

Область техники

Настоящее изобретение относится к области медицины, фармации и коллоидной химии, конкретно, к фармацевтической композиции для лечения туберкулеза, представляющей собой лиофилизат рифабутина, солюбилизованного альбумином, а при добавлении фармацевтически приемлемого разбавителя или носителя - пригодный для внутривенного введения нуждающемуся в этом пациенту устойчивый раствор со средним размером частиц 4-10 нм, пригодный для внутривенного введения нуждающемуся в этом пациенту, к способу получения указанного лиофилизата, и к способу лечения туберкулеза, включающему внутривенное введение фармацевтической композиции в соответствии с настоящим изобретением в терапевтически эффективном количестве нуждающемуся в этом пациенту.

Уровень техники и задачи изобретения

Рифабутин (1[\]4-Дидегидро-1-дезоксидеокси-1,4-дигидро-5[\]-(2-метилпропил)-1-оксорифамицин XIV) - полусинтетический антибиотик широкого спектра действия; практически нерастворим в воде, плохо растворим в этаноле, растворим в хлороформе, метаноле, этилацетате.

Рифабутин эффективен в отношении внутриклеточно и внеклеточно расположенных микроорганизмов. Селективно подавляет ДНК-зависимую РНК-полимеразу бактерий. Оказывает бактерицидное действие. Высокоактивен в отношении *Mycobacterium* spp. (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, в т.ч. расположенных внутриклеточно) и др. атипичных микобактерий. От 1/3 до 1/2 штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, резистентных к рифампицину, чувствительны к рифабутину, что указывает на неполную перекрестную резистентность между этими антибиотиками. Активен также в отношении многих грамположительных микроорганизмов. При монотерапии быстро развивается устойчивость.

Рифабутин показан при хроническом полирезистентном туберкулезе легких, вызванном рифампицинрезистентными штаммами *Mycobacterium tuberculosis* (в составе комбинированной терапии), инфекциях, вызванных *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium xenopi* и др. атипичными бактериями (см., например, Brogden R.N., Fitton A. Rifabutin. A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. - *Drugs* 1994; 47:983-1009).

В связи с ростом заболеваемости туберкулезом в мире, вызванным появлением лекарственно-резистентных штаммов и распространением заболеваний иммунной системы, в том числе СПИДа, необходимо создание новых противотуберкулезных лекарственных средств. По оценкам ВОЗ, в период до 2020 г. количество вновь инфицированных туберкулезом достигнет 1 млрд 200 млн человек заболеют, и 35 млн умрут от туберкулеза, если не будут найдены новые, более эффективные средства лечения.

В то же время необходимо учитывать и тот факт, что наиболее широкое распространение в РФ и странах СНГ туберкулез получил, в частности, в учреждениях пенитенциарной системы, где заключенные зачастую избегают приема лекарственных средств, вводимых перорально.

Помимо применения рифабутина в лечении микобактериальных инфекций, в последнее десятилетие была также показана эффективность рифабутина при эрадикации бактерий рода *Helicobacter*, особенно *Helicobacter pylori* (для штаммов данного микроорганизма, резистентных к более традиционным антибиотикам, таким как кларитромицин) (см.: Perri F., Festa V., Clemente R., Villani M.R., Quitadamo M., Caruso N., Bergoli M.L., Andriulli A. Randomized study of two "rescue" therapies for *Helicobacter pylori*-infected patients after failure of standard triple therapies. - *Am J Gastroenterol.* 2001 Jan;96(1): 58-62; van der Poorten D, Katelaris PH. The effectiveness of rifabutin triple therapy for patients with difficult-to-eradicate *Helicobacter pylori* in clinical practice. - *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Dec;26(11-12):1537-42. Epub 2007 Sep 28; Toracchio S., Capodicasa S., Soraja DB, Cellini L., Marzio L. Rifabutin based triple therapy for eradication of *H. pylori* primary and secondary resistant to tinidazole and clarithromycin. - *Dig Liver Dis.* 2005 Jan;37(1):33-8). Согласно известным на сегодняшний день сведениям, *Helicobacter pylori* играет важнейшую роль в возникновении заболеваний желудочно-кишечного тракта, таких как язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, гастрит, колит, проктит и пр. По оценкам ВОЗ носителями *Helicobacter pylori* является примерно 50% населения Земли.

Однако для традиционно применяемых пероральных лекарственных форм рифабутина характерны серьезные побочные эффекты: высокая гастроинтестинальная токсичность, миелотоксичность, развитие лейкопении и тромбоцитопении (см.: Canducci F., Ojetti V., Pola P., Gasbarrini G., Gasbarrini A. Rifabutin-based *Helicobacter pylori* eradication 'rescue therapy'. - *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14:311-316), одновременно с низкой системной биодоступностью.

В связи с этим, возникает задача создания лекарственных форм рифабутина, пригодных для парентерального введения. В то же время, крайне низкая растворимость рифабутина в водной среде крайне препятствует созданию таких парентеральных форм. В связи с этим актуальным оказывается вопрос разработки коллоидных систем доставки данного антибиотика, в частности, лекарственных форм рифабутина на основе микро- и нанотехнологий, пригодных для ингаляционного и внутривенного введения.

Из уровня техники известен евразийский патент № 9878 («Противотуберкулезный препарат», патентообладатели КАУНСЕЛ ОФ САЙНТИФИК ЭНД ИНДАСТРИАЛ РИСЕРЧ и ЛУПИН ЛИМИТЕД [РИСЕРЧ ПАРТ]), опубликован 28.04.2008, МПК А61К 9/00 (2006.01), А61К 31/00 (2006.01), А61К 31/455 (2006.01), А61К 31/445 (2006.01)), опублик. 28.04.2008, в котором раскрыта композиция из биоразлагаемых микрочастиц для ингаляции, которая применима для специфичной доставки к мишеням лекарств для

лечения туберкулеза легких, причем данная композиция включает два противотуберкулезных препарата, выбранных из группы, состоящей из рифабутина, рифапентина, изониазида, пиразинамида и этамбутола, и биоразлагаемый полимер для доставки лекарств, при этом соотношение препараты:полимер составляет от 1:2 до 2:1, описан также способ ее получения и способ лечения туберкулеза, включающий ингаляционное введение данной композиции нуждающемуся в этом пациенту в фармацевтически эффективном количестве.

Однако ранее в литературе было показано, что изониазид при совместном использовании с рифампицином или рифабутином образует с ними в организме пациента неактивное комплексное соединение.

Следует также иметь в виду, что при ингаляционном пути введения лекарственного средства может быть затруднена точность его дозировки, в связи с чем возникает потребность в создании форм рифабутин, предполагающих внутривенное введение. Однако разработка таких форм затруднена в связи с крайне низкой растворимостью рифабутин в водных средах.

Из уровня техники известен патент США № 6264991 B1 ("Compositions and methods for treating intracellular infections", патентообладатель - SOUTHERN RESEARCH INSTITUTE, опубликован 24.07.2001), в котором описано совместное введение двух наборов микросфер, включающее совместное введение терапевтически эффективного количества первого подходящего для лечения микобактериальной инфекции средства, включая антибиотик из группы рифамицинов, в т.ч. рифабутин или рифампицин, содержащегося в первом наборе биосовместимых микросфер диаметром менее 10 мкм, и терапевтически эффективного количества второго подходящего для лечения микобактериальной инфекции средства, содержащегося во втором наборе биосовместимых микросфер диаметром более 10 мкм, с целью обеспечить непрерывное системное выделение второго подходящего для лечения микобактериальной инфекции препарата, при этом введение первых микросфер осуществляется внутривенно, вторых микросфер - подкожно.

Т.к. диаметр микросфер, описанных в патенте США № 6264991 B1, в отличие от наночастиц, сопоставим с диаметром мельчайших капилляров (2-7 мкм), то при внутривенном введении нуждающемуся в этом пациенту таких систем доставки лекарств существует риск эмболии мельчайших капилляров, преодолеваемый в настоящем изобретении внутривенным введением фармацевтической композиции, выполненной на основе полимерных наночастиц, содержащих рифабутин.

В поданной ранее ООО «Научно-Производственный Комплекс «Наносистема» евразийской заявке № 200801388 (дата подачи - 20.06.2008), предлагаемой нами в качестве ближайшего аналога настоящего изобретения, раскрыта разработанная научным коллективом ООО «Научно-Производственный Комплекс «Наносистема», предназначенная для внутривенного введения нуждающемуся в этом пациенту фармацевтическая композиция для лечения туберкулеза и заболеваний, опосредованных *Helicobacter pylori*, выполненная на основе наночастиц из биоразлагаемого полимера (предпочтительно, из полимера молочной кислоты, или из сополимера молочной и гликолевой кислот, при содержании гликолевой кислоты в указанных сополимерах до 50 мол.% с/без дополнительной карбоксильной группы на конце молекул, или из сополимеров указанных полилактидов с полиэтиленгликолем, где молекулярная масса указанных полимеров молочной кислоты и/или сополимеров молочной и гликолевой кислот составляет от 2 до 200 кДа); композиция может дополнительно содержать пластификатор липидной природы, водорастворимый природный или синтетический полимерный стабилизатор с М.М. не более 70 кДа и наполнители при следующем соотношении компонентов, вес.%:

Полимер/полимеры молочной кислоты и/или сополимер/сополимеры молочной и гликолевой кислот	10-50
Рифабутин	3-40
Полимерный стабилизатор	10-30
Пластификатор	0-10
Наполнители	остальное

В соответствии с евразийской заявкой №200801388 предпочтительный полимерный стабилизатор выбирают из группы веществ с молекулярной массой не более 70 кДа, предпочтительно из эфиров моноглицеридов или человеческого сывороточного альбумина;

предпочтительный пластификатор выбирают из лецитина, липоевой кислоты и альфа-токоферил сукцината; предпочтительный наполнитель выбирают из группы, включающей глюкозу, лактозу, маннит, трегалозу, хлорид натрия и цитрат натрия.

Фармацевтическая композиция в соответствии с предлагаемым протипом предназначена для внутривенного применения и представляет собой лиофилизат с размером частиц от 100 до 800 нм, а при добавлении воды или физиологического раствора - устойчивую суспензию, также имеющую размером частиц от 100 до 800 нм.

Также в соответствии с прототипом предложен способ лечения туберкулеза, включающий внутривенное введение вышеуказанной фармацевтической композиции в терапевтически эффективном количе-

стве нуждающемуся в этом пациенту, и способ получения такой фармацевтической композиции, отличающийся тем, что систему, состоящую из:

а) 2-20% раствора полимера/полимеров молочной кислоты и/или сополимера/сополимеров молочной и гликолевой кислот, при содержании гликолевой кислоты в указанных сополимерах до 50 мол.% с/без дополнительной карбоксильной группы на конце молекул, или из сополимеров указанных полилактидов с полиэтиленгликолем, где молекулярная масса указанных полимеров молочной кислоты и/или сополимеров молочной и гликолевой кислот составляет от 2 до 200 кДа;

б) 0,5-5% раствора рифабутина и

в) 0,005-1% раствора пластификатора, выбранного из группы, включающей лецитин, липоевую кислоту и α -токоферилсукцинат, в органическом растворителе (метилхлорид или хлороформ) и

г) 0,5-5% водного раствора полимерного стабилизатора эмульсии (объемное соотношение органической и водной фаз 1:5), гомогенизируют до получения эмульсии, удаляют из полученной эмульсии органический растворитель путем испарения при пониженном давлении (с помощью роторного испарителя), фильтруют полученную суспензию, добавляют 0-10% наполнителя криопротектора, выбранного из глюкозы, лактозы, маннита или трегалозы, и лиофилизируют.

Средний размер частиц составляет 0,1-0,8 мкм в зависимости от условий гомогенизации и использованных стабилизаторов эмульсии (поверхностно-активных веществ, ПАВ). Степень включения рифабутин составляет 70-98%. Средний размер частиц составляет 100-800 нм (в зависимости от условий гомогенизации и использованного стабилизатора эмульсии).

Можно видеть, что раскрытая в евразийской заявке №200801388 наносомальная фармацевтическая композиция рифабутин для внутривенного применения, предлагаемая в качестве прототипа настоящего изобретения, характеризуется относительной сложностью и трудоемкостью ее получения, в связи с чем крайне важной оказывается задача разработки более доступных и менее трудоемких способов получения новых форм рифабутин, пригодных для внутривенного введения.

Таким образом, важным аспектом разработки новой формы рифабутин, пригодной для внутривенного применения, должна быть сравнительная простота и доступность производства такой формы.

Сущность изобретения

В рамках настоящего изобретения неожиданно была показана возможность получения не содержащей полимеров, пригодной для внутривенного введения и более простой в получении фармацевтической композиции рифабутин, солюбилизованного альбумином, в виде лиофилизата с размером частиц от 4 до 10 нм (соответствует размерам молекулы человеческого сывороточного альбумина), образующей при добавлении фармацевтически приемлемого разбавителя или носителя пригодный для внутривенного введения нуждающемуся в этом пациенту устойчивый раствор, характеризующийся размером частиц от 4 до 10 нм и пригодную для внутривенного введения нуждающемуся в этом пациенту. В рамках настоящего изобретения, предлагается также способ получения указанной фармацевтической композиции, значительно более простой в исполнении, в сравнении с прототипом.

Более конкретно, в соответствии с настоящим изобретением, предлагается способ получения лиофилизата рифабутин, солюбилизованного альбумином, отличающийся тем, что водную смесь рифабутин, альбумина и органического растворителя (хлористого метилена, этилацетата или любого другого органического растворителя, способного растворять рифабутин) при температуре от 0 до 40°C диспергируют, подвергают гомогенизации высоким давлением с получением наноэмульсии, удаляют из полученной наноэмульсии органический растворитель, фильтруют, добавляют криопротектор (предпочтительно маннит), замораживают и лиофилизируют, причем указанную водную смесь рифабутин и альбумина получают в стерильных условиях путем растворения 2-5% (м/о) альбумина в стерилизованной деминерализованной воде, последующего добавления к указанному раствору альбумина 2-5% (о/о) органического растворителя и рифабутин в виде стерильного порошка в количестве от 0,2 до 20,0 мас. %.

Также в рамках настоящей заявки мы испрашиваем притязания на фармацевтическую композицию для лечения туберкулеза и заболеваний, опосредованных *Helicobacter pylori*, отличающуюся тем, что она представляет собой лиофилизат рифабутин, солюбилизованного альбумином, характеризующийся средним размером частиц от 4 до 10 нм, а при добавлении фармацевтически приемлемого разбавителя или носителя - пригодный для внутривенного введения нуждающемуся в этом пациенту устойчивый раствор, характеризующийся средним размером частиц от 4 до 10 нм, причем указанный лиофилизат получен способом по изобретению, и на способ лечения туберкулеза, включающий внутривенное введение терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по изобретению нуждающемуся в этом пациенту.

Следует особо подчеркнуть, что, хотя фармацевтические композиции рифабутин в соответствии с прототипом, как уже было сказано выше, также могут содержать альбумин (предпочтительно, человеческий сывороточный альбумин) (см. составы 1-10 в соответствии с описанием евразийской заявки № 200801388), однако, в соответствии с прототипом и известными в данной области техниками, альбумин (в количестве 10-20 мас. %) используется не как солюбилизатор рифабутин, а как стабилизатор композиции.

В соответствии с изобретением в наиболее предпочтительном, хотя и не ограничивающем объем

притязаний воплощении, перед добавлением к раствору альбумина (предпочтительно, человеческого сывороточного альбумина) органического растворителя, устанавливают рН 5,4-5,6 указанного раствора.

Диспергирование водной смеси альбумина и рифабутина, предусмотренное в соответствии с настоящим изобретением, может быть выполнено при помощи любых известных квалифицированному специалисту из уровня техники методов и приборов; в частности, диспергирование может быть выполнено на погружном диспергаторе UltraTurrax®, при скорости 15000-20000 об./мин в течение 1-2 мин.

Гомогенизацию высоким давлением, в соответствии с заявляемым способом, предпочтительно (т.е. без ограничения объема притязаний), осуществляют на гомогенизаторе высокого давления AVESTIN® EmulsiFlex® C5, при давлении гомогенизации 15000-45000 psi (1 psi = 1 фунт/дюйм²); специалисту в данной области техники должно быть понятно, что в рамках настоящего изобретения может быть использован любой другой гомогенизатор высокого давления, обеспечивающий аналогичное давление гомогенизации.

В соответствии с заявляемым способом, наиболее предпочтительный криопротектор представляет собой маннит.

Органический растворитель в рамках настоящего изобретения удаляют любым доступным для квалифицированного специалиста способом, например отгонкой на роторном испарителе.

Лиофилизацию, в соответствии с заявляемым способом, проводят при температуре -60-70°C.

Полученную вышеописанным образом композицию вводят нуждающемуся в этом пациенту (предпочтительно, млекопитающему, такому как человек) в виде раствора в фармацевтически приемлемом разбавителе или носителе, например, в таком, как 0,9% раствор хлорида натрия; дополнительно фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель может содержать аскорбиновую кислоту.

Приведенные ниже примеры, демонстрирующие получение лиофилизата рифабутина и альбумина заявленным в соответствии с изобретением способом, приводятся лишь для иллюстрации настоящего изобретения, а не для ограничения объема притязаний.

Пример 1.

К 10 мл человеческого сывороточного альбумина (3%-ный водный раствор для инфузий) добавляли 0,3 мл хлористого метилена, 54 мг порошка рифабутина, диспергировали в течение 2 мин при помощи погружного диспергатора ULTRA-TURRAX T18 basic при скорости 20000 об./мин, гомогенизировали при помощи гомогенизатора высокого давления AVESTIN® EmulsiFlex C5, при давлении гомогенизации 15000 psi, до получения наноземульсии, характеризующейся средним размером частиц 5-10 нм, удаляли хлористый метилен отгонкой на роторном испарителе, добавляли 100 мг маннита (с получением 1% водного раствора по манниту), замораживали при температуре -70°C, лиофилизировали (в стерильных условиях) в течение 24 ч, с получением лиофилизата, характеризующегося средним размером частиц 4-10 нм.

Пример 2.

К 10 мл человеческого сывороточного альбумина (3%-ный водный раствор для инфузий) добавляли 0,33 мл хлористого метилена, 27 мг порошка рифабутина, 13,7 мг аскорбиновой кислоты, диспергировали в течение 3 мин при помощи погружного диспергатора ULTRA-TURRAX® T18 basic при скорости 20000 об./мин, гомогенизировали при помощи гомогенизатора высокого давления AVESTIN® EmulsiFlex C5, при давлении гомогенизации 45000 psi, до получения наноземульсии, характеризующейся средним размером частиц 5-10 нм, удаляли хлористый метилен отгонкой на роторном испарителе, 100 мг маннита (с получением 1% водного раствора по манниту) замораживали при температуре -65°C, лиофилизировали (в стерильных условиях) в течение 24 ч, с получением лиофилизата, характеризующегося средним размером частиц 5-10 нм.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения лиофилизата рифабутина, солюбилизированного альбумином, отличающийся тем, что водную смесь рифабутина, альбумина и органического растворителя при температуре от 0 до +40°C диспергируют, подвергают гомогенизации высоким давлением с получением наноземульсии, удаляют из полученной наноземульсии органический растворитель, фильтруют, добавляют криопротектор, замораживают и лиофилизируют, причем указанную водную смесь рифабутина и альбумина получают путем растворения 2-5% (м/о) альбумина в деминерализованной воде, последующего добавления к указанному раствору альбумина 2-5% (о/о) органического растворителя и рифабутина в количестве от 0,2 до 20,0 мас. %.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что органический растворитель представляет собой хлористый метилен.

3. Способ по п.2, отличающийся тем, что перед добавлением хлористого метилена устанавливают рН 5,4-5,6 раствора.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что диспергирование водной смеси альбумина и рифабутина осуществляют при помощи погружного диспергатора, при скорости 15000-20000 об./мин, в течение 1-2 мин.

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что гомогенизацию водной смеси альбумина и рифабутина

высоким давлением проводят на гомогенизаторе высокого давления, при давлении гомогенизации от 15000 до 45000 psi.

6. Способ по п.1, отличающийся тем, что хлористый метилен удаляют отгонкой на роторном испарителе.

7. Способ по п.1, отличающийся тем, что криопротектор выбран из маннита.

8. Способ по п.1, отличающийся тем, что лиофилизацию проводят при температуре -60-70°C.

9. Способ по п.1, отличающийся тем, что альбумин представляет собой человеческий сывороточный альбумин.

10. Фармацевтическая композиция для лечения туберкулеза и заболеваний, опосредованных *Helicobacter pylori*, отличающаяся тем, что представляет собой лиофилизат рифабутина, солюбилизованного альбумином, характеризующийся средним размером частиц от 4 до 10 нм, а при добавлении фармацевтически приемлемого разбавителя или носителя - пригодный для внутривенного введения нуждающемуся в этом пациенту устойчивый раствор, характеризующийся средним размером частиц от 4 до 10 нм, причем указанный лиофилизат получен способом по любому из пп.1-9.

11. Фармацевтическая композиция рифабутина по п.10, отличающаяся тем, что фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель представляет собой 0,9% раствор NaCl.

12. Фармацевтическая композиция рифабутина по п.10, отличающаяся тем, что дополнительно содержит аскорбиновую кислоту.

13. Способ лечения туберкулеза и заболеваний, опосредованных *Helicobacter pylori*, включающий внутривенное введение терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.10-12 нуждающемуся в этом пациенту.

