика, Коллер
Кристиан, Морокутти-Куриц Мартина
(АТ)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) US-A1-2008241271
KEON-HYOUNG SONG ET AL.: "The influence of stabilizer and bioadhesive polymer on the permeation-enhancing effect of AT1002 in the nasal delivery of a paracellular marker", ARCHIVES OF PHARMACAL RESEARCH, PHARMACEUTICAL SOCIETY OF KOREA, HEIDELBERG, vol. 35, no. 2, 28 February 2012 (2012-02-28), pages 359-366, XP035021441, ISSN: 1976-3786, DOI: 10.1007/S12272-012-0217-5 chapters "Materials and Methods", "Preparation of formulations for the bioadhesive study"; Fig. 5

WO-A1-2013049538
US-B2-8557871

RAMAKRISHNAN S. ET AL.: "Behavior of kappa-carrageenan in glycerol and sorbitol solutions", CARBOHYDRATE POLYMERS, APPLIED SCIENCE PUBLISHERS, LTD. BARKING, GB, vol. 43, no. 4, 1 December 2000 (2000-12-01), pages 327-332, XP004214190, ISSN: 0144-8617, DOI: 10.1016/S0144-8617(00)00177-6 abstract; p. 328, right col., 1. 2-5
EP-A1-0424043

ECCLES RON ET AL.: "Efficacy and safety of an antiviral Iota-Carrageenan nasal spray: a randomized, double-blind, placebo-controlled exploratory study in volunteers with early symptoms of the common cold", RESPIRATORY RESEARCH, BIOMED CENTRAL LTD., LONDON, GB, vol. 11, no. 1, 10 August 2010 (2010-08-10), page 108, XP021071327, ISSN: 1465-9921, DOI: 10.1186/1465-9921-11-108 abstract; p. 3, Study medication and dosing; Fig. 3

VALERIO DAMIANI ET AL.: "Long-term Efficacy of Narivent in the Treatment of Nasal Congestion", THE OPEN MEDICAL DEVICES JOURNAL, vol. 4, no. 1, 20 September 2012 (2012-09-20), pages 73-79, XP055299083, ISSN: 1875-1814, DOI: 10.2174/1875181401204010073 abstract; p. 75 left col.

Anonymous: "Gelcarin GP-379 Carrageenan, NF", 1 January 2003 (2003-01-01), pages 1-2, XP055299608, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.signetchem.com/downloads/datasheets/Fmc-biopolymer/Gelcarin-GP-379NF-Specifications.pdf> [retrieved on 2016-09-02] the whole document

(57) Изобретение относится к гиперосмолярной фармацевтической композиции, выполненной для топического введения в носовую полость для устранения заложенности носа, обладающей активностью против вирусных инфекций дыхательных путей, характеризующейся тем, что содержит неионный агент, регулирующий осмоляльность, в сочетании с ионным агентом, регулирующим осмоляльность, и каррагинановый компонент в качестве активного противовирусного ингредиента, содержащей подходящий для назального применения буфер, при этом значение pH указанной композиции доведено до значения от 4,0 до 8,0; эдетат динатрия (ЭДТА) в концентрации до 2 мг/мл; не более 1,5% мас./об. указанного ионного агента, регулирующего осмоляльность; от 1 до 15% мас./об. указанного неионного агента, регулирующего осмоляльность; от 0,05 до 1% мас./об. каррагинанового компонента в качестве единственного активного противовирусного ингредиента, и гиперосмолярность указанной композиции составляет от 500 до 1000 мосмоль/кг, и также к ее применению для получения лекарственного средства, подходящего для устранения заложенности носа с одновременным лечением вирусной инфекции верхних дыхательных путей.

Область техники

Настоящее изобретение относится к области физиологии и иммунологии и относится к лечению заложенности носа, респираторной вирусной инфекции и аллергии.

Уровень техники

Вирусные инфекции дыхательных путей, а также аллергические реакции, вызываемые пылью или другими аллергенами, приводят к иммунному ответу на различные провоцирующие воздействия. В обоих случаях множество факторов может вызывать сходные симптомы. Вирусные инфекции дыхательных путей вызываются более чем 150 различными вирусами из семейств риновирусов человека (более 100 серотипов), коронавируса человека, представителей парамиксовирусов, таких как вирус парагриппа (1-4), метапневмовирус, респираторно-синцитиальные вирусы, представители ортомиксовирусов, такие как вирус гриппа (А, В, С), бокавирус, и другими. Аллергические реакции в полости носа могут быть сезонными, обусловленными аллергией на конкретный вид пыльцы или подобные временные аллергены, или круглогодичными, обусловленными аллергией на антигены пылевых клещей, кошек, собак, других домашних животных, и подобными факторами.

Главными симптомами респираторной вирусной инфекции и аллергии являются заложенность носа и насморк. Обычно применяют гипертонические назальные спреи для временного уменьшения заложенности носа, независимо от причины указанной заложенности носа. Благодаря более высокому осмотическому давлению назального спрея по сравнению с клеточной полостью жидкость вытягивается из клеток наружу, вследствие чего отек уменьшается. Комбинация гипертонического раствора и каррагинана позволила бы оказывать противоотечное действие, обусловленное повышенной осмоляльностью, и противовирусное действие, обусловленное известным противовирусным действием каррагинана. В данной области техники было показано, что йота-каррагинан и комбинации йота- и каппа-каррагинана уменьшают репликацию респираторных вирусов *in vitro*, *in vivo*, а также в клинических испытаниях на людях, страдающих простудой, гриппоподобными заболеваниями и гриппом, как сообщалось, например, в WO 2008/067982 и WO 2009/027057. Назальные спреи с каррагинаном необходимо применять многократно в течение нескольких дней для эффективного противодействия вирусным инфекциям верхних дыхательных путей. В то же время применение традиционного гипертонического раствора оказывает немедленное сокращающее действие на отечную слизистую оболочку заложенного носа.

Следовательно, было бы целесообразно разработать фармацевтическую композицию, которая сочетала бы преимущества немедленно действующего препарата для устранения заложенности носа и соединения, обладающего противовирусным и/или противоаллергическим действием.

Препарат согласно настоящему изобретению успешно сочетает указанные преимущества, как будет подробнее описано ниже. В частности, вновь разработанный препарат обеспечивает противовирусное лечение, со всеми связанными с этим преимуществами, и кроме того, оказывает немедленное действие на заложенность носа. В случае лечения пациентов, страдающих от аллергической реакции в носовой полости, вновь разработанный препарат обеспечивает дополнительное облегчение пациента за счет своего противовирусного действия. В данной области техники известно, что респираторные вирусные инфекции могут приводить к значительному ухудшению существующего аллергического заболевания. Например, в медицине считается общеизвестным, что пациенты, страдающие сенной лихорадкой, имеют повышенный риск развития аллергической астмы в случае приобретения рецидивирующих вирусных инфекций дыхательных путей.

Применение каррагинанов в назальных спреях известно в данной области техники. В особенности йота- и каппа-каррагинаны хорошо переносятся и в отличие от лямбда-каррагинана не провоцируют воспалительных процессов. Кроме того, каррагинаны широко применяют в качестве наполнителей и загустителей в фармацевтической, косметической и пищевой промышленности.

Краткое описание изобретения

Термин "гипертонический" в настоящем описании относится к любому раствору, имеющему осмотическое давление выше, чем осмотическое давление, создаваемое физиологическим, т.е. 0,9 мас.%, раствором хлорида натрия.

Гипертонические растворы в назальных спреях обычно содержат хлорид натрия в концентрациях до 3 мас.%. Было обнаружено, что каррагинаны чувствительны к присутствию различных катионов, таких как ионы натрия, калия, кальция или магния, вследствие чего они способны изменять свою вторичную структуру полимера от беспорядочной структуры до более спирально-параллельной структуры. Это изменение структуры влияет как на вязкость водных растворов, содержащих полимер каррагинана, так и на активность указанного полимера по отношению к конкретным вирусам, таким как риновирусы человека. Кроме того, было обнаружено, что более высокие концентрации катионов солей приводят к получению более вязких растворов и к значительным потерям противовирусной активности каррагинанов, в частности, по отношению к риновирусам человека, что можно оценить по значительному повышению значений IC₅₀ йота-каррагинана при лечении инфекций HRV1a и HRV8. Аналогичным образом было обнаружено, что минимальная ингибирующая концентрация, необходимая для ингибирования коронавируса человека OC43 возрастала до 10 раз для препаратов каррагинана, содержащих гипертонические концентрации хлорида натрия, по сравнению с изотоническими препаратами. Следовательно, можно сде-

лать вывод, что попытки получения препарата, обладающего противовирусным действием, для устранения заложенности носа, содержащего гиперосмолярный раствор хлорида натрия в сочетании с каррагинаном, будут, вероятнее всего, безуспешными.

Неожиданно было обнаружено, что каррагинан - и в частности, йота-каррагинан или комбинацию йота- и каппа-каррагинана - можно включить в состав новой фармацевтической композиции, объединяющей противовирусную эффективность и деконгестантное действие.

"Деконгестантное действие" в настоящем описании должно относиться к любому действию новых препаратов согласно настоящему изобретению, которое приводит к частичному или полному устранению временной заложенности носа, независимо от причины, вызвавшей указанную временную заложенность носа, такой как, например, аллергическое или вирусное заболевание.

Решение поставленной задачи было найдено в результате наблюдения того факта, что неионный агент, регулирующий осмоляльность, здесь и далее также называемый неионным "носителем осмоляльности", такой как сорбит, маннит или глюкоза, может частично заменять применяемый ранее ионный носитель осмоляльности, обычно хлорид натрия, в препаратах от заложенности носа на основе каррагинана. Экспериментальными данными было подтверждено, что йота- и/или каппа-каррагинан будут сохранять противовирусную эффективность в препарате от заложенности носа на уровне, сравнимом с гипоосмолярными растворами каррагинана, содержащими хлорид натрия в качестве единственного носителя осмоляльности, в концентрациях менее 0,9% мас./об., например 0,5% мас./об. Этой цели достигают благодаря обеспечению каррагинанового компонента в гиперосмолярном растворе, не содержащем источника катионов, такого как соль щелочного или щелочноземельного металла, например хлорид натрия, или, в качестве альтернативы, содержащем слабо гиперосмолярную, изоосмолярную или гипоосмолярную концентрацию такой соли совместно с короткоцепочечным сахаром, выбранным из группы моно-, ди- и олигосахаридов, и/или совместно с сахароспиртом, т.е. полиолом, таким как сорбит, в количестве, подходящем для придания конечному раствору требуемой достаточной гиперосмолярности, как указано ниже в настоящем описании.

Обобщение полученных результатов явным образом демонстрирует, что противовирусные свойства предпочтительных йота- и каппа-каррагинанов могут сохраняться в гиперосмолярных препаратах для устранения заложенности носа за счет замены широко применяемой соли для повышения осмолярности, такой как хлорид натрия, неионным агентом, регулирующим осмолярность или осмоляльность, таким как короткоцепочечный сахар или полиол. В отличие от новых препаратов гиперосмолярные препараты каррагинана, содержащие в качестве единственного агента, регулирующего осмолярность NaCl, например, препараты каррагинана, содержащие 2,3 или 2,6% мас./об. NaCl, как показано ниже, имеют серьезный недостаток, который заключается в том, что они имеют высокую вязкость, и такие препараты практически невозможно подвергать стерилизующему фильтрованию.

Если относительные концентрации ингредиентов гиперосмолярных композиций согласно настоящему изобретению указаны в процентах [%], их следует понимать как проценты по массе на объем (мас./об.), например граммы на литр, если явным образом не указано иное.

Подробное описание изобретения

Неожиданно было обнаружено, что гиперосмолярный водный раствор, содержащий каррагинановый компонент, обычно йота- и/или каппа-каррагинан, совместно с 0,5% NaCl и от 7 до 10% сорбита, имеет низкую вязкость, и указанный раствор можно подвергать стерилизующему фильтрованию. Раствор также может иметь стабилизированное значение pH при помощи буферного агента и ЭДТА. Следовательно, задачей настоящего изобретения является обеспечение фармацевтического препарата, содержащего каррагинан в гиперосмолярном растворе, предпочтительно йота-каррагинан и/или каппа-каррагинан, в водном растворе, содержащем неионный агент, регулирующий осмоляльность, выбранный из группы моно-, ди-, три- и олигосахаридов и полиолов, и, необязательно, дополнительно содержащего ионный носитель осмоляльности, такой как, например, хлорид натрия или калия, в гипоосмолярной, изоосмолярной или слабо гиперосмолярной концентрации. Указанные гиперосмолярные препараты подходят для применения в качестве лекарственных средств, обладающих деконгестантным, то есть устраняющим заложенность носа, сокращающим слизистую оболочку действием, и дополнительно обеспечивающих противовирусное действие, подходящих для профилактического и терапевтического лечения респираторных вирусных инфекций, включая инфекции, часто вызываемые риновирусом человека, коронавирусом человека, представителями парамиксовирусов, представителями ортомиксовирусов, представителями аденовирусов и другими респираторными вирусами.

В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция, разработанная в первую очередь для снижения временной заложенности носовой полости.

"Заложенность носа" в настоящем описании имеет временную природу и может являться результатом инфекции носовой полости, вызванной вирусами или бактериями, или может быть обусловлена аллергической реакцией отдельного организма на специфичный аллерген.

"Респираторная вирусная инфекция" в настоящем описании относится к инфекции дыхательных путей, в частности верхних дыхательных путей, вызванной вирусом, как определено кодом J00 по Международной классификации болезней, версия 10 (МКБ-10, ICD-10).

Термин "терапевтическое лечение" в настоящем описании должен подразумевать любое терапевтическое воздействие с использованием гиперосмолярного препарата согласно настоящему изобретению, применяемое для модификации клинического течения заложенности носа и/или респираторной вирусной инфекции путем облегчения клинических симптомов, таких как насморк, заложенность носа, боль в горле, чихание, озноб, головная боль, мышечная боль, кашель и т.д., по сравнению с отсутствием воздействия; или таким образом, чтобы указанные клинические симптомы наблюдались в течение более короткого промежутка времени, или таким образом, чтобы был сокращен промежуток времени, в течение которого инфицированный индивидуум с указанными симптомами сохраняет способность передачи инфекционных агентов другому индивидууму, или таким образом, чтобы рецидивы болезни, т.е. периоды отсутствия симптомов, за которыми следуют периоды проявления симптомов, наблюдались менее часто, или с возможностью обеспечения любой комбинации указанных эффектов.

Аналогичным образом, в контексте настоящего изобретения термин "профилактическое лечение" должен подразумевать любое воздействие с использованием гиперосмолярного препарата согласно настоящему изобретению, применяемое в отношении индивидуума, нуждающегося в указанном воздействии или имеющему повышенный риск развития вирусной инфекции дыхательных путей, причем указанное воздействие осуществляют до начала проявления вирусной инфекции, и эффект воздействия обычно заключается в отсутствии вирусной инфекции или в отсутствии клинически значимых симптомов вирусной инфекции у здорового индивидуума при последующем воздействии некоторого количества инфекционного вирусного агента, которое в ином случае, т.е. в отсутствии указанного профилактического лечения, было бы достаточным для того, чтобы вызвать респираторную вирусную инфекцию.

Термин "профилактическое лечение" также охватывает воздействие до начала проявления инфекции дыхательных путей и применение гиперосмолярного препарата согласно настоящему описанию, которое оказывает только частичное действие, т.е. когда несмотря на профилактическое лечение носа развивается респираторная вирусная инфекция, однако симптомы являются менее тяжелыми, чем без профилактического лечения, или симптомы возникают позже, или облегчение симптомов наступает раньше.

Соответственно гиперосмолярная композиция для устранения заложенности носа согласно настоящему описанию, содержащая йота- и/или каппа-каррагинан, также активна в отношении заболевания дыхательных путей, вызванного инфицированием вирусом, выбранным из группы, состоящей из риновируса человека, коронавируса человека, представителя парамиксовирусов, такого как вирус парагриппа, метапневмовирус или респираторно-синцитиальный вирус, представителем ортомиксовирусов, таким как вирус гриппа или аденовирус подтипа В (шифр по МКБ-10 J09 и J10). Вызываемые заболевания обычно называют простудой, гриппоподобным заболеванием или гриппом.

В предпочтительном варианте реализации настоящего изобретения гиперосмолярная фармацевтическая композиция, разработанная для устранения заложенности носа и для одновременного лечения респираторных вирусных инфекций, специально выполнена с возможностью топического введения в носовую полость.

Гиперосмолярную фармацевтическую композицию можно применять до или после начала проявления респираторной вирусной инфекции у человека. Даже при применении после начала проявления вирусной инфекции указанная композиция все еще может предотвращать или по меньшей мере облегчать поздние осложнения респираторных вирусных инфекций. Такие осложнения известны в данной области техники и включают - без ограничения - осложнения, связанные с вторичным инфицированием бактериями, и ухудшение протекающих заболеваний, таких как аллергия или ХОБЛ.

Гиперосмолярная фармацевтическая композиция согласно настоящему описанию обычно содержит каррагинановый компонент, предпочтительно йота-каррагинан или комбинацию йота- и каппа-каррагинана, в качестве активного ингредиента, или - в зависимости от ситуации - в качестве единственного активного противовирусного ингредиента, в концентрации от 0,05 до 1% мас./об. (г/л), предпочтительно от 0,1 до 0,5% мас./об. и наиболее предпочтительно от 0,1 до 0,3% мас./об. в готовом к применению препарате. Осмолярность указанного препарата регулируют до значения более 300 мосмоль, предпочтительно до значения в диапазоне от 500 до 1000 мосмоль, наиболее предпочтительно до значения от 650 до 900 мосмоль. Композиция содержит не более 1,5% мас./об. хлорида натрия, предпочтительно не более 1,2% мас./об. хлорида натрия, наиболее предпочтительно не более 0,9 % мас./об. и часто менее 0,9 % мас./об. хлорида натрия в качестве ионного носителя осмолярности.

Термин "слабо гиперосмолярный", относящийся к ионному носителю осмолярности, следует понимать как указание на концентрацию хлорида натрия от 0,9 до 1,5% мас./об., или на эквивалентную, т.е. эквимольную, концентрацию другого ионного носителя осмолярности.

Регулирование гиперосмолярности осуществляют путем введения по меньшей мере одного из низкомолекулярных сахаров или низкомолекулярных многоатомных спиртов ("полиола") в физиологически приемлемый водный раствор, обычно содержащий каррагинановый компонент согласно настоящему описанию. Подходящие сахара могут быть выбраны из группы моносахаридов, дисахаридов и олигосахаридов и обычно из глюкозы, фруктозы, маннозы и сахарозы. Подходящие многоатомные спирты, обычно короткоцепочечные сахароспирты, содержащиеся в углеродной основной цепи от 3 до 12 атомов углерода, могут быть выбраны из группы, состоящей из глицерина, эритрита, сорбита, маннита, ксилита,

треита, инозита и мальтита. Агенты, регулирующие осмоляльность, такие как сорбит, маннит или глюкозу, обычно применяют в концентрации от 0,5 до 20%, предпочтительно от 2 до 15%, наиболее предпочтительно от 3 до 10% мас./об., т.е. граммы на литр.

Интраназальные композиции для топического введения согласно настоящему описанию могут иметь величину pH в диапазоне от 3,5 до 8,0, обычно в диапазоне от примерно 4,0 до примерно 8,0. Указанные композиции могут содержать один или более допустимых для назального применения агентов, регулирующих pH, или буферных систем, которые предотвращают изменение pH при хранении. Такие агенты, регулирующие pH, включают, без ограничения, борную кислоту, борат натрия, цитрат калия, лимонную кислоту, бикарбонат натрия и различные буферные агенты на основе неорганических фосфатов, такие как Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , KH_2PO_4 , и смеси указанных соединений. Минимальные ионные силы, приносимые любыми указанными агентами, регулирующими pH, не влияют на сущность настоящего изобретения. Для предотвращения осаждения кальция с ионами фосфата из буферной системы можно вводить ЭДТА в концентрации до 2 мг/мл. Кроме того, в продукт можно вводить ароматические добавки, такие как эвкалипт, камфара, ментол, перечная мята или аналогичные добавки в виде масел или экстрактов в известных в данной области техники концентрациях.

Также топические препараты для интраназального применения согласно настоящему описанию могут содержать одно или более допустимых для назального применения поверхностно-активных веществ. Поверхностно-активные вещества способствуют распределению препарата по поверхности слизистой оболочки носа и могут быть ионными или неионными. Примеры неионных поверхностно-активных веществ могут быть выбраны из группы, включающей тилоксапол, сложные эфиры полиоксиэтиленсорбитана, полиэтоксифирированные касторовые масла, полоксамеры, поверхностно-активные вещества на основе полиоксиэтилена/полиоксипропилена, полиоксиэтиленстеарат, полиоксиэтиленпропиленгликольстеарат, гидроксиалкилфосфонат, сложные и простые эфиры лауриновой или пальмитиновой кислот, триэтилоламинолеат или комбинации вышеуказанных агентов. Другие подходящие поверхностно-активные вещества могут быть известны специалистам в данной области техники. Обычно поверхностно-активное вещество может присутствовать в композиции в концентрациях от 0,02 до 0,1% мас./об.

В различных вариантах реализации топический препарат для интраназального применения согласно настоящему описанию может содержать один или более консервантов для ингибирования роста микроорганизмов и увеличения срока хранения. Примеры консервантов включают, без ограничения, эдетат натрия (ЭДТА) и сорбат калия. Количество консерванта обычно составляет менее примерно 0,02% (мас./об.) от всей композиции, ЭДТА можно вводить в концентрации до 2 мг/мл.

Кроме вышеуказанных ингредиентов, как предполагается, в фармацевтических композициях согласно настоящему изобретению может присутствовать ряд дополнительных или альтернативных ингредиентов, причем указанные дополнительные или альтернативные ингредиенты включают антиоксиданты, такие как витамин Е или его коммерчески доступные производные, такие как токоферол-полиэтиленгликоль 1000-сукцинат (TPGS), аскорбиновая кислота или метабисульфит натрия.

Фармацевтические композиции согласно настоящему описанию обеспечивают в стерильной форме для топического введения в полость носа и предпочтительно выполнены с возможностью самостоятельного введения индивидуумом, нуждающимся в указанном введении. В одном из вариантов реализации препарат представляет собой не содержащий частиц назальный спрей. Другие подходящие галеновые препараты включают подходящие для интраназального применения тампоны, а также мази и гели, которые можно применять в полости носа, необязательно в виде спреев или аэрозолей.

Пример 1. Определение значений IC_{50} для каррагинана по отношению к риновирусам человека 1a и 8.

Клетки Hela высевали в планшеты на 96 ячеек с плотностью 5×10^3 клеток на ячейку и культивировали в течение 24 ч в стандартной культуральной среде DMEM, содержащей 4,5 г/л глюкозы. Суспензии вируса, содержащие полимер каррагинана в различных концентрациях от 0 до 150 мкг/мл в комбинации с NaCl и сорбитом (как указано в соответствующих условных обозначениях к каждой таблице) в серийных разведениях, инкубировали в течение 30 мин. Клетки инфицировали указанными суспензиями вирусов, содержащими исследуемые вещества и 7×10^3 (HRV1a) или 5×10^4 (HRV8) инфекционных единиц на ячейку. Через 30 мин после инфицирования вирусный материал удаляли и заменяли не содержащей вируса средой, содержащей полимер каррагинана, соль NaCl и сорбит в испытываемых концентрациях. Клетки инкубировали 2-3 дня при 33°C. Оценивали противовирусную эффективность исследуемых образцов путем определения выживаемости клеток, когда более 90% клеток контроля, инфицированных в отсутствие полимера каррагинана, погибали. Осуществляли инкубирование клеток в тех же серийных разведениях исследуемых веществ (т.е. каррагинановый компонент плюс агенты, регулирующие осмоляльность) в отсутствие вирусной инфекции для контроля возможной токсичности лечения. Расчет значений IC_{50} проводили при помощи стандартного программного обеспечения для обработки данных ExcelFit. Не наблюдали значимого отрицательного воздействия полимера и различных исследуемых концентраций солей или сорбита на неинфицированные клетки.

Таблица 1

Увеличение значений IC_{50} йота-каррагинана по отношению к двум типам риновирусов человека в зависимости от концентрации NaCl по сравнению с гипоосмолярным раствором (0,5% NaCl; осмоляльность=174 мосмоль)

	0,9 % NaCl	2 % NaCl	2,3 % NaCl	2,6 % NaCl
Осмоляльность	295 мосмоль	670 мосмоль	776 мосмоль	872 мосмоль
Ингибирование HRV1a	3,1-кратное*	14,5-кратное*	22,3-кратное*	33,7-кратное*
Ингибирование HRV8	1,8-кратное (нз)	3,6-кратное*	6,9-кратное*	7,5-кратное*

* - значительное различие в значениях IC_{50} по сравнению с составом 0,5%;

нз - незначительное различие по сравнению с составом 0,5%.

Как показано в табл. 1, на ингибирование репликации риновируса человека сильно влияет увеличение концентраций NaCl в препаратах йота-каррагинана. При сравнении гипоосмолярного раствора (0,5% NaCl) с изоосмолярным (0,9%) и гиперосмолярными растворами (2, 2,3 и 2,6% NaCl) наблюдалось значительное снижение эффективности ингибирования, приблизительно до 34 раз.

Как показано в табл. 2, противовирусная эффективность сохранялась при введении 7% сорбита в 0,5 или 0,9%-ный раствор NaCl для получения желаемой повышенной осмоляльности раствора.

Таблица 2

Увеличение значений IC_{50} смеси каррагинанов (йота-каррагинан/каппа-каррагинан 3:1 мас./мас.) в гиперосмолярных растворах по отношению к двум типам риновирусов человека 1a и 8 по сравнению с гипоосмолярным раствором (0,5% NaCl; осмоляльность=174 мосмоль)

	0,5 % NaCl+ 7 % сорбит	0,9 % NaCl+ 7 % сорбит	2,3 % NaCl
Осмоляльность	597 мосмоль	733 мосмоль	748 мосмоль
Ингибирование HRV1a	1,2- кратное (нз)	1,8- кратное (нз)	33-кратное*
Ингибирование HRV8	1,3- кратное (нз)	1,6- кратное (нз)	3,8-кратное*

* - значительное различие в значениях IC_{50} по сравнению с составом 0,5%;

нз - незначительное различие по сравнению с составом 0,5%.

Для получения состава со стабильным pH добавляли 0,5-кратный буферный раствор Мак-Илвейна (фосфатный/цитратный буфер) с 1 мг/мл ЭДТА к растворам каррагинана, содержащим 0,5 или 0,9% NaCl плюс 7 или 10% сорбита. Определяли pH, осмоляльность и вязкость указанных растворов.

В табл. 3 ниже представлено снижение IC_{50} препаратов каррагинана (смесь йота-каррагинана и каппа-каррагинана в отношении 3:1 мас./мас.), полученных согласно настоящему изобретению, по сравнению с препаратами каррагинана, содержащими 2,3% NaCl в качестве единственного агента, регулирующего осмоляльность. Как показано в табл. 3, гиперосмолярный состав каррагинана, содержащий 0,5 или 0,9% NaCl, 7% сорбита с 0,5-кратным буферным раствором Мак-Илвейна и 1 мг/мл ЭДТА, значительно превосходил состав каррагинана только с 2,3% NaCl. Значения осмоляльности растворов, содержащих сорбит, были близки к значению, получаемым для 2,3% раствора соли, который обычно применяют в гиперосмолярных назальных спреях для обеспечения деконгестантного действия.

Таблица 3

Значительное снижение значений IC_{50} смеси каррагинанов (йота-каррагинан/каппа-каррагинан 3:1 мас./мас.) в содержащем буфер гиперосмолярном растворе по отношению к риновирусу человека 8 по сравнению с эффективностью ингибирования вируса для гипоосмолярного раствора каррагинана, содержащего 2,3% NaCl (осмоляльность=904 мосмоль)

	0,5 % NaCl+ 7 % сорбит	0,9 % NaCl+ 7 % сорбит
Осмоляльность	787 мосмоль	904 мосмоль
Ингибирование HRV1a	153-кратное*	84,9-кратное*
Ингибирование HRV8	6,7-кратное*	5,4-кратное*

* - значительное снижение значений IC_{50} по сравнению с составом 2,3%-го раствора соли.

Пример 2. Методика определения минимальной ингибирующей концентрации йота-каррагинана для предотвращения прикрепления коронавируса человека OC43 (анализ ингибирования гемагглютинации).

В планшетах на 96 ячеек инкубировали по две гемагглютинирующие единицы hCoV OC43 на ячейку в полулогарифмических серийных разведениях исследуемых или контрольных образцов в течение 1 мин при комнатной температуре. Конечные исследуемые концентрации составляли от 0,002 до 3 мкг/мл йота-каррагинана в водном растворе, содержащем 0,5, 0,9, 2,0, 2,3 или 2,6% NaCl в присутствии или в отсутствие 7% сорбита. Затем в каждую ячейку добавляли суспензию ККК цыплят (1% об./об. в ФСБ) для обеспечения возможности гемагглютинации красных кровяных клеток (ККК) под действием вируса в течение 15 ч при 4°C. В момент оценки результатов контрольные ККК без каррагинана были полностью агглютинированы, в то время как гемагглютинация в присутствии каррагинана ингибировалась до специфической для каждого образца концентрации, называемой минимальной ингибирующей концентрацией.

Как показано в табл. 4 и 5, составы каррагинана, содержащие повышенные концентрации хлорида натрия (2, 2,3 и 2,6%), были гораздо менее эффективны для предотвращения прикрепления коронавируса человека OC43 к эритроцитам. Замена хлорида натрия сорбитом обращала указанный эффект, и не наблюдалось значимых различий по сравнению с гипоосмолярным раствором каррагинана, содержащим 0,5% хлорида натрия.

Таблица 4

Увеличение минимальной ингибирующей концентрации йота-каррагинана по отношению к коронавирусу человека OC43 в зависимости от концентрации NaCl по сравнению с гипоосмолярным раствором (0,5% NaCl; осмоляльность=174 мосмоль)

	0,9 % NaCl	2 % NaCl	2,3 % NaCl	2,6 % NaCl
Осмоляльность	295 мосмоль	670 мосмоль	776 мосмоль	872 мосмоль
hCV OC43	1-кратное (нз)	10-кратное*	10-кратное*	10-кратное*

* - значительное различие в минимальной ингибирующей концентрации по сравнению с составом 0,5%;

нз - незначительное различие по сравнению с составом 0,5%.

Таблица 5

Увеличение минимальной ингибирующей концентрации йота-каррагинана по отношению к коронавирусу человека OC43 в гиперосмолярном растворе по сравнению с гипоосмолярным раствором (0,5% NaCl; осмоляльность=174 мосмоль)

	0,5 % NaCl+ 7 % сорбит	0,9 % NaCl+ 7 % сорбит	2,3 % NaCl
Осмоляльность	597 мосмоль	733 мосмоль	748 мосмоль
hCV OC43	1-кратное (нз)	1-кратное (нз)	10-кратное*

* - значительное различие в минимальной ингибирующей концентрации по сравнению с составом 0,5%;

нз - незначительное различие по сравнению с составом 0,5%.

Пример 3. Стерилизующее фильтрование гиперосмолярных растворов, содержащих каррагинан.

Как показано в табл. 6, стерилизующее фильтрование гиперосмолярных растворов, содержащих каррагинан, нарушалось в случае высоких концентраций хлорида натрия. Введение 7 или 10% сорбита в качестве альтернативного носителя осмоляльности в некоторых препаратах оказывало сходное действие, т.е. некоторые растворы также невозможно было подвергнуть стерилизующему фильтрованию через фильтрующую систему 0,22 мкм. Напротив, все гиперосмолярные составы каррагинана, дополнительно содержавшие буферный агент и ЭДТА, можно было подвергнуть стерилизующему фильтрованию через фильтр 0,22 мкм. Следовательно, состав каррагинана, содержащий неионный агент, регулирующий осмоляльность, такой как сорбит, частично или полностью заменяющий ионный агент, регулирующий осмоляльность, такой как хлорид натрия, совместно с подходящим буферным агентом и ЭДТА может обеспечивать стерильный раствор, эффективный для устранения заложенности носа и сохраняющий противовирусную активность по отношению по меньшей мере к риновирусам человека.

Таблица 6

Сводные данные по гипертоническим препаратам каррагинана, содержащим различные количества хлорида натрия, сорбита и различные количества буфера и ЭДТА

№ препарата	Йота-карр [%]	Каппа-карр. [%]	Сорбит	NaCl [%]	Буфер Мак-Ильвейна и ЭДТА, рН 6,0 [х-кратный]	Осмоляльность [мосмоль / кг]	рН (КТ)	Стерилизующее фильтрование возможно
	[%]				рН 6,0 [х-кратный]			
1	0,12	0,04	0	2,0	0	670	6,97	да
2	0,12	0,04	0	2,3	0	776	7,33	нет
3	0,12	0,04	0	2,6	0	872	7,18	нет
4	0,12	0,04	7	0,5	0,25	719	5,93	да
5	0,12	0,04	10	0,5	0,25	954	5,91	да
6	0,12	0,04	7	0,9	0,25	829	5,85	да
7	0,12	0,04	10	0,9	0,25	1090	5,83	да
8	0,12	0,04	7	0,5	0,5	787	5,98	да
9	0,12	0,04	7	0,9	0,5	904	5,91	да
10	0,12	0,04	0	2,3	0,25	829	5,70	да
11	0,12	0,04	0	2,3	0,5	904	5,80	да
12	0,12	0,04	7	0,5	0	597	6,64	нет
13	0,12	0,04	7	0,9	0	733	6,61	нет
14	0,12	0	7	0,5	0	595	6,46	да
15	0,12	0	7	0,9	0	706	6,76	да
16	0,12	0	7	0,5	0,25	670	5,94	да
17	0,12	0	10	0,5	0,25	877	5,93	да
18	0,12	0	7	0,9	0,25	801	5,86	да
19	0,12	0	10	0,9	0,25	1021	5,84	да
20	0,12	0	7	0,5	0,5	755	5,99	да
21	0,12	0	7	0,9	0,5	889	5,92	да

Определяли осмоляльность и рН препаратов. Проверяли возможность стерилизующего фильтрования через фильтр 0,22 мкм. Сорбит можно заменять на ксилит и маннит для получения сравнимых результатов, касающихся стерилизующего фильтрования и терапевтической эффективности (данные не показаны).

Кроме того, в композицию можно вводить аромат эвкалипта в качестве ароматизатора, обычно в концентрациях в диапазоне от 0,01 до 0,05 мл/л, например от 0,02 до 0,3 мл/л (0,002-0,003% об./об.) относительно готовой композиции. Также можно вводить декспантенол в качестве влагоудерживающего агента, смягчителя и/или увлажнителя, обычно в концентрациях в диапазоне от 1 до 5% об./об. относительно готовой композиции. Декспантенол также известен как средство, способствующее гидратации, снижающее зуд и воспаление кожи и ускоряющее заживление повреждений эпидермиса.

Пример 4. Препарат назального спрея, обладающий противовирусным и деконгестантным действием.

Йота-каррагинан: 1,2 мг/мл

Каппа-каррагинан: 0,4 мг/мл

Сорбит: 70 мг/мл

NaCl: 5 мг/мл
 0,5-кратный буфер Мак-Ильвейна
 1 мг/мл ЭДТА
 Осмоляльность: 787 мосмоль/л
 Вода до 100%

Пример 5. Препарат назального спрея, обладающий противовирусным и деконгестантным действием.

Йота-каррагинан: 1,2 мг/мл
 Каппа-каррагинан: 0,4 мг/мл
 Сорбит: 70 мг/мл
 NaCl: 9 мг/мл
 0,5-кратный буфер Мак-Ильвейна
 1 мг/мл ЭДТА
 Осмоляльность: 904 мосмоль/л
 Вода до 100%

Пример 6. Препарат назального спрея, обладающий противовирусным и деконгестантным действием.

Йота-каррагинан: 1,2 мг/мл
 Каппа-каррагинан: 0,4 мг/мл
 Сорбит: 100 мг/мл
 NaCl: 5 мг/мл
 0,25-кратный буфер Мак-Ильвейна
 1 мг/мл ЭДТА
 Осмоляльность: 954 мосмоль/л
 Вода до 100%

Пример 7. Препарат назального спрея, обладающий противовирусным и деконгестантным действием.

Йота-каррагинан: 1,2 мг/мл
 Каппа-каррагинан: 0,4 мг/мл
 Сорбит: 100 мг/мл,
 NaCl: 9 мг/мл,
 0,5-кратный буфер Мак-Ильвейна
 1 мг/мл ЭДТА,
 Осмоляльность: 1090 мосмоль/л
 Вода до 100%

В примерах 4-7 сорбит можно частично или полностью заменять эквивалентными концентрациями ксилита и/или маннита, не оказывая значимого влияния на эффективность против заложенности носа и/или противовирусную эффективность соответствующих препаратов (данные не показаны).

Пример 8. Эффект устранения заложенности носа.

10 пациентов, сообщавших о заложенности носа в течение более чем 12 ч, обусловленной гриппоподобной инфекцией верхних дыхательных путей, получали лечение препаратом, полученным согласно примеру 4 (препарат № 8 в табл. 6). 140 мкл препарата вводили в каждую ноздрю при помощи стандартного устройства для впрыскивания назального спрея. Через 2 мин после введения добровольцы сообщали об облегчении заложенности носа, и через 5 мин все добровольцы могли свободно дышать через нос. Добровольцы продолжали чувствовать деконгестантное действие в течение более чем 1 ч. Половина добровольцев сообщала даже о значительном облегчении симптомов на протяжении 4 ч после введения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Гиперосмолярная фармацевтическая композиция, выполненная для топического введения в носовую полость для устранения заложенности носа, обладающая активностью против вирусных инфекций дыхательных путей, характеризующаяся тем, что содержит неионный агент, регулирующий осмоляльность, в сочетании с ионным агентом, регулирующим осмоляльность, и каррагинановый компонент в качестве активного противовирусного ингредиента, содержащая:

подходящий для назального применения буфер, при этом значение pH указанной композиции доведено до значения от 4,0 до 8,0;

эдетат натрия (ЭДТА) в концентрации до 2 мг/мл;

не более 1,5% мас./об. указанного ионного агента регулирующего осмоляльность, выбранного из группы, состоящей из хлорида натрия, хлорида калия и их смеси;

от 1 до 15% мас./об. указанного неионного агента, регулирующего осмоляльность, который выбран из группы, состоящей из моносахаридов, дисахаридов и короткоцепочечных C₃-C₁₂ полиолов;

от 0,05 до 1% мас./об. каррагинанового компонента в качестве единственного активного противо-

вирусного ингредиента, который выбран из йота-каррагинана, каппа-каррагинана и смеси йота- и каппа-каррагинана, и

гиперосмолярность указанной композиции составляет от 500 до 1000 мосмоль/кг.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что указанные моно- и дисахариды выбраны из группы, состоящей из глюкозы, фруктозы, сахарозы и маннозы, и указанные полиолы выбраны из группы, состоящей из глицерина, эритрита, маннита, сорбита, инозита, ксилита, трита и мальтита.

3. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, дополнительно содержащая по меньшей мере одну физиологически приемлемую добавку, выбранную из группы, состоящей из консерванта, антиоксиданта, влагоудерживающего агента, мягчителя, увлажнителя и ароматизатора.

4. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-3, содержащая указанный неионный агент, регулирующий осмоляльность, в концентрации от 5 до 10% мас./об. от общей массы/объема композиции.

5. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-4, содержащая ионный агент, регулирующий осмоляльность, в концентрации от 0,1 до 1,3% мас./об. или от 0,5 до 1,2% мас./об. от общей массы/объема композиции.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-5, содержащая ЭДТА в концентрации 1-2 мг/мл.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-6, отличающаяся тем, что указанная композиция в виде готового к применению препарата содержит не более 1,2% и предпочтительно менее 0,9% мас./об. указанного ионного агента, регулирующего осмоляльность.

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-7, отличающаяся тем, что концентрация указанного каррагинанового компонента в готовом к применению препарате составляет от 0,1 до 0,5% мас./об. и предпочтительно от 0,1 до 0,3% мас./об.

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-8, отличающаяся тем, что гиперосмолярность указанной композиции составляет от 650 до 900 мосмоль/кг.

10. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-9 для получения лекарственного средства, подходящего для устранения заложенности носа с одновременным лечением вирусной инфекции верхних дыхательных путей.

11. Применение по п.10, отличающееся тем, что указанная вирусная инфекция вызвана по меньшей мере одним из риновируса человека, коронавируса человека, вируса парагриппа, метапневмовируса, респираторно-синцитиального вируса, вируса гриппа А, вируса гриппа В и аденовируса подтипа В.

12. Применение по п.11, отличающееся тем, что указанное лекарственное средство выполнено в виде назального спрея.

