

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202092218** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.01.25

(22) Дата подачи заявки
2019.04.19

(51) Int. Cl. *A61K 31/496* (2006.01)
A61K 47/14 (2017.01)
A61K 47/44 (2017.01)
A61K 9/20 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ВАРИАНТЫ)

(31) 2018114533
(32) 2018.04.19
(33) RU
(86) PCT/RU2019/050048
(87) WO 2019/203697 2019.10.24
(71) Заявитель:
**РОЗИЕВ РАХИМДЖАН
АХМЕТДЖАНОВИЧ (RU)**

(72) Изобретатель:
**Еримбетов Кенес Тагаевич, Власова
Ксения Юрьевна, Земляной
Руслан Александрович, Фрог Фрог
Сергеевна, Бондаренко Екатерина
Валерьевна, Гончарова Анна
Яковлевна, Розиев Рахимджан
Ахметджанович (RU)**

(74) Представитель:
Чабань Ю.М. (RU)

(57) Изобретение относится к медицине, ветеринарии, конкретно к фармакологии, и касается фармацевтической композиции на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{{6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил}карбонил}-4-бензилпиперазина (варианты). Композицию предлагается использовать в качестве средства с направленной доставкой для лечения гриппа и ОРВИ.

A1

202092218

202092218

A1

Композиция на основе твердых липидных частиц, обладающая свойством направленной доставки для лечения вирусных заболеваний (варианты)

Изобретение относится к медицине, ветеринарии, конкретно к фармакологии, и касается применения композиции на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина в качестве средств с направленной доставкой для лечения гриппа и ОРВИ.

Вирусные инфекции широко распространены в человеческой популяции и способны поражать практически все органы и системы организма хозяина, вызывая латентную, острую, хроническую и медленную формы инфекции. Высокая заболеваемость и смертность от вирусных инфекций диктует необходимость создания этиотропных лекарственных препаратов. Значительная часть регистрируемых заболеваний вирусной этиологии приходится на грипп и ОРВИ.

Грипп является инфекционным заболеванием, наносящим вред здоровью людей и приводящий к значительным экономическим потерям. В дополнении к вакцинации Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ) рекомендовано применение противогриппозных этиотропных химиопрепаратов, оказывающих непосредственное воздействие на репродукцию вируса и направленных на определенную вирусспецифическую мишень в ее цикле [1. Hayden F. WHO Guidelines on the Use of Vaccines and Antivirals during Influenza. - Annex 5-Considerations for the Use of Antivirals during an Influenza pandemic, Geneva, 2-4 October, 2002. 2. European Medical Agency. Antivirals.<http://www.emea.europa.eu/influenza>. 3. CDC Interim Antiviral Guidance for 2010-2011.<http://www.cdc.gov/flu/recommendation.htm>. 4. Emergence of novel swine -origin influenza A (H1N1) virus in human. Novel swine-origin influenza A (H1N1) virus investigation team. The New England Journal of Medicine 2009; 10:1-10]. Количество таких препаратов в медицине чрезвычайно ограничено. Существуют препараты первого поколения адамантанового ряда - амантадин и ремантадин, блокирующие протонный канал, так называемые «М2-белки ингибиторы», эффективные в отношении вируса гриппа А, а также препараты второго поколения - ингибиторы нейраминидазы - занамивир (реленца) и осельтамивир (тамифлю). Последние препараты по сравнению с препаратами адамантанового ряда имеют лучшие показатели безопасности. Главными причинами ограниченного применения противовирусных препаратов является возникновение резистентности вирусов к уже известным препаратам. Исследования клинических изолятов показали, что процент штаммов вируса гриппа А, резистентных как адамантанам, так и ингибитору нейраминидазы осельтамивиру чрезвычайно возрос в мире. По данным Центра контроля заболеваний (Атланта, США) в эпидемический сезон 2008-2009 гг. практически все циркулирующие в этот период штаммы вируса гриппа А H3N2 были резистентны к амантадину/ремантадину, а 98-100 % штаммов сезонного гриппа H1N1 были резистентны к ингибитору нейраминидазы - осельтамивиру. Существенным недостатком указанных лекарственных средств является и то, что их применение часто сопряжено с возникновением побочных эффектов в виде раздражения носоглотки, что ограничивает использование его у людей с астмой и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), которые относятся к группе риска по

заболеваемости гриппом, а необходимость распылительного устройства осложняет его применение у пожилых людей и детей [Relenza: Highlights of Prescribing Information. <http://www.cdc.gov/h1n1flu/eua/pdf//relenza>]. При применении осельтамивира наблюдаются побочные эффекты в виде тошноты и рвоты [Roche. Tamiflu (Oseltamivir Phosphate) capsules and Tamiflu for oral suspension, <http://www.rocheusa.com>]. Одним из путей повышения эффективности лечения гриппа и ОРВИ является разработка этиотропных препаратов с новой химической структурой, отличным механизмом действия и новой лекарственной формой, обеспечивающей направленную доставку.

Одной из актуальных проблем современной фармакологии является создание лекарственных форм, которые не только эффективно действуют на пораженные заболеванием органы и клетки, но и способны при введении в организм максимально полно и количественно достигать патологического очага, преодолевая множество естественных барьеров.

Разработка новых лекарственных форм препаратов с различными системами доставки, позволяющими повысить концентрацию поступающего лекарственного средства к пораженному органу и снизить выраженность побочных действий, является эффективным способом улучшения качества терапии.

Известны соединения, обладающие противовирусной активностью, способ их получения /Патент РФ № 2387642, C07D401/06, 31.10.2007/.

Известно интерферониндуцирующее средство для лечения острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) /Патент РФ № 2470634, 05.10.2010/.

Известно средство против вируса гриппа В /Патент РФ № 2435582, 05.10.2010/.

В качестве средств для лечения гриппа и ОРВИ предложено использовать клатратные комплексы бета-циклодекстрина с производным индола, обладающего противовирусной активностью /Патент РФ № 2448120, C07D413/06/ 01.11.2010/.

Вышеприведенные средства для лечения гриппа и ОРВИ не позволяют повысить концентрацию поступающего препарата к пораженному органу и снизить выраженность побочных действий и не обеспечивают улучшения качества терапии, в этом заключается решаемая техническая проблема.

Традиционные пути введения и лекарственные формы фармакологических препаратов не всегда могут создавать необходимую терапевтическую концентрацию в очаге поражения и обеспечивать достаточную продолжительность действия, вызывая при этом системные побочные эффекты. В связи с этим одним из приоритетных направлений современной фармакологии и связанных с ней дисциплин является изыскание новых способов и средств доставки существующих и разрабатываемых лекарственных средств. Современные транспортные системы способны изменять фармакокинетику переносимых ими лекарственных веществ, оптимизируя процессы абсорбции, распределения в тканях (преодоление гистогематических барьеров, включая гематоэнцефалический), метаболизма и элиминации [Козлов И.Г., Кукушкин Г.В., Юров Д.Е., Томаев У.М./Новые подходы к созданию направленного транспорта лекарственных веществ в лимфатическую систему//Журнал «Здравоохранение Чувашии», 2013, выпуск № 4].

Одним из способов целенаправленной доставки лекарственного препарата к очагу поражения является его транспорт посредством лимфатической системы. При этом удастся не только создавать и поддерживать адекватные концентрации лекарственных средств в тканях-

мишенях, но и воздействовать на патогенные агенты непосредственно в лимфе.

В настоящее время практическое применение находят разнообразные системы доставки, обладающие различными физическими и биохимическими свойствами. Большое внимание уделяется лекарственным формам, содержащим липиды – твёрдые липидные наночастицы (SLN, solid lipid nanoparticles), наноструктурные липидные носители (NLC, nanostructured lipid carriers), липидные наноэмульсии, конъюгаты липид-лекарство (LDC, lipid drug conjugates). Липидные лекарственные формы могут повышать биодоступность липофильного лекарства путем улучшения его солюбилизации в просвете кишечника (за счет образования везикул, смешанных везикул и мицелл), а также влияя на транспортные и метаболические процессы в энтероцитах [Ипатова О.М., Торховская Т.И., Медведева Н.В., Прозоровский В.Н., Иванова Н.Д., Широнин А.В., Баранова В.С., Арчаков А.И./Биодоступность пероральных лекарственных форм и способы ее повышения// Биомедицинская химия, 2010, том 56, вып. 1, с. 101-119].

Лекарственные формы, содержащие липиды, твёрдые липидные наночастицы, представляют собой однородные частицы, сформированные из липидов, находящихся в одинаковых агрегатных состояниях, при этом молекулы лекарственного вещества диспергированы в пространстве между боковыми цепями жирных кислот.

Основными материалами для синтеза твердых липидных наночастиц являются триглицериды и воски. Размеры наноносителей данного типа колеблются от 50 до 1000 нм. Лекарственное вещество в них, как правило, высоколипофильное, растворено в ядре или диспергировано по всей матрице. Твердые липидные наночастицы хорошо абсорбируются в лимфатические сосуды кишечника и через грудной проток поступают в большой круг кровообращения, не подвергаясь пресистемному метаболизму. Они хорошо зарекомендовали себя в качестве средств целенаправленной доставки в экспериментальном исследовании, оценивавшем проницаемость гемато-энцефалического барьера (ГЭБ) для антиретровирусных препаратов: стадивудина, делавирдина и саквинавира [Козлов И.Г., Кукушкин Г.В., Юров Д.Е., Томаев У.М./Новые подходы к созданию направленного транспорта лекарственных веществ в лимфатическую систему//Журнал «Здравоохранение Чувашии», 2013, выпуск № 4]. В случае с применением противогриппозных препаратов за счет целенаправленной доставки и увеличения их концентрации в верхних дыхательных путях обеспечивается подавление репродукции вируса в этих органах, что в конечном итоге позволяет снизить выраженность побочных действий и повысить эффективность лечения гриппа и ОРВИ.

Таким образом, техническая проблема, на решение которой направлено заявляемое изобретение, заключается в том, что существующие средства для лечения гриппа и ОРВИ не обеспечивают улучшения качества терапии, низкоэффективны. Технический результат – это обеспечение направленной доставки и увеличение концентрации лекарственного средства в верхних дыхательных путях при снижении применяемых доз лекарственного средства.

Для решения обозначенной технической проблемы и достижения технического результата в настоящем изобретении предлагается фармацевтическая композиция на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-

3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина, обладающая свойством направленной доставки для лечения гриппа и ОРВИ, при следующем соотношении компонентов, масс %:

Вариант 1:

Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин	2,0 – 14,0
Глицерид длинноцепочечных жирных кислот	64,0 – 86,0
Масло растительное	10,0 – 20,0
Эмульгатор	2,0

Фармацевтическая композиция дополнительно может содержать триглицерид среднецепочечный при следующем соотношении компонентов, масс %:

Вариант 2:

Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин	2,0 – 14,0
Глицерид длинноцепочечных жирных кислот	50 – 70,0
Масло растительное	10,0 – 30,0
Триглицерид среднецепочечный	4,0 – 16,0
Эмульгатор	2,0

Глицерид длинноцепочечных жирных кислот может быть выбран из группы, например, глицерилтристеарата, глицерилдистеарата, глицерилмоностеарата, глицерилпальмитата, глицерилдибегената, глицерилтрибегената, глицерилмоноолеата, белого воска или воска цетиловых эфиров.

Масло растительное выбирают из группы, например, масла оливкового, арахисового, кунжутного, льняного, рапсового, соевого, хлопкового, лимонного, апельсинового.

В качестве триглицерида среднецепочечного может быть выбрано масло кокосовое или пальмовое или пальмоядровое.

В качестве эмульгатора выбирают лецитин или желатин.

Заявляемые композиции на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина в качестве средств с направленной доставкой для лечения гриппа и ОРВИ получали следующим образом.

Твердые липидные частицы, содержащие гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин, получали способами, описанными в работе [Meghavi Patel, Development, Characterization and Evaluation of Solid Lipid Nanoparticles as a Potential Anticancer Drug Delivery System, University of Toledo, 2012], с модификациями. Метод 1: метод горячей гомогенизации. В стакане на 100 мл при нагревании 50-60 °C смешивали 25 г липидов, далее вводили раствор гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина в спирте. Смесь выдерживали при нагревании в течение 30 мин при постоянном перемешивании для удаления спирта и равномерного распределения гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина по всему объему липидов. К полученному раствору добавляли раствор

лецитина в воде с концентрацией 2 мг/мл при $t=50\text{ }^{\circ}\text{C}$, тщательно перемешивали до получения однородной эмульсии. Конечную эмульсию переливали в 2 л деионизированной воды комнатной температуры при постоянном перемешивании, далее суспензию обрабатывали ультразвуковым щупом (14 Вт) в течение 1 мин для измельчения частиц. Твердые липидные частицы отфильтровывали на воронке Бюхнера, высушивали на воздухе. В результате получали частицы со средним диаметром 1000 нм. Метод 2: обращено-фазовый метод. В круглодонной колбе растворяли 25 г липидов, вводили навеску гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина в 5 мл спирта. Далее добавляли 500 мл деионизированной воды, эмульгировали смесь с помощью ультразвукового щупа (14 Вт) и выпаривали спирт на роторном испарителе при температуре $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. При этом следует не допускать вспенивания смеси. Конечную полученную композицию остужали до комнатной температуры. Размер полученных частиц составлял 500-1000 нм. Метод 3: через получение основания. 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин предварительно растворяли в спирте и проводили титрование 0,1 М раствором гидроксида натрия для получения основания. Далее повторяли процедуру, описанную в методе 1 или методе 2.

Частицы были охарактеризованы следующими физико-химическими методами: размер частиц определяли с помощью микроскопа PZO Worszava и методом динамического светорассеяния (Malvern Zetasizer). Содержание 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина в композициях на основе твердых липидных частиц определяли методом ВЭЖХ (Ultimate Dionex 3000, детектор диодно-матричный на аналитических колонках Waters Acquity VEN C18 (100×2,1 мм, 1,7 мкм).

С помощью описанных методов были получены композиции на основе твердых липидных частиц гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина. Их составы представлены в таблицах 1 – 6.

Таблица 1 – Состав заявляемой композиции № 1.1

Компоненты	Содержание, масс %
Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин	2,0
Глицерилтристеарат/глицерилдистеарат/глицерилмоностеарат /глицерилпальмитат/глицерилдибегенат/глицерилтрибегенат/глицерилмоноолеат/белый воск/воск цетиловых эфиров	70,0
Масло оливковое / арахисовое / кунжутное / льняное / рапсовое/соевое/хлопковое/лимонное/апельсиновое	10,0
Масло кокосовое/пальмовое/пальмоядровое	16,0
Лецитин/желатин	2,0

Таблица 2 – Состав заявляемой композиции № 1.2

Компоненты	Содержание, масс %
Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин	8,0
Глицерилтристеарат/глицерилдистеарат/глицерилмоностеарат /глицерилпальмитат/глицерилдибегенат/ глицерилтрибегенат/глицерилмоноолеат/ белый воск/воск цетиловых эфиров	60,0
Масло оливковое/ арахисовое /кунжутное /льняное /рапсовое /соевое/хлопковое/лимонное/апельсиновое	20,0
Масло кокосовое/пальмовое/ пальмоядровое	10,0
Лецитин/желатин	2,0

Таблица 3 – Состав заявляемой композиции № 1.3

Компоненты	Содержание, масс %
Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин	14,0
Глицерилтристеарат/глицерилдистеарат/глицерилмоностеарат /глицерилпальмитат/глицерилдибегенат/ глицерилтрибегенат/глицерилмоноолеат/ белый воск/воск цетиловых эфиров	50,0
Масло оливковое /арахисовое /кунжутное /льняное /рапсовое /соевое/хлопковое/лимонное/апельсиновое	30,0
Масло кокосовое/пальмовое/ пальмоядровое	4,0
Лецитин/желатин	2,0

Таблица 4 – Состав заявляемой композиции № 2.1

Компоненты	Содержание, масс %
Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин	2,0
Глицерилтристеарат/глицерилдистеарат/глицерилмоностеарат /глицерилпальмитат/глицерилдибегенат/ глицерилтрибегенат/глицерилмоноолеат/ белый воск/воск цетиловых эфиров	86,0
Масло оливковое /арахисовое /кунжутное /льняное /рапсовое /соевое/хлопковое/лимонное/апельсиновое	10,0
Лецитин/желатин	2,0

Таблица 5 – Состав заявляемой композиции № 2.2

Компоненты	Содержание, масс %
------------	--------------------

Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин	8,0
Глицерилтристеарат/глицерилдистеарат/ глицерилмоностеарат /глицерилпальмитат/ глицерилдибегенат/ глицерилтрибегенат/ глицерилмоноолеат /белый воск/воск цетиловых эфиров	75,0
Масло оливковое /арахисовое /кунжутное /льняное /рапсовое /соевое/хлопковое/лимонное/апельсиновое	15,0
Лецитин/желатин	2,0

Таблица 6 – Состав заявляемой композиции № 2.3

Компоненты	Содержание, мас. %
Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин	14,0
Глицерилтристеарат/глицерилдистеарат/ глицерилмоностеарат /глицерилпальмитат/ глицерилдибегенат/ глицерилтрибегенат/ глицерилмоноолеат/белый воск/воск цетиловых эфиров	64,0
Масло оливковое /арахисовое /кунжутное /льняное /рапсовое /соевое/хлопковое/лимонное/апельсиновое	20,0
Лецитин/желатин	2,0

Указанные фармацевтические композиции могут применяться в форме таблеток, желатиновых капсул, при следующем соотношении компонентов:

- Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин от 2 до 14%;
- наполнитель (и) или носитель (и) остальное.

Сущность изобретения поясняется примерами конкретного выполнения и рисунками.

На Рисунке 1 представлен коэффициент тканевой доступности для легких и трахеи+бронхов крыс при внутрижелудочном однократном введении заявляемой композиции 1.1, гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина и его клатратного комплекса с бета-циклодекстрином.

На Рисунке 2 представлен коэффициент тканевой доступности для легких и трахеи+бронхов крыс при внутрижелудочном однократном введении заявляемой композиции 1.2, гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина и его клатратного комплекса с бета-циклодекстрином.

На Рисунке 3 представлен коэффициент тканевой доступности для легких и трахеи+бронхов крыс при внутрижелудочном однократном введении заявляемой композиции 1.3, гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина и его клатратного комплекса с бета-циклодекстрином.

На Рисунке 4 представлен коэффициент тканевой доступности для легких и трахеи+бронхов крыс при внутрижелудочном однократном

введении заявляемой композиции 2.1, гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина и его клатратного комплекса с бета-циклодекстрином.

На Рисунке 5 представлен коэффициент тканевой доступности для легких и трахеи+бронхов крыс при внутрижелудочном однократном введении заявляемой композиции 2.2, гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина и его клатратного комплекса с бета-циклодекстрином.

На Рисунке 6 представлен коэффициент тканевой доступности для легких и трахеи+бронхов крыс при внутрижелудочном однократном введении заявляемой композиции 2.3, гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина и его клатратного комплекса с бета-циклодекстрином.

Пример 1. Определение тканевой доступности композиции на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина в рамках исследования фармакокинетики распределения в органах и тканях крыс линии Wistar.

Проведено исследование сравнительной фармакокинетики распределения 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина в крови, органах и тканях при внутрижелудочном однократном введении крысам заявляемых композиций, гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина и его клатратного комплекса с бета-циклодекстрином в дозе 50 мг/кг.

Для проведения эксперимента были сформированы следующие группы крыс по 40 шт.:

1-я - гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазин;

2-я - клатратный комплекс бета-циклодекстрина с гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазином;

3-я - заявляемая композиция 1.1;

4-я - заявляемая композиция 1.2;

5-я - заявляемая композиция 1.3;

6-я - заявляемая композиция 2.1;

7-я - заявляемая композиция 2.2;

8-я - заявляемая композиция 2.3.

Образцы крови брали после декапитации животных. Кровь отбирали от каждого животного в пробирки, содержащие 100 мкл 5% Na₂-ЭДТА, через следующие временные интервалы: 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 30 и 48 часов после внутрижелудочного введения заявляемых композиций, гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина и его клатратного комплекса с бета-циклодекстрином. На каждую временную точку были взяты по 5 крыс. Плазму крови отделяли центрифугированием при 4000 об/мин. в течение 15 мин. Пробы плазмы крови заморозили и хранили до анализа при минус 70 °С. Для изучения распределения у животных после их декапитации забирали и замораживали фрагменты следующих органов и тканей: легкие, трахеи+бронхи.

Содержание 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина в плазме крови, органах и тканях анализировали методом ВЭЖХ-МС-МС (ВЭЖХ-системы Thermo Ultimate-3000 с tandemным масс-спектрометрическим детектором Thermo

TSQ Exactive Plus) с источником нагреваемой электрораспылительной ионизации в режиме регистрации положительных ионов на аналитических колонках Waters Acquity BEH C18 (50×2.1 мм, 1,7 мкм).

Пробоподготовку образцов проводили путем осаждения белков и экстракции ацетонитрилом плазмы крови и водных гомогенатов органов. Предел количественного определения 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина в различных тканях составил ≤ 10 нг/мл.

На основании полученных данных по концентрациям 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина в плазме крови (нг/мл) и трахеи и бронхах (нг/г ткани) были рассчитаны площади под фармакокинетическими кривыми от момента введения до конкретной временной точки (AUC_{0-t}). По полученным данным рассчитывали коэффициент тканевой доступности по следующей формуле:

Коэффициент тканевой доступности = AUC_{0-t} (ткани) / AUC_{0-t} (плазмы крови).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что при введении крысам заявляемых композиции 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 по сравнению с гидрохлоридом 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина и его клатратным комплексом с бета-циклодекстрином отмечено от 2- до 6-кратное повышение коэффициента тканевой доступности для легких и трахеи+бронхов (Рис. 1 – 6). Как видно из представленных рисунков внутрижелудочное введение крысам предлагаемых композиций на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина обеспечивает максимальное его проникновение в верхние дыхательные пути и подавление репродукции вируса в этих органах, что очень важно при лечении гриппа и ОРВИ.

Таким образом, заявляемые композиции на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина в качестве противогриппозных препаратов за счет целенаправленной доставки и увеличения его концентрации в верхних дыхательных путях обеспечат подавление репродукции вируса в этих органах, что в конечном итоге позволит снизить выраженность побочных действий и повысить эффективность лечения гриппа и ОРВИ.

Пример 2. Изучение эффективности заявляемых композиций на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина на модели экспериментальной гриппозной пневмонии мышей.

Исследования по противогриппозной активности заявляемых композиций на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина *in vivo* проведены в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова).

Целью исследования являлось изучение эффективности заявляемых композиций на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина в двух дозах на модели вирусной гриппозной

пневмонии мышей. В качестве препарата сравнения использовали противогриппозное лекарственное средство умифеновир.

Материал и методы

Препараты, приготовление растворов для экспериментов

В экспериментах использовали композиции на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил] карбонил}-4 бензилпиперазина, их составы приведены в таблицах 1-6, фармацевтическую субстанцию умифеновир. Для лечения животных заявляемые композиции и умифеновир готовили в виде суспензии в 1 % растворе крахмала. Вводимые дозы исследуемых препаратов указаны из расчета содержания фармацевтической субстанции в лекарственной форме. Образцы исследуемых препаратов готовили непосредственно перед проведением эксперимента, животным вводили по 200 мкл приготовленных препаратов внутривентрикулярно. Вещества взвешивали с точностью до 0,1 мг на аналитических весах. Дозы препаратов рассчитывали в относительных массовых единицах – мг/кг массы тела животных в сутки.

Вирус

Для моделирования гриппозной пневмонии был использован штамм вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (пндмH1N1 2009), предоставленный ВОЗ, в лиофилизированном состоянии, хранившийся при плюс 4 °С и адаптированный к мышам. Для адаптации и подготовки инфицирующего материала мышей заражали интраназально разведенным вирусом, после проявления признаков болезни их гуманно умерщвляли и вскрывали. В стерильных условиях получали гомогенат легочной ткани. Полученный гомогенат легочной ткани использовали для заражения 10-дневных куриных эмбрионов, из которых получали аллантоисный вирус и после титрования на его мышах (определения МЛД₅₀ (мышьяная летальная доза 50) дозы вируса, вызывающая 50 % гибели зараженных мышей) проводили инфицирование животных. В опытах использовали один пул вируса, который не замораживали и хранили при температуре 4 °С. Этот же пул вируса использовали в 2-х экспериментах.

Типирование используемого вируса в реакции торможения гемагглютинации (РТГА)

Для типирования вируса в РТГА применили специфические сыворотки к эталонным штаммам вирусов гриппа – А/Калифорния /04/2009 (H1N1) и сезонный вирус А/Брисбен/59/2007 (H1N1), полученные из ВОЗ. Для постановки РТГА использовали 96-луночные микропланшеты с V-образными лунками. Сыворотки в двукратно снижающихся концентрациях разводили в изотоническом растворе натрия хлорида и разливали по лункам. К каждому их разведению добавляли равное количество вируссодержащей жидкости. Контролем являлась взвесь вируса в изотоническом растворе натрия хлорида. Планшеты со смесью сывороток и вируса выдерживали в термостате 30 мин или при комнатной температуре 2 ч, затем в каждую из них добавляли взвесь эритроцитов. Результаты реакции учитывали через 30 минут. Выводы о результатах типирования вируса делали на основании выявленного взаимодействия тестируемого вируса с одной из позитивных референс-сывороток. Вирус относили к тому или иному типу (субтипу) вируса при условии его взаимодействия с соответствующей референс-сывороткой не менее 1/4 гомологичного титра.

Животные

Беспородных мышей, самок с массой тела 12-14 г. получали из питомника «Андреевка» (Московская обл.) и содержали на стандартном рационе. Животных содержали в регламентированных условиях вивария при естественном световом режиме на стандартном пищевом рационе и

свободном доступе к воде и пище. Кормили животных брикетированными кормами в соответствии с утвержденными нормами. Содержание животных соответствовало правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Маркировка животных по группам производилась с помощью окраски красителями поверхности тела.

Животных взвешивали на весах Ohaus Scout SPX222 (НПВ 220г, дискретность 0,01 г) каждый раз в определенное время (12.00 часов дня).

Описание и схемы применения препаратов на модели гриппозной пневмонии мышей

Препарат сравнения умифеновир

В качестве препарата сравнения использовали умифеновир. Целесообразность выбора умифеновира определялась тем, что он является единственным лицензированным противогриппозным препаратом, относящимся к классу индолов, доказавшим свою эффективность и безопасность в доклинических и клинических испытаниях. Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин входящий в состав композиции также относится к этому классу. Умифеновир вводили за 24 часа и 1 час до инфицирования, далее в течение 5 суток 1 раз в сутки после инфицирования. Для внутрижелудочного введения использовали одноразовый инсулиновый шприц со специальной иглой (лаваж).

Исследуемые композиции

В первом эксперименте при изучении эффективности заявляемых композиций на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина, так же как и в случае умифеновира, была применена следующая схема лечения: за 24 часа и 1 час до инфицирования, далее в течение 5 суток 1 раз в сутки после инфицирования. Во втором эксперименте при лечении заявляемыми композициями на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина использовали 2 дозы и 2 схемы введения. Первую дозу равную 3,7 мг/кг/сутки вводили за 1 сутки до инфицирования 2 раза в день; за 4 до и 4 часа после инфицирования в день заражения; далее 2 раза в сутки в течение 7 суток. Вторую дозу 15 мг/кг/сутки применили за 24 и 1 час до инфицирования; далее 1 раз в сутки в течение 7 суток.

Группы животных

Для проведения эксперимента были сформированы следующие группы мышей:

- 1-я - умифеновир доза 40 мг/кг;
- 2-я - умифеновир доза 60 мг/кг;
- 3-я - заявляемая композиция 1.1 доза 3,7 мг/кг;
- 4-я - заявляемая композиция 1.1 доза 15 мг/кг;
- 5-я - заявляемая композиция 1.2 доза 3,7 мг/кг;
- 6-я - заявляемая композиция 1.2 доза 15 мг/кг;
- 7-я - заявляемая композиция 1.3 доза 3,7 мг/кг;
- 8-я - заявляемая композиция 1.3 доза 15 мг/кг;
- 9-я - заявляемая композиция 2.1 доза 3,7 мг/кг;
- 10-я - заявляемая композиция 2.1 доза 15 мг/кг;
- 11-я - заявляемая композиция 2.2 доза 3,7 мг/кг;
- 12-я - заявляемая композиция 2.2 доза 15 мг/кг;
- 13-я - заявляемая композиция 2.3 доза 3,7 мг/кг;
- 14-я - заявляемая композиция 2.3 доза 15 мг/кг;

15-я – вирусный контроль.

В группах было от 8 до 15 животных. В некоторых группах при манипуляциях, связанных с заражением или лечением погибали 1 или 2 мыши. Далее эти группы рассматривались как содержащие на одну мышь меньше. Предварительно взвешенные мыши в этот же день инфицировались интраназально под легким наркозом вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009 (пндмH1N1 2009) в дозе 10 МЛД₅₀. Лечение проводили по описанным схемам. Животные контрольной группы были инфицированы вирусом гриппа и не получали никакого лечения, им внутривенно зондом вводили суспензию 1 % крахмального геля в объеме 200 мкл по схеме применения заявляемых композиций.

За лечеными и животными контрольной группы вели ежедневное наблюдение. В первые 5 суток после инфицирования вирусом гриппа мышей взвешивали ежедневно, в последующий период раз в 1-2 сутки.

Химиотерапевтическую активность исследуемых препаратов на модели гриппозной пневмонии мышей оценивали по следующим критериям:

- повышение показателя защиты от смертности;
- титр вируса в легких;
- увеличение средней продолжительности жизни мышей по сравнению с контрольными животными, не получавшими лечения.

Среднюю продолжительность жизни мышей рассчитывали по следующей формуле:

$$MSD = \sum f(d-1) / n \quad [1],$$

где: f – количество мышей умерших на день d,
выжившие мыши также включены в f и d, в этом случае равно 16,
n – количество мышей в группе.

Уменьшение или увеличение массы тела рассчитывали отдельно для каждой мыши и выражали в процентах, при этом за 100% принимали массу тела животного перед инфицированием. Для всех мышей одной группы определяли среднее значение процента потери или увеличения массы тела животных.

Получение легких мышей

На 4 сутки после инфицирования вирусом гриппа из каждой группы гуманно умерщвляли и вскрывали по 3 мыши и в стерильных условиях извлекали легкие. После вскрытия проводилась визуальная оценка легких. При методе оценки степени поражения легких использовали 4-х балльную систему. Полное поражение всего легкого (увеличены в размерах, красные, плотные) оценивалось четырьмя крестами, $\frac{3}{4}$ поражения – тремя крестами, половина – двумя крестами, $\frac{1}{4}$ – одним крестом.

После визуальной оценки легких их трехкратно промывали в растворе 0,01 М фосфатно-солевого буфера (ФСБ), далее гомогенизировали и ресуспендировали в 1 мл холодного стерильного раствора ФСБ. Суспензию осветляли от клеточного дебриса центрифугированием при 2000 g в течение 10 мин и супернатант использовали для определения инфекционного титра вируса в культуре клеток MDCK.

Определение титра вируса в легких мышей

Для определения инфекционного титра вируса гриппа клетки MDCK (перевиваемые клетки почки собаки, масса 50-60) рассеивали в 96-луночных планшетах фирмы "Costar" со средней плотностью 30000-35000 клеток на лунку и выращивали в минимальной среде Игла (MEM) в присутствии 5 % фетальной сыворотки телят, 10 мМ глутамина и антибиотиков (пенициллин 100 МЕ/мл и стрептомицин 100 мкг/мл) до полного монослоя. Перед заражением вирусом гриппа клетки 2 раза

промывали средой MEM без сыворотки. Готовили 10-кратные разведения каждой пробы вируса из легких (цельный до 10^{-8}) на среде с добавлением ТРСК-трипсина (2 мкг/мл). Полученными разведениями заражали монослой 4-х лунок 96-луночного планшета. После инкубации при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂ в течение 72 часов клетки промывали трижды ФСВ и фиксировали 10 % раствором формальдегида при температуре 18 – 23 °С в течение 5 мин. После удаления раствора формальдегида в каждую лунку планшета вносили по 100 мкл 1 % раствора кристаллического фиолетового и выдерживали при температуре 18 – 23 °С в течение 5 мин. После промывания водой и высушивания планшета в лунки добавляли по 0,1 мл 96 % спирта, инкубировали при покачивании при комнатной температуре в течение 20 мин, а затем измеряли оптическую плотность при длине волны 570 нм. Лунки считали положительными, если оптическая плотность в них была меньше оптической плотности в клеточном контроле на 20 %. Инфекционный титр вируса определяли по 4 повторностям каждой пробы по методу Рида и Менча и выражали в log₁₀ ТЦИД₅₀/0,1 мл (тканевой цитопатической инфекционной дозы 50 – доза вируса, вызывающая гибель 50 % зараженных клеток). Далее рассчитывали среднее значение титра для трех одинаковых проб.

Результаты

Наработка и характеристика пула вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (H1N1), адаптированного к мышам

При типировании образца вируса, используемого для заражения, в РТГА применили специфические сыворотки к эталонным штаммам вирусов гриппа – А/Калифорния/04/2009 (H1N1) и сезонный вирус А/Брисбен/59/2007 (H1N1), полученные из ВОЗ. Титрование в РТГА показало, что титр используемого для заражения и адаптированного к мышам вируса составлял 1:640 при взаимодействии с референс-сывороткой А/Калифорния /4/2009 (H1N1) и менее, чем 1:10 – с референс-сывороткой А/Брисбен/59/2007 (H1N1), в то время как при взаимодействии этих же сывороток с референс-вирусами титры составляли 1:1280. Представленные данные свидетельствуют, что используемый вирус являлся вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009 (H1N1) (Таблица 7).

Таблица 7 – Характеристика использованного в исследованиях пула вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (H1N1), адаптированного к мышам

Вирус + специфическая сыворотка	Наличие мутаций в М (M2) гене	Результаты РТГА	
		Сыворотка	Титр вируса в РТГА
А/Калифорния /04/2009 (H1N1), референс-штамм	Ser 31 Asn	специфическая сыворотка к А/Калифорния /04/2009 (H1N1) референс-штамму	1:1280
А/Калифорния /04/2009 (H1N1), адаптированный к мышам	Ser 31 Asn	специфическая сыворотка к А/Калифорния /04/2009 (H1N1) референс-штамму	1:640
А/Калифорния /04/2009 (H1N1), адаптированный к мышам	Нет	специфическая сыворотка к А/Брисбен/59/2007 (H1N1) референс-штамму	Менее 1:10

Для определения дозы вируса, содержащей 10 МЛД₅₀, группы, состоящие из 4–6 мышей, заражали полученным цельным аллантоисным вирусом и последовательными 10-кратными его разведениями (от 10⁻¹ до 10⁻⁵). Пример данных по наблюдению за животными в течение 16 суток приведены в Таблице 8. Из этих данных видно, что 50 % гибели животных вызывает заражение вирусом 10⁻³, следовательно, 50 мкл разведения 10⁻² будет содержать примерно 10 МЛД₅₀ (Таблица 8).

Таблица 8 – Определение МЛД₅₀ адаптированного к мышам вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (H1N1) на модели гриппозной пневмонии мышей

Разведения Вируса	Количество мышей в группах	Выжившие/ Погибшие	Смертность, %
Цельный вирус	4	0/4	100
	5	0/5	100
10 ⁻¹	5	0/5	100
10 ⁻²	6	3/3	50
10 ⁻³	6	6/0	0
10 ⁻⁴	5	5/0	0
10 ⁻⁵			

Эффективность заявляемых композиций и препарата сравнения умифеновира на модели гриппозной пневмонии мышей

У животных контрольной группы, зараженных вирусом гриппа в дозе 10 МЛД₅₀ и не получавшей никакого лечения, в соответствии с вышеприведенной дозой заражения наблюдали полную гибель животных. Средняя продолжительность жизни мышей в первом и втором эксперименте в группах вирусного контроля была 7,5 и 8,25 сутки соответственно. При этом максимальная потеря составила примерно 10 % на 7 сутки в первом опыте и 30 % на 9 сутки во втором опыте. В первом эксперименте лечение заявляемыми композициями 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 в дозе 3,7 мг/кг/сутки защищало от гибели 33–45 % животных, увеличивало среднюю продолжительность их жизни. Изменение схемы лечения и увеличение ее продолжительности до 7 суток не привело к значительному усилению эффективности, которая была практически такой же, как и в первом эксперименте. Увеличение дозы заявляемых композиций 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 до 15 мг/кг/сутки привело к повышению эффективности лечения. Лечение заявляемыми композициями 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 в дозе 15 мг/кг/сутки по результатам обоих опытов защищало от гибели 50–64 % животных, увеличивая продолжительность их жизни примерно в 1,5–1,6 раза. Лечение заявляемыми композициями 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 в дозе 15 мг/кг/сутки по оцениваемым параметрам в некоторой степени сопоставимо с препаратом сравнения умифеновиром в дозе 60 мг/кг/сутки (Таблицы 9 и 10).

Для оценки эффективности лечения, а также чтобы исключить проявление токсических эффектов, в эксперименте проводилась визуальная оценка состояния легких мышей. Оказалось, что все инфицированные мыши в контрольной группе погибли от пневмонии, о чем свидетельствовало состояние их легких, оцененное на 4 креста. Во всех изученных дозах состояние легких при лечении умифеновиром было

сходно с состоянием легких у животных, леченных заявляемыми композициями 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3, патологические изменения наблюдались примерно в половине легких и были оценены на 2 креста.

Результаты вирусологического исследования легких животных подтвердили полученные при наблюдении за мышами данные и коррелировали с клиническими параметрами эффективности лечения со снижением размножения вируса в этом органе. У животных контрольной группы в первом и во втором эксперименте титры вируса были $4,83 \pm 2,89$ и $3,6 \pm 0,36$ lg ТЦИД₅₀ соответственно. В первом эксперименте титр вируса в легких животных при лечении умифеновиром и заявляемыми композициями 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 зависел от вводимой дозы. При лечении умифеновиром в дозе 60 мг/кг/сутки и заявляемыми композициями 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 в дозе 15 мг/кг/сутки титр вируса в легких животных составил $3,0 \pm 2,6$ lg ТЦИД₅₀ и $2,33 \pm 0,51 - 2,83 \pm 0,58$ lg ТЦИД₅₀ соответственно против $4,83 \pm 2,89$ lg ТЦИД₅₀ в вирусном контроле (Таблица 9). Во втором эксперименте при лечении заявляемыми композициями 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 обе изученные дозы 3,7 и 15 мг/кг/сутки практически одинаково подавляли размножение вируса. Полученные результаты по заявляемым композициям 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 в изученных дозах 3,7 и 15 мг/кг/сутки в отношении ингибирования размножения вируса в легких животных были в некоторой степени сопоставимы с умифеновиром в дозах 40 и 60 мг/кг/сутки (Таблица 10).

Лечение заявляемыми композициями 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 в дозе 15 мг/кг/сутки на модели гриппозной пневмонии мышей является эффективным. На фоне приема заявляемых композиций 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 в дозе 15 мг/кг/сутки, отмечено снижение гибели животных, размножения вируса в легких и увеличение продолжительности жизни по сравнению с контрольной группой нелеченных животных.

Результаты лечения эффективной дозой (15 мг/кг/сутки) заявляемыми композициями 1.1; 1.2; 1.3; 2.1; 2.2 и 2.3 сопоставимы по всем оцениваемым параметрам с терапией умифеновиром в дозе 60 мг/кг/сутки (следует отметить, что при схожих эффектах доза заявляемых композиций в 4 раза меньше дозы умифеновира).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что предлагаемые средства с направленной доставкой в верхние дыхательные пути в максимально низких дозах являются эффективными в отношении лечения гриппа и ОРВИ. Максимальный эффект заявляемые композиции оказывают в дозе 15 мг/кг, что в 4 раза меньше дозы умифеновира.

Примеры твердых лекарственных форм включают, например, таблетки, пилюли, желатиновые капсулы и др.

Пример твердой лекарственной формы включает желатиновые капсулы. Для желатиновых капсул обычно используются дополнительно красители и стабилизаторы. В качестве красителей применяются: тетразин, индиго; в качестве стабилизаторов могут быть представлены: натрия метабисульфит, натрия бензоат. Предлагаемые желатиновые капсулы содержат от 2 до 14 % активного ингредиента.

ПРИМЕР 3.

1 капсула 10 мг содержит:

Активное вещество:

- гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин 10 мг в пересчете на безводное вещество

Вспомогательные вещества:

глицерид длинноцепочечных жирных кислот, триглицерид среднецепочечный, масло растительное, эмульгатор, целлюлоза микрокристаллическая до массы содержимого 350 мг

Капсулы твердые желатиновые:

Желатин

Титана диоксид (E171)

Активный ингредиент в свободной форме, такой, как порошок или гранулы, в количестве 100 г (количество вещества, необходимое для получения 10000 капсул) перемешивается с вспомогательными веществами (3400 г).

Назначаемая для приема доза активного компонента гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин формулы 1 варьирует в зависимости от многих факторов, таких как возраст, пол, масса тела пациента, симптомы и тяжесть заболевания, конкретно назначаемое соединение, способ приема, форма препарата, в виде которой назначается активное соединение.

Обычно, общая назначаемая доза составляет от 1 до 50 мг в день. Общая доза может быть разделена на несколько доз, например, для приема от 1 до 4 раз в день. При оральном назначении интервал общих доз активного вещества составляет от 1 до 50 мг в день, предпочтительно, от 5 до 20 мг. Эффективная терапевтическая доза препарата может быть выбрана лечащим врачом.

Таблица 9 – Эффективность исследуемых препаратов на модели гриппозной пневмонии мышей, индуцированной вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009 (H1N1) (ЭКСПЕРИМЕНТ 1)

Препараты, дозы	Показатели				
	Выживаемость		Показатель защиты от смертности, (%)	Средняя продолжительность жизни (сутки)	Титр вируса в легких
	жив/общее	% смертности			
Умифеновир					
40 мг/кг	0/5	100	0	8,4 (1-7д., 2-9д., 2-11д.)	5,0±0,5 (4,5; 5,5; 5,0)
60 мг/кг	5/10 (p=0,004)	50	50	11,7 (2-7д., 1-9д., 1-11д., 1-13д.)	3,0±2,6 (4,5; 4,5; 0)
Заявляемая композиция 1.1					
3,7 мг/кг	5/11 (p=0,02)	55	45	11,55 (1-7д., 2-9д., 3-11д.)	3,83±0,49 (4,0; 3,5; 4,0)
15 мг/кг	7/11 (p=0,002)	36	64	12,35 (2-7д., 2-9д.)	2,33±0,51 (3,0; 2,0; 2,0)
Заявляемая композиция 1.2					
3,7 мг/кг	5/13 (p=0,03)	62	38	10,95 (1-6д., 3-9д., 4-11д.)	4,17±0,54 (4,0; 3,5; 5,0)
15 мг/кг	6/11 (p=0,001)	45	55	11,85 (2-7д., 3-9д.)	2,67±0,58 (3,5; 2,5; 2,0)
Заявляемая композиция 1.3					
3,7 мг/кг	3/10 (p=0,03)	70	30	11,05 (1-7д., 2-9д., 3-11д.)	4,0±0,48 (4,0; 3,5; 4,5)
15 мг/кг	6/10 (p=0,001)	40	60	11,95 (2-7д., 2-9д.)	2,83±0,60 (3,5; 3,0; 2,0)
Заявляемая композиция 2.1					
3,7 мг/кг	5/12 (p=0,04)	58	42	10,55 (1-6д., 3-9д., 4-11д.)	4,17±0,58 (4,5; 3,5; 4,5)
15 мг/кг	7/12 (p=0,03)	42	58	12,15 (2-7д., 3-9д.)	2,67±0,52 (3,5; 2,0; 2,5)

Препараты, дозы	Показатели				
	Выживаемость	Показатели	Средняя продолжительность жизни	Титр вируса в печени	
Заявляемая композиция 2.2					
3,7 мг/кг	4/11 (p=0,03)	64	36	10,45 (1-6д., 3-9д., 4-11д.)	4,0±0,58 (4,5; 3,5; 4,0)
15 мг/кг	6/12 (p=0,04)	50	50	12,05 (2-7д., 3-9д.)	2,83±0,58 (3,5; 2,5; 2,5)
Заявляемая композиция 2.3					
3,7 мг/кг	4/12 (p=0,028)	67	33	10,75 (1-6д., 3-9д., 4-11д.)	4,17±0,58 (4,5; 3,5; 4,5)
15 мг/кг	6/11 (p=0,0016)	45	55	11,45 (2-7д., 3-9д.)	2,83±0,60 (3,5; 2,5; 2,5)
Вирусный контроль					
	0/12	100		7,5 (2-6д., 3-7д., 4-9д., 3-11д.)	4,83±2,89 (5,0; 5,0; 4,5)

Таблица 10 – Эффективность исследуемых препаратов на модели гриппозной пневмонии мышей, индуцированной вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009 (H1N1) (ЭКСПЕРИМЕНТ 2)

Препараты, дозы	Показатели				
	Выживаемость		Показатель защиты от смертности, (%)	Средняя продолжительность жизни, (сутки)	Титр вируса в легких
	жив/общее	% смертности			
Умифеновир					
40 мг/кг	1/10 (p=0,283)	90	10	9,1 (1-7д., 2-9д., 3-11д., 2-13д.)	1,33±1,26 (1,5; 0; 2,5)
60 мг/кг	5/9 (p=0,0016)	45	55	12,1 (3-9д., 1-11д.)	2,0±1,8 (0; 2; 5; 3,5)
Заявляемая композиция 1.1					
3,7 мг/кг (2 раза в сутки)	5/10 (p=0,02)	50	50	12,2 (4-8д., 1-9д., 1-11д., 1-13д.)	1,50±0,52 (1,5; 2,0; 1,0)
15 мг/кг	6/10 (p=0,003)	40	60	13,2 (1-7д., 2-8д., 1-9д., 1-11д., 2-13д.)	1,0±1,13 (0; 0; 3,0)
Заявляемая композиция 1.2					
3,7 мг/кг (2 раза в сутки)	5/12 (p=0,03)	58	42	11,8 (4-8д., 1-9д., 1-11д., 1-13д.)	1,67±0,45 (1,5; 2,0; 1,5)
15 мг/кг	7/12 (p=0,005)	42	58	12,9 (2-7д., 2-8д., 1-9д., 2-11д., 1-13д.)	1,17±1,61 (0; 1,5; 2,0)
Заявляемая композиция 1.3					
3,7 мг/кг (2 раза в сутки)	4/10 (p=0,03)	60	40	11,9 (4-8д., 1-9д., 2-11д., 1-13д.)	1,67±0,62 (1,0; 2,5; 1,5)
15 мг/кг	6/11 (p=0,005)	45	55	12,8 (1-7д., 2-8д., 1-9д., 1-11д., 2-13д.)	1,17±1,75 (0; 1,0; 2,5)
Заявляемая композиция 2.1					
3,7 мг/кг (2 раза в сутки)	5/11 (p=0,03)	55	45	11,6 (4-8д., 2-9д., 1-11д., 1-13д.)	1,33±0,76 (1,5; 1,0; 1,5)

Препараты, дозы	Показатели				
	Выживаемость		Показатели	Средняя продолжительность жизни	Титр вируса в печени
15 мг/кг	7/12 (p=0,004)	42	58	12,9 (1-7д., 2-8д., 1-9д., 3-11д., 1-13д.)	1,0±0,95 (0; 1,5; 1,5)
Заявляемая композиция 2.2					
3,7 мг/кг (2 раза в сутки)	4/11 (p=0,02)	64	36	10,7 (4-8д., 1-9д., 1-11д., 1-13д.)	1,67±0,44 (1,0; 2,5; 1,5)
15 мг/кг	6/12 (p=0,003)	50	50	12,8 (1-7д., 2-8д., 1-9д., 1-11д., 1-13д.)	1,33±1,10 (0; 1,0; 3,0)
Заявляемая композиция 2.3					
3,7 мг/кг (2 раза в сутки)	4/11 (p=0,02)	64	36	11,7 (4-8д., 1-9д., 1-11д., 1-13д.)	1,83±0,58 (1,5; 2,5; 1,5)
15 мг/кг	7/12 (p=0,003)	42	58	12,7 (1-7д., 2-8д., 1-9д., 1-11д., 1-13д.)	1,17±2,02 (0; 0; 3,5)
Вирусный контроль					
	0/12	100		8,25 (4-7д., 1-8д., 3-9д., 2-11д., 2-13д.)	3,6±0,36 (3,5; 4,0; 3,3)

1 Фармацевтическая композиция на основе твердых липидных частиц гидрохлорида 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина, обладающая свойством направленной доставки для лечения гриппа и ОРВИ, при следующем соотношении компонентов, масс %:

Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин	2,0 – 14,0
Глицерид длинноцепочечных жирных кислот	64,0 – 86,0
Масло растительное	10,0 – 20,0
Эмульгатор	2,0

2 Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что дополнительно содержит триглицерид среднецепочечный при следующем соотношении компонентов, % масс:

Гидрохлорид 1-{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазин	2,0 – 14,0
Глицерид длинноцепочечных жирных кислот	50 – 70,0
Масло растительное	10,0 – 30,0
Триглицерид среднецепочечный	4,0 – 16,0
Эмульгатор	2,0

3 Фармацевтическая композиция по п.1 и п.2, отличающееся тем, что глицерид длинноцепочечных жирных кислот выбран из глицерил тристеарата, глицерилдистеарата, глицерилмоностеарата, глицерилпальмитата, глицерилдибегената, глицерилтрибегената, глицерилмоноолеата, белого воска или воска цетиловых эфиров.

4 Фармацевтическая композиция по п.1 и п.2, отличающаяся тем, что масло растительное выбрано из группы, например, масла оливкового, арахисового, кунжутного, льняного, рапсового, соевого, хлопкового, лимонного, апельсинового.

5 Фармацевтическая композиция по п.2, отличающаяся тем, что триглицерид среднецепочечный выбран в виде масла кокосового, пальмового или пальмоядрового.

6 Фармацевтическая композиция по п.1 и п.2, отличающаяся тем, что эмульгатор выбран из лецитина или желатина.

7 Лекарственный препарат, обладающий свойством адресной доставки для лечения гриппа и ОРВИ, содержащий

фармацевтическую композицию по п.1 или п.2, выполнен в виде таблеток или пилюль.

8 Лекарственный препарат, обладающий свойством адресной доставки для лечения гриппа и ОРВИ, содержащий фармацевтическую композицию по п.1 или п.2, выполнен в виде желатиновых капсул.

9 Лекарственный препарат по п. 8, отличающийся тем, что желатиновые капсулы твердые и/или мягкие.

10 Лекарственный препарат по п. 7 или 8, отличающийся тем, что содержание гидрохлорид 1-{{[6-бром-1-метил-5-метокси-2-фенилтиометил-1-Н-индол-3-ил]карбонил}-4 бензилпиперазина составляет от 2 до 14%.

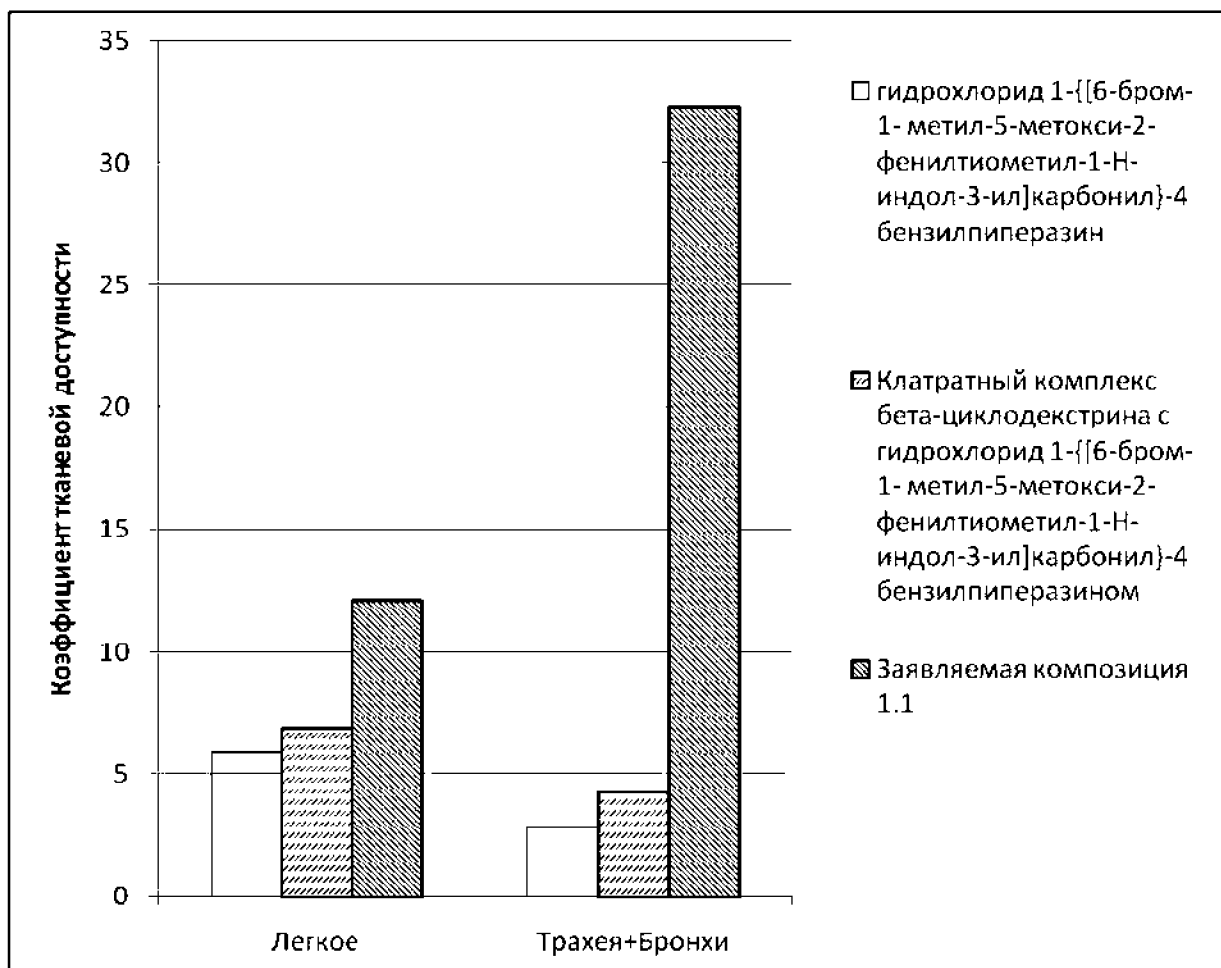


Рисунок 1

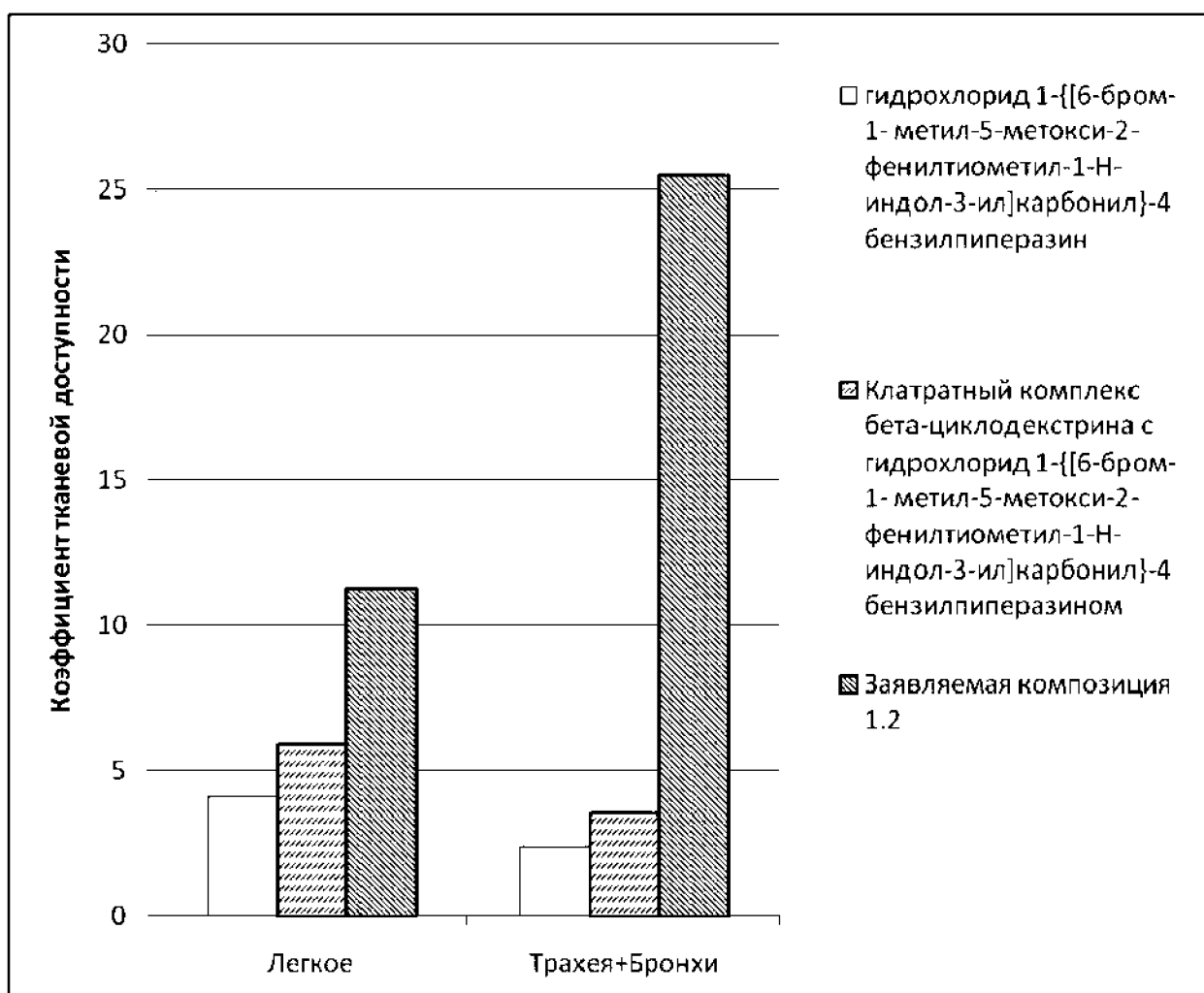


Рисунок 2

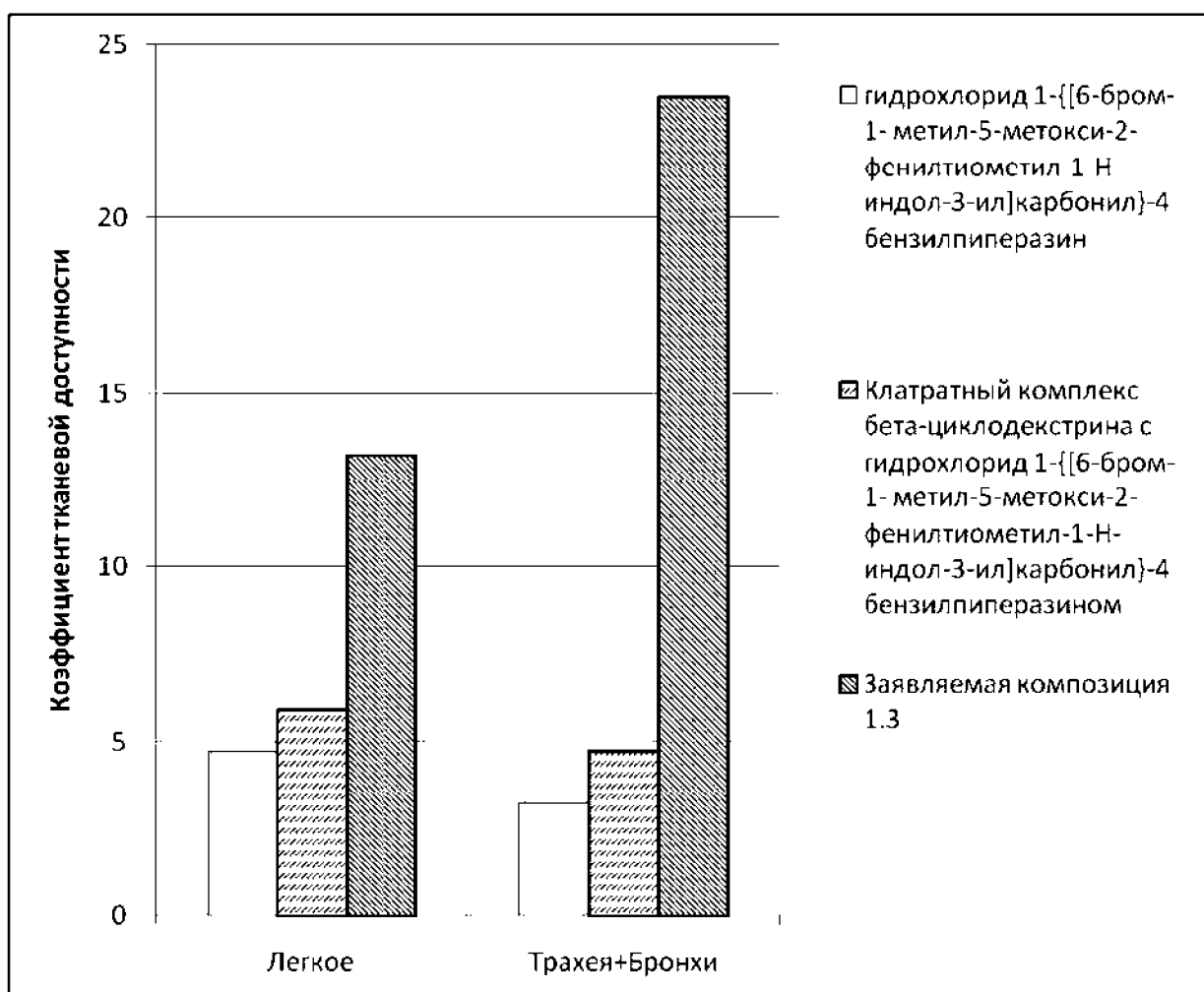


Рисунок 3

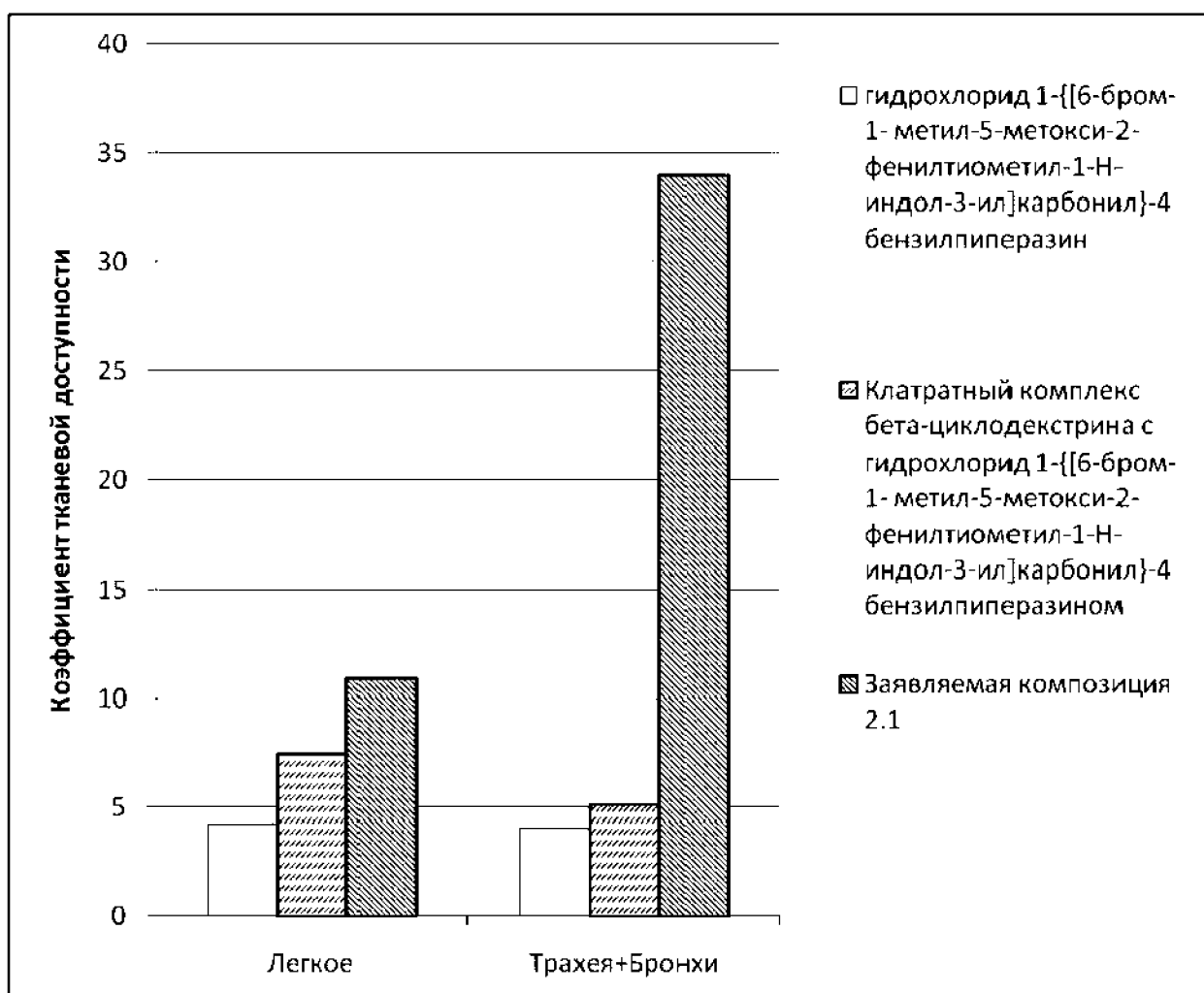


Рисунок 4

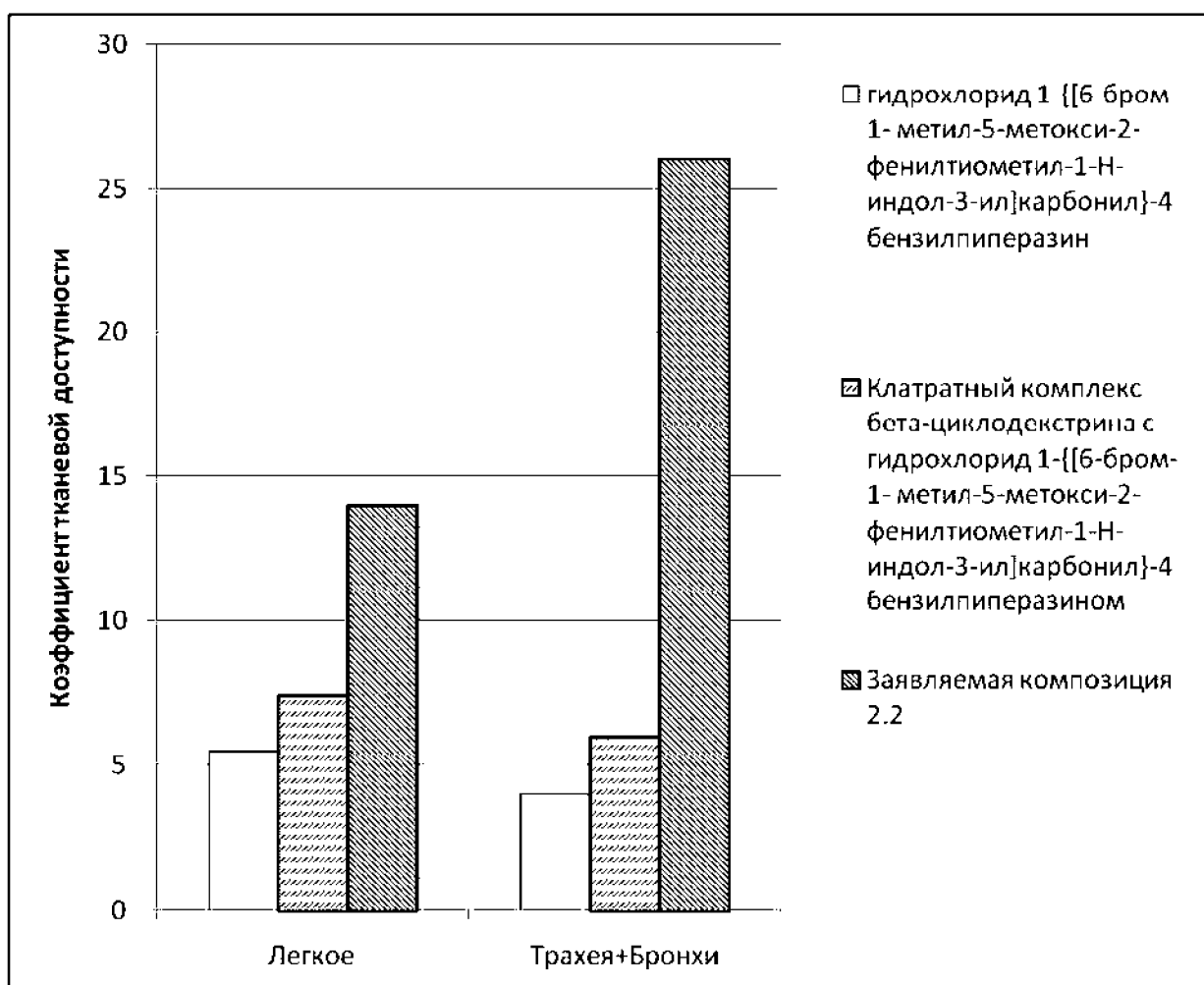


Рисунок 5

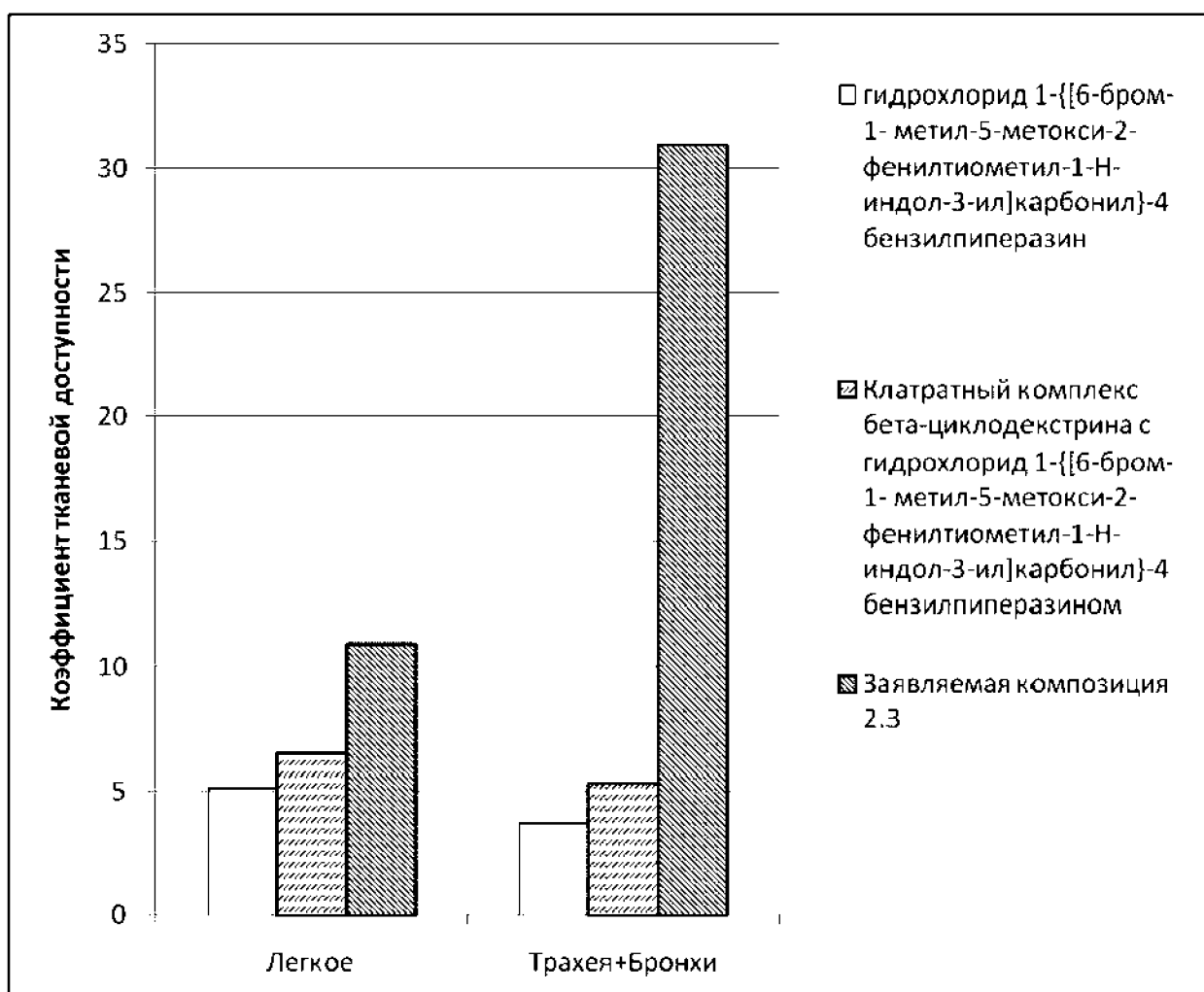


Рисунок 6