

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 039966

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.04.04

(21) Номер заявки
201792023

(22) Дата подачи заявки
2013.03.27

(51) Int. Cl. A61K 9/08 (2006.01)
A61K 31/737 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ЖИДКОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ
ХОНДРОИТИН СУЛЬФАТ И ГИАЛУРОНОВУЮ КИСЛОТУ

(31) PD2012A000098

(32) 2012.03.30

(33) IT

(43) 2018.01.31

(62) 201401074; 2013.03.27

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ФИДИА ФАРМАЧЕУТИЧИ С.П.А.
(IT)

(72) Изобретатель:
Занеллато Анна Мария, Корса
Винченца, Карпанезе Джанкарло,
Кампизи Моника (IT)

(74) Представитель:
Агуреев А.П., Фелицына С.Б. (RU)

(56) WO-A1-2003041724

WO-A1-199525751

О. ГРИШО и др. Структура. Свойства и
применение гиалуроновой кислоты в медицине.
Новая модификация гиалуроновой кислоты - эфир
АСР. Эстетическая медицина, том VII, №3, 2008,
с. 5, правая колонка, абзацы 4-5, с. 6, правая
колонка, абзац 4

WO-A2-2011023355

WO-A1-2007138014

(57) Изобретение относится к применению жидкой фармацевтической композиции, содержащей комбинацию заданных производных гиалуроновой кислоты с высокой молекулярной массой и хондроитинсульфата для лечения интерстициального цистита.

039966

B1

039966

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к применению фармацевтической композиции для лечения интерстициального цистита

Предшествующий уровень техники

Хрящевая основа содержит трехмерную структуру из молекул коллагена и сложных протеогликановых комплексов, которые, в свою очередь, состоят из опорной структуры на основе гиалуроновой кислоты (ГК), взаимодействующей с молекулами гликозаминогликанов (ГАГ), образующих нековалентную связь с полипептидными цепями, тем самым придавая хрящу биомеханические и вязкоупругие свойства.

Фактически ГК - это молекула, которая проявляет специфические вязкоупругие свойства, преимущественно синтезируется и секретируется синовиоцитами в суставной полости (Asari A. et al, Arch Histol Cytol, 1995, 58(1):65-76) и по вышеуказанным причинам является одним из основных компонентов синовиальной жидкости, характеризующейся как вязкими, так и упругими свойствами в зависимости от количества и молекулярной массы (ММ) молекул ГК, содержащихся в ней.

Таким образом, вязкоупругие свойства синовиальной жидкости связаны с содержанием ГК в суставной полости, а концентрация ГК варьируется с возрастом: у людей старше 25 лет она уже начинает снижаться. Вязкоупругие свойства синовиальной жидкости можно определить количественно путем измерения модулей: первый модуль называется G' или модуль упругости, поскольку он представляет собой запас энергии, запасенной в ходе деформационной нагрузки на полисахарид, второй модуль определяется как G'' или модуль вязкости, он представляет собой рассеянную энергию, когда молекула находится под воздействием нагрузки. Вкратце: G' придает упругость синовиальной жидкости, в то время как G'' - это коэффициент сопротивления трению между двумя поверхностями в суставе, т.е. сопротивления механическому воздействию, которое способно приводить к деформации суставных хрящей. Во время медленного движения ГК действует как вязкая смазка (свойство, придаваемое ей модулем G''), а во время быстрого движения благодаря упругим свойствам она предотвращает травмы или микротравмы, которым может подвергаться сустав.

Остеоартроз/остеоартрит (ОА) - в высокой степени инвалидизирующее заболевание, характеризующееся прогрессирующей эрозией суставных хрящей из-за разрушения хрящевой основы и поражения клеточных компонентов.

Хорошо известно, что первоначальной причиной возникновения вышеуказанного заболевания может быть механический дисбаланс, которому подвержен сустав в целом.

Нестабильность сустава может быть, по существу, вызвана разными факторами (такими как травма, воспаление суставной системы, эрозия хряща, неправильная походка или осанка) и может приводить к изменению хрупкого равновесия между синтезом и разрушением внеклеточного матрикса, синтезируемого хондроцитами и синовиоцитами.

Когда такая ситуация идеального, но хрупкого гомеостаза нарушается, разрушение матрикса превосходит интенсивнее, чем его синтез, в результате запускается медленный, но прогрессирующий процесс разрушения, который недостаточно компенсируется процессом синтеза, что приводит к потере хондроцитов.

Фактически чрезмерная и/или неправильная нагрузка на суставы может вызывать реакцию хондроцитов, выражающуюся в синтезе тех ферментов, которые отвечают за разрушение самого хряща (называемых металлопротеазой (матричной металлопротеазой -ММП)) и синтезируются хондроцитами при стимуляции последних воспалительными цитокинами, такими как IL-1 и TNF- α , которые генерируются и секретируются в суставную полость, особенно во время возникновения воспалительного заболевания, например, ОА. IL-1 стимулирует синтез большого количества оксида азота и подавляет синтез протеогликанов со стороны самих хондроцитов (Dozin B. et al., Matrix Biology, 2002, 21 :449-459). Воспаленный хрящ далее вырабатывает значительное количество COX-2, что, в свою очередь, обуславливает сверхсинтез и секрецию PGE 2 в суставной полости, что способствует обострению воспаления и, таким образом, приводит к повреждению хряща (Amin A. et al., J Clin Invest, 1997,99:1231).

При остром и хроническом воспалении и обширных дегенеративных процессах в суставах (ОА) концентрация и молекулярная масса (ММ) ГК в суставной синовиальной жидкости значительно уменьшаются, тем самым снижая смазывающую способность жидкости. Хорошо известно, что функциональные характеристики синовиальной жидкости зависят от концентрации и степени полимеризации ГК, изменение этих параметров может привести к повреждению тканей сустава, характерному для ОА.

Синовиальная жидкость в суставах, пораженных ОА, не может эффективно защищать синовиальную ткань и суставный хрящ от "неблагоприятных" механических воздействий, которым ежедневно подвергается сустав: в синовиальной жидкости без патологий уровень двух модулей обычно увеличивается с повышением частоты нагрузки - при низкой частоте преобладает вязкий компонент, при высокой частоте значение модуля упругости превышает значение модуля вязкости; в синовиальной жидкости суставов, пораженных ОА, наоборот, наблюдаются значительно более низкие значения G' и G'' по сравнению с нормальными.

Обменные процессы ГК внутри синовиальной жидкости без патологий в целом проходят очень быстро, в то время как в жидкости сустава с ОА наблюдается снижение концентрации ГК (связанное со

снижением уровня GAG), а также уменьшение ее ММ и резкое сокращение интенсивности обменного потока (Balazs EA. et al, J Rheumatol Suppl, 1993, 12:75-82; Belcher C. et al, Annals of the Rheumatic Disease, 1997, 56:299-307).

По этим причинам Балаж (Balazs) первым предположил возможность изменения хода развития остеоартроза путем введения экзогенной ГК непосредственно внутрь суставной полости.

На фармацевтическом рынке в настоящее время доступны различные препараты для внутрисуставного введения ГК в пораженные ОА суставы, среди них: Hyalgan® - очищенная ГК на основе целозии гребенчатой с ММ $5-7,3 \times 10^5$ Да (US5925626), Synvisc® (Hylan G-F 20) - ГК с поперечной межмолекулярной связью с формальдегидом и дивинилсульфоном с ММ $6-7 \times 10^6$ Да (US 4713448), Artz® - ГК с ММ $6,2-1,2 \times 10^5$ Да.

Консолидированные клинические данные показали, что вводимая внутрисуставно ГК в значительной степени выполняет функцию восстановления вязкости суставной жидкости, что улучшает функциональные способности конечности, пораженной ОА, с последующим уменьшением суставной боли.

ГК - это гетерополисахарид, состоящий из чередующихся остатков D-глюкуроновой кислоты и И-ацетил-О-глюкозамина. Это линейный цепной полимер с ММ, варьирующейся от 50000 до 13×10^6 Да в зависимости от источника, из которого она получена, и используемых способов изготовления. В природе она содержится в околосклеточной жидкости, в основном веществе соединительной ткани позвоночных организмов (в котором она является одним из главных компонентов), в синовиальной жидкости суставов, в стекловидном теле и пупочном канатике. Хорошо известно, что ГК посредством своего мембранного рецептора CD44 является модулятором многих разнообразных процессов, относящихся к клеточной физиологии и биологии, например, клеточной пролиферации, миграции, дифференциации и ангиогенеза, а также выполняет другие функции, такие как увлажнение тканей и смазывание суставов.

Недавно был проведен успешный эксперимент с внутрисуставным введением хондроитинсульфата (ХС) в качестве противовоспалительного вещества: это компонент матричных протеогликанов, в условиях отсутствия патологий он обеспечивает увлажнение хрящевой ткани и влияет на устойчивость при механическом сжатии; также была выявлена его способность снижать экспрессию ММП в хондроцитах суставов, пораженных ОА, и вызывать синтез ГК с высокой ММ в синовиальных фибробластах при ОА (David-Raoudi M et al, Glycobiology, 2009,19:813-815).

Он представляет собой сульфатированный гликозамингликан, состоящий из дисахаридных цепей, которые, в свою очередь, состоят из N-ацетил-галактозамина и D-глюкуроновой кислоты, где большинство остатков галактозамина сульфированы в положениях 4 или 6 путем придания высокой анионной активности полисахаридам.

Также было доказано, что ХС способен снижать активность остеокластов, таким образом сокращая резорбцию костной ткани в целом и субхондральную резорбцию в частности - процесс, происходящий как на начальной, так и на окончательной стадии развития ОА; активирование остеокластов также имеет критическое значение при "транзиторном регионарном остеопорозе" - потенциально инвалидирующем заболевании, обуславливающим очаговую остеопению и воспаление (Massara A. et al., Reumatismo, 2005, 57:5-15). Более того, при испытаниях ХС показал хорошие результаты в лечении таких воспалительных заболеваний, как синовит и тендинит (Wildi LM. et al., Ann Rheum Dis, 2011, 70:982- 989).

В отношении вышеупомянутых противовоспалительных свойств ХС был первоначально исследован в офтальмологической хирургии в сочетании с ГК с заданной ММ в составе водных буферных растворов с заданным массовым соотношением (US6051560).

Исследования с применением ХС в сочетании с ГК с ММ в диапазоне от 500 до 700 кДа показали значительные успехи также во внутрисуставной терапии ОА I и II стадии, при этом массовая доля ГК составляла 4:3, в исследованиях использовался буферный раствор с фосфатом и хлористым натрием, общая окончательная вязкость составила от 68 до 115 сП (измерена при градиенте скорости 1 сек^{-1} при 25°C). В целом курс терапии составил 2-6 инъекций в течение периода терапевтической эффективности от 1 до 3 месяцев (EP 1443945).

В конечном итоге, изменения вязкости вязкоупругих жидкостей, состоящих из комбинации ХС и ГК, хорошо известны специалистам: результаты экспериментов показывают, насколько ХС повышает вязкость растворов ГК с низкой ММ (по сравнению с составами, содержащими только ГК в той же концентрации), несмотря на то, что сам ХС обладает очень низкой вязкостью, несущественной по сравнению с вязкостью ГК; однако модули G' и G'' растворов ГК после добавления ХС не изменяются (Nishimura M. et al., Biochimica et Biophysica Acta, 1998, 1380:1-9).

Интерстициальный цистит - заболевание мочевого пузыря, проявляющее себя в болезненных или некомфортных ощущениях, частом мочеиспускании, боли в надлобковой области и хронической боли в тазовой области.

Несмотря на свое название, интерстициальный цистит значительно отличается от обычного цистита (вызываемого специфическими бактериями), симптомы этих заболеваний сходны, но в первом случае бактериальные инфекции отсутствуют и антибиотическая терапия оказывается неэффективной в его лечении.

Этиология интерстициального цистита неизвестна, полагают, что он вызван отсутствием гликозаминогликанов в слизистом слое, выстилающем мочевого пузыря. Изменение строения стенок мочевого пузыря на клеточном уровне подтверждается повреждением внутреннего эпителия, что вследствие контакта с кислотами в моче вызывает повышенную местную чувствительность нервной системы, регулирующую болевые ощущения, и увеличивает восприимчивость к позыву к мочеиспусканию.

На основании этой гипотезы был проведен курс клинического лечения, заключающийся во введении полисульфата пентозана, гепарина и гиалуроновой кислоты (Цистистат) в полость мочевого пузыря для восстановления и защиты внутреннего эпителия.

Сущность изобретения

Заявитель пришел к выводу о том, что теперь возможно преодолеть вышеупомянутые недостатки известных фармацевтических составов, благодаря применению композиции, содержащей комбинацию производных высокомолекулярной гиалуроновой кислоты и хондроитинсульфата, наилучшим образом охарактеризованные в пунктах приложенной формулы настоящего изобретения, а также более детально описанные в подробном описании изобретения.

Краткое описание фигур

На чертеже показаны значения модулей G' и G'' в Па в зависимости от ω в рад/с, испытания проводились с использованием веществ, указанных в примере 1.

Подробное описание изобретения

Объектом настоящего изобретения являются применение жидкой фармацевтической композиции, содержащей хондроитина сульфат (обозначаемого CS или ХС) в сочетании с производными гиалуроновой кислоты (обозначаемой HA или ГК). Данное производное представляет собой соль гиалуроновой кислоты (НА) и щелочных или щелочноземельных металлов, со средней ММ от 2500 до 3000 кДа (ГК-ВММ (гиалуроновая кислота с высокой молекулярной массой); измерено перед процессом стерилизации, который может проводиться в соответствии со способами, известными в данной области)).

Данная новая фармацевтическая композиция проявляет реологические свойства, в корне отличающиеся от свойств начальных производных ГК, а также от свойств смесей ГК и ХС, описанных ранее и, следовательно, известных из уровня техники. Фактически, данная новая композиция демонстрирует важные изменения реологических свойств для модулей G' и G'' по сравнению с исходными производными при одинаковой концентрации и тех же условиях анализа,

Такой результат оказался совершенно неожиданным, поскольку, с другой стороны, данные (указанные выше), известные специалистам в данной области, свидетельствовали прямо и однозначно о том, что модули вязкости и упругости ГК при добавлении ХС остаются неизменными (Nishimura M. et al, Biochimica et Biophysica Acta, 1998, 1380: 1-9).

Результаты, полученные заявителем, напротив, показали, что комбинирование высокомолекулярных производных ГК с ХС (состав ГК-ВММ/ХС) приводило к значительному снижению значения модуля упругости G' , при этом модуль вязкости G'' оставался неизменным: следовательно, новые фармацевтические составы проявляют реологические свойства, характерные для веществ, повышающих вязкость синовиальной жидкости, при этом элемент вязкости увеличивается пропорционально относительно начального производного; такой новый состав, соответственно, будет обладать большей устойчивостью к трению и более интенсивными способностями к смазыванию, а также одновременно проявлять как известные противовоспалительные свойства ХС, так и противовоспалительные свойства, присущие производным ГК. По этим причинам новые комбинации с производными ГК и ХС могут быть использованы как вязкое или местно-регионарное смазочное вещество для лечения и/или терапии интерстициального цистита путем капельного введения в мочевой пузырь выбранной композиции, поскольку (на основании вышеописанных новых вязких свойств) новая композиция проявляет более высокую способность сцепления со стенками мочевого пузыря по сравнению с исходными составами, тем самым обеспечивая защиту эпителия на длительный период времени и достижение лучших клинических результатов.

В заключение, заявитель приводит описание и испрашивает охрану для новых вязких фармацевтических композиция, содержащих ХС в сочетании с вышеуказанными производными ГК для использования в лечении интерстициального цистита путем введения препаратов внутрь мочевого пузыря.

ГК, используемая для получения заявленных производных, может происходить из разных источников, например, добываться путем экстракции из целозии гребенчатой (EP 138572), ферментации (например, из стрептококка, EP0716688) или биосинтеза (из палочковидных бактерий), т.е. известными для специалистов в этой области способами, и иметь среднюю ММ в диапазоне от 2500 до 3000 кДа для солей ГК и щелочных или щелочноземельных металлов (ГК-ВММ).

Хондроитинсульфат, используемый в настоящем изобретении, имеет среднюю ММ от 10 до 80 кДа и в настоящее время производится способом экстракции из хрящей животных или рыб (акул и китов) (например, ХС, используемый в описанных далее экспериментах, был произведен компанией Seikagaku Kogyo, Токио) и содержит как хондроитин 4-сульфат, так и 6-сульфат в соотношении, которое может изменяться в зависимости от характеристик исходного хряща, использованного для экстракции.

ХС добавляется к производному ГК и перемешивается в соотношении по массе производное ГК:ХС от 1:0,1 до 1:6, в частности, предпочтение отдается следующим соотношениям: производное ГК-

ВММ:ХС - предпочтительно 1:0,5-1:2, наиболее предпочтительно 1:1.

Новый фармацевтический состав получен путем соединения ХС в порошке или предварительно подготовленном растворе с выбранным производным ГК, последний представлен также в порошковой форме или предварительно разведенным, то есть, в форме геля и/или раствора. В целом, концентрация указанных активных ингредиентов, т.е. производного ГК и ХС, в окончательном составе для производного ГК обычно находится в диапазоне от 10 до 30 мг/мл, предпочтительно от 15 до 20 мг/мл, а для ХС - в диапазоне от 10 до 40 мг/мл, предпочтительно от 20 до 30 мг/мл при общем содержании (в мл) производного ГК от 1 до 3 мл в сочетании с ХС в общем объеме также от 1 до 3 мл.

Два указанных компонента необходимо смешивать в течение такого времени, чтобы образовалась равномерная и однородная смесь, поэтому ее необходимо подвергнуть механическому перемешиванию при температуре от 25 до 80°C (в соответствии с выбранным соотношением и типом подготовленного производного) в течение периода времени от 1 до 24 ч; обычно максимум 8-10 ч для перемешивания достаточно.

В качестве альтернативного варианта заявитель приводит описание и испрашивает охрану для возможного сочетания двух компонентов (производного ГК и ХС) во время их использования, то есть непосредственно перед введением внутрь мочевого пузыря. Такой тип введения возможен при помощи специальных медицинских/хирургических приборов, которые дают возможность одновременного, но раздельного введения двух компонентов посредством одного устройства. Подготовка производных ГК и ХС выполняется отдельно, поскольку оба компонента смешиваются только непосредственно в месте применения.

Для вышеуказанных препаратов предпочтительно использовать буферные растворы, выбранные из следующих: двухосновный фосфорнокислый натрий и одноосновный фосфорнокислый натрий, разведенные в воде с хлоридом натрия, либо обычный хлорид натрия, предпочтительно в концентрации физиологического раствора, при этом pH фармацевтического состава должен быть в пределах от 6,5 до 7,4, а осмотическая концентрация - в диапазоне от 100 до 350 мОс/л. После этого новые препараты с производными ГК/СХ подвергаются стерилизации в соответствии с известными в этой области способами.

Далее приводится неограничивающее описание некоторых примеров приготовления новых фармацевтических составов в соответствии с настоящим изобретением.

Пример 1. Состав ГК-ВММ/ХС -1:1.

Для данного эксперимента использовали натриевую соль производного ГК-ВММ со средней ММ от 2500 до 3000 кДа, полученного согласно EP0716688.

ГК-ВММ в количестве 20 г растворили в 1 л водного буфера с pH 7,4, содержащего одноосновный фосфорнокислый натрий (0,05 г), двухосновный фосфорнокислый натрий (0,6 г) и хлорид натрия (8,5 г). К раствору добавили 20 г ХС (производства Seikagaku Kogyo, Токио) с ММ от 50 до 60 кДа, смесь подвергли механическому перемешиванию при температуре 40°C в течение 8 ч до полного и однородного растворения обоих компонентов.

Смесь охладили до комнатной температуры, после этого при температуре 20°C посредством реометра Thermo Haake Mars II определили модули смеси.

Значения измерялись в Па при частоте от 0,01 до 100 рад/с и фиксированном уровне нагрузки 10%. Все образцы обрабатывали при помощи программного обеспечения Haake Rheowin Job Manager 4.0.

Результаты: на фиг. 4 видно, что модуль упругости G' нового состава значительно снижается, в то время как модуль вязкости G'' остается неизменным.

Заключение: как указано выше, экспериментальные данные подтверждают, что комбинация ХС с вышеперечисленными испытанными производными ГК приводит к неожиданному снижению модуля упругости в новых составах по сравнению с соответствующими значениями модуля в исходных производных, также подвергнутых анализу, при этом сохранение упомянутого модуля G'' в целом на том же уровне по сравнению с модулем вязкости исходных производных ГК. Таким образом, была получена фармацевтическая композиция с реологическими свойствами, характерными для веществ, повышающих вязкость синовиальной жидкости, при этом вязкий компонент увеличивается пропорционально относительно исходного производного. Соответственно, такая комбинация способна обеспечить большую устойчивость к трению, а также большую смазывающую способность для сустава, поэтому ее можно использовать как вязкую смазку, сочетающую в себе высокие противовоспалительные характеристики ХС и противовоспалительные свойства производных ГК, как описано ранее. По этим причинам новые составы можно применять для лечения и/или терапии интерстициального цистита.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение вязкой фармацевтической композиции, содержащей хондроитина сульфат (CS) в сочетании с солью гиалуроновой кислоты (НА) и щелочных или щелочно-земельных металлов со средней молекулярной массой от 2500 до 3000 кДа в лечении интерстициального цистита путем введения внутрь мочевого пузыря.

2. Применение вязкой фармацевтической композиции по п.1, содержащей буферный раствор, вы-

бранный из следующего: двухосновный фосфорнокислый натрий и одноосновный фосфорнокислый натрий, разведенные в водном растворе хлорида натрия в концентрации, соответствующей концентрации физиологического раствора, с рН от 6,5 до 7,4 и осмолярностью от 100 до 350 мОс/л, и хлорид натрия в концентрации физиологического раствора с рН от 6,5 до 7,4 и осмолярностью от 100 до 350 мОс/л.

