

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291936 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.05.23

(51) Int. Cl. A61K 31/765 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.12.13

(54) РЕЦЕПТУРЫ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ
СНИЖЕНИЯ ПОЛИОРГАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ

(31) 201911051914

(32) 2019.12.14

(33) IN

(86) PCT/IN2020/051027

(87) WO 2021/117065 2021.06.17

(71)(72) Заявитель и изобретатель:
ЧАУДХАРИ МАНУ (IN)

(74) Представитель:
Виноградов С.Г. (BY)

(57) Изобретение относится к композициям и рецептурам антибактериальных лекарственных средств, предназначенным для снижения полиорганной токсичности, путем образования супрамолекулярного катионного комплекса без формирования ковалентной связи, без конъюгации и без химической модификации используемой макромолекулярной субстанции. Композиции и полученные из них рецептуры одновременно воздействуют несколькими механизмами для снижения токсичности катионных антибактериальных лекарственных средств.

A1

202291936

202291936

A1

РЕЦЕПТУРЫ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ПОЛИОРГАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0001] Настоящее изобретение относится к композициям и получаемых из них рецептурам лекарственных форм, предназначенных для снижения полиорганной токсичности, вызываемой многоосновными антибактериальными лекарственными средствами путем получения супрамолекулярного катионного комплекса. Соединения таких композиций и полученные из них рецептуры воздействуют одновременно несколькими механизмами для установления гомеостаза в нескольких органах с целью предотвращения токсичности. В частности, изобретение относится к оптимизации рецептур и способу доставки антибактериальных лекарственных средств с целью предотвращения нефро-, нейро- и ототоксичности.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Аминогликозиды и полимиксины, широко известные как многоосновные лекарственные средства, являются антибиотиками широкого спектра действия, обычно используемыми для лечения серьезных бактериальных инфекций. Неспособность почек выводить аминогликозиды и полимиксины приводит к повышенным уровням указанных соединений в крови или к повышению внутриклеточных концентраций лекарственных средств в проксимальных канальцах вследствие накопления лекарственных средств и/или в других отделах нефрона, даже при использовании терапевтических доз, что может вызвать дальнейшее нарушение почечных и вестибулярных функций. С целью решения проблем, связанных с полиорганной токсичностью, были проведены обширные исследования, продолжающиеся до сих пор, по улучшению структуры соединений для устранения токсичности.

[0003] В патенте WO 2013/191550 A1 представлено новое одностадийное региоселективное химическое диазотирование С3-аминной функциональной группы кольца 2-DOS для модификации аминогликозидов. В патенте US 2013/03455411 A1 изложена многостадийная стратегия, предусматривающая использование основных углеводных строительных блоков и реакцию гликозилирования между G-положением кольца III и O6 кольца II для разработки нового аминогликозидного арбекацина.

[0004] В патенте WO 2011/143497 A1 изложено синтезирование 140 моно- и дефункционализированных производных гентамицина путем модификации его N1- и/или N6'-положений.

[0005] С целью расширения сферы структурных модификаций исходного аминогликозида в патенте WO 2014/013495 A1 была освещена работа по синтезированию различных катионных амфифильных производных различных аминогликозидных лекарственных средств без использования большого количества синтетических стадий для нацеливания на отрицательно заряженные липополисахариды, присутствующие в клеточной стенке бактерий, посредством ионных взаимодействий.

[0006] В патенте WO 2011/044501 A2 для ускорения процесса разработки новых антибиотиков была разработана химическая стратегия синтеза различных аналогов неомицина.

[0007] Позднее производные нового плазомицина, указанные в патенте WO 2011/044501 A2, были синтезированы компанией «Achaogen». По результатам фармакокинетической оценки и мониторинга безопасности инъекций плазомицина у здоровых субъектов не было обнаружено развитие нефротоксичности и ототоксичности у людей.

[0008] В патенте WO 2014/1454713 A2 был использован новый химико-синтетический подход для разработки аналогов сизомицина для ослабления ототоксичности аминогликозидов при сохранении антибактериальной активности. Недавние данные свидетельствуют о том, что синтез митохондриального белка является ключевым элементом ототоксичности аминогликозида, в то время как дефектная функция митохондрий приводит к образованию активных форм кислорода (АФК), что приводит к ототоксичности.

[0009] В патенте WO 2013/170985 A1 раскрыта активность и ототоксичность различных лекарственных средств, в частности, апрамицина. В патенте WO 2011/124986 A2 представлена добавка к аминогликозид-липидным конъюгатам.

[00010] В патенте WO 2012/097454 A1 был исследован класс ингибиторов ацетилтрансферазы (AAC), состоящий из пантетеина, конъюгированного с 6'-амином аминогликозида. В патенте US 2014/0357590 A1 приведен процесс синтеза новых аналогов путем модификации кольца I, кольца II и кольца III псевдотрисахарида.

[00011] Альтернативный подход, раскрытый в патенте US 2014/0243280 A1, заключается в использовании нового класса супрамолекулярных защитных групп (SPG) на основе взаимодействия "хозяин-гость", при этом предлагается новая и привлекательная перспектива для одностадийных модификаций на основе олигонуклеотида.

[00012] В рамках другого исследования использовали ампролиум в качестве вещества, секретируемого почками для предотвращения токсичности. В патенте US 5,691,304 приведено описание усовершенствованного процесса получения конъюгатов полимиксина

В/декстрана, при котором декстран ковалентно присоединяется к полимиксину В посредством аминной связи.

[00013] Аминогликозиды и полимиксины, судя по всему, генерируют свободные радикалы во внутреннем ухе с последующим необратимым повреждением сенсорных клеток и нейронов, что приводит к постоянной утрате слуха. Нефротоксичность, вызываемая аминогликозидами и полимиксинами, клинически проявляется как неолигурическая почечная недостаточность с медленным повышением уровня креатинина сыворотки и гипоосмолярным диурезом, развивающимся после нескольких дней лечения. Аминогликозиды являются нефротоксичными ввиду того, что значительная доля малой введенной дозы («5%») задерживается в эпителиальных клетках, выстилающих сегменты S1 и S2 проксимальных канальцев после гломерулярной фильтрации.

[00014] В настоящее время используются два подхода. Одним из наиболее простых и радикальных подходов к снижению нефротоксичности многоосновных лекарственных средств, который мог бы дать положительные результаты, является снижение или предотвращение накопления лекарственного средства в органе. Накопление аминогликозидов/полимиксинов могло бы быть снижено либо путем ослабления их поглощения, либо путем усиления их высвобождения. Снижение поглощения было достигнуто с использованием двух стратегий.

[00015] Первая стратегия направлена на внеклеточное комплексообразование многоосновных лекарственных средств путем конъюгации, но при этом конъюгация делает лекарственное средство более трудновыводимым, что приводит к снижению его экскреции и почечной токсичности.

[00016] Вторая стратегия направлена на конкурирование с мембраной щеточной каймы или на уменьшение связывания лекарственного средства с мембраной щеточной каймы, но при этом проблема все еще остается нерешенной, поскольку некоторые многоосновные лекарственные средства могли бы быть их собственными конкурентами, так как поглощение клетками почечных канальцев является насыщаемым.

[00017] В таких случаях токсичность снижается за счет уменьшения частоты приёма и кратности введения таких лекарственных средств, поскольку лекарственное средство, проходящее в просвет, не будет реабсорбироваться, если лекарственное средство является слишком концентрированным, на основании чего был сделан вывод о том, что сокращение цикла введения указанных многоосновных лекарственных средств с трех или двух раз в день до одного раза в день будет единственным подходом к снижению токсичности.

[00018] Проблема снижения токсичности в значительной степени остается нерешенной. Именно по этой причине в настоящей изобретательской работе были рассмотрены многочисленные механизмы и новый подход к образованию супрамолекулярного катионного комплекса без конъюгации, без образования ковалентных связей и без образования мицелл.

ЦЕЛИ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00019] Одна из основных целей настоящего изобретения заключается в определении соединений, которые способны снизить полиоргannую токсичность и воздействовать несколькими механизмами.

[00020] Другая цель заключается в оптимизации концентрации каждого такого соединения в заранее определенном отношении для достижения цели.

[00021] Еще одна цель заключается в оптимизации процессов составления рецептуры для установления гомеостатического состояния, при котором *in vivo* наблюдается минимальная токсичность или ее отсутствие.

[00022] Еще одна цель заключается в создании способа введения многоосновных лекарственных средств.

[00023] Дополнительная цель настоящего изобретения заключается в получении гидрофильных рецептур многоосновных лекарственных средств без конъюгации, без образования ковалентных связей и без образования мицелл с целью снижения полиоргannой токсичности у нуждающегося в этом субъекта, являющегося млекопитающим.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00024] Данное краткое изложение сущности изобретения приведено с целью представления в упрощенной форме ряда концепций, которые более подробно описаны ниже в Разделе «Подробное описание настоящего изобретения». Данное краткое изложение сущности изобретения не предназначено для определения ключевых признаков или основных признаков заявленного предмета, а также не предназначено для использования в качестве помощи в определении объема заявленного предмета.

[00025] Один из аспектов настоящего изобретения предусматривает создание композиций и рецептур с целью снижения полиорганных токсических эффектов, связанных с многоосновными лекарственными средствами, путем создания супрамолекулярного катионного комплекса. Композиции и рецептуры настоящего изобретения позволили снизить ото-, нейро- и нефротоксичность, обусловленную многоосновными лекарственными средствами.

[00026] Другой аспект настоящего изобретения относится к способам получения указанных супрамолекулярных катионных комплексов (SMCC), далее по тексту называемых композициями и рецептурами SMCC. Гидрофильные композиции и рецептуры SMCC настоящего изобретения целесообразно использовать с целью снижения полиорганной токсичности, связанной с многоосновными/катионными лекарственными средствами у млекопитающих при их введении в организм.

[00027] В другом аспекте настоящего изобретения указанный супрамолекулярный катионный комплекс включает многоосновное/катионное лекарственное средство, выбранное из группы аминогликозидных или полимиксиновых антибиотиков.

[00028] В другом аспекте настоящего изобретения катионное соединение выбирают из этоксилированных аминов, четвертичных аммониевых соединений, аминокислот L-аргинина, L-лизина и гистидина.

[00029] В другом аспекте настоящего изобретения в качестве основы каркаса супрамолекулярного катионного комплекса используется природный полисахарид.

[00030] В другом аспекте настоящего изобретения для приготовления лекарственного средства настоящего изобретения требуется многоосновное/катионное лекарственное средство-катионное соединение-природный полисахарид в отношении в диапазоне от 1:0,1: 0,1 до 1:3:1.

[00031] В другом аспекте настоящего изобретения супрамолекулярный катионный комплекс многоосновных лекарственных средств образуется без химического сшивания посредством электростатических взаимодействий благодаря заданным зарядово-молекулярно-массовым отношениям.

[00032] Различные объекты, признаки, аспекты и преимущества объекта изобретения станут более очевидными из следующего подробного описания предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения вместе с прилагаемыми чертежами и рисунками.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Приведенные в настоящей заявке варианты осуществления настоящего изобретения будут лучше понятны в плане их характеристик и эффективности из следующего подробного описания со ссылкой на чертежи, иллюстрирующие различные результаты тестов:

[00033] Фиг. 1 – установление различия между обычной токсичностью, вызванной лекарственными средствами, и снижением токсичности на основе рецептур SMCC посредством проведения гистопатологических исследований.

[00034] Фиг. 2 – графическое изображение сравнительного процентного изменения значений Kim-1 (биомаркер, указывающий на нефротоксичность) от исходного уровня до

дня 2 после трехкратного ежедневного введения контрольных рецептур по сравнению с различными рецептурами в плазме крови экспериментальной модели крыс в соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения.

[00035] Фиг. 3 – графическое изображение сравнительного процентного изменения значений цистатина-С (биомаркер, указывающий на нефротоксичность) от исходного уровня до дня 2 после трехкратного ежедневного введения контрольных рецептур по сравнению с различными рецептурами в плазме крови подопытных крыс в соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения.

[00036] Фиг. 4 – графическое представление сравнительного процентного изменения значений BUN (биохимический параметр, указывающий на нефротоксичность) от исходного уровня до дня 2 после трехкратного ежедневного введения контрольных рецептур по сравнению с различными рецептурами в плазме крови подопытных крыс в соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения.

[00037] Фиг. 5 – графическое представление сравнительного процентного изменения значений креатинина (биохимического параметра, указывающего на нефротоксичность) от исходного уровня до дня 2 после трехкратного ежедневного введения контрольных рецептур по сравнению с различными рецептурами в плазме крови подопытных крыс в соответствии с одним из вариантов осуществления настоящего изобретения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00038] Для более полного понимания вариантов осуществления настоящего изобретения и их преимуществ, а также различных признаков в данной заявке приведено подробное описание неограничивающих вариантов осуществления настоящего изобретения, проиллюстрированных на прилагаемых рисунках и в таблицах. Описания известных компонентов и технологий обработки опущены, чтобы лишний раз не затруднять понимание вариантов осуществления настоящего изобретения в данном документе. Примеры, используемые в данном документе, предназначены исключительно для облегчения понимания способов, которые могут быть реализованы в вариантах осуществления настоящего изобретения, приведенных в данном документе, и дополнительно могут позволить специалистам в данной области техники реализовать варианты осуществления настоящего изобретения. Соответственно, примеры не должны истолковываться как ограничивающие объем описанных в данном документе вариантов осуществления настоящего изобретения.

[00039] Все публикации в данном документе включены по ссылке в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация или заявка на патент были специально и отдельно указаны для включения в качестве ссылки. В тех случаях, если определение или

использование термина во включенной ссылке не соответствуют или противоречат определению этого термина, представленного в настоящем документе, определение этого термина, приведенного в данном документе, применимо, и определение этого термина в ссылке не применимо.

[00040] Различные термины, используемые в настоящем документе, приведены ниже. В той степени, в которой термин, используемый в формуле изобретения, не определен ниже, ему следует дать самое широкое определение, которое специалисты в данной области техники дали этому термину, как отражено в печатных изданиях и выданных патентах на момент подачи заявки. В тех случаях, если определение или использование термина во включенной ссылке не соответствуют или противоречат определению этого термина, представленного в настоящем документе, определение этого термина, приведенного в данном документе, применимо, и определение этого термина в ссылке не применимо.

[00041] Также следует понимать, что настоящее изобретение может быть реализовано множеством способов, в том числе в виде композиции, рецептуры, способа лечения или способа приготовления. В данном описании изобретения указанная реализация или любые иные формы, которые может принять изобретение, могут быть названы композициями и рецептурами. В целом композиции или рецептуры могут быть изменены в пределах объема настоящего изобретения.

[00042] Для целей настоящего изобретения под термином "полиорганный токсичность" следует понимать системную токсичность в плане повреждения одного или нескольких органов, таких как мочевыделительная система, приводящую к острой почечной недостаточности (ОПН), гибели клеток и почечной недостаточности (нефротоксичность), нейротоксичности (нейромышечная блокада, периферическая нейропатия, парестезии и энцефалопатия, вызванные полимиксинами/аминогликозидами) и нарушению слуха (ототоксичность) вследствие токсичности, вызванной многоосновными лекарственными средствами.

[00043] В соответствии со значением, используемом в настоящем контексте, «супрамолекулярный катионный комплекс (SMCC)» относится к процессу создания комплекса, в котором образуется объединение одноименных зарядов посредством электростатического взаимодействия, при этом катионные соединения/лекарственные средства образуют комплекс молекул одноименного заряда путем изменения их свойства от основного к кислотному или посредством катион-р-взаимодействия и одновременного физического захвата комплекса, образованного таким образом, на макромолекулярном каркасе.

[00044] В данном случае важно отметить, что SMCC абсолютно не коррелирует с супрамолекулярными структурами, представляющими собой большие молекулы, образованные путем группирования или соединения меньших по размеру молекул вместе, и относящимися к области нанонауки, поскольку зачастую существует возможность разработать молекулы желаемой формы или функциональных характеристик.

[00045] В соответствии со значением, используемом в настоящем контексте, термин «макромолекула» относится к большой органической молекуле, такой как полисахариды, липиды, белки и нуклеиновые кислоты, состоящие из мономерных звеньев.

[00046] В соответствии со значением, используемом в настоящем контексте, термин «многоосновный/катионный» относится к антибактериальным катионным лекарственным соединениям, имеющим имеют два или несколько атомов замещаемого водорода, например, нерибосомальные циклические липопептидные антибиотики полимиксины, такие как, в частности, полимиксины А - Е, включая полимиксин В и колистин, и лекарственные средства, содержащие в качестве части молекулы аминомодифицированный гликозид (сахар), называемые аминогликозидами, такие как, в частности, гентамицин, тобрамицин, амикацин, плазომидин, стрептомицин, неомицин, паромомицин, рибостамицин, арбекацин, дибекацин, гентамицин, канамицин А и В, апротинин, аристолохиновая кислота, трихозантин, этимицин, нетилмицин, сизомицин и апрамицин.

[00047] В соответствии со значением, используемом в настоящем контексте, термин «нежелательная лекарственная реакция (НЛР)» означает любое нежелательное медицинское явление, связанное с применением лекарственного средства человеком, которое может представлять собой травму, отравление, повреждение тканей или клеток, опасную реакцию, вызванные приемом лекарственного средства. НЛР могут возникать после однократного или длительного приема лекарственного средства и связаны с органоспецифической токсичностью, при этом токсичность может быть полиорганной. В данном случае ототоксичность относится к токсичности, возникающей в клетках уха и связанной с сопутствующими симптомами, такими как нарушение слуха, при этом нейротоксичность относится к повреждению клеток нейронов и сопутствующим симптомам, при этом нефротоксичность относится к повреждению клеток почек и мочевыделительной системы и, как результат, к нарушению работы мочевыделительной системы.

[00048] Настоящее изобретение относится к системной доставке рецептур антибактериальных лекарственных средств SMCC с целью снижения полиорганной токсичности у млекопитающих после введения лекарственного средства. Системное

применение некоторых многоосновных антибактериальных лекарственных средств, таких как аминогликозиды, полимиксины А - Е, связано с риском нефротоксичности, нейротоксичности и ототоксичности. Признаки токсичности появляются непосредственно после введения высокой дозы или в течение 24 часов после введения лекарственного средства независимо от режима дозирования. Частое дозирование обуславливает более высокую степень токсичности и более высокие проявления НЛР, в частности, в случае критически больных пациентов, например, при сепсисе или у пациентов отделения интенсивной терапии. Был проведен большой объем исследований для поиска путей снижения токсичности, но с ограниченным успехом, при этом, как сообщалось, многоосновные антибактериальные лекарственные препараты, используемые в настоящее время (далее по тексту – референтные препараты), имеют признаки токсичности даже в настоящий момент, что указывает либо на недостаточность ранее принятых способов, либо на некоторые другие проблемы, не позволяющие выйти с препаратом на рынок. В настоящее время установлено, что основной причиной ограниченного успеха в решении проблемы по снижению токсичности является наличие множества механизмов, и при этом ни один из специфических подходов не способен обеспечить снижение токсичности. Таким образом, настоящее изобретение создано таким образом, чтобы оно отвечало потребностям многочисленных клеточных механизмов вместо того, чтобы фокусироваться на одном механизме, ответственном за этиологию.

[00049] Настоящее изобретение относится к снижению полиорганной токсичности, включая снижение нефротоксичности многоосновных антибактериальных лекарственных средств, которые, как известно, вызывают острую почечную недостаточность (ОПН). В частности, изобретение относится к композициям и изготовленным из них рецептурам для более безопасного устранения ото-, нейро- и нефротоксичности у тяжелобольных пациентов или млекопитающих.

[00050] В соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения одной из критически важных задач снижения полиорганной токсичности является предотвращение накопления лекарственного средства внутри органов, например, с целью снижения нефротоксичности необходимо предотвратить накопление лекарственного средства внутри клеток почек.

[00051] Одна из основных причин нефротоксичности полимиксинов и аминогликозидов объясняется их связыванием с кубилин-мегалиновыми рецепторами, присутствующими на апикальной мембране щеточной канвы проксимальных канальцев почек или в улитке внутреннего уха. Многоосновные лекарственные средства, как определено выше, имеют высокое сродство к связыванию с мегалином, что приводит к накоплению лекарственного

средства, ведущему к ишемии и гибели клеток. Указанные лекарственные средства, являющиеся основными по своей природе, имеют известное сродство к почечному / ушному / нейронному отложению. Лекарственное средство, проходя через почки в процессе выведения, связывается с указанными рецепторами, поглощается эпителиальными клетками и откладывается в них.

[00052] Мегалин - эндоцитарный рецептор в проксимальных канальцах почек - представляет собой основной путь накопления аминогликозидов/полимиксинов в почках и участвует в развитии нефротоксической острой почечной недостаточности (ОПН), опосредуя тубулярное поглощение нефротоксических агентов. Накопление аминогликозидов и полимиксинов в лизосомах с последующим разрывом везикул считается основным механизмом, вызывающим нефротоксичность у животных и человека. Канальцевые изменения связаны с развитием очаговых некрозов и апоптоза в тубулярном эпителии в сочетании с обширной тубулярной и перитубулярной пролиферацией клеток без видимого изменения функции почек. Указанные токсические признаки могут быть определены путем измерения биохимических параметров крови, таких как АМК и креатинин, биомаркеров, таких как KIM-1 и Cystatin-C, а также путем проведения гистопатологического исследования соответствующей части тела. На Фиг. 1 наглядно продемонстрированы результаты гистопатологических исследований, иллюстрирующие исключительно незначительное состояние повреждения (близкое к нормальному) почечных канальцевых клеток при использовании рецептур по настоящему изобретению.

[00053] На Фиг. 1 (А) проиллюстрированы острые тубулярные некрозы, которые представляют собой очаговую или диффузную денудацию канальцевых клеток почек с потерей щеточной каймы. Наблюдается уплощение канальцевых клеток почек вследствие расширения канальцев, образования интратубулярных цилиндров, вакуолизации (конец стрелки с кружком), застоя (конец стрелки с линией), эозинофильной цитоплазмы (конец стрелки с квадратом). При этом основные повреждения наблюдаются при интерстициальной мононуклеарной клеточной инфильтрации (ИМ), в мелких пикнотических ядрах (конец стрелки) в почке контрольной крысы, обработанной полимиксином.

[00054] На Фиг. 1 (В) приведена нормальная клубочково-канальцевая гистология. Незначительные изменения в эпителиальной выстилке канальцев (конец стрелки с линией), небольшие пикнотические ядра (конец стрелки с кружком). В почках крыс, обработанных составом F30, наблюдаются регенеративные изменения в канальцах (стрелка с квадратом), что свидетельствует о чрезвычайно низкой токсичности.

[00055] На Фиг. 1(С) приведена нормальная гломерулярная гистология. Умеренная потеря канальцевых эпителиальных клеток, легкий застой (стрелка с кружком). В канальцах почек крыс, обработанных рецептурой F108, наблюдаются регенеративные изменения (стрелка с линией), что указывает на исключительно низкую токсичность.

[00056] На Фиг. 1 (D) приведена нормальная гломерулярная гистология. Умеренная потеря канальцевых эпителиальных клеток, неравномерно расширенные просветы (конец стрелки с кружком). В канальцах почек крыс, обработанных рецептурой F57, наблюдаются регенеративные изменения (конец стрелки с линией), что указывает на минимальную токсичность.

[00057] На Фиг. 1 (E) проиллюстрировано распространение гломерулярного и острого тубулярного некроза с потерей щеточной каймы. Наблюдается уплощение канальцевых клеток почек вследствие расширения канальцев (конец стрелки с кружком), образования интратубулярных цилиндров (конец стрелки с квадратом), вакуолизации в канальцах (конец стрелки с V), застоя (конец стрелки с линией) в почке крысы, обработанной контрольным амикацином, которое указывает на поврежденный орган. Все три группы лекарственных средств, изготовленных по новым рецептурам настоящего изобретения (В:полимиксин F30, С:колистин F108 и D:амикацин F57), проявляли наименьшую токсичность даже при дозировке три раза в день по сравнению соответствующими контрольными (эталонными) рецептурами.

[00058] Одним из вариантов осуществления настоящего изобретения является выявление соединений, которые способны обеспечивать конкурентное связывание и ограничивать накопление антибактериальных лекарственных средств в органе.

[00059] Другой проблемой является устранение нейротоксичности, вызывающей аномальные нейроповеденческие изменения, включая сенсорно-моторное расстройство. Нейротоксичность является одним из основных нежелательных побочных эффектов (НЛР), связанных с терапией полимиксином, вызываемых индуцированным полимиксином повреждением нервов и в значительной степени связанных с окислительным стрессом и митохондриальной дисфункцией. Центральная нервная система крайне восприимчива к окислительному повреждению вследствие ее необходимой повышенной потребности в кислороде. Митохондрии жизненно важны для поддержания основных клеточных функций, таких как энергетический метаболизм и продуцирование АТФ. Таким образом, в настоящем изобретении тщательно продумано устранение митохондриальной дисфункции путем введения SMCC нуждающимся в нем субъектам.

[00060] Апоптоз играет важную роль в поддержании гомеостаза мозга в ответ на токсичность, вызванную лекарственными средствами. Аутофагия включает поглощение клеточных белков и органелл аутофагосомами, их переваривание в лизосомах и переработку для поддержания клеточного гомеостаза в условиях различных стрессов, включая недостаток питательных веществ, гипоксию, окислительный стресс и повреждение ДНК. Известно, что аутофагия участвует в поддержании гомеостаза нейронов, в частности, в ответ на вызванный лекарственными средствами окислительный стресс и митохондриальную дисфункцию. Два семейства ферментов - NOXs и NOSs - являются основными источниками реактивных форм кислорода (ROS)/реактивных форм азота (RNS) / нитрозативного стресса вследствие избыточного продуцирования оксида азота (NO) и действуют совместно, повреждая клетки при нарушении гомеостаза. Таким образом, снижение окислительного стресса является еще одним важным фактором, устраняемым настоящим изобретением путем составления рецептуры SMCC, поддерживающего гомеостаз. Использование соответствующей макромолекулы, способной регулировать продуцирование NO, является еще одной ключевой особенностью настоящего изобретения.

[00061] Каталаза, супероксиддисмутаза и восстанавливающая способность плазмы к железу являются известными маркерами окислительного стресса, изученные на модели крыс. Сдвиг в сторону отрицательных значений в контрольных группах указывает на усиление окислительного стресса. Композиции по настоящему изобретению и изготовленные из них композиции при тестировании показали значительное повышение антиоксидантных уровней трех тестируемых параметров, как представлено в примерах.

[00062] Еще одной проблемой является устранение относительной клеточной гипоксии, как основного активатора гипоксия-индуцибельного фактора, который обнаруживается в тканях при нейротоксичности и хронической болезни почек независимо от этиологии и, как полагают, является результатом комбинации структурных и функциональных изменений, включающих: снижение перитубулярного кровотока, связанное с повреждением гломерулярного фильтра, разрежением капиллярной сети, вазоконстрикцией, сужением просвета атеросклеротических сосудов, увеличением потребности в кислороде вследствие гиперфильтрации и гипертрофии канальцев, ограниченной диффузией кислорода в результате расширения внеклеточного матрикса и почечной анемии.

[00063] Гипоксия сопровождается значительным повышением лактата в крови и тяжелым системным ацидозом, что является прямым следствием анаэробного метаболизма. Таким

образом, эффективное устранение гипоксии путем регулярного поступления кислорода также обеспечивается инновационной технологией, предлагаемой в настоящем изобретении, предусматривающей формирование SMCC и его введение нуждающимся в нем субъектам.

[00064] Другая задача настоящего изобретения заключается в определении оптимального баланса соединений, которые при их включении в рецептуру нефротоксичных многоосновных/катионных лекарственных средств способны в значительной мере предотвратить повреждение клеток и поддерживать гомеостаз.

[00065] В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения для успешного конкурентного ингибирования катионные соединения выбирают для сочетания с основными лекарственными средствами, такими как полимиксины и аминогликозиды. В данном случае катионное соединение выбрано из группы, включающей этоксилированные амины, четвертичные аммониевые соединения, аминокислоты L-аргинин, L-лизин и гистидин. В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения указанное катионное соединение представляет собой аминокислоту.

[00066] Другая задача, требующая инновационного решения в настоящем изобретении, заключается в комплексообразовании одноименно заряженных молекул, поскольку как лекарственные соединения, так и конкурентные ингибирующие соединения являются катионными по своей природе. Данная задача была решена путем экспериментального изменения значения pH раствора для превращения катионной аминокислоты в анионную вследствие ее цвиттер-ионной природы. Аминокислоты могут быть положительно-заряженными, отрицательно-заряженными, нейтральными или полярными по своей природе. При значении pH ниже их p_i они несут чистый положительный заряд; при значении pH выше их p_i они несут чистый отрицательный заряд. Таким образом, путем изменения значения pH можно изменить природу цвиттер-ионных аминокислот.

[00067] В альтернативном варианте образование комплекса происходит посредством катион-р-взаимодействия. Было проведено несколько экспериментов с целью определения наиболее оптимальной пары, стабилизирующей рецептуру, обеспечивая при этом поддержание гомеостаза *in vivo* для снижения острого повреждения почек, нейротоксичности и ототоксичности. По результатам различных проведенных испытаний Quality By Design (качество, встроенное в продукт на этапе разработки) для образования комплекса был выбран L-аргинин в качестве катионной аминокислоты.

[00068] В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения L-аргинин предпочтительнее лизина и гистидина. Рецептуры без L-лизина либо не были

способны стабилизироваться, либо оказались токсичными. Кроме того, важно отметить, что значение pK_{a3} и pI для L-аргинина было самым высоким из трех аминокислот, и при этом аргинин обеспечивает достижение наилучшего конкурентного ингибирующего эффекта благодаря наиболее высокому заряду.

Аминокислота	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pI
Лизин	2.18	8.95	10.53	9.74
Аргинин	2.17	9.04	12.48	10.76
Гистидин	1.82	9.17	6.00	7.59

[00069] В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения как L-аргинин, так и L-лизин обеспечивают конкурентное связывание с мегалином, однако L-аргинин является предпочтительным. Кроме того, аргинин обеспечивает продуцирование NO, которую необходимо регулировать, таким образом, достижение конкурентного связывания при оптимизации секреции NO явилось еще одной задачей, решение которой технически грамотно было найдено на основе настоящего изобретения. Оптимизация концентрации аминокислоты является критически важным фактором, и незначительное отклонение нарушает гомеостаз, необходимый для достижения идеального баланса с целью снижения токсичности.

[00070] В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения соотношение указанного аргинина и указанного лекарственного средства составляет от 0,1:1 до 3:1.

[00071] В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения для создания супрамолекулярного катионного комплекса макромолекула выбирается из группы природных полисахаридов в качестве каркасной основы. Причина выбора полисахарида заключается в том, что данное соединение является постоянным источником энергии. Выбор полисахарида был основан на нейтральности заряда. Таким образом, выбор природного полисахарида сыграл важную роль в принятии решения.

[00072] В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения природный полисахарид выбирается из группы, состоящей из декстрана, полисиаловой кислоты, пуллуланов, декстрина, гиалуроновой кислоты, хитозана и гепаринов. Другие природные полисахариды, которые могут быть альтернативно использованы, представляют собой гуаровую камедь, аравийскую камедь, трагакантовую камедь, камедь лиственницы, камедь карайи, камедь бобов рожкового дерева, агар, альгинаты, карагинан, пектины, крахмал, с-крахмал, ксантановую камедь, сукциноглюкан, привитый сополимер акриловой кислоты и аналогичные вещества.

[00073] В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения макромолекула, выбранная для формирования SMCC, представляет собой нейтральный по заряду простой низкомолекулярный декстран, имеющий линейный каркас из α -связанных d-глюкопиранозильных повторяющихся звеньев. Низкомолекулярный декстран относится, в частности, к декстрану с молекулярной массой $<60\text{KDa}$. В предшествующем уровне техники выбираемые декстраны имеют высокую молекулярную массу в диапазоне от 10^7 до 10^8 Kda с высокой степенью полидисперсности, подходящие для конъюгации и увеличения времени циркуляции. Данные высокомолекулярные декстраны и их производные использовали для введения лекарственных препаратов путем образования ковалентной связи в соответствии с большинством способов, существовавших в предшествующем уровне техники. Вместо следования заранее определенному подходу в настоящем изобретении выбран низкомолекулярный декстран без какой-либо химической модификации, имеющий нейтральную поверхность каркаса для захвата катионного комплекса.

[00074] Основным фактором, определяющим адекватную функцию органа, является адекватное снабжение и использование кислорода на микроциркуляторном и клеточном уровне для выполнения функции органа. Крайне сложная архитектура почечной микрососудистой системы, необходимость удовлетворения высоких энергетических потребностей и тот факт, что у почки проявляются признаки предшемического состояния, при ОПП почка является чрезвычайно уязвимым органом, подверженным гипоксемическому повреждению. При нормальном устойчивом состоянии обеспечивается эффективное регулирование поступления кислорода (O_2) в почечные ткани, однако при заболеваниях или септических состояниях хрупкое равновесие поступления кислорода и потребности в нем нарушается вследствие микроциркуляторной дисфункции почек.

[00075] Данная дисфункция в значительной степени обусловлена взаимодействием процессов кислородного обмена в почечной ткани, метаболизмом окиси азота и образованием радикалов. Потребность почек в кислороде в основном определяется продуцированием АТФ.

[00076] Следовательно, выбор полисахарида в качестве макромолекулярного каркаса был обусловлен тем, что он является постоянным источником энергии и обеспечивает захват многоосновного/катионного лекарственного вещества и катионной аминокислоты для формирования супрамолекулярного катионного комплекса, образованного либо изменением рН основной аминокислоты вследствие цвиттер-ионной природы, либо посредством катион- π -взаимодействия, таким образом, чтобы обеспечивался захват

образованного комплекса на каркасе нейтрального полисахарида без образования каких-либо химических связей, без конъюгации, ковалентной связи или мицеллообразования.

[00077] В данном случае важно отметить, что образование SMCC обусловлено либо взаимодействием одноименных зарядов, либо изменением pH аргинина вследствие его цвиттер-ионной природы, либо посредством катион- π -взаимодействия, и, таким образом, соотношение аргинина и катионного лекарственного средства играет важную роль. Аргинин предназначен для конкурентного связывания лекарственного средства с рецепторами, и, таким образом, отношение аргинина к полимиксинам (которые более токсичны и имеют более высокие значения R_{ka} , чем аминогликозиды) выше, чем отношение аргинина к аминогликозидам. Отношение L-аргинина к полимиксинам находится в диапазоне от 3:1 до 0,5:1, в то время как отношение L-аргинина к аминогликозидам находится в диапазоне от 0,1:1 до 1:1.

[00078] Еще одной критической и ключевой проблемой, впервые решаемой при поиске решения по снижению полиорганной токсичности антибактериальных лекарственных средств, является микроциркуляторная дисфункция. Указанная дисфункция может серьезно ограничить способность кровообращения, необходимого для обеспечения адекватного количества кислорода с целью поддержания окислительного фосфорилирования для продуцирования АТФ и может непосредственно нарушить функцию Na/KАТФ-азного насоса.

[00079] Однако воспаление и окислительный стресс могут также серьезно нарушить хрупкий баланс между доставкой кислорода и его потреблением в мозгу и почках. Кроме того, нарушение гомеостаза между реактивными формами кислорода (ROS) и оксидом азота (NO), поддерживаемое воспалением нейронов и почек, может способствовать развитию нейро- и нефротоксичности.

[00080] В настоящее время в связи с ростом резистентности микроорганизмов к антимикробным лекарственным средствам в медицинской практике используется ряд лекарственных средств с известной нейро- и нефротоксичностью в том случае, когда ни одно другое лекарственное средство не приносит результата. Непрерывное обеспечение энергией для продуцирования АТФ наряду с управлением микроциркуляцией оригинально решается путем выбора немодифицированного низкомолекулярного декстрана в качестве полисахарида, служащего каркасом SMCC.

[00081] В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения новым признаком настоящего изобретения является выбор низкомолекулярного обычного декстрана, а именно декстрана 40 kDa (далее по тексту упоминается как D40 или Декстран 40), который также используется в

неконъюгированной форме без образования ковалентных связей, без мицеллообразования, без химической модификации в нейтральной форме для физического захвата многоосновной лекарственной субстанции и катионной аминокислоты с образованием супрамолекулярного катионного комплекса, который при введении нуждающемуся в нем субъекту снижает полиорганный токсичность путем одновременного управления несколькими механизмами, обуславливающими возникновение токсичности.

[00082] Важно отметить, что основной недостаток конъюгации заключается в том, что конъюгация увеличивает период полувыведения лекарственного средства, тем самым еще более повышая токсичность. Декстран 40 дополнительно обеспечивает превосходную стабильность с криозащитой при температуре от -45°C до 60°C . Согласно наблюдениям D40 позволяет улучшить кровоток и микроциркуляцию, и, кроме того, он также служит источником энергии, необходимой для продуцирования АТФ.

[00083] В ходе экспериментов было подтверждено, что другие формы низкомолекулярного декстрана являются высокотоксичными, в то время как D40 оказался самым безопасным наиболее предпочтительным нейтральным полисахаридом. Использование D40 в определенном отношении, составляющем $<100\%$ к компоненту лекарственного средства, позволяет избежать создаваемых им неблагоприятных эффектов, таких как накопление в клетках и токсичность. Важно подчеркнуть, что в настоящем изобретении используется обычный декстран без химической модификации, без конъюгации или образования ковалентных связей.

[00084] В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения Декстран 40 улучшает микроциркуляцию посредством двух механизмов, а именно: снижение вязкости крови путем гемодилюции и ингибирование эритроцитарной агрегации. Декстран 40 также действует как ингибитор адгезии Т-лимфоцитов к эндотелиальным клеткам (ЭК). Декстран 40 ингибирует конститутивное и вызванное цитокинами связывание Т-клеток с ЭК, избирательно препятствуя кластеризации молекул адгезии на Т-клетках. Как предполагается, данный процесс играет решающую роль в индукции экстравазации лейкоцитов на периферию при воспалении.

[00085] В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения добавление одного или нескольких соединений на основе сахара осуществляется при необходимости и по усмотрению специалиста в данной области техники для улучшения кристаллической структуры и стабильности рецептуры в зависимости от технологии обработки, выбранной для получения конечной рецептуры.

[00086] Помимо нефротоксичности многоосновные лекарственные средства также ассоциируются с ототоксичностью. Однозначно установлено, что многоосновные

лекарственные средства, такие как гентамицин, амикацин, апрамицин, плазомицин и полимиксин В, Е, накапливаются в эпителиальных клетках улитки внутреннего уха посредством мегалина. Попадая внутрь клетки, лекарственное средство накапливается в лизосомах и эндоплазматическом ретикулуме, в которых оно связывается с кальретикулином, что приводит к повышению уровня неправильно свернутого белка в клетке.

[00087] После дальнейшего накопления многоосновное лекарственное средство высвобождается в цитозоль, что приводит к окислительному стрессу и апоптозу. Таким образом, с целью снижения полиорганной токсичности образующийся SMCC проявляет антиоксидантные свойства с целью снижения АФК и предотвращения апоптоза. Экспериментально доказано, что D40 образует супрамолекулярный катионный комплекс (SMCC) с аминокислотой и многоосновным лекарственным средством, проявляя указанные свойства.

[00088] В соответствии с одним из наиболее предпочтительных вариантов осуществления супрамолекулярный катионный комплекс образуется за счет физических взаимодействий, включающих электростатические взаимодействия, без конъюгации, образования ковалентной связи или мицеллообразования. На Фиг. 1-5 приведено четкое разграничение между обычной токсичностью, вызванной лекарственными средствами, и снижением токсичности, индуцированной рецептурами SMCC.

[00089] При восстановлении жизненных функций отказавшей почки требуется интегративно скорректировать гомеостаз между кислородом и реактивными видами кислорода и азота. Было проведено несколько экспериментальных терапевтических воздействий для подтверждения эффективности специфичных полисахаридов, в частности декстрана, в восстановлении микроциркуляторной оксигенации параллельно с повышением сопротивляемости окислительному стрессу и повышением эффективности источника энергии для продуцирования АТФ, необходимого для функционирования Na/КАТФ-азного насоса, с целью сохранения функции почек после септического острого повреждения почек (ОПП).

[00090] Декстран 40 является единственным декстраном, обладающим иммуномодулирующими свойствами и снижающим высвобождение оксида азота (~40%) клетками как при наличии, так и при присутствии липополисахаридов (LPS). Кроме того, декстран 40 является более активным, чем другие декстраны, при ингибировании перекисного окисления липидов (70%). Это указывает на то, что декстран с массой 40 кДа идеально подходит для антиоксидантного и иммуномодулирующего использования в настоящем изобретении.

[00091] Несмотря на множество полезных эффектов, обнаруженных на сегодняшний день, обеспечение полного понимания относительной пользы и потенциального негативного воздействия L-аргинина на метаболизм человека/животного представляет собой еще одну проблему в настоящем изобретении.

[00092] Некоторые из основных неблагоприятных эффектов L-аргинина включают развитие и/или ускоренный рост определенных злокачественных опухолей. Следовательно, оптимизация безопасной дозы для достижения гомеостаза является одним из ключевых изобретательских шагов настоящего изобретения. Настоящее изобретение, в частности, включает важный компонент, необходимый для регулирования уровня NO, вырабатываемого L-аргинином. Аргинин играет жизненно важную роль в конкурентном ингибировании с мегалином.

[00093] Таким образом, выбор удельного веса и молярных отношений, которые оказались менее токсичными в сочетании с другими компонентами, тщательно исследованы путем проведения серии экспериментов. В инновационном плане впервые аргинин, несмотря на то, что он заряжен одноименно с многоосновными лекарственными средствами, подвергается изменению заряда путем изменения значения pH с целью обеспечения образования комплекса. Таким образом, оптимизация концентрации становится неотъемлемой частью изобретательского уровня настоящего изобретения.

[00094] Следующая проблема, требующего своего решения, заключается в устранении основных серьезных побочных эффектов декстрана, включающих в том числе анафилаксию, объемную перегрузку, отек легких, отек головного мозга, дисфункцию тромбоцитов, гипотензию, шок и остановку сердца. Редким, но значительным осложнением осмотического эффекта декстрана является острая почечная недостаточность.

[00095] Таким образом, еще одним важным изобретательским шагом (уровнем) настоящего изобретения является выбор правильного молекулярного веса декстрана и последующая оптимизация его концентрации, которая может быть использована для достижения антиоксидантного эффекта при усилении микроциркуляции, осуществлении контроля за продуцированием NO и наряду с этим обеспечение источником энергии, необходимой для предотвращения ОПП и полиорганной токсичности.

[00096] В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения указанное соотношение аргинина и D40 составляет от 0,25:1 до 7,5:1.

[00097] В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения соотношение указанного катионного комплекса и макромолекулы составляет от 1:0,05 до 1:0,5 в SMCC.

[00098] В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения поддержание баланса заряда молекулярной массы является существенно необходимым для SMCC для достижения гомеостаза в организме и обеспечения стабильности композиций и полученных из них рецептур, по меньшей мере, до 24 месяцев (истечение срока годности).

[00099] Таким образом, основываясь на теории Флори-Хаггинса для члена энтропии и на теории Дебая-Хюккеля для члена электрического/электростатического взаимодействия, при $\sigma^3\gamma > 0,53$ (σ - плотность заряда / заряд на единицу площади и γ - молекулярный вес полимера), выполняется условие для возникновения комплексообразования, которое в настоящем изобретении составляет >53 , что подтверждает возможность образования комплекса.

[000100] Согласно еще одному из наиболее предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения важным фактором является соотношение каждого компонента в указанном комплексе. Соотношение крайне важно для достижения гомеостаза после введения комплекса нуждающемуся в нем субъекту. После серии экспериментов по проверке снижения токсичности у животных и после проверки наиболее оптимальной рецептуры для достижения максимального антиоксидантного эффекта было оптимизировано соотношение всех компонентов в SMCC.

[000101] В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения соотношение указанного катионного лекарственного средства к указанной катионной аминокислоте и к низкомолекулярному декстрану составляет от 1:0,1:0,1 до 1:3:1 в сформированном SMCC.

[000102] В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения отношение указанного катионного лекарственного средства к указанной катионной аминокислоте и к низкомолекулярному декстрану составляет от 1:0,1:0,2 до 1:3:0,75 в сформированном SMCC.

[000103] В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения из наиболее предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения указанное многоосновное/катионное лекарственное средство, используемое для изготовления SMCC композиции и получения рецептуры из нее, представляет собой полимиксин В и полимиксин Е или их фармацевтическую соль, которые электростатически скомбинированы с катионной аминокислотой L-аргинин посредством катион-р-взаимодействия, при одновременном включении сформированного катионного комплекса в низкомолекулярный декстран D40.

[000104] В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения из наиболее предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения указанное многоосновное/катионное лекарственное средство, используемое для изготовления композиции SMCC и получения рецептуры из нее, представляет собой амикацин и апрамицин или их фармацевтическую соль, которые электростатически скомбинированы с катионной аминокислотой L-аргинин путем изменения значения pH аргинина и одновременного включения сформированного катионного комплекса в низкомолекулярный декстран D40.

[000105] В соответствии с еще одним наиболее предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения для раннего распознавания острого повреждения почек используются такие биомаркеры, как молекула повреждения почек-1 (KIM-1) и цистатин-С. KIM-1 в высокой степени активируется в проксимальных тубулярных клетках после повреждения почек. Уровень цистатина С в сыворотке является более сильным прогностическим фактором почечной недостаточности и риска сердечно-сосудистой токсичности, чем уровень креатинина. На Фиг. 2 и Фиг. 3 четко видно, что при введении амикацина 400 мг/кг*3 раза в день в каждой из групп контроля, F57, апрамицина 500 мг/кг*3 раза в день в каждой из групп контроля, F175, полимиксина 7,5 мг/кг*3 раза в день в каждой из групп контроля и F30, колистина 12 мг/кг*3 раза в день в каждой из групп контроля и F108, во всех контрольных группах наблюдалось повреждение почек и отрицательная тенденция на графике для KIM-1 и цистатина-С, в то время как рецептуры по настоящему изобретению продемонстрировали положительную тенденцию на графике, что указывает на минимальное повреждение почек.

[000106] В соответствии с одним наиболее предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения различные рецептуры многоосновных лекарственных средств были оптимизированы для поддержания гомеостаза после введения с целью снижения полиорганной токсичности. На Фиг. 4 и Фиг. 5 приведено сравнение с эталонными лекарственными средствами. В процессе эксперимента различным группам крыс вводили несколько тестируемых рецептов в соответствующей дозировке три раза в день и контрольные лекарственные средства (зарегистрированный для продажи эталонный препарат) в течение 2 дней. У животных из каждой группы брали пробы до и после введения лекарственного средства. Биохимические параметры азота мочевины крови и креатинина в плазме/сыворотке измеряли для проверки функции почек. Было обнаружено, что лекарственное средство F-30 - полимиксин В, F-108 - колистин, F-57 - амикацин и F-175 - апрамицин в меньшей степени влияли / никоим образом не влияли на биохимические уровни сыворотки крови, в то время как зарегистрированные для продажи

рецептуры приводили к значительному повышению биохимических уровней при аналогичных величинах дозы, что указывает на значительное повреждение почек в контрольных группах с использованием всех многоосновных лекарственных средств.

[000107] В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения добавление любого из лизина/гистидина с аргинином приводило к увеличению токсичности. Незначительное отклонение потенциала нейтрализации заряда приводит к повышению токсичности по сравнению с наилучшим соотношением, оптимизированным в соответствии с настоящим изобретением. В результате серии экспериментов изобретатель пришел к выводу, что снижение токсичности значительно меньше при любой иной комбинации или при ином соотношении, либо при замене аргинина другими катионными аминокислотами, чем при соотношении, оптимизированном по настоящему изобретению.

[000108] В соответствии с другим предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения соотношение указанного лекарственного средства и указанной макромолекулы в SMCC составляет от 1:0,1 до 1:1. В данном случае важно отметить, что удаление любого компонента из указанного комплекса приводит к повышению токсичности, в частности, удаление D40 или снижение концентрации лекарственного средства более одной десятой процента приводит даже к еще более высокой токсичности, чем исходное лекарственное средство, по всей видимости, вследствие того, что концентрация ниже указанной не обеспечивает поддержание баланса оксида азота и достижение достаточного антиоксидантного эффекта, и при этом результирующая токсичность лекарственного средства усиливается еще в большей степени вследствие вызванной аргинином высокой токсичности. Был проведен эксперимент по исследованию уровня нитротирозина в крови крыс в сравнении с контролем и выбранными рецептурами по настоящему изобретению. В контрольной группе наблюдалось повышение уровня нитротирозина, свидетельствующее о нитрозативном стрессе, при этом происходило значительное снижение уровня при использовании композиций по настоящему изобретению и полученных на их основе рецептур.

[000109] В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения концентрация D40, превышающая концентрацию лекарственного средства, не позволяют сформировать комплекс осуществимым при составлении рецептуры, в результате чего образованный таким образом комплекс является нестабильным. Замена D40 на декстран 20KDa или декстран 60KDa приводила к исключительно высокому уровню смертности. Повторные эксперименты доказали, что из всех декстранов D40 является наиболее безопасным для снижения токсичности.

[000110] В соответствии с еще одним из предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения указанный супрамолекулярный комплекс образуется путем изменения значения рН аргинина вследствие его цвиттер-ионной природы с целью обеспечения формирования катионного комплекса.

[000111] В соответствии с другими предпочтительными вариантами осуществления настоящего изобретения альтернативно указанный супрамолекулярный комплекс образуется посредством катион- π -взаимодействия.

[000112] В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения отношение указанной катионной аминокислоты аргинина к указанной макромолекуле варьируется в зависимости от характера связывания. В случае полимиксинового лекарственного средства при катион- π -взаимодействии указанное соотношение аргинина и D40 в полимиксиновых многоосновных лекарственных композициях и изготовленных из них рецептурах составляет от 7,5:1 до 2,5:1.

[000113] В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения в аминогликозидах, в которых заряд аргинина изменяют путем изменения значения рН вследствие его цвиттер-ионной природы перед связыванием с лекарственным средством, соотношение аргинина и D40 составляет от 0,25:1 до 1:1. Увеличение количества аргинина, превышающее количество декстрана в таких рецептурах, приводит к резкому увеличению нитрозативного и окислительного стресса, что в свою очередь приводит к повышению токсичности.

[000114] В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения указанный комплекс вводят нуждающемуся в нем субъекту парентеральным путем, и указанный субъект предпочтительно является млекопитающим.

[000115] В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения указанное многоосновное/катионное лекарственное средство, используемое для изготовления композиции SMCC и полученной из нее рецептуры, представляет собой полимиксин В или его фармацевтическую соль, которые электростатически скомбинированы с катионной аминокислотой L-аргинин вместе с низкомолекулярным декстраном D40 в следующем диапазоне отношений: указанное лекарственное средство:катионная аминокислота:декстран - от 1:1,4:0,2 до 1:2,5:0,5.

[000116] В соответствии с другим предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения указанное многоосновное/катионное лекарственное средство, используемое для изготовления композиции SMCC и полученной из нее рецептуры, представляет собой полимиксин Е или его фармацевтическую соль, которые электростатически комбинируют с катионной аминокислотой L-аргинин вместе с

низкомолекулярным декстраном D40, обеспечивающим каркас для физического захвата, и в следующем диапазоне отношений: указанное лекарственное средство:катионная аминокислота:декстран - от 1:0,5:0,1 до 1:2:0,25.

[000117] В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения указанное многоосновное/катионное лекарственное средство, используемое для изготовления композиции SMCC и полученной из нее рецептуры, представляет собой амикацин или его фармацевтическую соль, которые электростатически комбинируют с L-аргинином вместе с D40 в следующем диапазоне отношений: указанное лекарственное средство:катионная аминокислота:декстран - от 1:0,2:0,3 до 1:0,5:0,75.

[000118] В соответствии с другим предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения указанное многоосновное/катионное лекарственное средство, используемое для изготовления композиции SMCC и полученной из нее рецептуры, представляет собой апрамицин или его фармацевтическую соль, скомбинированные с L-аргинином вместе с D40 в следующем диапазоне отношений: указанное лекарственное средство:катионная аминокислота:декстран - от 1:0,1:0,2 до 1:0,5:0,75.

[000119] В соответствии с другими предпочтительными вариантами осуществления настоящего изобретения, в которых указанный супрамолекулярный катионный комплекс поддерживает гомеостаз при его парентеральном введении млекопитающим с целью снижения полиорганной токсичности без нарушения кинетики индивидуального лекарственного средства, указанные композиции комбинируют в виде жидкого или лиофилизированной рецептуры.

[000120] Следующие примеры приведены для иллюстрации настоящего изобретения. Однако следует понимать, что изобретение не ограничивается конкретными условиями или деталями, описанными в данных примерах:

[000121] Пример 1- исследования по оптимизации рецептур SMCC

№ рецептуры	Примеры рецептур, отражающие соотношения							
	Наименование лекарственного средства				Катионная аминокислота		Полисахарид	
	Поли В	Колистин	Амикацин	Апрамицин	Аргинин	Лизин	D20	D40
F14	1	-	-	-	-	1.01	-	0.03
F15	1	-	-	-	1.09	-	-	-
F16	1	-	-	-	1.2	1.18	-	-
F29	1	-	-	-	-	-	-	0.16
F28	1	-	-	-	-	1.2	-	-
F25	1	-	-	-	1.26	-	-	0.18
F26	1	-	-	-	1.4	-	-	0.2
F30	1	-	-	-	1.48	-	-	0.27
F33	1	-	-	-	2.5	-	-	0.5
F51	-	-	1	-	0.12	1.12	-	-
F52	-	-	1	-	0.14	-	0.22	-
F53	-	-	1	-	0.14	-	-	0.26
F55	-	-	1	-		0.16	-	0.29
F56	-	-	1	-	0.2	-	-	0.3
F57	-	-	1	-	0.25	-	-	0.32
F75	-	-	1	-	0.5	-	-	0.75
F78	-	-	1	-	0.1	-	-	1
F101	-	1	-	-	0.15	0.09	-	0.04
F103	-	1	-	-	0.21	-	-	0.05
F104	-	1	-	-	0.26	0.12	-	0.05
F105	-	1	-	-	0.41	-	-	-
F107	-	1	-	-	0.5	-	-	0.1
F108	-	1	-	-	0.66	-	-	0.15
F111	-	1	-	-	3	-	-	0.5
F152	-	-	-	1	0.01	-	-	-
F155	-	-	-	1	-	0.11	-	0.09
F160	-	-	-	1	0.05	-	-	0.13
F171	-	-	-	1	0.06	1.2	0.01	-
F172	-	-	-	1	0.09	-	-	0.19
F174	-	-	-	1	0.1	-	-	0.2
F175	-	-	-	1	0.22	-	-	0.29
F187	-	-	-	1	0.5	-	-	0.75
F189	-	-	-	1	0.85	-	-	1

[000122] Пример-2 Сравнительные исследования маркеров окислительного стресса в плазме крови в модели крысы с использованием эталонных лекарственных средств и рецептур по настоящему изобретению

Сравнительный потенциал антиоксидантов

	Активность каталазы (МЕ/мг белка)			Активность супероксиддисмутазы (SOD) (МЕ/мг белка)			Антиоксидантный тест по железо-восстанавливающей активности (ммоль Fe++) (FRAP)			Нитротирозин (нг/мл)		
	Средние значения		% изме- нения	Средние значения		% изме- нения	Средние значения		% изме- нения	Средние значения		% изме- нения
	Исходный уровень	День 2		Исходный уровень	День 2		Исходный уровень	День 2		Исходный уровень	День 2	
Группы лекарственных средств												
Амикацин (400 мг/кг*3 раза) контроль	0.61	0.55	-9.6	2.96	2.45	-17.4	36.52	29.78	-18.46	12.53	28.84	130.17
Амикацин (400 мг/кг*3 раза) F-57	0.58	1.04	80.18	2.57	2.59	0.49	34.12	39.14	14.71	12.42	12.34	-0.64
Апрамицин (500 мг/кг*3 раза) контроль	0.72	0.67	-6.94	2.65	1.36	-48.68	34.42	15.86	-53.92	12.84	29.85	132.48
Апрамицин (500 мг/кг*3 раза) F175	0.65	0.89	36.92	2.49	3.56	42.97	35.14	38.85	10.56	13.01	13.12	0.85
Полимиксин (7,5 мг/кг*3 раза) контроль	0.8	0.54	-32.02	2.85	2.04	-28.54	34.18	10.76	68.52	13.12	32.43	147.18
Полимиксин (7,5 мг/кг*3 раза) F30	0.6	0.8	33.14	2.37	3.41	44.16	35.44	41.94	18.34	12.91	11.5	-10.92
Колистин (12 мг/кг*3 раза) контроль	0.59	0.22	-62.49	2.69	2.27	-15.99	33.88	22.45	-33.74	13.31	37.3	180.24
Колистин (12 мг/кг*3 раза) F108	0.49	0.79	58.89	2.4	3.47	44.49	32.56	38.63	18.64	13.45	12.2	-9.29

[000123] В соответствии с вышеуказанным исследованием проводили оценку антиоксидантного потенциала каждой рецептуры в сыворотке крови крыс, использованных для проведения оценочного исследования нефротоксичности. Изменения антиоксидантных параметров, таких как активность каталазы, активность СОД (супероксиддисмутазы) и антиоксидантный тест по железо-восстанавливающей активности (FRAP) в сыворотке крови, оценивали с помощью хорошо зарекомендовавшей себя общепринятой методики и сравнивали с группами эталонных лекарственных средств. После введения доз каждого лекарственного средства три раза в день (эталонное лекарственное средство/зарегистрированная для продажи рецептура) результаты % изменения наблюдались отрицательными, что свидетельствует о повышении окислительного стресса. В группах рецептур по настоящему изобретению в отношении каждого протестированного лекарственного средства наблюдалось значительное снижение окислительного стресса, представленное положительным процентным

изменением, что указывает на антиоксидантную способность лекарственного средства, обеспечивающую снижение токсичности. Тест на нитротирозин указывает на повышение нитрозативного стресса при введении всех контрольных групп лекарственных средств и на резкое снижение до <1 или до отрицательных значений с использованием рецептур по настоящему изобретению, что указывает на роль гомеостаза, поддерживаемого компонентами композиций по настоящему изобретению.

[000124] Пример 3: Сравнительное исследование антиоксидантной активности групп контрольных лекарственных средств и рецептур с аргинином и декстраном и без них

		Анализ общей эквивалентной антиоксидантной способности	Анализ захвата супероксидных радикалов	Захват радикалов перекиси водорода	Анализ восстановительной способности
% ингибирования при окислительном стрессе					
Название рецептуры	Тип				
Полимиксин	Контроль	29.34	26.32	25.34	19.21
F30	Конечная рецептура	67.38	71.25	68.54	59.54
	Без аргинина	40.54	38.54	32.34	27.54
	Без декстрана	44.54	46.52	55.84	49.21
Колистин	Контроль	26.28	28.65	24.6	20.31
F108	Конечная рецептура	69.67	70.38	66.54	55.32
	Без аргинина	38.64	36.29	30.94	25.64
	Без декстрана	42.34	44.68	51.85	46.21
Амикацин	Контроль	25.54	23.52	22.85	18.59
F57	Конечная рецептура	65.21	66.54	67.54	62.54
	Без аргинина	43.86	40.84	48.27	45.21
	Без декстрана	37.01	34.54	36.84	23.54
Апрамицин	Контроль	27.84	27.38	26.76	17.54
F175	Конечная рецептура	66.64	70.64	64.21	58.29
	Без аргинина	40.95	41.54	51.64	45.31
	Без декстрана	34.85	35.95	29.64	27.54

[000125] В рамках вышеуказанного исследования был проведен эксперимент *in vitro* для проверки антиоксидантного потенциала каждой рецептуры по настоящему изобретению с аргинином и декстраном и без них и сравнение с эталонными продуктами. Параметры тестирования включали анализ общей эквивалентной антиоксидантной способности (ТЕАС), захвата супероксидных анион-радикалов, захвата радикалов перекиси водорода и анализ восстановительной способности. Результаты показали, что F-30, F-108, F-57 и F-175 обладали значительно более высокой активностью по сравнению с контролем. При сравнении рецептур без аргинина антиоксидантный потенциал все еще был выше, чем контроль в аминокликозидах. При сравнении рецептур без декстрана антиоксидантный потенциал был значительно выше контроля в группах полимиксинов, и это указывает на то, что конечные рецептуры с заданным отношением каждого вспомогательного вещества обладали наиболее высоким антиоксидантным потенциалом. Результаты указанного эксперимента однозначно продемонстрировали, что без аргинина или без декстрана имело место значительно большее образование свободных радикалов, что указывает на важную роль каждого ингредиента в поддержании гомеостаза.

ОСНОВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[000126] Настоящее изобретение предусматривает создание новых композиций и рецептур антибактериальных лекарственных средств с целью снижения полиорганной токсичности.

[000127] Настоящее изобретение предусматривает создание супрамолекулярных катионных комплексных композиций и рецептур из одноименно заряженных молекул без химического сшивания или образования ковалентной связи.

[000128] В настоящем изобретении предложена оптимизация концентрации каждого соединения в заранее определенном соотношении для достижения максимального эффекта и гомеостаза после введения лекарственного средства, что позволяет достичь минимальной или пониженной токсичности.

[000129] Настоящее изобретение предусматривает создание композиций для образования супрамолекулярных катионных комплексов с исключительно избирательным выбором катионного соединения и макромолекулы для одновременного нацеливания на несколько механизмов таким образом, чтобы обеспечивалось достижение практически идеального равновесия *in vivo*.

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

согласно статье 19 РСТ

1. Композиции и рецептуры многоосновных лекарственных средств, предназначенные для снижения полиорганной токсичности у млекопитающих, путем формирования супрамолекулярного катионного комплекса без химического сшивания и образования ковалентной связи, при этом указанный комплекс включает:

(а) многоосновное/катионное лекарственное средство, выбранное из антибиотиков группы аминогликозидов или полимиксинов;

(b) катионное соединение, выбранное из группы этоксилированных аминов, четвертичных аммониевых соединений и аминокислот;

при этом указанная аминокислота выбрана из L-аргинина, L-лизина и гистидина;

(с) макромолекулу для каркасной основы;

при этом указанная макромолекула выбрана из группы природных полисахаридов, таких как декстран, полисиаловая кислота, пуллуланы, декстрин, гиалуроновая кислота, хитозан и гепарин,

при этом указанная макромолекула представляет собой низкомолекулярный декстран без химической модификации;

при этом указанный комплекс сформирован в результате катионных электростатических взаимодействий в заданном зарядово-молекулярно-массовом отношении; при этом отношение указанного катионного лекарственного средства:катионной аминокислоты:низкомолекулярного декстрана составляет от 1:0,1:0,1 до 1:3:1;

(d) при этом указанный комплекс вводят нуждающемуся в нем субъекту парентеральным путем.

2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанная катионная аминокислота представляет собой L-аргинин.

3. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный низкомолекулярный декстран представляет собой декстран 40KDa.

4. Композиции по п. 1 и полученные из них рецептуры, отличающиеся тем, что указанный супрамолекулярный катионный комплекс формируют за счет физических связей, обусловленных электростатическими взаимодействиями, без конъюгации, ковалентной связи или мицеллообразования при этом отношение указанного лекарственного средства к указанной макромолекуле составляет от 1:0,1 до 1:1;

при этом отношение указанного аргинина к указанному лекарственному средству составляет от 0,1:1 до 3:1;

при этом указанный супрамолекулярный катионный комплекс поддерживает гомеостаз при парентеральном введении млекопитающим с целью снижения полиорганной токсичности.

5. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что катионное лекарственное средство представляет собой полимиксин В или его фармацевтическую соль, которые электростатически связаны с катионно-аминокислотным L-аргинином в сочетании с низкомолекулярным декстраном D40, обеспечивающим каркас для физического захвата; при этом соотношение указанного лекарственного средства:катионной аминокислоты:декстрана составляет от 1:1,4:0,2 до 1:2,5:0,5.

6. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что катионное лекарственное средство представляет собой полимиксин Е или его фармацевтическую соль, которые электростатически связаны с катионно-аминокислотным L-аргинином в сочетании с низкомолекулярным декстраном D40, обеспечивающим каркас для физического захвата; при этом отношение указанного лекарственного средства:катионной аминокислоты:декстрана составляет от 1:0,5:0,1 до 1:2:0,25.

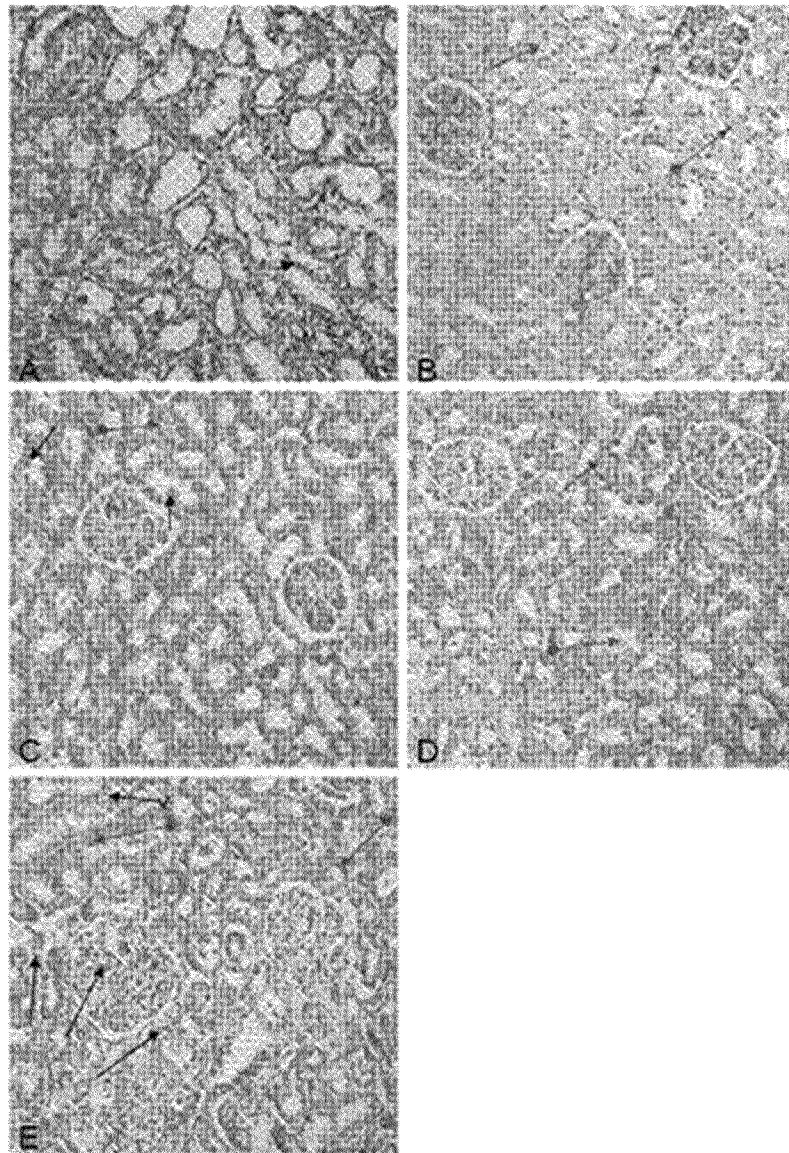
7. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что катионное лекарственное средство представляет собой амикацин или его фармацевтическую соль, которые электростатически связаны с катионно-аминокислотным L-аргинином в сочетании с низкомолекулярным декстраном D40, обеспечивающим каркас для физического захвата; при этом отношение указанного лекарственного средства:катионной аминокислоты:декстрана составляет от 1:0,2:0,3 до 1:0,5:0,75.

8. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что катионное лекарственное средство представляет собой апрамицин или его фармацевтическую соль, которые электростатически связаны с катионно-аминокислотным L-аргинином в сочетании с низкомолекулярным декстраном D40, обеспечивающим каркас для физического захвата; при этом отношение указанного лекарственного средства:катионной аминокислоты:декстрана составляет от 1:0,1:0,2 до 1:0,5:0,75.

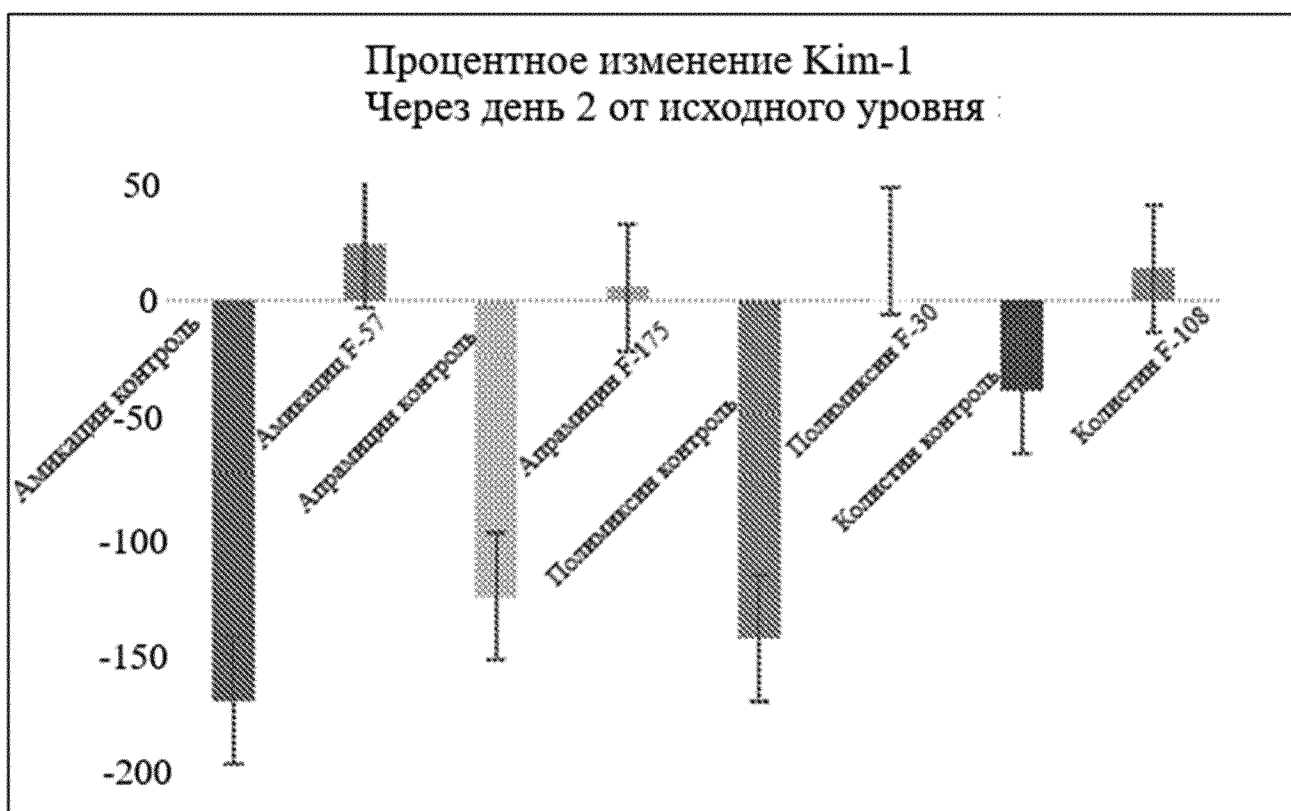
9. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный супрамолекулярный комплекс формируют путем изменения значения pH аргинина при одновременном образовании комплекса;

при этом отношение указанной катионной аминокислоты к указанной макромолекуле при образовании супрамолекулярного катионного комплекса аминогликозидных антибактериальных лекарственных средств составляет от 0,25:1 до 1:1.

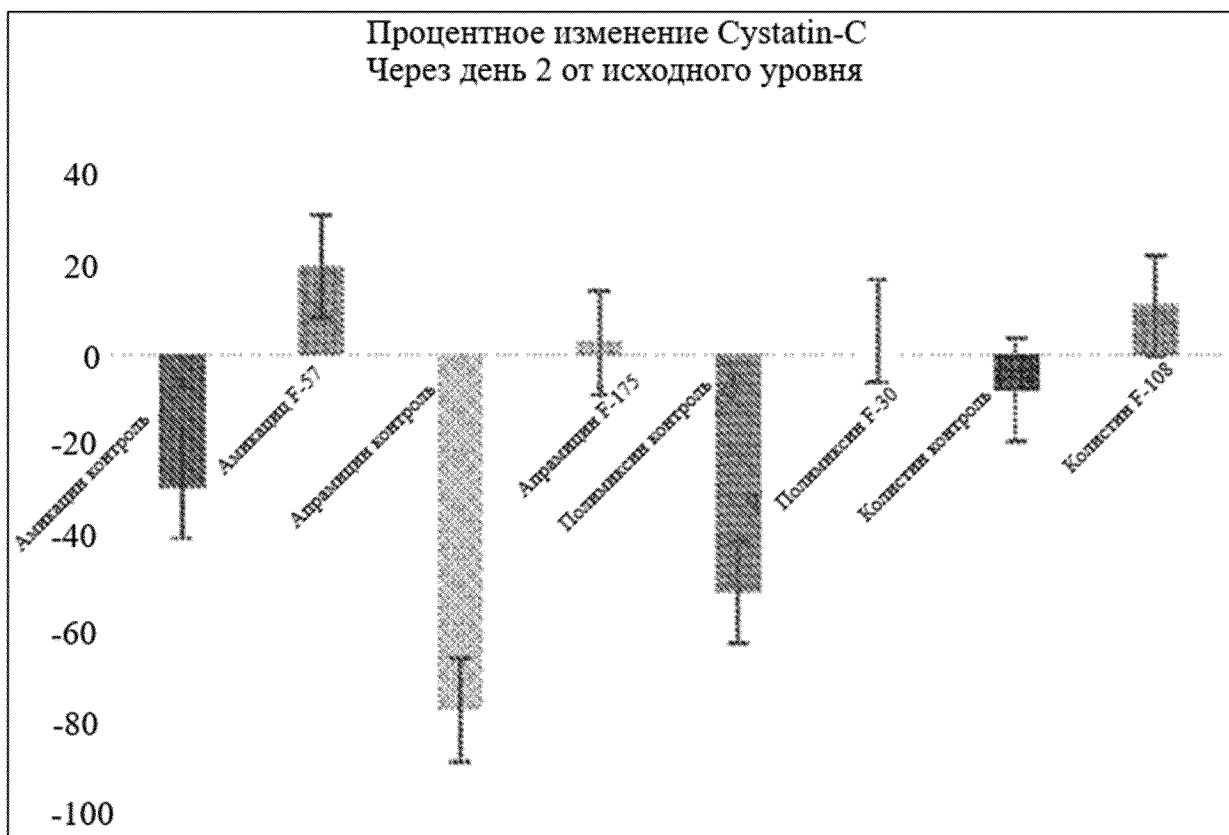
10. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что супрамолекулярный комплекс формируют посредством катион- π -взаимодействия; при этом отношение катионной аминокислоты к макромолекуле в супрамолекулярном катионном комплексном образовании антибактериальных лекарственных средств полимиксина составляет от 7,5:1 до 2,5:1.



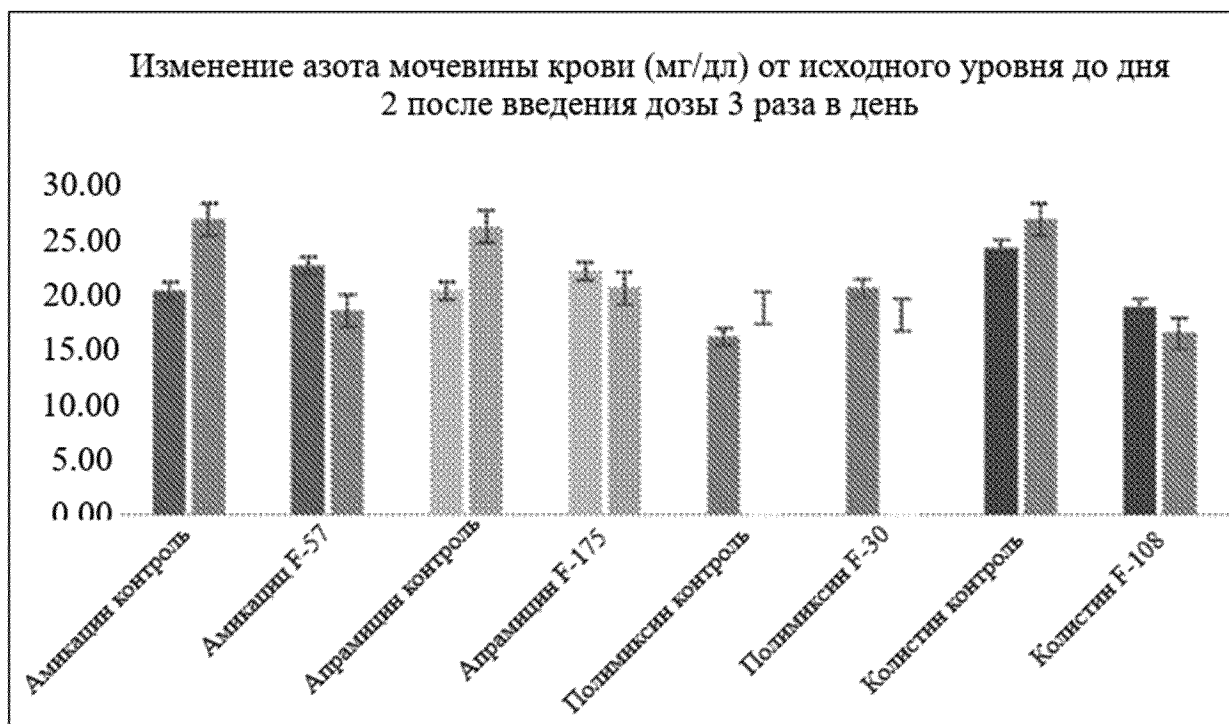
Фиг. 1



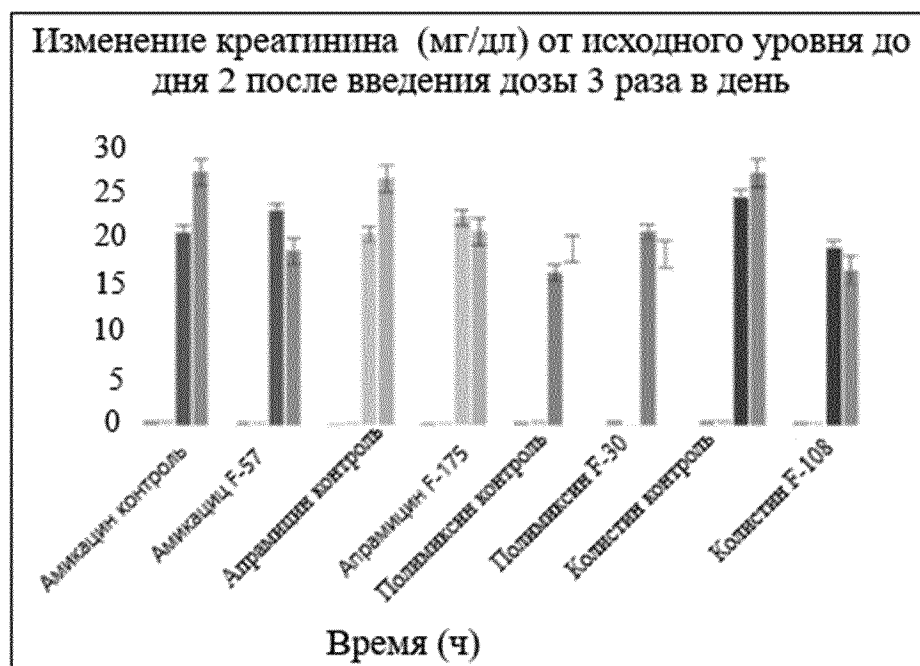
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5