

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21)

202390280

(13)

A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.03.15

(22) Дата подачи заявки
2021.06.23

(51) Int. Cl. *A61K 35/618* (2015.01)
A61K 38/08 (2019.01)
A61K 38/10 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01)
A61K 9/107 (2006.01)
A61K 9/12 (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61K 38/04 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИТИЛИГО

(31) 20382617.7

(32) 2020.07.09

(33) EP

(86) PCT/EP2021/067203

(87) WO 2022/008251 2022.01.13

(71) Заявитель:
БЕЛЛА АВРОРА ЛАБС, С.А. (ES);
БОРДИНЬОН МАТТЕО (IT)

(72) Изобретатель:

Бординьон Маттео (IT), Эрнандес
Наварро Серхи, Сегура Техедор Хорди
(ES)

(74) Представитель:

Махлина М.Г. (RU)

(57) Изобретение относится к фармацевтической композиции для лечения витилиго, включающей комбинацию пептида-ингибитора белка с меланом-ингибирующей активностью (MIA), и секрета улитки. Изобретение также относится к набору, включающему данную композицию и пищевую добавку, содержащую антиоксидант. Изобретение также относится к применению композиции или набора, включающего такую композицию, для профилактики и/или лечения витилиго.

A1

202390280

202390280

A1

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИТИЛИГО

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции для лечения и/или профилактики витилиго.

Уровень техники

Витилиго - это приобретенное заболевание кожи, характеризующееся гипопигментированными или депигментированными участками, распространенность которого среди населения мира составляет от 0,5% до 2%.

Несегментарное витилиго (НСВ) является наиболее распространенной клинической формой заболевания, при которой участки депигментации обычно двусторонние и имеют определенную симметрию.

Чаще всего витилиго поражает лицо, кисти рук, дорсальную часть кистей, сгибатели запястий, локти, колени, голени, дорсальную часть лодыжек, подмышки, паховую область, аногенитальную область, пупок и соски.

Патологическим признаком витилиго является потеря эпидермальных меланоцитов, однако этиология заболевания многофакторна и до сих пор плохо изучена. Например, среди факторов, которые могут способствовать развитию несегментарного витилиго, - иммунологические факторы, окислительный стресс или симпатические нейрогенные нарушения. С другой стороны, считается, что существует и генетическая предрасположенность к этому заболеванию (Taïeb et al., Vitiligo, N. Engl. J. Med., 2009, 360, 160-169).

Среди предлагаемых на сегодняшний день медикаментозных способов лечения можно назвать, например, топические кортикостероиды, топические макролидные иммуномодуляторы, а именно ингибиторы кальциневрина такролимус и пимекролимус, аналоги витамина D3 и антиоксиданты. С другой стороны, наиболее используемым способом немедикаментозного лечения является ультрафиолетовое излучение, как в диапазоне УФ-А, так и УФ-В (Guerra et al., Vitiligo: pathogenetic hypotheses and targets for current therapies, Current Drug Metabolism, 2010, 11, 451-467).

Эти доступные способы лечения малоэффективны, а некоторые из них могут быть связаны с определенным риском побочных эффектов.

Совсем недавно было также высказано предположение об участии белка MIA (с «меланома-ингибирующей активностью») в патогенезе несегментарного витилиго на

основании того, что, в отличие от нормальных меланоцитов, белок MIA экспрессируется в витилигинозной коже и может вызывать отслойку меланоцитов (меланоцитоторрагию) вследствие взаимодействия с альфа-5/бета-1 интегрином, тем самым нарушая нормальное прикрепление меланоцитов к базальной мембране (Bordignon et al., Role of alpha5beta1 integrin and MIA (melanoma inhibitory activity) in the pathogenesis of vitiligo, J. Dermatol. Sci., 2013, 71(2), 142-5). На мышинной модели in vivo было подтверждено, что инъекция MIA в хвост животных вызывала витилигоподобную депигментацию в зоне инъекции (Bordignon et al., MIA (melanoma inhibitory activity) is able to induce vitiligo in an in-vivo mice model by direct injection in the tail, Vitiligo International Symposium 2016, Meeting Abstracts).

Поэтому MIA предлагается в качестве мишени в терапии витилиго, и в международной патентной заявке WO-A-2012/127352 ряд пептидов и производных пептидов, которые регулируют рост MIA, предлагаются для профилактики и лечения витилиго по механизму, включающему связывание ингибиторов с MIA и, таким образом, исключая взаимодействие MIA с альфа-5/бета-1 интегринами, являющееся причиной меланоцитоторрагии.

Примечательно, однако, что в документе WO-A-2012/127352 не приводится ни одного рабочего примера, демонстрирующего эффективность этих веществ для лечения витилиго, и, фактически, в нем нет никаких намеков на подходящие способы или композиции для применения этих ингибиторов MIA для эффективного лечения витилиго.

Таким образом, все еще существует необходимость в создании эффективных и безопасных композиций для лечения и профилактики витилиго.

Объект изобретения

Объектом настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, включающая ингибитор MIA и секрет улитки.

Другим аспектом настоящего изобретения является набор, включающий фармацевтическую композицию по изобретению и пищевую добавку, включающую антиоксидант.

Еще одним аспектом изобретения является такая композиция или указанный набор для применения в профилактике и/или лечении витилиго.

Описание чертежей

На фиг. 1 показаны три иллюстративных примера для проверки эффективности трех различных композиций у одного пациента для целей сравнения.

На фиг. 2 показана фотография одного из пациентов, участвующих в исследовании, описанном в примере 4, до и после лечения, где левая сторона лица была обработана композицией А, а правая сторона лица была обработана композицией В.

На фиг. 3 показана фотография одного из пациентов, участвующих в исследовании, описанном в примере 4, до и после лечения, который был обработан композицией С.

Подробное описание изобретения

Объектом настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, включающая:

белок-ингибитор МІА, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 49, или его производное;

секрет улитки; и

по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Авторы настоящего изобретения разработали фармацевтическую композицию, включающую комбинацию пептида, ингибирующего МІА, и секрет улитки, которая, неожиданно, в отличие от средств, известных на сегодняшний день из уровня техники, является исключительно эффективной для лечения витилиго.

В настоящем описании, так же как и в формуле изобретения, выражения единственного числа, которым обычно предшествуют артикли "a", "an" или "the", подразумевают также формы множественного числа, если контекст явно не указывает на иное. Все проценты выражены по весу, если специально не указано иное. Числовые значения, которым предшествует термин "около", означают, что они включают также определенный разброс вокруг такого значения, а именно разброс или $\pm 5\%$ от указанного количества. Числовые диапазоны, определенные нижней и верхней конечными точками, включают также указанные конечные точки, а также любой более узкий поддиапазон.

Аминокислоты представлены здесь с использованием однобуквенного кода, как известно специалистам в данной области, в соответствии с Комиссией IUPAC-IUB по биохимической номенклатуре, как описано в книге Biochemical Nomenclature and Related Documents, 2-е издание, Portland Press, 1992, Лондон [ISBN 1-85578-005-4].

Пептид-ингибитор МІА

Одним из компонентов композиции по изобретению является вещество, обладающее ингибирующей активностью в отношении белка человека с меланома-ингибирующей активностью (МІА), в частности, раскрытого в международной патентной заявке WO-

A-2012/127352, а именно пептид, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 49:

- SEQ ID NO: 01 VPHIPPN
- SEQ ID NO: 02 MPPTQVS
- SEQ ID NO: 03 QMHPWPP
- SEQ ID NO: 04 QPPFWQF
- SEQ ID NO: 05 TPPQGLA
- SEQ ID NO: 06 IPPYNTL
- SEQ ID NO: 07 AVRPAPL
- SEQ ID NO: 08 GAKPHPQ
- SEQ ID NO: 09 QQLSPLP
- SEQ ID NO: 10 GPPPSPV
- SEQ ID NO: 11 LPLTPLP
- SEQ ID NO: 12 QLNVNHQARADQ
- SEQ ID NO: 13 TSASTRPELHYP
- SEQ ID NO: 14 TFLPHQMHPWPP
- SEQ ID NO: 15 VPHIPPNSMALT
- SEQ ID NO: 16 RLTLVLIMPAP
- SEQ ID NO: 17 YNLPKVSSNLSP
- SEQ ID NO: 18 MPPTQVSKFRLI
- SEQ ID NO: 19 ANIDATPLFLRA
- SEQ ID NO: 20 LLRTTETLPMFL
- SEQ ID NO: 21 SALEPLV
- SEQ ID NO: 22 GSPTPNA
- SEQ ID NO: 23 APSHATH
- SEQ ID NO: 24 TTVGHSD
- SEQ ID NO: 25 THFSTFT
- SEQ ID NO: 26 SLLDTS
- SEQ ID NO: 27 SVAMKAHKPLLP
- SEQ ID NO: 28 NTIPGFASKSLD
- SEQ ID NO: 29 VSNYKFYSTTSS
- SEQ ID NO: 30 VSRHQSWHPHDL
- SEQ ID NO: 31 HLNILSTLWKYR

- SEQ ID NO: 32 HNASPSWGSPVM
- SEQ ID NO: 33 SHPWNAQRELSV
- SEQ ID NO: 34 HHWPFWRTLPLS
- SEQ ID NO: 35 WHTKFLPRYLPS
- SEQ ID NO: 36 NNTSFTVVPSVP
- SEQ ID NO: 37 SHLSTWKWWQNR
- SEQ ID NO: 38 FHWHPRLWPLPS
- SEQ ID NO: 39 WHWTYGWRPPAM
- SEQ ID NO: 40 FHWRYPPLPLPGQ
- SEQ ID NO: 41 WHWPLFIPNTTA
- SEQ ID NO: 42 WHNGIWWHYGVR
- SEQ ID NO: 43 HHLNYLWPWTRV
- SEQ ID NO: 44 FWHRWSTFPEQP
- SEQ ID NO: 45 WHMSYFWTRPPQ
- SEQ ID NO: 46 FHLNWPSRADYL
- SEQ ID NO: 47 WHKNTNWPWRTL
- SEQ ID NO: 48 ALSPSQSHPVRS
- SEQ ID NO: 49 GTQSTAIPAPTD

или его производное.

В одном варианте осуществления изобретения пептид-ингибитор MIA имеет последовательность, выбранную из SEQ ID NO 12-20 и 27-49, предпочтительно выбранную из SEQ ID NO 34, 37, 39-43 и 45-47.

В одном варианте осуществления изобретения пептид-ингибитор MIA имеет последовательность, выбранную из SEQ ID NO 34, 38, 40 и 41.

Предпочтительно пептид-ингибитор MIA имеет последовательность SEQ ID NO: 40; или является его производным.

Производное пептида, имеющего последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 49, означает пептид с небольшими вариациями вокруг этих последовательностей, сохраняющий ингибирующую активность MIA. Примеры подходящих вариаций описаны ниже.

Одним подходящим производным является пептид, содержащий одну из вышеуказанных последовательностей, в которой присутствует одна дополнительная аминокислота или удалена одна аминокислота.

Другим подходящим производным является пептид, в котором одна или более аминокислот последовательности заменены другой природной или неприродной аминокислотой, предпочтительно не более 3 аминокислот последовательности заменены, более предпочтительно не более 2 аминокислот, и более предпочтительно только одна аминокислота заменена другой природной или неприродной аминокислотой.

Природные аминокислоты, как известно из уровня техники, представляют собой те 20 аминокислот, которые обычно встречаются в природных белках и пептидах.

Также, как известно из уровня техники, искусственные (или ненатуральные, или необычные) аминокислоты основаны на натуральных аминокислотах, но в которых один или более атомов замещены функциональными группами, включающими до 50 атомов, выбранных из C, H, N, S, O, P, F, Cl, Br, I и Se. Подходящими, не ограничивающими примерами таких аминокислот искусственного происхождения являются транс-3-метилпролин, 2,4-метанопролин, цис-4-гидроксипролин, транс-4-гидроксипролин, N-метилглицин, алло-треонин, N-метилтреонин, гидроксиэтилцистеин, гидроксиэтилгомоцистеин, нитроглутамин, гомоглутамин, пипеколевая кислота, трет-лейцин, норвалин, 2-азафенилаланин, 3-азафенилаланин, 4-азафенилаланин и 4-фторфенилаланин. Из уровня техники известно несколько способов включения не встречающихся в природе аминокислотных остатков в пептиды или белки.

Другими подходящими производными являются пептиды последовательностей с 1 по 49, включая также пептиды с аминокислотными добавлениями/удалениями или заменами, как обсуждалось выше, где по крайней мере одна аминокислота модифицирована, т.е. к ней добавлено дополнительное соединение или функциональная группа. Такие модификации могут быть направлены на улучшение стабильности, растворимости и/или проникновения пептида в кожу. Подходящие модификации могут быть выбраны из гликозилирования, ацетилирования (например, N-концевого), амидирования (например, C-концевого), гидроксирования (например, гидроксипролина), карбоксилирования (например, гамма-карбоксиглутамата), фосфорилирования, алкилирования, N-концевого липидирования (т. е, добавление насыщенных или ненасыщенных жирных кислот C₁₂-C₁₈, таких как миристиновая или пальмитиновая, на N-конце через амидную связь) или пренилирование. Общими модификациями пептидных последовательностей являются ацетилирование N-конца и амидирование C-конца. Амидирование C-конца включает образование терминальных амидогрупп формулы -CONH₂, -CONHR или -CONR₂, где R обычно представляет собой

короткую (например, C₁-C₄) алкильную группу. Простейшей и наиболее распространенной С-концевой амидогруппой является -CO-NH₂.

В одном из вариантов осуществления изобретения пептидное производное ингибитора MIA представляет собой пептид, который ацетилован по N-концу и/или амидирован по С-концу, предпочтительно ацетилован по N-концу и амидирован по С-концу.

В особенно предпочтительном воплощении ингибитор MIA представляет собой пептид:

- выбранный из SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 49, предпочтительно выбранный из SEQ ID NO 12-20 и 27-49, более предпочтительно выбранный из SEQ ID NO 34, 37, 39-43 и 45-47 или из SEQ ID NO 34, 38, 40 и 41, и еще более предпочтительно пептид SEQ ID NO: 40; и где необязательно

- по меньшей мере одна аминокислота последовательности модифицирована, и где способ модификации выбран из гликозилирования, ацетилирования, амидирования (С-концевого), гидроксирования (гидроксипролина), карбоксилирования (гамма-карбоксиглутамата), фосфорилирования, алкилирования, N-концевого липидирования и пренилирования, предпочтительно последовательность ацетилована по N-концу и/или амидирована по С-концу, и более предпочтительно ацетилована по N-концу и амидирована по С-концу.

Термины «пептид-ингибитор MIA» или «ингибитор MIA», используемые здесь взаимозаменяемы, в широком смысле относятся к веществу-ингибитору MIA, используемому в композиции, либо если это строго пептидная последовательность, либо модифицированная последовательность, как раскрыто выше.

В одном из вариантов осуществления изобретения пептид-ингибитор MIA имеет последовательность, как определено выше, и не является модифицированным.

Эти пептиды и их производные могут быть приготовлены в соответствии со стандартными методами пептидного синтеза, как правило, твердофазным синтезом, или могут быть получены из коммерчески доступных источников.

Композиция по изобретению может включать один или несколько пептидов-ингибиторов MIA, т.е. одно вещество-ингибитор MIA или комбинацию двух или более ингибиторов MIA. Когда используется более одного ингибитора MIA, они могут использоваться в любой пропорции, и поэтому количество ингибитора MIA, указанное в

настоящем документе, означает общее количество веществ ингибитора MIA, содержащихся в композиции.

Как раскрыто в международной патентной заявке WO-A-2012/127352 или в международной патентной заявке WO-A-03/064457 или в статье Stoll et al., The extracellular human melanoma inhibitory activity (MIA) protein adopts an SH3 domain-like fold, EMBO J., 2001, 20(3), 340-349, активность в качестве ингибиторов MIA пептидов последовательностей с 1 по 49 была определена в скрининговом анализе фагового дисплея с использованием рекомбинантного человеческого MIA.

Производные пептидов последовательностей с 1 по 49, как указано выше, могут быть проверены на их ингибирующую активность MIA с помощью стандартных методов, например, анализа связывания лиганда с использованием рекомбинантного человеческого MIA, как описано в Stoll et al., op. cit. или как раскрыто в Schmidt et al., Targeting melanoma metastasis and immunosuppression with a new mode of melanoma inhibitory activity (MIA) protein inhibition, 2012, PLoS ONE 7(5): e37941.

Пептид-ингибитор MIA может быть добавлен в композицию как таковой или может быть инкапсулирован в различные полимерные материалы или конъюгирован с различными веществами-носителями для улучшения его трансдермальной доставки через роговой слой, чтобы достичь целевого белка MIA в витилигинозных меланоцитах, которые расположены в нижнем слое эпидермиса, базальном слое, прикрепленном к подкожной мембране.

Способы инкапсуляции хорошо известны в данной области для доставки активных ингредиентов.

В одном варианте реализации пептид-ингибитор MIA микроинкапсулирован с использованием технологии липосом.

Липосомы обычно используются в дермальных составах для улучшения проникновения активных веществ через поверхность кожи. Как известно из уровня техники, липосомы представляют собой сферические везикулы с размерами, как правило, в диапазоне от 60 нм до 300 нм и чаще всего состоят из фосфолипидов, образующих по меньшей мере один фосфолипидный бислой, но могут включать и другие липиды. Липосомы содержат гидрофильные ядра, в которых могут быть инкапсулированы гидрофильные активные вещества, а гидрофобные активные вещества включены в бислой, поэтому липосомы являются подходящими носителями как гидрофильных, так и липофильных активных веществ (Knoth et al., Nanocarrier-Based Formulations: Production

and Cosmeceutic Applications, in: *Cosmetic Formulation. Principles and Practice*, Benson H.A.E., Roberts M.S., Rodrigues Leite-Silva V. and Walters K.A., editors, CRC Press, 2019). Липосомы могут быть получены известными способами; в целом, способы получения включают смешивание мембранообразующих липидов в органической фазе, сушку, последующую гидратацию липидов и дальнейшее уменьшение размера путем различной механической обработки, такой как соникация, экструзия или гомогенизация.

В другом варианте осуществления ингибитор МІА помещен в микрокапсулу или нанокапсулу, изготовленную из биоразлагаемого полимера, хорошо известного из уровня техники, например, такого, который раскрыт для доставки пептидов последовательностей 1-49 (WO-A-03/064457, *op.cit.*), включая полиэфиры, полиаминокислоты, полиалкилцианоакрилаты, полифосфазены или полиэтиленоксид. Обычными полимерами, используемыми для инкапсуляции, являются, например, поливиниловый спирт (PVA), поли(молочная кислота) (PLA), поли(молочно-когликолевая кислота) (PLGA) или их блок-сополимеры с поли(этиленоксидом) или поли(этиленгликолем). Другими подходящими биоразлагаемыми полимерами являются блок-сополимер поли(пропиленфумарат-со-этиленгликоль) [P(PF-со-EG)], поли-ангидрид поли(фумарово-со-себациевого) ангидрида, альгинат, декстран, хитозан, гидроксиапатит, коллаген, фибрин, гиалуроновая кислота, карбомеры и их смеси.

В конкретном варианте осуществления изобретения ингибитор МІА инкапсулирован в микрокапсулу или нанокапсулу, которая имеет на внешней поверхности специфический пептид, являющийся агонистом рецептора меланокортина 1 (MC1), и эти микрокапсулы или нанокапсулы предназначены для адресной доставки инкапсулированного ингибитора МІА в меланоциты. Такие капсулы раскрыты в патентной заявке WO-A-2015/075116.

Эти таргетные микрокапсулы или нанокапсулы обычно имеют распределение размеров от 10 нм до 10000 нм, предпочтительно от 50 нм до 5000 нм, более предпочтительно от 100 нм до 1000 нм, еще более предпочтительно от 150 нм до 450 нм и еще более предпочтительно от 180 нм до 400 нм, как раскрыто в WO-A-2015/075116 *op.cit.* Размер микрокапсул может быть определен с помощью сканирующей электронной микроскопии (SEM).

Микрокапсулы предпочтительно являются полимерными, как правило, изготовленными из одного или нескольких биоразлагаемых полимеров, например, таких, как раскрытые выше. Необходимо, чтобы по меньшей мере один из полимеров, образующих целевую микрокапсулу, содержал карбоксильные группы для связывания

пептида - агониста рецептора MC1 с внешней поверхностью путем соединения указанных карбоксильных групп с аминными терминальными группами пептида.

Микрокапсулы могут быть двухслойными полимерными микрокапсулами, состоящими из ядра полимера (или «внутреннего слоя полимера») и внешней оболочки полимера (или «внешнего слоя полимера»). Например, ядро полимера может быть поли(D,L-лактид-со-гликолидом) (PLGA), а внешняя оболочка полимера может быть поливиниловым спиртом (PVA).

Подготовка указанных таргетных микрокапсул или нанокapsул раскрыта в WO-A-2015/075116, *op. cit.* и обычно включает смешивание активного ингредиента (в данном случае пептида-ингибитора MIA) и полимера(ов), образующего капсулу, в подходящем растворителе, и дальнейший этап присоединения пептида-агониста рецептора MC1, который придает сродство к меланосомам, к внешней поверхности микрокапсулы или нанокapsулы. Этот этап может быть выполнен до или после формирования капсулы, предпочтительно после формирования капсулы.

Агонист рецептора MC1, соединенный с внешней поверхностью микрокапсулы или нанокapsулы, представляет собой пептид формулы:

R2-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-DPhe-Arg-(AA)-Gly-Lys-DPro-Val-R1

или фармацевтически приемлемой соли или сольвата, где:

- R1 представляет собой радикал $\text{-NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-O-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_n\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-NH}_2$, где n является целым числом от 1 до 10; например, n равно 1 и R1 - производное этиленгликоля бис (3-аминопроил) эфира (CAS No. 2997-01-5); в другом примере n равно 2 и R1 - производное диэтиленгликоля бис (3-аминопроил) эфира, также называемого 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамином (CAS № 4246-51-9);

- R2 выбран из (C1-24 алкил)-CO-, (C2-24 алкенил)-CO- и (C6-10 арил)-CO-; например, R2 выбран из ацетила, пропаноила, пентадеканоила, гексадеканоила и гептадеканоила (пальмитоила); и

- AA - аминокислота, содержащая ароматическую группу; например, AA может быть выбрана из триптофана, 3-(2-нафтил)-D-аланина, 3-амино-3-(1-нафтил)-пропионовой кислоты, 3-амино-3-(дифенил)-пропионовой кислоты, фенилаланина, тирозина, гистидина, 5-гидрокситриптофана и L-3,4-дигидрокси-фенилаланина.

В другом варианте осуществления изобретения пептид-ингибитор MIA конъюгирован с наночастицами, а именно с липидными наночастицами, полимерными наночастицами, магнитными наночастицами или металлическими наночастицами,

которые могут действовать как носители для облегчения проникновения ингибитора МІА через роговой слой.

В одном конкретном варианте осуществления изобретения пептид-ингибитор МІА конъюгирован с наночастицами золота, которые, как указано в описании, улучшают проникновение через кожу (Gupta et al., J. Phys. Chem. B, 2016, 7133-7142). Эти наночастицы имеют золотое ядро, покрытое пептидом-ингибитором МІА. Пептид-ингибитор МІА конъюгирован с наночастицами золота, как правило, посредством электростатической ионной связи между отрицательными зарядами золотой поверхности наночастиц и положительными зарядами аминокислот пептида, несущих аминогруппы в боковой цепи (лизин, аргинин, гистидин, аспарагин или глутамин). Наночастицы золота имеют размер менее 1000 нм, предпочтительно от 50 до 200 нм. Конъюгаты могут быть приготовлены путем восстановления Au (III) до Au (0) с помощью восстановителя и обработки полученных наночастиц золота пептидом-ингибитором МІА, например, как описано в международной патентной заявке WO-A-2019/185696.

Количество пептида-ингибитора МІА в композиции по изобретению, если он находится в свободной форме или инкапсулирован или конъюгирован с носителем, как раскрыто выше, обычно составляет от 0,0001% до 1%, предпочтительно от 0,0005% до 0,1% и более предпочтительно от 0,001% до 0,05%, где проценты выражены как вес ингибитора МІА относительно общего веса композиции.

Секрет улитки

Секрет улитки, также известный как слизь улитки, - это вид слизи или телесного секрета, который вырабатывается улитками (брюхоногими), железами, расположенными в ноге брюхоногого. Эта слизь состоит из воды и сложной смеси веществ, включая протеогликаны, гликозаминогликаны, гликопротеиновые ферменты, гиалуроновую кислоту, пептиды меди, антимикробные пептиды и ионы металлов; основными компонентами являются аллантоин, коллаген, эластин и гликолевая кислота (Cillia et al., Antimicrobial properties of terrestrial snail and slug mucus, J. Complement. Integr. Med., 2018, 15(3)).

Этот секрет может быть собран и извлечен из живых улиток, например, как это описано в патенте US5538740 или в заявке на патент США US-A-2018/0064635. Обычно после того, как брюхоногие моллюски подвергаются определенным стрессовым условиям, секрет собирают и фильтруют.

Секрет улитки обычно имеет жидкую форму, pH обычно составляет 5-8, плотность обычно составляет от около 1,0 до около 1,1 г/мл, а сухой остаток обычно составляет от 0,1% до 3%, предпочтительно от 0,2% до 2%, более предпочтительно от 0,25% до 1%, и еще более предпочтительно от 0,3% до 0,7%. Содержание белка обычно находится в диапазоне 0,1-3 мг/мл.

Секрет улитки коммерчески доступен из нескольких источников, например, от компании Cobiosa, Испания (продается как продукт Poly-Hexilan PF) или от компании CENTISIA Laboratorio di Fitocosmesi di Bruno Dott.ssa Laura Francesca & C. s.a.s., Италия (продается как Prodotto 580038), среди прочих.

Для получения данного секрета могут быть использованы различные виды брюхоногих моллюсков, включая, в частности, *Achatina fulica*, *Cornu aspersum* (или *Helix aspersa* или *Cryptomphalus aspersa* или *Cantareus aspersus*), *Helix pomatia*, *Helix hortensis*, *Helix nemoralis*, *Helix cardidula*, *Helix tchthyomma*, *Helix fructicicola*, *Helix strigella*, *Helix fruticum*, *Helix bidens*, *Helix arbostorum*, *Helix rotundata*, *Helix aculeata*, *Helix pulchella*, *Helix personata*, *Helix holoserica*, *Helix aperta*, *Helix parnassia*, *Helix alonensis*, *Helix candidissima*, *Helix pisana* или *Helix gualteviana*. В конкретном варианте осуществления изобретения секрет улитки получают из *Cornu aspersum*, также известного как *Helix aspersa*, *Cryptomphalus aspersa* или *Cantareus aspersus*.

Лечебное и косметическое применение секрета улитки известно из уровня техники, например, в качестве противомикробного средства, для заживления ран, для защиты кожи или в качестве антивозрастного средства, среди прочих применений.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что комбинация вещества-ингибитора МІА и секрета улитки обеспечивает превосходные результаты в лечении витилиго.

Действительно, как показано в примере 3, было обнаружено, что в то время как композиция, включающая только секрет улитки, не оказывала никакого эффекта на депигментированную кожу, подверженную витилиго, комбинация этого вещества с ингибиторами МІА обеспечивала наилучший эффект против витилиго, с заметной репигментацией пораженных участков.

Количество секрета улитки в композиции по изобретению обычно составляет от 0,5% до 15%, предпочтительно от 1% до 10%, более предпочтительно от 2% до 8% и еще более предпочтительно около 5%, где проценты выражены как вес секрета улитки относительно общего веса композиции.

Композиции по изобретению

Композиция по настоящему изобретению включает пептид-ингибитор МІА, секрета улитки и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Термин «эксципиент» или «фармацевтически приемлемое вспомогательное «вещество» означает компонент фармацевтической композиции, не являющийся активным ингредиентом, который полезен для приготовления фармацевтической композиции и в целом безопасен и нетоксичен для фармацевтического применения человеком. В частности, композиция изобретения обычно предназначена для наружного применения, местного нанесения на пораженный участок кожи, поэтому фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество является специально «дерматологически приемлемым», т.е. пригодным и нетоксичным для использования в контакте с кожной тканью человека.

В одном варианте осуществления изобретения композиция согласно настоящему изобретению предназначена для местного применения, т.е. ее наносят на кожу в области, подлежащей лечению, а именно в области, где наблюдается витилигинозная депигментация или склонность к витилигинозной депигментации. Местное, кожное или подкожное введение используются в настоящем документе взаимозаменяемо.

Может быть использован любой тип состава, подходящего для местного применения. Обычно композиция по настоящему изобретению находится в форме крема, геля, кремигеля, лосьона, пасты, пены, раствора, суспензии, эмульсии, молочка или препарата в виде карандаша, например, которые широко известны из уровня техники. Кремигель, например, представляет собой тип состава между кремом и гелем: в отличие от крема, кремигель представляет собой желированный водный раствор или желированное масло, но он выглядит непрозрачным, как крем, обычно белого цвета.

Подходящие носители могут быть, например, безводными, в виде смесей жиров, восков, животных и растительных масел, твердых и жидких углеводов. Также носителем может быть вода или водный раствор гидрофильных веществ. Предпочтительно, носитель может быть в форме эмульсии. Эмульсии могут быть, как правило, эмульсиями типа "масло в воде", "вода в масле", "вода в масле в воде", "масло в воде в масле" или "вода в силиконе". Эмульсия может быть описана как непрерывная водная фаза ("масло-в-воде" и "вода-в-масле-в-воде") или непрерывная масляная фаза ("вода-в-масле" и "масло-в-воде-в-масле"). Масляная фаза может включать силиконовые масла, несиликоновые масла, такие как парафиновые углеводороды, жирные спирты (например, стеариловый спирт, цетиловый спирт или цетостеариловый спирт), жирные

кислоты (например, стеариновая кислота, олеиновая кислота), эфиры жирных кислот (например, изопропилмиристат, изопропилпальмитат), воски или растительные масла (например, касторовое масло, масло канолы, хлопковое масло, масло жожоба или арахисовое масло), или их смеси. Водная фаза может включать воду или водный раствор гидрофильных веществ, таких как спирты (например, этанол, изопропиловый спирт), полиолы (например, глицерин, сорбит), альфа-гидроксикислоты, аминокислоты, гидролизаты белка, простые сахара или полисахариды.

Эмульгаторы, которые являются обычными компонентами эмульсий, представляют собой поверхностно-активные вещества (ПАВ) и включают неионные ПАВ, анионные ПАВ, катионные ПАВ и амфотерные ПАВ. Неионные поверхностно-активные вещества включают, в частности, этоксилированные жирные спирты, этоксилированные эфиры жирных кислот, алкилглюкозиды или алкил олигоглюкозиды, этоксилированные эфиры жирных кислот сорбитана, эфиры жирных кислот моноглицерина/полиглицерина, этоксилированные моноэфиры глицерина, этоксилированные эфиры полиглицерина, алкилдиметиламинооксиды или полочкамеры. Анионные ПАВ включают щелочные мыла, алкилсульфаты, сульфаты алкиловых эфиров, алкилсульфосукцинаты, алкилфосфаты, ацилсаркозинаты или ацилизетионаты, среди прочих. Катионные ПАВ включают четвертичные аммониевые соли или соли пиридина, среди прочих. Амфотерные поверхностно-активные вещества включают производные имидазолина, бетаины, амидобетаины и сульфобетаины.

Другими обычными ингредиентами состава являются, например, смягчающие вещества, увлажнители, консерванты, агенты, регулирующие вязкость, антиоксиданты, регуляторы pH, УФ-фильтры, хелатирующие агенты, отдушки и красители. Обычными смягчающими веществами являются, например, парафиновые углеводороды, силиконы, жирные спирты, жирные кислоты, эфиры жирных кислот со спиртами, триглицериды, церамиды, фосфолипиды и воски. Увлажняющие вещества включают полигидроксиспирты, протеины и гидроксильные кислоты. Обычные консерванты включают сорбиновую кислоту и ее соли, бензойную кислоту и ее соли, парабены, имидазолидинилмочевину, диазолидинилмочевину, ДМДМ гидантоин, гидроксиметилглицинат натрия, метилхлороизотиазолинон/метилизотиазолинон, бензиловый спирт и 2-феноксэтанол, среди прочих. Для контроля вязкости состава могут быть добавлены и другие добавки, например, ксантановая камедь, геллановая камедь, акация, каррагинаны, хитозан, коллаген, трагакант, пектин, производные крахмала,

карбомеры, производные целлюлозы (гидроксиэтилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, этилцеллюлоза или карбоксиметилцеллюлоза, например), полиамиды, глутамиды, коллоидный кремнезем или воски (например, пчелиный воск или растительный воск), среди прочих.

Некоторые ингредиенты композиции могут действовать как усилители проникающей способности, чтобы облегчить проникновение активных ингредиентов в роговой слой. Обычными усилителями проникающей способности являются, например, спирты с короткой цепью, такие как этанол или изопропиловый спирт; спирты с длинной цепью, такие как деканол, гексанол, лауриловый спирт, миристиловый спирт, октанол, октилдодеканол или олеиловый спирт; циклические амиды, такие как азоны; сложные эфиры, такие как этилацетат октил салицилат, падамат О, этил олеат, глицерил монолеат, глицерил монокапрат, глицерил трикаприлат, изопропил мирилат, изопропил пальмитат, пропиленгликоль монолаурат или пропиленгликоль монокаприлат; эфирные спирты, такие как Transcutol®; жирные кислоты, такие как лауриновая, линолевая, линоленовая, миристиновая, олеиновая, пальмитиновая, стеариновая или изостеариновая; гликоли, такие как дипропиленгликоль, пропиленгликоль, 1,2-бутиленгликоль или 1,3-бутиленгликоль; пирролидоны, такие как N-метил-2-пирролидон или 2-пирролидон; сульфоксиды, такие как децилметилсульфоксид или диметилсульфоксид; анионные поверхностно-активные вещества; катионные поверхностно-активные вещества; неионные поверхностно-активные вещества; терпены, такие как эвгенол D-лимонен, ментол, ментон, фарнезол или неридол (как описано, например, в Lane M. E., Skin penetration enhancers, Int. J. Pharm., 2013, 447, 12-21; или в Haque et al., Chemical enhancer: a simplistic way to modulate barrier function of the stratum corneum, Adv. Pharm. Bull., 2018, 8(2), 169-179).

Композиция по настоящему изобретению обычно имеет слабокислый pH, близкий к физиологическому pH кожи. Обычными регуляторами кислотности являются органические кислоты, включая гидроксикислоты и жирные кислоты. Одними из наиболее распространенных регуляторов pH в косметических эмульсиях являются гидроксикислоты, такие как молочная или лимонная кислота.

Одно вспомогательное вещество может выполнять более одной функции. Приведенные выше ингредиенты, а также многие другие подходящие вспомогательные вещества для дерматологических составов хорошо известны специалистам по составлению композиций для местного применения. Такие ингредиенты коммерчески

доступны от нескольких компаний, таких как Comercial Química Massó, SA, Evonik, DuPont или Dow Corning, среди прочих.

Приготовление композиции для местного применения осуществляется в соответствии с процедурами, хорошо известными специалистам в области составления дерматологических композиций, обычно включающими простые этапы смешивания и, необязательно, нагревания компонентов.

Крем, например, обычно получают путем нагревания жирной фазы и водной фазы по отдельности до температуры от 60 до 80°C, а затем смешивания при перемешивании для получения эмульсии.

Основные ингредиенты композиций и способы их приготовления полностью аналогичны тем, которые используются для приготовления косметических составов местного действия и описаны, например, в книге: *Cosmetic Formulation. Principles and Practice*, Benson H.A.E., Roberts M.S., Rodrigues Leite-Silva V. and Walters K.A., editors, CRC Press, 2019, или в других подобных справочниках. Также зарегистрированные косметические субстанции и ингредиенты раскрыты в базе данных Европейской комиссии "CosIng" (<https://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing>).

Обычно, например, сначала готовят базовый состав крема, геля или лосьона, используя стандартные ингредиенты и способы, известные из уровня техники, затем добавляют секрет улитки и пептид-ингибитор MIA (в свободной форме или инкапсулированный), тщательно перемешивают и окончательно регулируют pH состава.

Применение композиции

Как показано в проспективных клинических исследованиях, описанных в Примерах 3 и 4, композиция по настоящему изобретению является исключительно эффективной для лечения витилиго с очевидной повторной пигментацией обработанных депигментированных участков.

Таким образом, еще одним аспектом изобретения является композиция для применения в профилактике и/или лечении витилиго.

Другим аспектом изобретения является способ профилактики и/или лечения витилиго у нуждающегося в этом пациента, включающий стадии применения терапевтически эффективного количества композиции изобретения.

Под лечением витилиго понимается процедура, направленная на улучшение симптомов витилиго, а именно, на частичное или полное восстановление нормальной пигментации депигментированных или гипопигментированных участков кожи.

В одном варианте осуществления изобретения профилактика и/или лечение витилиго относится к профилактике и/или лечению несегментарного витилиго.

Профилактика витилиго направлена на предотвращение появления симптомов витилиго и рассчитана на субъектов, которые, как известно, склонны к заболеванию витилиго, либо потому что они были диагностированы на ранней стадии, до появления симптомов, например, путем обнаружения присутствия белка МІА в меланоцитах, либо потому что у них имеется известная генетическая предрасположенность к этому заболеванию. Профилактика витилиго также включает лечение пациентов, которые ранее перенесли витилиго и излечились от этого заболевания, т.е. добились повторной пигментации депигментированной витилиго кожи, чтобы предотвратить повторное возникновение у них симптомов витилиго.

Как правило, композицию по настоящему изобретению применяют местно, т.е. наносят на витилигинозные участки кожи.

В одном варианте осуществления композиция по изобретению может быть доставлена трансдермально, например, с помощью ионтофореза, ультразвука или с помощью микроигл (Escobar-Chávez et al. Microneedles: a valuable physical enhancer to increase transdermal drug delivery, J. Clin. Pharmacol., 2011, 51(7), 964-977).

Количество используемой композиции, считающееся «терапевтически эффективным», может сильно варьироваться в зависимости от многих факторов, например, от тяжести и стадии прогрессирования заболевания или от конкретного используемого состава. Количество может быть легко скорректировано в каждом конкретном случае квалифицированным специалистом. Как правило, количество композиции для местного применения, наносимой на пораженную кожу, может составлять от примерно 0,1 мг композиции на каждый см² площади поверхности кожи (мг/см²) до примерно 100 мг/см², предпочтительно от примерно 5 мг/см² до примерно 10 мг/см².

Композиции по настоящему изобретению могут применяться местно один или несколько раз в день, например, два, три или четыре раза в день. Композиция обычно наносится путем распределения по коже, как правило, только на пораженный ее участок. Продолжительность лечения может быть скорректирована в зависимости от динамики состояния пациента. Обычно лечение может продолжаться в течение нескольких недель, например, 1, 2, 3 или 4 недели, или нескольких месяцев, например, от 1 до 12 месяцев, или даже больше, в зависимости от тяжести симптомов витилиго и развития заболевания.

Продолжительность лечения может быть легко скорректирована квалифицированным специалистом.

Преимуществом является то, что лечение композицией по настоящему изобретению можно сочетать с фототерапией, например, простым воздействием солнечного света или использованием соляриев, чтобы стимулировать образование и миграцию меланоцитов и тем самым ускорить восстановление. Действительно, как показано в примере 4, композиция изобретения в сочетании с воздействием солнечного света приводит к почти полному восстановлению, т.е. к полной репигментации кожи.

Другим аспектом настоящего изобретения является, таким образом, способ профилактики и/или лечения витилиго у нуждающегося в этом пациента, включающий стадии нанесения терапевтически эффективного количества композиции по настоящему изобретению и воздействия на обработанный участок кожи фототерапией.

Термины «фототерапия» или «светотерапия», используемые в настоящем документе, включают воздействие солнечного света или излучения определенных длин волн, например, ультрафиолетового излучения, включая излучения УФ-А и УФ-Б. Поэтому «фототерапия» может быть проведена путем простого воздействия солнечного света или с использованием соляриев, или с использованием устройства, генерирующего излучение, в частности, устройства, генерирующего УФ-излучение.

Продолжительность фототерапии не имеет решающего значения и может составлять, например, от около 10 минут до около 2 часов ежедневно, или в разные дни, или два или три раза в неделю, среди других подходящих вариантов.

Витилиго может поражать любой участок кожи, поэтому композицию можно наносить на любой участок пораженной (депигментированной) кожи. Участками кожи, наиболее часто поражаемыми витилиго и, следовательно, более нуждающимися в лечении, являются руки и лицо, участки вокруг открытых частей тела (глаза, ноздри, рот, пупок и генитальные области), а также в складках тела, таких как подмышки и пах.

В одном варианте осуществления изобретения применение композиции изобретения для лечения витилиго может сочетаться с применением антиоксидантов, в частности, когда терапия сочетается с фототерапией, чтобы уменьшить возможные негативные последствия облучения.

Антиоксиданты, как правило, предназначены для перорального применения. Подходящими антиоксидантами являются, в частности, витамин Е, витамин С,

каротиноиды (такие как ликопин), бета-каротин, альфа-каротин, экстракт зеленого чая, цинк, селен, экстракт *Polypodium leucotomos*, в частности, или их комбинации.

Они могут быть сформулированы в виде пищевой пероральной добавки, как правило, в виде таблеток, порошков или капсул, например, с использованием стандартных вспомогательных веществ и способа получения, известных в данной области техники.

В одном варианте осуществления изобретение относится к набору, включающему композицию по настоящему изобретению и пищевую добавку, содержащую антиоксидант.

В другом варианте осуществления изобретение относится к набору, включающему композицию по настоящему изобретению и пищевую добавку, включающую антиоксидант, для применения в профилактике и/или лечении витилиго.

Другим аспектом настоящего изобретения также является способ профилактики и/или лечения витилиго у нуждающегося в этом пациента, включающий стадии нанесения терапевтически эффективного количества композиции по настоящему изобретению, воздействия на обработанный участок кожи фототерапией и введения пациенту антиоксиданта.

Настоящее изобретение может быть представлено в соответствии со следующими вариантами осуществления:

1. Фармацевтическая композиция, включающая:

(a) пептид-ингибитор MIA, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 49, или его производное;

(b) секрет улитки; и

(c) по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

2. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления изобретения 1, характеризующаяся тем, что последовательность выбрана из SEQ ID NO 12-20 и 27-49, и предпочтительно выбрана из SEQ ID NO 34, 37, 39-43 и 45-47 или выбрана из SEQ ID NOs 34, 38, 40 и 41.

3. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления изобретения 2, характеризующаяся тем, что последовательность представляет собой SEQ ID NO: 40.

4. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления изобретения с 1 по 3, характеризующаяся тем, что производное выбрано из:

(i) последовательностей, в которых добавлена одна дополнительная аминокислота или удалена одна аминокислота;

(ii) последовательностей, в которых одна или более аминокислот, предпочтительно не более 3 аминокислот, более предпочтительно не более 2 аминокислот, и более предпочтительно только одна аминокислота заменена другой природной или неприродной аминокислотой; и

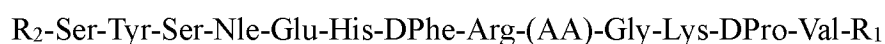
(iii) последовательности, определенной в SEQ ID NO 1-49 или ее производным в соответствии с i) или ii), где по меньшей мере одна аминокислота модифицирована и где модификация выбрана из гликозилирования, ацетилирования, амидирования (на С-конце), гидроксирования (гидроксипролин), карбоксилирования (гамма-карбоксиглутамат), фосфорилирования, алкилирования, N-концевого липидирования и пренилирования; предпочтительно, последовательность ацетилирована по N-концу и/или амидирована по С-концу; и более предпочтительно последовательность ацетилирована по N-концу и амидирована по N-концу.

5. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления изобретения с 1 по 3, характеризующаяся тем, что модификация состоит в том, что по меньшей мере одна аминокислота последовательности модифицирована, и где модификация выбрана из гликозилирования, ацетилирования, амидирования (на С-конце), гидроксирования (гидроксипролин), карбоксилирования (гамма-карбоксиглутамат), фосфорилирования, алкилирования, N-концевого липидирования и пренилирования; предпочтительно, последовательность ацетилирована по N-концу и/или амидирована по С-концу; и более предпочтительно последовательность ацетилирована по N-концу и амидирована по N-концу.

6. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления изобретения с 1 по 5, характеризующаяся тем, что пептид-ингибитор М1А инкапсулирован или конъюгирован с наночастицей-носителем.

7. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления изобретения 6, характеризующаяся тем, что пептид-ингибитор М1А инкапсулирован в микрокапсулу или нанокапсулу, которая имеет присоединенный к внешней поверхности специфический пептид, являющийся агонистом рецептора меланокортина 1 (MC1).

8. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления изобретения 7, характеризующаяся тем, что агонист рецептора MC1 представляет собой пептид формулы:



или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, где:

- R₁ представляет собой радикал $\text{-NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-O-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_n\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-NH}_2$, где n является целым числом от 1 до 10; например, n равно 1 и R₁ производное этиленгликоля бис (3-аминопроил) эфира (CAS No. 2997-01-5); в другом примере n равно 2 и R₁ производное диэтиленгликоля бис (3-аминопроил) эфира, также называемого 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамином (CAS № 4246-51-9);

- R₂ выбран из (C₁₋₂₄ алкил)-CO-, (C₂₋₂₄ алкенил)-CO- и (C₆₋₁₀ арил)-CO-; например, R₂ выбран из ацетила, пропаноила, пентадеканоила, гексадеканоила и гептадеканоила (пальмитоила); и

- AA представляет собой аминокислоту, содержащую ароматическую группу; например, AA может быть выбран из триптофана, 3-(2-нафтил)-D-аланина, 3-амино-3-(1-нафтил)-пропионовой кислоты, 3-амино-3-(дифенил)-пропионовой кислоты, фенилаланина, тирозина, гистидина, 5-гидрокситриптофана и L-3,4-дигидрокси-фенилаланина.

9. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления изобретения 6, характеризующаяся тем, что пептид-ингибитор МІА конъюгирован с наночастицами золота.

10. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления изобретения с 1 по 9, характеризующаяся тем, что количество пептида-ингибитора МІА в композиции составляет от 0,0001% до 1%, предпочтительно от 0,0005% до 0,1%, более предпочтительно от 0,001% до 0,05%, где проценты выражены как отношение массы ингибитора МІА к общей массе композиции.

11. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления изобретения с 1 по 10, характеризующаяся тем, что количество секрета улитки в композиции составляет от 0,5% до 15%, предпочтительно от 1% до 10%, более предпочтительно от 2% до 8% и еще более предпочтительно около 5%, где проценты выражены как отношение массы секрета улитки к общей массе композиции.

12. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления изобретения с 1 по 11, отличающаяся тем, что она предназначена для местного применения.

13. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления изобретения 12, характеризующаяся тем, что она выбрана из крема, геля, кремигеля, лосьона, пасты, пены, раствора, суспензии, эмульсии, молочка и стика, предпочтительно выбрана из крема, геля и кремигеля, более предпочтительно выбрана из крема и геля.

14. Набор, включающий фармацевтическую композицию по любому из вариантов осуществления изобретения с 1 по 13 и пищевую добавку, содержащую антиоксидант.

15. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления изобретения с 1 по 13 или набор по варианту осуществления изобретения 14 для применения для профилактики и/или лечения витилиго.

16. Фармацевтическая композиция или набор по варианту осуществления изобретения 15, характеризующиеся тем, что витилиго является несегментарным витилиго.

17. Способ профилактики и/или лечения витилиго у нуждающегося в этом пациента, включающий стадии применения терапевтически эффективного количества композиции по любому из вариантов осуществления изобретения с 1 по 13.

18. Способ профилактики и/или лечения витилиго у нуждающегося в этом пациента, включающий стадии применения терапевтически эффективного количества композиции по любому из вариантов осуществления изобретения с 1 по 13 и воздействия на обработанный участок кожи фототерапией.

19. Способ по варианту осуществления изобретения 18, где фототерапия включает воздействие солнечного света или излучения определенных длин волн, например, ультрафиолетового излучения, включая УФ-А и УФ-Б излучение.

20. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 18 или 19, где способ включает дополнительный этап введения пациенту антиоксиданта.

21. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения с 17 по 20, где витилиго является несегментарным витилиго.

Примеры

Пример 1 Пептид-ингибитор MIA

Ингибитор MIA с SEQ ID NO: 40 был использован для приготовления композиций по Примеру 2.

Пример получения 1: инкапсулированный пептид-ингибитор MIA

Таргетные микрокапсулы пептида-ингибитора MIA были получены в виде двухслойных микрокапсул, где внутренний полимер представлял собой (D,L-лактид-со-гликолид) (PLGA), а внешний - поливиниловый спирт (PVA), указанные капсулы включали присоединенный к поверхности агонистический пептид рецептора меланокортина 1 (MC1) Palmitoyl-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-DPhe-Arg-Trp-Gly-Lys-DPro-Val-NH-(CH₂)₃-

(OCH₂CH₂)₂-CH₂-NH₂ (SEQ ID NO: 50), который был соединен с капсулой посредством амидной связи между аминоконцевой группой пептида и карбоксильными группами, имеющимися на поверхности капсулы из PLGA. Указанные микрокапсулы были получены способом, аналогичным раскрытому в примере 1 международной патентной заявки WO-A-2015/075116.

Доля пептида-ингибитора MIA в полученных капсулах составляла около 35 масс.% по отношению к общей массе капсул.

Эти таргетные капсулы были включены в композицию по настоящему изобретению (см. пример 2) в виде водного раствора, содержащего около 0,1 масс.% капсул (раствор также включал ксантановую камедь, феноксиэтанол, каприлил гликоль, глицерин, глицерил каприлат и фенилпропанол).

Пример получения 2: пептидный конъюгат золото-анти-MIA

Пептид-ингибитор MIA (SEQ ID NO: 40) был конъюгирован с наночастицами золота способом, аналогичным раскрытому в Примерах 1 и 2 международной патентной заявки WO-A-2019/185696, путем получения сначала наночастиц золота посредством восстановления соли золота (HAuCl₄) цитратом натрия, а затем добавления пептида-ингибитора MIA.

Доля пептида-ингибитора MIA в конъюгате золота составляла около 25 масс.% по отношению к общей массе конъюгата золото-MIA-ингибитор.

Этот конъюгат был включен в композицию по настоящему изобретению (см. пример 2) в виде водной дисперсии, содержащей около 0,5 масс.% конъюгата (дисперсия также включала ксантановую камедь и феноксиэтанол).

Пример 2 Получение композиции по настоящему изобретению

Композиция по настоящему изобретению была получена с использованием ингредиентов, перечисленных в следующей таблице:

Ингредиенты		Масс.%			
		A	B	C	D
A1	Emulium® Mellifera MB (полиглицерил-6 дистеарат, эфиры жожоба, полиглицерил-3 пчелиный воск и цетиловый спирт)	5.0	5.0	5.0	5.0
A2	Изогексадекан	2.0	2.0	2.0	2.0
A3	Изопропил изостеарат	1.0	1.0	1.0	1.0
A4	Изононил изононаноат	2.0	2.0	2.0	2.0

Ингредиенты		Масс.%			
		A	B	C	D
A5	Токоферолацетат	0.2	0.2	0.2	0.2
B1	Деионизованная вода	63.9	71.9	68.9	63.9
B2	Цетилфосфат калия	0.3	0.3	0.3	0.3
B3	Безводный бетаин, экстрагированный из сахарной свеклы	2.0	2.0	2.0	2.0
B4	Консерванты (метилпропандиол, каприлил гликоль и фенилпропанол)	2.0	2.0	2.0	2.0
B5	Феноксизтанол	0.5	0.5	0.5	0.5
B6	Динатрия ЭДТА	0.1	0.1	0.1	0.1
B7	Глицерин	2.0	2.0	2.0	2.0
B8	Ксантановая камедь	0.2	0.2	0.2	0.2
C1	SEPIPLUS™ 400 (полиакрилат-13, полиизобутен и полисорбат 20)	0.5	0.5	0.5	0.5
C2	Циклопентасилоксан	2.0	2.0	2.0	2.0
C3	Диметикон	1.0	1.0	1.0	1.0
D1	Секрет улитки	5.0	5.0	5.0	5.0
D2a	Анти-MIA пептид инкапсулированный 0,1 масс.%	10.0	-	-	-
D2b	Конъюгат анти-MIA пептид-золото 1 масс.%	-	2.0	-	-
D2c	Анти-MIA пептид 0,1 масс.%	-	-	5.0	10.0
D3	Отдушка	0.3	0.3	0.3	0.3
	<u>Итого</u>	<u>100.0</u>	<u>100.0</u>	<u>100.0</u>	<u>100.0</u>

Для получения композиций использовался пептид-ингибитор MIA («анти-MIA») SEQ ID NO: 40. Как указано в примере 1, его добавляли либо:

- в капсулы, направленные на меланоциты (компонент D2a);
- в виде конъюгата с наночастицами золота (компонент D2b);
- в виде свободного пептида (компонент D2c).

Компоненты D2a и D2b были добавлены в виде раствора/дисперсии, как раскрыто в примере 1. Компонент D2c (свободный пептид-ингибитор MIA) добавляли в виде водного раствора (0,1 мас. %).

Таким образом, доля пептида-ингибитора МІА в композициях А, В, С и D составляла примерно 0,0035% (35 частей на миллион), 0,0025% (25 частей на миллион), 0,005% (50 частей на миллион) и 0,01% (100 частей на миллион), соответственно.

Для приготовления композиции первые компоненты А1-А6 были нагреты до температуры от 70°C до 75°C и тщательно перемешаны для получения первой жидкой фазы ("фаза А"). Компоненты В1-В8 были отдельно смешаны для получения раствора, который был нагрет до температуры от 70° С до 75° С. Фаза А была добавлена в этот раствор и эмульгирована в смесителе Ultra-Turrax с высокой скоростью вращения при 8000 об/мин в течение примерно 3 минут, после чего эмульсия была перемешана в лопастном смесителе при 300 об/мин в течение примерно 15 минут. Компоненты С1-С3 добавляли при температуре 60 °С, смеси давали остыть до комнатной температуры и в конце добавляли компоненты D1, один из D2a/D2b/D2c и D3. Конечный рН композиции проверяли на соответствие диапазону 5,5-6,5 (или корректировали иным способом с помощью 10% лимонной кислоты или 10% NaOH)

Пример 3 Сравнительное исследование для оценки эффективности комбинации пептид-ингибитор МІА - секрет улитки

В проведенных анализах было проведено сравнительное тестирование до трех композиций на пациентах, имеющих витилиго. Для получения достоверных сравнительных данных все три композиции были протестированы на каждом пациенте путем их применения на различных депигментированных участках. На фиг. 1 показаны некоторые примеры рандомизированных обработанных участков, например, для трех гипотетических тест-композиций (1, 2 и 3).

Для оценки эффекта от сочетания пептида-ингибитора МІА и секрета улитки сравнивались следующие композиции:

Активные ингредиенты	Масс.%		
	Композиция для сравнения-I	Композиция для сравнения-II	С
Секрет улитки	5	-	5
Анти-МІА пептид 0,1 масс.%	-	5	5

Композиции сравнения-I и сравнения-II были получены с использованием тех же самых вспомогательных веществ А1-А5, В1-В8, С1-С3 и D3, как описано в примере 1, в тех же самых количествах, и с регулированием количества воды. Сравнительный состав-I включал 5% секрета улитки (D1), но без ингибитора МІА, а сравнительный состав-II

включал 5% пептида-ингибитора МІА в 0,1% растворе (т.е. 50 ppm), но без секрета улитки. Состав С включал как 5% секрета улитки, так и 50 ppm пептида-ингибитора МІА. Приготовление сравнительных составов было аналогичным, как раскрыто в Примере 2.

В ходе исследования 3 субъекта, больных витилиго (2 женщины и 1 мужчина), были обработаны тремя составами. Лечили различные анатомические участки, включая лицо, грудь, подмышки, руку, локоть, предплечье, запястье, кисть, живот, спину, ягодицу, бедра, колено и ногу.

Лечение заключалось в нанесении крема на обрабатываемую область дважды в день в течение 3 месяцев.

После завершения лечения эффективность оценивалась путем определения процента повторной пигментации обработанных участков по шкале 0-10, где 0 означает отсутствие эффекта, а 10 - 100% повторную пигментацию пораженного участка.

Результаты приведены в таблице ниже:

Композиция	Эффективность
Композиция для сравнения-1	0
Композиция для сравнения-2	2
С	6

Таким образом, композиция, включающая только секрет улитки, не показала никакого эффекта. Композиция, включающая только ингибитор МІА, дала лишь умеренную репигментацию (около 20%) витилигинозных пятен. Композиция С, включающая как секрет улитки, так и ингибитор МІА, показала наилучшие результаты, восстановив пигментацию пораженных участков кожи почти на 60%.

Пример 4 Клиническое исследование для оценки эффективности композиции по настоящему изобретению

Для оценки эффективности составов А, В и С (пример 2) было проведено проспективное клиническое исследование.

В исследовании приняли участие 11 пациентов (7 женщин и 4 мужчины, в возрасте от 18 до 60 лет), имеющих несегментарное витилиго. Было обработано 16 различных анатомических участков, а именно: вокруг глаз, вокруг рта, шея, грудь, подмышка, рука, локоть, предплечье, запястье, кисть, живот, спина, ягодица, бедра, колено и нога.

Три состава были протестированы на всех пациентах путем их использования на различных депигментированных участках. Места обработки были рандомизированы, например, как показано на фиг. 1.

Лечение заключалось в нанесении крема на обработанную область дважды в день в течение 5 месяцев. Во время лечения пациентам было предложено немного побыть на солнце или воспользоваться солярием. Пациентов также просили принимать перорально антиоксидантный состав (включающий экстракт *Polypodium leucotomos*, экстракт зеленого чая и витамин Е), чтобы нейтрализовать возможный негативный эффект от пребывания на солнце.

У 9 пациентов (т.е. 82% пациентов) наблюдалась, по крайней мере, частичная репигментация при всех трех анализируемых способах лечения, в то время как двое из пациентов не ответили на анкету. Большинство респондентов продемонстрировали выдающуюся репигментацию витилигинозных депигментированных участков со степенью репигментации 90% или выше.

Не было обнаружено существенных различий между тремя тест-композициями (А, В и С).

Например, на фиг. 2 показано лицо одного пациента до и после лечения, который был обработан композицией А с левой стороны и композицией В с правой стороны. На фиг. 3 показано лицо другого пациента до и после лечения, которого лечили составом С.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

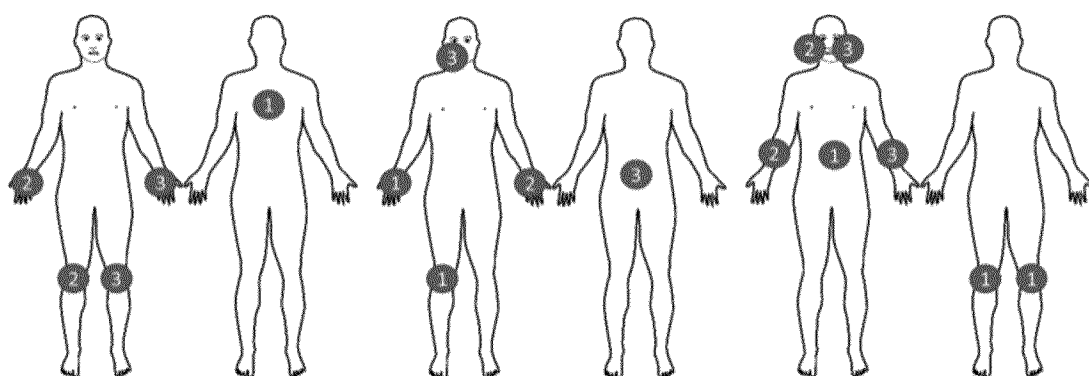
1. Фармацевтическая композиция, включающая:
 - (a) пептид - ингибитор белка с меланома-ингибирующей активностью (МІА), который содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NOs: 12-20 и 27-49, или его производное, где производное означает, что белок ацетилирован по N-концу и/или амидирован по С-концу;
 - (b) секрет улитки; и
 - (c) по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.
2. Фармацевтическая композиция по пункту 1, характеризующаяся тем, что последовательность выбрана из SEQ ID NOs 34, 38, 40 и 41.
3. Фармацевтическая композиция по пункту 2, характеризующаяся тем, что последовательность представляет собой SEQ ID NO: 40.
4. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-3, характеризующаяся тем, что амидирование по С-концу заключается в образовании концевых амидогрупп формулы $-\text{CONH}_2$, $-\text{CONHR}$ или $-\text{CONR}_2$, где R представляет собой C_1 - C_4 алкильную группу.
5. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-4, характеризующаяся тем, что пептид-ингибитор МІА инкапсулирован или конъюгирован с наночастицей-носителем.
6. Фармацевтическая композиция по пункту 5, характеризующаяся тем, что пептид-ингибитор МІА заключен в микрокапсулу или нанокапсулу, которая содержит на внешней поверхности специфический белок, являющийся агонистом рецептора меланокортина 1 (MC1).
7. Фармацевтическая композиция по пункту 5, характеризующаяся тем, что пептид-ингибитор МІА конъюгирован с наночастицами золота.
8. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-7, характеризующаяся тем, что количество пептида-ингибитора МІА в композиции составляет от 0,0001% до 1% в расчете на массу ингибитора МІА по отношению к общей массе композиции.
9. Фармацевтическая композиция по пункту 8, характеризующаяся тем, что количество пептида-ингибитора МІА в композиции составляет от 0,0005% до 0,1% в расчете на массу ингибитора МІА по отношению к общей массе композиции.
10. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-9, характеризующаяся тем, что количество секрета улитки в композиции составляет от 0,5% до 15% в расчете на массу секрета улитки по отношению к общей массе композиции.

11. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-10, характеризующаяся тем, что она предназначена для местного применения.

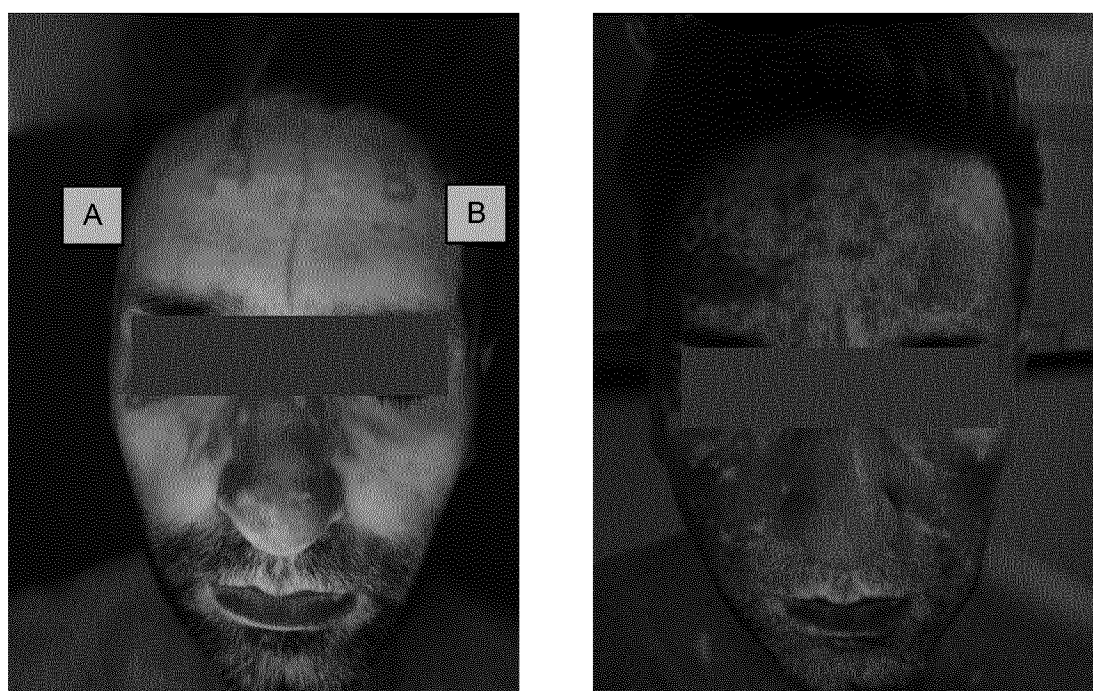
12. Фармацевтическая композиция по пункту 11, характеризующаяся тем, что она выбрана из крема и геля.

13. Набор, включающий фармацевтическую композицию по любому из пунктов 1-12 и пищевую добавку, содержащую антиоксидант.

14. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-12 или набор по пункту 13 для применения в профилактике и/или лечении витилиго.



ФИГУРА 1



ФИГУРА 2



ФИГУРА 3