РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 726 192**(13) **C2**

(51) МПК
A61K 9/00 (2006.01)
C08B 37/00 (2006.01)
A61K 31/726 (2006.01)
A61K 31/727 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
***A61K 9/00** (2019.08); **C08B 37/00** (2019.08); **A61K 31/726** (2019.08); **A61K 31/727** (2019.08); **A61K 31/728** (2019.08); **A61P 27/02** (2019.08)*

(21)(22) Заявка: **2017138283, 07.04.2016**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
07.04.2016

Дата регистрации:
09.07.2020

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
07.04.2015 IT FI2015A000102

(43) Дата публикации заявки: **07.05.2019** Бюл. № **13**

(45) Опубликовано: **09.07.2020** Бюл. № **19**

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на национальной фазе: **07.11.2017**

(86) Заявка PCT:
IB 2016/051960 (07.04.2016)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2016/162809 (13.10.2016)

Адрес для переписки:
109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО "Союзпатент"

(72) Автор(ы):
БАРИКОРДИ Никла (IT),
МЕРИГИ Роберто (IT)

(73) Патентообладатель(и):
ИАЛЬБЛЮ С.Р.Л. (IT)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **WO 2004063364 A1, 29.07.2004. Havener W.H. et al., Archeves of ophthalmology, American Medical association, 1959, vol. 61, N3, 390-401. US 8865685 B2, 21.10.2014. Aicha Laabich et al., Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2006, vol. 47, N 7, 3156-3157. RU 2172169 C2, 20.08.2001.**

(54) СЛОЖНЫЕ ЭФИРЫ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНА, СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В КОМПОЗИЦИЯХ ОФТАЛЬМИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение может быть использовано в офтальмологии и относится к сложному эфиру гиалуроновой кислоты, в которой по меньшей мере часть гидроксильных групп, присутствующих на остатке N-ацетилглюкозамина, этерифицирована кроцетином или биксином, композиции на его основе, способу получения указанного эфира и его применения для защиты глаз от синего света. Предложенный способ включает получение тетрабутиламмонийной соли гиалуроновой кислоты путем солеобразования ионообменной смолы с водным раствором гидроксида тетрабутиламмония с последующим промыванием смолы водой и пропусканием через нее водного раствора гиалуроната натрия, сбором и вымораживанием элюата, полученную таким образом соль затем подвергают взаимодействию с соответствующим апокаротиноидом при нагревании, карбоксильная функциональность которого активирована реакцией при комнатной температуре с карбонилдиимидазолом в

RU 2726192 C2

RU 2726192 C2

диметилформамиде, причем смесь оставляют при перемешивании, затем продукт осаждают добавлением хлорида натрия и этанола. Предложены новые эфиры гиалуроновой кислоты и композиции на их основе, эффективные для защиты глаз от синего света, а также эффективный способ их получения. 4 н. и 4 з.п. ф-лы, 6 пр.

RU 2726192 C2

RU 2726192 C2

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 726 192**(13) **C2**

(51) Int. Cl.
A61K 9/00 (2006.01)
C08B 37/00 (2006.01)
A61K 31/726 (2006.01)
A61K 31/727 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
***A61K 9/00** (2019.08); **C08B 37/00** (2019.08); **A61K 31/726** (2019.08); **A61K 31/727** (2019.08); **A61K 31/728** (2019.08); **A61P 27/02** (2019.08)*

(21)(22) Application: **2017138283, 07.04.2016**

(24) Effective date for property rights:
07.04.2016

Registration date:
09.07.2020

Priority:
(30) Convention priority:
07.04.2015 IT FI2015A000102

(43) Application published: **07.05.2019** Bull. № **13**

(45) Date of publication: **09.07.2020** Bull. № **19**

(85) Commencement of national phase: **07.11.2017**

(86) PCT application:
IB 2016/051960 (07.04.2016)

(87) PCT publication:
WO 2016/162809 (13.10.2016)

Mail address:
109012, Moskva, ul. Ilinka, 5/2, OOO "Soyuzpatent"

(72) Inventor(s):
BARICORDI, Nikla (IT),
MERIGHI, Roberto (IT)

(73) Proprietor(s):
HYALBLUE S.R.L. (IT)

RU 2726192 C2

RU 2726192 C2

(54) GLYCOSAMINOGLYCAN ESTERS, METHODS FOR PRODUCTION THEREOF AND USE THEREOF IN OPHTHALMIC COMPOSITIONS

(57) Abstract:

FIELD: ophthalmology; pharmaceutics.

SUBSTANCE: invention relates to a hyaluronic acid ester, in which at least a portion of the hydroxyl groups present on the N-acetylglucosamine residue is esterified with crocetin or bixin, compositions based thereon, a method of producing said ester and use thereof for protecting eyes from blue light. Disclosed method involves production of tetrabutylammonium salt of hyaluronic acid by salt formation of ion-exchange resin with aqueous solution of tetrabutylammonium hydroxide followed by resin washing with water and passing aqueous solution of sodium hyaluronate through it, collecting and freezing the eluate, obtained salt is then reacted with a corresponding apocarotenoid while heating, carboxylic functionality of which is activated by reaction at room temperature with carbonyldiimidazole in dimethylformamide, wherein the mixture is left while stirring, then the product is precipitated by addition of sodium chloride and ethanol.

EFFECT: disclosed are new ethers of hyaluronic acid and compositions based thereon, effective for protecting eyes from blue light, as well as an efficient method of producing said ethers.

8 cl, 6 ex

Область изобретения, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области продуктов для офтальмологического применения, в частности к этерифицированным гликозаминогликанам, полезным для защиты глаз от синего света.

Уровень техники

Как известно, электрический свет оказывает сильное влияние на циркадный ритм; в частности, искусственный свет, попадающий на сетчатку глаза в промежутке между вечерними сумерками и рассветом, ингибирует действие нейронов, способствующих сну, активирует продуцирование орексина в гипоталамусе и подавляет ночное высвобождение мелатонина, что приводит к уменьшению сонливости, повышенной концентрации внимания и нарушению сна.

Исследования, проведенные Czeisler («Casting light on sleep deficiency» Nature, 497, S13, 2013), показывают, что 30% американских офисных служащих и 44% ночных работников жалуются на то, что они спят, в среднем, менее чем 6 часов в сутки, тогда как в 1960 году только 3% американского взрослого населения спали так мало. Кроме того, в статье отмечается, что оптоэлектронные устройства со светоизлучающими диодами (LED), например телевизоры, экраны компьютеров, ноутбуки, планшеты и мобильные телефоны, используют свет белого типа, который богат синим светом. IpRGC (фоточувствительные ганглионарные клетки), которые находятся в глазу, более чувствительны к свету, который является видимым при низких длинах волн (синий и зеленый), говорит Czeisler, поэтому воздействие LED в ночные часы обычно приводит к более выраженному прерыванию циркадного ритма, секреции мелатонина и сна по сравнению с ночным воздействием света от электрических лампочек.

Другие исследования, проведенные Masuda и Watanabe (Short Wavelength Light-Induced Retinal Damage in Rats. Jpn J. Ophthalmol., 44:615-61 9, 2000), показали, что свет при длине волн 350 нм вызывает повреждение фоторецепторных клеток, тогда как свет при длине волн 441 нм повреждает пигментный эпителий сетчатки. В статье, озаглавленной «Evaluation of Blue-Light Hazards from Various Light Sources», 2002, Progress in lens and Cataract Research, Tsutomu Okuno подчеркивает, что воздействие синим светом LED в течение в среднем 270 секунд в день может привести к фотохимическому поражению сетчатки.

Этот тип повреждения сетчатки изучен Elawady A. Ibrahim (Neuroprotective Effects of Grape Seeds against Photo-Chemical Damage-Induced Retinal Cell Death. Nature and Science 9 (11):83-89, 2011): он утверждает, что длительное воздействие синего света постоянно повреждает нейроны сетчатки.

Roehlecke et al. (Influence of blue light on photoreceptors in a live retinal explants system. Molecular Vision 17: 876-884, 2011) также сообщал в исследованиях in vitro, в которых облучение синим светом на трансплантаты сетчатки вызывает ультраструктурные изменения, включающие некроз фоторецепторных клеток.

В последнее время исследования in vitro и in vivo показали, что облучение синим светом при 470 нм поражает центральную нервную систему, может привести к полному сбросу циркадного ритма (Jones - Manipulating circadian clock neuron firing rate resets molecular circadian rhythms and behavior - Nature Neuroscience, Advance Online Publication).

Хотя на рынке доступны физические защиты от синего света (такие как очки и экраны для мониторов), эти решения обычно громоздки или дороги.

Кроме того, хотя контактные линзы доступны для этой цели, последние включают такие же побочные эффекты (например, гиперемия, глазные инфекции, язвы роговицы) как и обычные линзы.

Известно также, что каротиноиды представляют собой класс органических соединений, присутствующих в растениях и других фотосинтезирующих организмах. Они обычно делятся на два класса, в зависимости от наличия или отсутствия атомов кислорода внутри молекулы: первая представляет собой молекулы ксантофиллов, а вторая включает каротины. Цвет этих молекул варьируется от светло-желтого до ярко-красного в зависимости от типа поглощаемых и отражаемых волн.

Широко задокументировано, что диета, основанная на каротиноидах, защищает от повреждений, вызванных свободными радикалами, поскольку эти соединения, богатые двойными связями PI, могут окислять и выводить вредные частицы из организма.

Продукты окислительного разложения, называемые апокаротиноидами, во многих случаях являются молекулами с дополнительными благоприятными эффектами, как в случае витамина А (ретинол, ретиноевая кислота, ретиналь), биксина и кроцетина.

Апокаротиноиды способны поглощать синий свет, как в случае биксина (Food Chemistry 141, 4: 3906-3912, 2013) и кроцина, сложного эфира кроцетина (Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 47: 3156 - 3163, 2006).

В настоящее время на рынке нет химических соединений, способных обеспечить эффективную защиту глаз от синего света, WO 2004/063363 описывает ретиноидные эфиры гиалуроновой кислоты в качестве полезных продуктов для дифференциации тотипотентных стволовых клеток.

С другой стороны, известно также, что глазные капли не являются оптимальным способом введения активных ингредиентов, поскольку они обладают низкой биодоступностью и, следовательно, подвержены эффекту низкого терапевтического ответа, главным образом из-за присутствия в глазу дренажных систем: по этой причине продукты этого типа требуют нескольких нанесений для достижения желаемого терапевтического эффекта.

Интерес к разработке соединений, которые способны защитить глаза от повреждений, вызванных излучением синего света, очевиден из вышеизложенного.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение позволяет преодолеть вышеупомянутые недостатки за счет новых сложных эфиров гликозаминогликана, в которых по меньшей мере часть гидроксильных групп, присутствующих на остатке N-ацетилглюкозамина, этерифицирована апокаротиноидом.

Гликозаминогликан согласно настоящему изобретению относится, например, к гиалуроновой кислоте, хондроитинсульфату, гепарину, гепарансульфату; гиалуроновая кислота является предпочтительной.

Среди апокаротиноидов, используемых в соответствии с изобретением, можно упомянуть ретиноевую кислоту, кроцетин, биксин, абсцизиновую кислоту.

Гиалуроновая кислота (далее HA) представляет собой природный линейный полисахарид, состоящий из чередующихся остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина в повторяющихся звеньях.

HA может использоваться в чистом виде в качестве лекарственного средства для расстройств, связанных с синдромом сухого глаза, таких как сухой кератоконъюнктивит, как описано DeLuise (Annals of Ophthalmology 16: 823-824, 1984), Laflamme (Canadian Journal of Ophthalmology 23: 174- 176, 1988) и Sand (Acta Ophthalmologica 67: 181-183, 1989).

Следует отметить, что в соответствии с настоящим изобретением, в отличие от случая других глазных капель, гиалуроновая кислота используется не в качестве эксципиента, а образует новый химический продукт путем взаимодействия с апокаротиноидом.

Продукты в соответствии с настоящим изобретением могут быть получены в

соответствии со способами, известными в уровне технике, в частности, в соответствии со способом, описанным в US 20090239822.

Например, сначала получают тетрабутиламмонийную соль гиалуроновой кислоты (HA-TBA) путем солеобразования (перевода в соль) ионообменной смолы (такой как Amberlite®) с водным раствором гидроксида тетрабутиламмония (TBAI), который перколируют через смолу, расположенную в хроматографической колонке.

После пропускания всего раствора смолу промывают водой, а затем через солевую смолу пропускают раствор гиалуроната натрия, растворенный в воде, и, наконец, элюат собирают и сушат вымораживанием.

Обычно водный раствор гидроксида тетрабутиламмония имеет концентрацию 15-45%, предпочтительно 30-40%, более предпочтительно 40%; в то время как раствор гиалуроната натрия в воде обычно имеет концентрацию 1,5-4,5 г/л, предпочтительно 3 г/л.

Соль (HA-TBA), полученную, как описано выше, затем подвергают взаимодействию с выбранным апокаротиноидом при нагревании. Карбоксильную функцию апокаротиноида активируют реакцией с карбонилдиимидазолом при комнатной температуре; полученное соединение медленно добавляют к гелю HA-TBA в диметилформамиде.

Смесь оставляют при перемешивании между 25 и 35°C в течение 12-20 часов, затем продукт осаждают добавлением хлорида натрия и этанола.

Степень замещения апокаротиноидом в сложных эфирах согласно изобретению составляет 0,1-5%, где термин «степень замещения» указывает на количество моль апокаротиноида на моль гликозаминогликана.

Сложные эфиры согласно изобретению обычно имеют молекулярную массу 350000-2000000 Дальтон, что указывает на среднюю молекулярную массу гликозаминогликана без учета вклада остатка апокаротиноида.

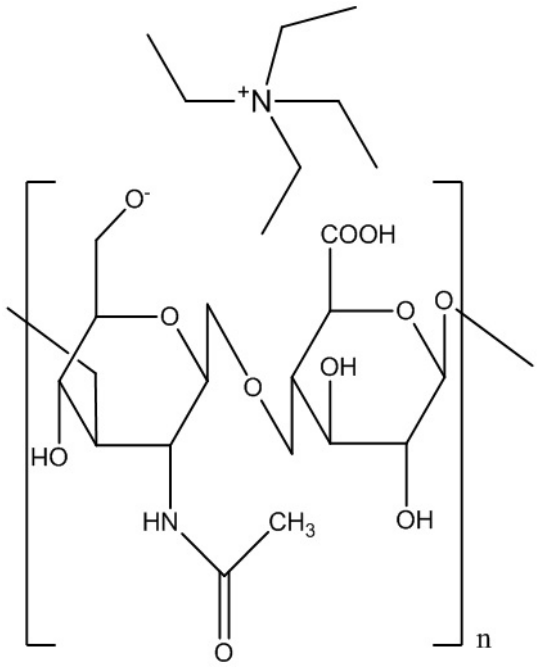
Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть приготовлены в формах, известных в фармакопее, как подходящие для офтальмологического введения.

Например, их можно приготовить в виде 0,1-1% раствора соединения в очищенной воде с возможным добавлением полиэтиленгликолей для увеличения вязкости и хлорида бензалкония или хлоргексидина в качестве консервантов (в качестве альтернативы можно рассмотреть возможность упаковки по одной дозе).

Приведенные ниже примеры иллюстрируют заявленное техническое решение более подробно.

Пример 1

Получение тетрабутиламмониевой соли гиалуроновой кислоты (HA-TBA)



где n составляет от 250 до 5000.

Используют ионообменную смолу (Amberlite® в кислотной форме), имеющую обменную емкость 1,9 экв/л.

1 л смолы загружают в хроматографическую колонку и затем промывают деминерализованной водой, а затем водный раствор 40% гидроксида тетрабутиламмония (TBAI) перколируют через смолу сверху с использованием перистальтического насоса.

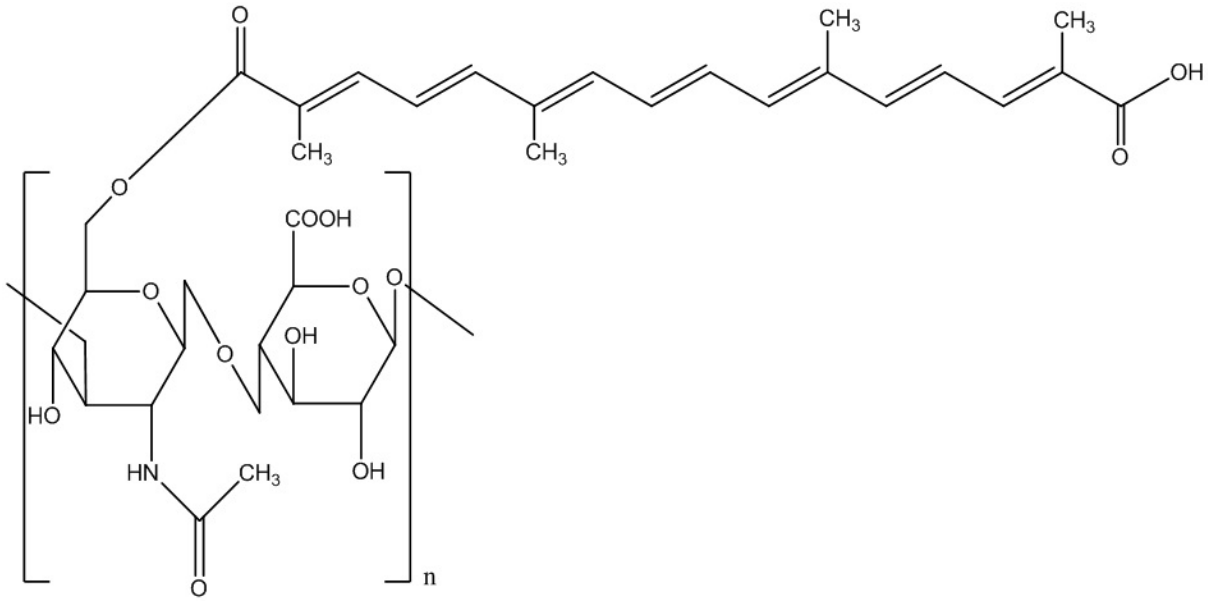
После пропускания всего раствора смолу промывают деминерализованной водой до тех пор, пока элюат не будет иметь постоянный pH 9,5-10.

Один литр смолы, переведенный таким образом в соль, позволяет получить около 75-80 г соли гиалуроната натрия.

Гиалуронат натрия растворяют в воде (концентрация около 3 г/л) и полученный гель подают в колонку, содержащую предварительно приготовленную смолу. Элюат собирают и сушат вымораживанием.

Пример 2

Получение сложного эфира гиалуроновой кислоты с кроцетином



где n составляет от 250 до 5000

1,5 г НА-ТВА растворяют в 500 мл ДМФА в реакторе с термостатом и помещают при перемешивании при 30°С.

0,8 г кроцетина растворяют в 400 мл ДМФА в реакторе, защищенном от влаги, и добавляют к смеси 1 экв. N,N-карбонилдиимидазол.

Через 1 ч раствор медленно добавляют к гелю НА-ТВА и полученную таким образом смесь перемешивают при 30°С в течение 16 часов.

Реакцию останавливают добавлением 90 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Продукт осаждают добавлением 96% объема этанола; надосадочную жидкость отделяют и отфильтрованный остаток несколько раз промывают этанолом в разных концентрациях и затем сушат в вакууме.

Полученный продукт имеет степень замещения 0,5%.

Пример 3

Получение сложного эфира гиалуроновой кислоты с кроцетином

1,5 г НА-ТВА растворяют в 500 мл ДМФА в реакторе с термостатом и помещают при перемешивании при 30°С.

0,4 г кроцетина растворяют в 200 мл ДМФА в реакторе, защищенном от влаги, и добавляют к смеси 1 экв. N,N-карбонилдиимидазола.

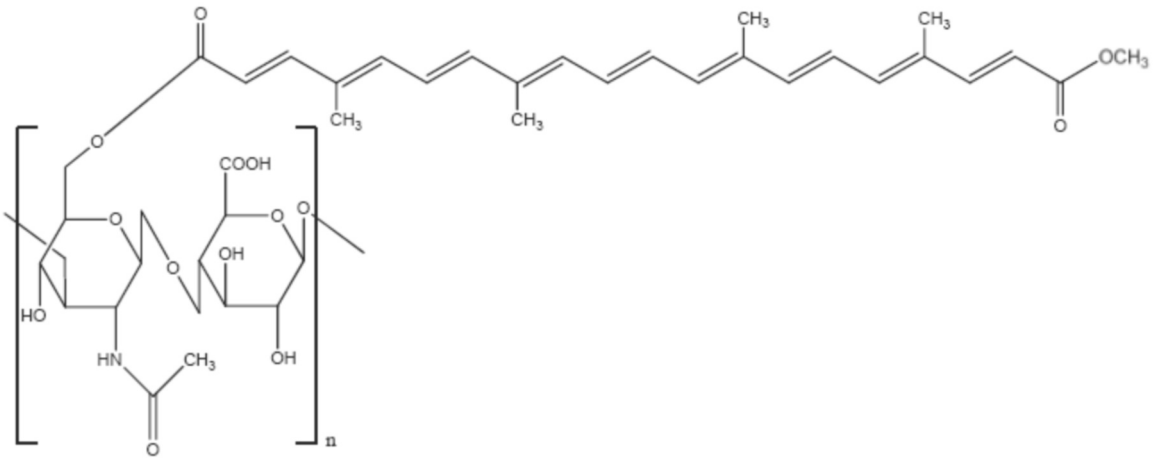
Через 1 ч раствор медленно добавляют к гелю НА-ТВА и полученную таким образом смесь перемешивают при 30°С в течение 16 часов.

Реакцию останавливают добавлением 70 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Продукт осаждают добавлением 96% объема этанола; надосадочную жидкость отделяют и отфильтрованный остаток несколько раз промывают этанолом в разных концентрациях и затем сушат в вакууме.

Полученный продукт имеет степень замещения 0,25%.

Пример 4

Получение сложного эфира гиалуроновой кислоты с биксином



где n составляет от 250 до 5000

1,5 г НА-ТВА растворяют в 500 мл ДМФА в реакторе с термостатом и помещают при перемешивании при 30°С.

0,95 г биксина растворяют в 450 мл ДМФА в реакторе, защищенном от влаги, и добавляют к смеси 1 экв. N,N-карбонилдиимидазола.

Через 1 ч раствор медленно добавляют к гелю НА-ТВА и полученную таким образом

смесь перемешивают при 30°С в течение 16 часов.

Реакцию останавливают добавлением 90 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Продукт осаждают добавлением 96% объема этанола; надосадочную жидкость отделяют и отфильтрованный остаток несколько раз промывают этанолом в разных концентрациях и затем сушат в вакууме.

Полученный продукт имеет степень замещения 0,4%.

Пример 5

Получение сложного эфира гиалуроновой кислоты с биксином

1,5 г НА-ТВА растворяют в 500 мл ДМФА в реакторе с термостатом и помещают при перемешивании при 30°С.

0,5 г биксина растворяют в 250 мл ДМФ в реакторе, защищенном от влаги, и добавляют к смеси 1 экв. N N-карбонилдиимидазола.

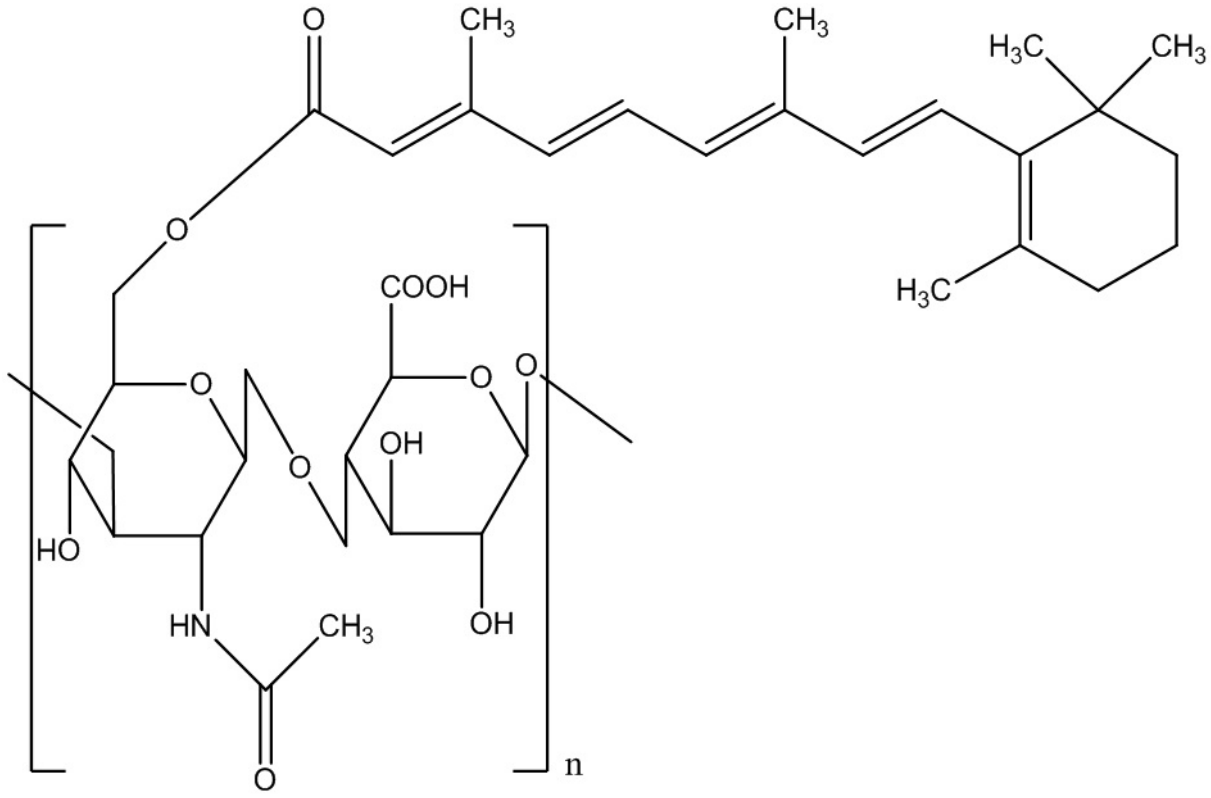
Через 1 ч раствор медленно добавляют к гелю НА-ТВА и полученную таким образом смесь перемешивают при 30°С в течение 16 часов.

Реакцию останавливают добавлением 80 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Продукт осаждают добавлением 96% объема этанола; надосадочную жидкость отделяют и отфильтрованный остаток несколько раз промывают этанолом в разных концентрациях и затем сушат в вакууме.

Полученный продукт имеет степень замещения 0,15%.

Пример 6

Получение сложного эфира гиалуроновой кислоты с ретиноевой кислотой



где n составляет от 250 до 5000.

1,5 г НА-ТВА растворяют в 500 мл ДМФА в реакторе с термостатом и помещают при перемешивании при 30°С.

0,7 г ретиноевой кислоты растворяют в 350 мл ДМФА в реакторе, защищенном от влаги, и добавляют к смеси 1 экв. N,N-карбонилдиимидазола.

Через 1 ч раствор медленно добавляют к гелю НА-ТВА и полученную таким образом смесь перемешивают при 30°С в течение 16 часов.

Реакцию останавливают добавлением 90 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Продукт осаждают добавлением 96% объема этанола; надосадочную жидкость отделяют и отфильтрованный остаток несколько раз промывают этанолом в разных концентрациях и затем сушат в вакууме.

Полученный продукт имеет степень замещения 0,2%.

(57) Формула изобретения

1. Сложный эфир гликозаминогликана, в котором по меньшей мере часть гидроксильных групп, присутствующих на остатке N-ацетилглюкозамина, этерифицирована с апокаротиноидом, где указанный апокаротиноид является кроцетином или биксином, а указанный гликозаминогликан является гиалуроновой кислотой.

2. Сложный эфир по п. 1, в котором указанный апокаротиноид является биксином.

3. Сложный эфир по п. 1, в котором степень замещения апокаротиноидом в сложном эфире составляет от 0,1 до 5%, а молекулярная масса указанного сложного эфира составляет от 350000 до 2000000 дальтон.

4. Способ получения сложного эфира гиалуроновой кислоты по любому из пп. 1-3, в котором по меньшей мере часть гидроксильных групп, присутствующих на остатке N-ацетилглюкозамина, этерифицирована с апокаротиноидом, выбранным из кроцетина и биксина, в котором:

- сначала получают тетрабутиламмонийную соль гиалуроновой кислоты путем солеобразования ионообменной смолы с водным раствором гидроксида тетрабутиламмония;

- смолу промывают водой и через нее пропускают раствор гиалуроната натрия, растворенного в воде, собирая, таким образом, элюат и высушивая его вымораживанием;

- полученную таким образом соль подвергают взаимодействию при нагревании с апокаротиноидом, выбранным из кроцетина и биксина, карбоксильная функциональность которого активирована реакцией при комнатной температуре с карбонилдиимидазолом в диметилформамиде;

- смесь оставляют при перемешивании, затем продукт осаждают добавлением хлорида натрия и этанола.

5. Применение сложного эфира гликозаминогликана по любому из пп. 1-3 для защиты глаз от синего света.

6. Композиция для офтальмологического применения, содержащая по меньшей мере один сложный эфир гликозаминогликана по любому из пп. 1-3.

7. Композиция по п. 6, имеющая форму 0,1-1% раствора соединения в очищенной воде, необязательно в присутствии полиэтиленгликолей, бензалкония хлорида или хлоргексидина.

8. Композиция по п. 6 или 7, имеющая форму глазных капель.