

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202290801** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.06.23

(51) Int. Cl. **A61K 9/00** (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)
A61P 13/10 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.10.22

**(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ
ЦИСТИТА РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ**

(31) **102019000019762**

(72) Изобретатель:
**Пиццокарро Карло, Цанеллато Анна
Мариа, Паван Мауро (IT)**

(32) **2019.10.24**

(33) **IT**

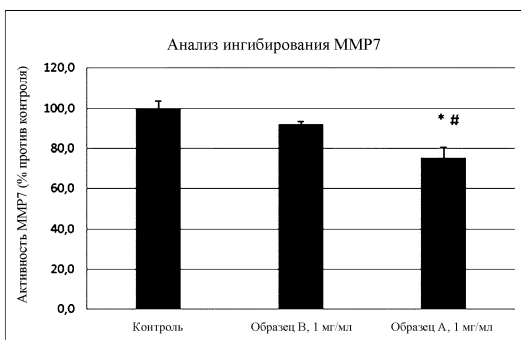
(86) **PCT/IB2020/059922**

(87) **WO 2021/079303 2021.04.29**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

(71) Заявитель:
**ФИДИА ФАРМАЧЕУТИЧИ С.П.А.
(IT)**

(57) Описаны стерильная фармацевтическая композиция, состоящая из натриевой соли гиалуроновой кислоты и Nuaff11p50, и соответствующее применение в интравезикальной терапии интерстициального цистита или синдрома болезненного мочевого пузыря (IC/BPS), острого цистита после бактериальной инфекции, травмы или мочекаменной болезни, цистита, вызванного облучением, химиотерапией, и геморрагического цистита, а также в лечении мочевого пузыря пациентов, проходящих эндоскопическую резекцию доброкачественной или злокачественной опухоли мочевого пузыря с риском рецидива.



A1

202290801

202290801

A1

PCT/IB2020/059922

МПК: *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)
A61P 13/10 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ
ЦИСТИТА РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ
ОБЪЕКТ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем изобретении раскрыта фармацевтическая композиция для применения в лечении цистита, имеющего различную этиологию.

Объектом изобретения является стерильная фармацевтическая композиция, содержащая натриевую соль гиалуроновой кислоты и Nuaff11p50 или состоящая из них, где концентрация натриевой соли гиалуроновой кислоты равна 1,8% масс./масс., и концентрация Nuaff11p50 равна 0,2% масс./масс., и где указанный Nuaff11p50 представляет собой бензиловый эфир гиалуроновой кислоты, в котором 50% карбоксильных групп НА (гиалуроновой кислоты) этерифицированы гидроксигруппами бенилового спирта, возможно в присутствии фармакологически приемлемых эксципиентов. Другим объектом является указанная выше композиция для применения в интравезикальной терапии интерстициального цистита или синдрома болезненного мочевого пузыря (IC/BPS), острого цистита после бактериальной инфекции, травмы или мочекаменной болезни, цистита, вызванного облучением, химиотерапией, и геморрагического цистита; в завершение, указанная выше композиция для применения путем введения посредством интравезикальной инстилляции при лечении мочевого пузыря пациентов, проходящих эндоскопическую резекцию доброкачественной или злокачественной опухоли мочевого пузыря с риском рецидива.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Опухоли мочевого пузыря развиваются во внутренней слизистой оболочке мочевого пузыря, непосредственно контактирующей с мочой, и их наиболее частой формой является папиллома, изолированная поверхностная опухоль, похожая на небольшую бородавку. Злокачественные опухоли мочевого пузыря обычно формируются из его эпителиальной ткани и, таким образом, являются карциномами. Большинство из этих опухолей представлено переходноклеточными (или уротелиальными) карциномами, поскольку они развиваются из переходного эпителия, в

то время как плоскоклеточная карцинома мочевого пузыря и аденокарциномы встречаются значительно реже.

Опухоль, прорастающая в мышцу-детрузор определяют как мышечно-инвазивную карциному (MIBC), поскольку она имеет тенденцию к метастатическому распространению на лимфатические узлы и другие органы, однако приблизительно 75-80% пациентов с впервые диагностированным заболеванием имеют мышечно-неинвазивную карциному мочевого пузыря (NMIBC), которую можно классифицировать следующим образом:

- Та, папиллярная карцинома, ограниченная поверхностью слизистой оболочки (приблизительно 70% случаев NMIBC) с низкой степенью злокачественности, так, что ее можно рассматривать (согласно некоторым руководствам) как незлокачественную форму опухоли мочевого пузыря;

- T1, папиллярная карцинома, выходящая за пределы слизистой оболочки (приблизительно 20% случаев NMIBC);

- CIS (карцинома *in situ*), плоская опухоль, ограниченная слизистой оболочкой, часто мультифокальная (приблизительно 10% случаев NMIBC), с высокой степенью анаплазии, которую рассматривают как стадию, предшествующую мышечно-инвазивной карциноме.

Наиболее частым симптомом опухоли мочевого пузыря является гематурия (кровь в моче), видимая невооруженным глазом, однако подозрение на карциному мочевого пузыря должно также возникать у пациентов с неспецифическими симптомами (поражающими нижние мочевыводящие пути), ассоциированными с усилением позывов к мочеиспусканию и повышением частоты мочеиспускания с дизурией (затрудненным мочеиспусканием). Диагноз подтверждают посредством гистологического исследования после трансуретральной биопсии.

Стандартом лечения как доброкачественных опухолей мочевого пузыря, так и карцином мочевого пузыря является резекция опухоли мочевого пузыря посредством трансуретральной эндоскопии (TURBT). После этого эндоскопического хирургического вмешательства возможно осуществление интравезикальных инстилляций химиотерапевтических агентов, таких как, например, митомицин С, или иммунотерапевтических средств, таких как бацилла Кальметта-Герена (BCG). На данный момент лечение с использованием BCG является наилучшей терапией карциномы *in situ* (CIS). Инстилляции осуществляют для предотвращения рецидивов,

которые возникают с частотой 30-60% и требуют осуществления мониторинга у пациента в течение по меньшей мере 5 лет.

Классификация риска послеоперационных рецидивов и прогрессирования заболевания по результатам гистологического исследования позволяет определить пригодность следующих адъювантных лечений:

- пациенты с низким риском рецидива получают однократную периоперационную дозу интравезикального химиотерапевтического агента в первые часы после хирургического вмешательства TURBT;

- пациенты с промежуточным риском рецидива и низким риском прогрессирования получают однократную периоперационную дозу интравезикального химиотерапевтического агента с последующей адъювантной терапией на основе интравезикальных инстилляций химиотерапевтических или иммунотерапевтических агентов (BCG);

- пациентов с высоким риском прогрессирования (в частности с CIS) всегда подвергают интравезикальной адъювантной терапии с использованием BCG.

У большинства пациентов, оперированных по поводу опухоли NMIBC-типа, в течение 5 лет после удаления опухоли (обычно посредством TURBT) возникает по меньшей мере один рецидив, и часто этот тип карциномы приводит к метастазам MIBC.

Внеклеточный матрикс является основным барьером на пути инвазии/миграции опухолевых клеток в другие органы/ткани, и матриксные металлопротеазы (MMP) являются одними из основных ферментов, способствующих такому метастатическому распространению; они состоят из обширного семейства протеолитических ферментов (кальций-зависимых эндопептидаз), в высокой степени вовлеченных в ремоделирование и разрушение такого внеклеточного матрикса (Faba O. *et al.*, ISNR Urology, 2012, 2012:581539). MMP2, MMP7 и MMP9 считают наиболее важными MMP при карциноме мочевого пузыря, которые способны определять интенсивность/способность распространения опухолевых клеток вследствие того, что они эффективны в разрушении базальной мембраны слизистой оболочки мочевого пузыря. Поэтому MMP2, MMP7 и MMP9 в высокой степени вовлечены в начальные стадии метастазирования, способствуя диссеминации опухолевых клеток вследствие нарушения целостности матрикса (Bolenz C. *et al.*, Bladder Cancer, 2018, 4: 67-75; Fouad H. *et al.*, J Biochem Mol Toxicol, 2019, (33)4).

Следует подчеркнуть, что в эксперименте *in vitro* с клетками карциномы мочевого

пузыря человека снижение экспрессии гена и белка MMP7 с использованием миРНК (малые интерферирующие РНК) приводило к существенному снижению способности обработанных опухолевых клеток как таковых к метастатическому распространению (Bolenz C. *et al.*, *Bladder Cancer*, 2018, 4: 67-75).

Внеклеточный матрикс образован макромолекулами двух основных классов: полисахаридами, принадлежащими к классу гликозаминогликанов (GAG), и волокнистыми белками. GAG обычно связаны с белками с образованием протеогликанов, они могут иметь высокое содержание сульфатных групп, например хондроитинсульфат, дерматансульфат, гепарансульфат и кератансульфат, или не иметь сульфатных групп, например гиалуроновая кислота. Волокнистые белки также включают две группы: одна выполняет главным образом структурную функцию, и к ней относятся коллаген и эластин; а другая выполняет главным образом адгезионные функции, и к ней относятся фибронектин, ламинин и витронектин.

MMP7 представляет собой малый фермент из указанного выше семейства (28 кДа), активный в отношении нескольких компонентов матрикса, таких как ламинин, фибронектин, эластин, VE-кадгерин и коллаген IV-го типа, в то время как MMP9 относится к классу желатиназ, способных расщеплять желатин, фибронектин, эластин и коллагены различных типов (IV, V, VII, X, XIV), а также протеогликаны.

Высокие концентрации MMP7 и MMP9 были измерены не только в сыворотке, моче и тканях пациентов, страдающих карциномой мочевого пузыря (Szarvas T. *et al.*, *Cancer Science*, 2010, 101, 5: 1300-1308), но также выявлены в слизистой оболочке и моче при неопухоловой патологии мочевого пузыря, которая, тем не менее, демонстрировала сильное воспаление, как в случае острого цистита вследствие инфекции, травмы или мочекаменной болезни, цистита, вызванного облучением или химиотерапией, геморрагического цистита и интерстициального цистита (Ambite I. *et al.*, *PLOS Pathogens*, 2016, 12(10); Chen Y. *et al.*, *Am J Transl Res*, 2014, 6(6):631-648).

Интерстициальный цистит, IC, также определяемый как синдром болезненного мочевого пузыря, BPS, представляет собой патологическое состояние хронического болезненного воспаления стенки мочевого пузыря, причины которого все еще отчасти неизвестны. Он ассоциирован с рядом симптомов, приводящих к выраженному снижению трудоспособности, которые могут оказывать отрицательное влияние на образ жизни пациентов: болезненные позывы к мочеиспусканию с повышением их частоты, тазовая боль, дизурия. Доказано, что эта патология связана главным образом с

дисфункцией эпителия мочевого пузыря: на его поверхности есть фактически покровный слой, образованный в основном молекулами двух типов, гликопротеинами и гликозаминогликанами (GAG), формирующими непроницаемый барьер, защищающий мочевой пузырь от раздражающих агентов, присутствующих в моче. Изменение этих двух макромолекулярных компонентов позволяет эпителию мочевого пузыря контактировать с веществами, присутствующими в моче, запуская ряд событий (включая дегрануляцию тучных клеток и синтез воспалительных агентов, таких как металлопротеазы), определяющих воспалительный процесс в мочевом пузыре с деполаризацией афферентных волокон мочевого пузыря и появлением в результате этого тазовой боли (Poggi D. *et al.*, *Int. Urogynecol J*, 2012, 23:1193-1199).

Интравезикальная инстилляция гиалуроновой кислоты (НА), по-видимому, стимулирует восстановление эпителиальных GAG; в действительности, десятилетний на данный момент опыт клинического применения этого полисахарида в лечении IC/BPS продемонстрировал, как такое лекарственное средство определяет отчетливое уменьшение указанных выше симптомов. Таким образом, существует несколько продуктов на основе НА, применяемых при местном лечении цистита для реэпителизации слизистой оболочки мочевого пузыря: НА с высокой молекулярной массой (MW), такие как Cystistat®, или НА с низкой молекулярной массой, такие как Uromac® и NYACYST®, фармацевтическая композиция на основе НА с хондроитинсульфатом, такая как Ialuril®, или на основе только хондроитинсульфата, такая как Uracyst®.

НА представляет собой гетерополисахарид, составленный остатками D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина. Она представляет собой линейный полимер с различной молекулярной массой от 50000 до 13×10^6 Да в зависимости от источника, из которого она получена, и от применяемого способа получения. В природе она присутствует в околклеточном геле, в основном веществе соединительной ткани позвоночных организмов (где она является одним из главных компонентов), в синовиальной суставной жидкости, в стекловидном теле и в пуповине. НА играет ключевую роль в процессе восстановления тканей как со структурной точки зрения (при организации внеклеточного матрикса и в регуляции его гидратации), так и в качестве вещества, стимулирующего широкий спектр процессов, в которых она действует прямо или косвенно (свертывание, фагоцитарная активность, пролиферация фибробластов, неоваскуляризация, реэпителизация и так далее) (Weigel P. *et al.*, J

Theoretical Biol, 1986:219-234). Эти ее свойства давно находят применение при изготовлении лекарственных средств для лечения ран, язв и кожных поражений различной природы, кожных наполнителей и средств для восстановления вязкости синовиальной жидкости и улучшения скольжения в суставах при остеоартрозе.

Лечение опухолей мочевого пузыря (как доброкачественных, так и злокачественных) является одним из наиболее дорогостоящих вследствие высокого процента рецидивов, что требует интенсивного наблюдения с регулярным обследованием (цистоскопия, анализы крови и анализ мочи).

В частности, лечение мышечно-неинвазивных опухолей (NMIBC) является более дорогостоящим, чем лечение инвазивных опухолей (MIBC) ввиду высокой частоты местных рецидивов, что включает повторную эндоскопическую резекцию и скрининг, а также интравезикальные инстилляции химиотерапевтических и иммунотерапевтических лекарственных средств.

В Италии ежегодные затраты на лечение этого заболевания составляют 7% от всех расходов на национальное здравоохранение, поскольку в западных странах опухоли мочевого пузыря занимают пятое место по частоте среди опухолей и второе место среди опухолей мочевыводящей системы после карциномы предстательной железы.

Научные исследования, проведенные в последние несколько лет, выявили экспрессию конкретных металлопротеаз (MMP7 и MMP9, среди прочих), основных опухолевых биомаркеров, позволяющих определить вероятность рецидивов, в эпителии мочевого пузыря пациентов, проходящих TURBT; таким образом, MMP7 и MMP9 являются важными терапевтическими мишенями, поскольку разработка лекарственных средств, которые могут способствовать снижению и/или ингибированию экспрессии их генов и/или белков, может открыть новые возможности лечения доброкачественных форм опухолей, а также указанных выше карцином мочевого пузыря и стать новой терапией для лечения воспаления мочевого пузыря (в которое в значительной степени вовлечены MMP), характерного для острого цистита, цистита, вызванного облучением или химиотерапией, геморрагического цистита, но главным образом в качестве лечения интерстициального цистита.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Объектом настоящего изобретения является стерильная фармацевтическая композиция, содержащая натриевую соль гиалуроновой кислоты и Hyaff¹¹p50 или состоящая из них, где концентрация натриевой соли гиалуроновой кислоты равна 1,8%

масс./масс., и концентрация Hyaff11p50 равна 0,2% масс./масс., и где указанный Hyaff11p50 представляет собой бензиловый эфир гиалуроновой кислоты, в котором 50% карбоксильных групп НА этерифицированы гидроксигруппами бензилового спирта, возможно в присутствии фармакологически приемлемых эксципиентов.

В предпочтительном воплощении изобретения гиалуроновая кислота обоих компонентов указанной выше стерильной фармацевтической композиции (то есть натриевой соли НА и Hyaff11p50) имеет среднюю MW в диапазоне от 160 до 260 кДа.

Объектом настоящего изобретения также является указанная выше фармацевтическая композиция для применения в интравезикальной терапии интерстициального цистита (IC/BPS), острого цистита после бактериальной инфекции, травмы или мочекаменной болезни, цистита, вызванного облучением, химиотерапией, и геморрагического цистита.

Другим объектом изобретения является указанная выше фармацевтическая композиция для применения в интравезикальной терапии мочевого пузыря пациентов, проходящих эндоскопическую резекцию доброкачественной или злокачественной опухоли мочевого пузыря с риском рецидива.

Всю интравезикальную терапию предпочтительно осуществляют посредством введения путем инстилляций через катетер.

Фактически, заявитель неожиданно обнаружил и впоследствии продемонстрировал, что фармацевтическая композиция, состоящая из натриевой соли гиалуроновой кислоты и Hyaff11p50 в указанных выше массовых соотношениях, эффективно и существенно ингибирует активность MMP, в частности MMP7 и MMP9, в мочевом пузыре.

Как подробно описано выше, MMP7 и MMP9 экспрессированы/присутствуют в слизистой оболочке и/или мочевых пузырях, пораженных циститом (имеющим различную этиологию), где они разрушают GAG, покрывающие уротелий, и способствуют воспалению слизистой оболочки, а в тканях мочевых пузырях после удаления опухоли посредством TURBT они расщепляют главные компоненты внеклеточного матрикса, способствуя рецидивам, которые впоследствии могут трансформироваться в метастазы.

Стерильная фармацевтическая композиция, состоящая из натриевой соли НА и Hyaff11p50, описанная выше, имеет следующие биологические и физико-химические свойства:

– НА обоих компонентов описанной фармацевтической композиции имеет MW в диапазоне от 160 до 260 кДа (измеренную после стерилизации, такое измерение позволяет определить среднюю MW всей НА, присутствующей в указанной выше фармацевтической композиции): эта конкретная фракция MW, определяемая в литературе как фракция малой MW, способна стимулировать пролиферацию клеток в большем проценте, чем другие фракции НА с другой MW, и поэтому способна усиливать восстановление эпителия мочевого пузыря, который поврежден токсичными/раздражающими веществами, присутствующими в моче пациентов, страдающих IC, или целостность которого нарушена в результате хирургического вмешательства (TURBT);

– Нуaff11p50 оказывает более эффективный и продолжительный гидратирующий эффект по сравнению с НА, способствуя таким образом лучшему излечению мочевого пузыря;

– оба эти полисахарида способствуют восстановлению поверхностного барьера слизистой оболочки мочевого пузыря (слоя GAG), снова делая его непроницаемым для мочевых токсинов;

– но, в особенности, как заявлено выше, композиция, являющаяся объектом настоящего изобретения, эффективно и существенно ингибирует активность MMP7 и MMP9, экспрессированных/присутствующих в тканях мочевых пузырей при патологических изменениях, обусловленных IC/BPS и хирургическим вмешательством (TURBT).

Исходная НА, используемая в настоящем изобретении, может быть получена из любого источника: посредством экстракции из петушиных гребней (например, согласно EP138572), ферментации (из *Streptococcus equi* или *zooepidemicus*, например, согласно EP0716688) или биосинтеза (из *Bacillus*, например, согласно EP2614088 и EP2614087), и она может быть очищена и получена в форме натриевой соли, как известно специалисту в данной области, например, согласно EP3491027 и WO 2019016699; предпочтительно использовать исходную НА ферментационного происхождения. Сложноэфирное производное Нуaff11p50 получают, как известно специалисту в данной области, предпочтительно согласно EP0216453, еще более предпочтительно согласно EP3074023, где описан его синтез из НА со средней MW 200 кДа.

Следует подчеркнуть, что молекулярная масса или средняя молекулярная масса НА означает средневзвешенную молекулярную массу, рассчитанную методом

«внутренней вязкости» (Terbojevich *et al.*, Carbohydr Res, 1986, 363-377).

Фармацевтическую композицию, являющуюся объектом изобретения, предпочтительно автоклавируют при 121°C в течение 12-15 минут, как хорошо известно специалисту в данной области.

Фармацевтическая композиция может, возможно, содержать, в дополнение к обычным фармацевтически приемлемым эксципиентам для интравезикального введения, фармацевтически активные вещества, такие как, например, обезболивающие средства или противовоспалительные средства.

Пример 1

Получение стерильной фармацевтической композиции, состоящей из натриевой соли гиалуроновой кислоты, 1,8% масс./масс., и Hyaff11p50, 0,2% масс./масс.

В стеклянном лабораторном стакане взвешивали 97,2 г дистиллированной воды. Добавляли 0,75 г Euxyl PE9010 (эксципиенты-консерванты: феноксиэтанол и этилгексилглицерин) при перемешивании с использованием лопастной механической мешалки и оставляли до полной солюбилизации.

Добавляли 5,5 мг 50%-го раствора молочной кислоты (эксципиент для коррекции pH) и измеряли pH для подтверждения того, что он составлял от 3,0 до 4,0.

Затем добавляли 0,2 г HYAFF11p50 (полученного согласно EP3074023), перемешивая до полного растворения. Затем раствор фильтровали через сито с ячейками 200.

Раствор перемешивали еще раз и добавляли 1,8 г гиалуроновой кислоты (полученной путем ферментации из *Streptococcus equi* и очищенной согласно EP3491027) и оставляли при перемешивании до получения раствора, полностью однородного при визуальном осмотре. pH проверяли еще раз, подтверждая, что он составлял от 5,0 до 5,5; pH был равен 5,4.

Полученный таким образом раствор переносили в шприцы желаемого объема и автоклавируют при 121°C в течение 12 минут. В конце стерилизации измеряли среднюю MW в соответствии с Terbojevich *et al.*, и она была в диапазоне от 160 до 260 кДа.

Пример 2

Анализ ингибирования MMP9 и MMP7

Для такого анализа были подготовлены два образца:

– образец А: стерильная композиция, полученная по Примеру 1, состоящая из

натриевой соли гиалуроновой кислоты, 1,8% масс./масс., и Hyaff11p50, 0,2% масс./масс.;

– образец В: стерильный раствор натриевой соли гиалуроновой кислоты, 2%, масс./масс., со средней MW, равной 200 кДа, полученный по Примеру 1, за исключением Hyaff11p50 (отсутствует) (для обеспечения подходящего контроля по сравнению с образцом А конечная концентрация НА в образце В была равна 2%, поскольку Hyaff является производным НА, и поэтому две концентрации НА складывали).

Эти два образца представляют собой два раствора, подлежащие анализу для подтверждения возможного ингибирования ферментов MMP; затем из каждого образца получали ингибирующий раствор.

Ингибирующий раствор: 0,25 мл образца А или В переносили в стеклянную пробирку, в которую затем добавляли 0,75 мл PBS (забуференный фосфатом физиологический раствор), 0,1 М, рН 7,0.

Всю процедуру осуществляли, следуя инструкциям, представленным в руководстве к набору (набор для определения профиля ингибитора MMP, BML-AK016, Enzo Life Science):

– MMP9 и MMP7 размораживали и разводили 1/60 (MMP9) или 1/70 (MMP7) в аналитическом буфере, субстрат разводили 1/10, также в аналитическом буфере;

– в каждую лунку добавляли 50 мкл аналитического буфера, 20 мкл PBS (контроль), 0,1 М, рН 7,0 или 20 мкл ингибирующего раствора А или В и 20 мкл фермента MMP7 или MMP9, разведенного, как описано выше; для контроля, представлявшего собой PBS, и для обоих образцов анализ проводили при n , равном 4;

– затем планшет покрывали адгезивной полоской и помещали в орбитальный шейкер при 37°C на 28 минут;

– в конце инкубации в каждую лунку добавляли 10 мкл субстрата до конечного объема лунки 100 мкл.

Затем планшет помещали в устройство для прочтения микропланшетов Tecan Infinite Pro M200, где считывали флуоресценцию (λ_{ex} 328 нм; λ_{em} 420 нм; прибавка 80) с интервалами 1 минута 30 секунд в течение в общей сложности 35 минут. В конце кинетического взаимодействия для каждого образца получали исходную скорость гидролиза субстрата (ir), интерпретируя полученные данные (интенсивность флуоресценции (RFU) против времени (с)), исходя из кинетики первого порядка; таким образом, для каждого образца рассчитывали среднее, стандартное отклонение и стандартную ошибку проведенных повторных экспериментов. Средние значения

скорости ингибирования анализируемой фармацевтической композиции нормализовали против контроля (лунки, содержавшей фермент с PBS, то есть без ингибитора), исходя из того, что в последней активность была равна 100%. Средние значения скорости ингибирования образцов А, В и контроля сравнивали с применением t-критерия Стьюдента для определения статистической значимости (p менее 0,05).

На Фиг. 1 и 2 показано, что композиция, являющаяся объектом настоящего изобретения (образец А), обладает большей способностью к ингибированию MMP7 и MMP9, как по сравнению с контролем - PBS, где, таким образом, не было ингибитора, так и по сравнению с образцом В, представленным натриевой солью НА в равной концентрации, и такое ингибирование является значимым в обоих случаях.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Стерильная фармацевтическая композиция, содержащая натриевую соль гиалуроновой кислоты и Hyaff11p50, где концентрация натриевой соли гиалуроновой кислоты равна 1,8% масс./масс., и концентрация Hyaff11p50 равна 0,2% масс./масс., где указанный Hyaff11p50 представляет собой бензиловый эфир гиалуроновой кислоты, в котором 50% карбоксильных групп НА (гиалуроновой кислоты) этерифицированы гидроксигруппами бензилового спирта, возможно в присутствии фармакологически приемлемых эксципиентов.

2. Стерильная фармацевтическая композиция по п. 1, состоящая из натриевой соли гиалуроновой кислоты и Hyaff11p50, где концентрация натриевой соли гиалуроновой кислоты равна 1,8% масс./масс., и концентрация Hyaff11p50 равна 0,2% масс./масс., где указанный Hyaff11p50 представляет собой бензиловый эфир НА, в котором 50% карбоксильных групп НА этерифицированы гидроксигруппой бензилового спирта.

3. Стерильная фармацевтическая композиция по любому из п. 1 или п. 2, где гиалуроновая кислота как компонента натриевой соли гиалуроновой кислоты, так и компонента Hyaff11p50 имеет среднюю MW (молекулярную массу) в диапазоне от 160 до 260 кДа.

4. Стерильная фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1-3 для применения в интравезикальной терапии интерстициального цистита или синдрома болезненного мочевого пузыря, острого цистита после бактериальной инфекции, травмы или мочекаменной болезни, цистита, вызванного облучением, химиотерапией, и геморрагического цистита.

5. Стерильная фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1-3 для применения в интравезикальной терапии мочевого пузыря пациентов, проходящих эндоскопическую резекцию доброкачественной или злокачественной опухоли мочевого пузыря с риском рецидива.

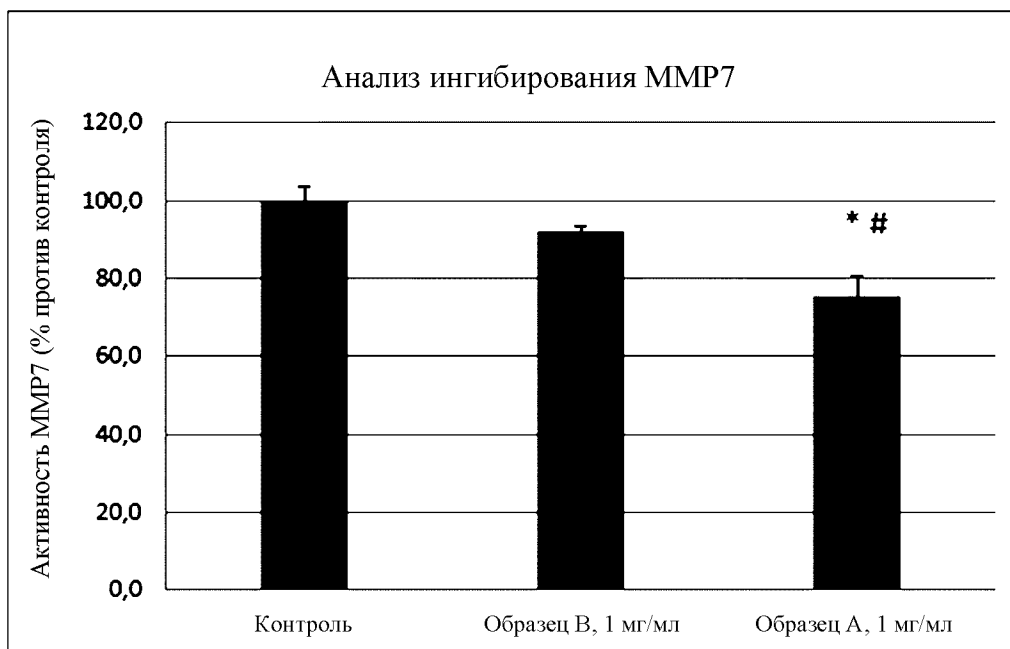
6. Стерильная фармацевтическая композиция по п. 3 для применения в интравезикальной терапии интерстициального цистита или синдрома болезненного мочевого пузыря.

7. Стерильная фармацевтическая композиция по п. 3 для применения в интравезикальной терапии мочевого пузыря пациентов, проходящих эндоскопическую

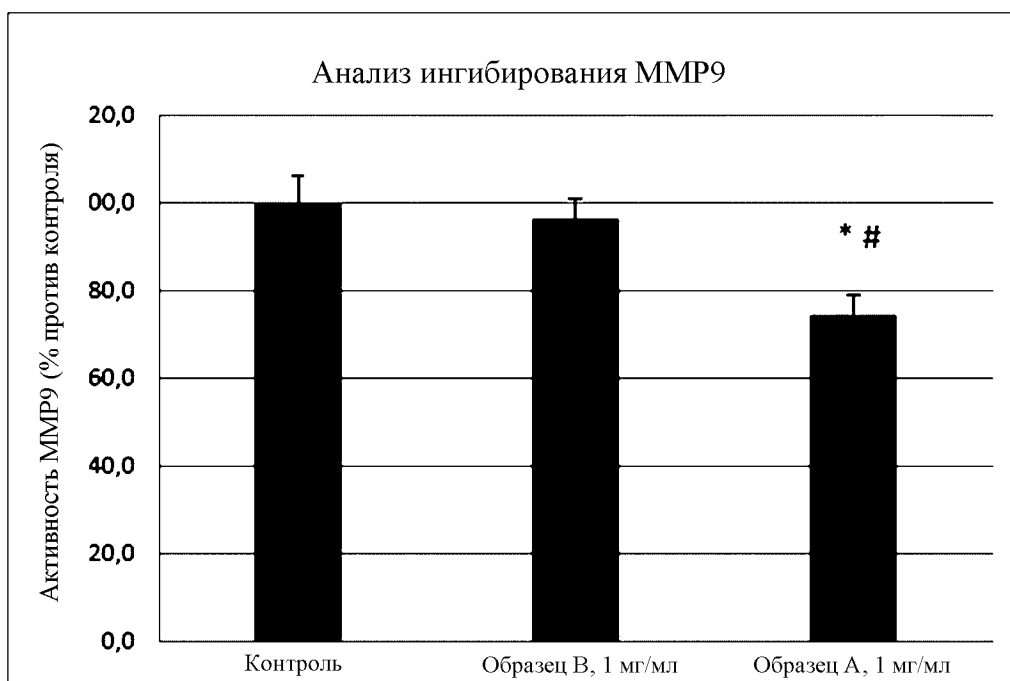
резекцию опухоли мочевого пузыря с риском рецидива.

8. Стерильная фармацевтическая композиция для применения по любому из п.п. 3-7 посредством введения путем инстилляций через катетер.

ФИГ. 1



ФИГ. 2



*: $p < 0,05$; $n=3$ (критерий Стьюдента, контроль против образца А)

#: $p < 0,05$; $n=3$ (критерий Стьюдента, образец В против образца А)