



(51) МПК
A61K 9/22 (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
A61P 13/10 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/192 (2018.08); *A61K 31/4375* (2018.08); *A61P 13/10* (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2014142025, 13.03.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 13.03.2013Дата регистрации:
 12.10.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
 19.03.2012 US 13/424,000;
 04.06.2012 US 13/487,348

(43) Дата публикации заявки: 10.05.2016 Бюл. № 13

(45) Опубликовано: 12.10.2018 Бюл. № 29

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
 национальной фазе: 20.10.2014(86) Заявка РСТ:
 US 2013/030901 (13.03.2013)(87) Публикация заявки РСТ:
 WO 2013/142197 (26.09.2013)Адрес для переписки:
 129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, строение
 3, ООО "Юридическая фирма Городисский и
 Партнеры"

(72) Автор(ы):

ДИЛЛ Дэвид А. (US)

(73) Патентообладатель(и):

УЭЛЛСЛИ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
 ЭлЭлСи (US)(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: SONG Y.S. et al. Zolpidem
 pharmacotherapy combined with alpha-blocker
 therapy for nocturia unresponsive to alpha-
 blocker monotherapy in men with lower
 urinary tract symptoms: a preliminary study//
 Int Urol Nephrol. 2007; 39(4): 1147-52, abstract.
 RU 2307651 C2, 10.10.2007. US 2012010294 A1,
 12.01.2012. ЛОПАТКИН Н.А. под ред.
 "Урология"// М., (см. прод.)

2 6 6 9 5 6 5 C 2

R U 2 6 6 9 5 6 5 C 2

(54) ПРЕПАРАТ ДЛИТЕЛЬНОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ЧАСТОТЫ
 МОЧЕИСПУСКАНИЯ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к медицине, а
 именно к урологии, и может быть использована
 для снижения частоты мочеиспускания. Для этого
 субъекту вводят фармацевтическую композицию,
 состоящую из эффективных количеств золпидема,
 составленного для немедленного высвобождения,
 и одного или более анальгетических средств,
 составленных для длительного или отсроченного
 высвобождения. Для этого субъекту вводят
 фармацевтическую композицию, состоящую из
 эффективных количеств золпидема, составленного
 для немедленного высвобождения, и одного или
 более анальгетических средств, составленных
 для длительного или отсроченного высвобождения.

Также предложена

фармацевтическая композиция, состоящая из
 эффективных количеств золпидема, составленного
 для немедленного высвобождения, и одного или
 более анальгетических средств, составленных
 для длительного или отсроченного высвобождения. Группа изобретений
 обеспечивает эффективное подавление
 сокращений гладкой мускулатуры мочевого
 пузыря. 2 н.п. ф-лы, 9 табл., 8 пр., 1 ил.

(56) (продолжение):

"ГЭОТАР-Медиа", 2002, с.216, абзац 3. DUTHIE J.B. et al. Botulinum toxin injections for adults with overactive bladder syndrome// Cochrane Database Syst Rev. 2011, Dec 7;(12): CD005493. SAITO M. et al. Urodynamic effects and safety of modified intravesical oxybutynin chloride in patients with neurogenic detrusor overactivity: 3 years experience// Int J Urol. 2004 Aug;11(8):592-6.

R U 2 6 6 9 5 6 5 C 2

R U 2 6 6 9 5 6 5 C 2



(51) Int. Cl.

A61K 9/22 (2006.01)

A61K 31/192 (2006.01)

A61K 31/4375 (2006.01)

A61P 13/10 (2006.01)

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 31/192 (2018.08); A61K 31/4375 (2018.08); A61P 13/10 (2018.08)

(21)(22) Application: 2014142025, 13.03.2013

(24) Effective date for property rights:
13.03.2013Registration date:
12.10.2018

Priority:

(30) Convention priority:
19.03.2012 US 13/424,000;
04.06.2012 US 13/487,348

(43) Application published: 10.05.2016 Bull. № 13

(45) Date of publication: 12.10.2018 Bull. № 29

(85) Commencement of national phase: 20.10.2014

(86) PCT application:
US 2013/030901 (13.03.2013)(87) PCT publication:
WO 2013/142197 (26.09.2013)Mail address:
129090, Moskva, ul. B. Spasskaya, 25, stroenie 3,
OOO "Yuridicheskaya firma Gorodisskij i
Partnery"

(72) Inventor(s):

DILL Devid A. (US)

(73) Proprietor(s):

UELLSLI FARMASYUTIKALZ, EIEISi (US)

R U
2 6 6 9 5 6 5
C 2
C 5
C 6
C 9
C 6
C 2
R U

(54) EXTENDED-RELEASE FORMULATION FOR REDUCING THE FREQUENCY OF URINATION AND METHOD OF USE THEREOF

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: group of inventions relates to medicine, namely to urology, and can be used to reduce the frequency of urination. For this, a pharmaceutical composition comprising effective amounts of zolpidem formulated for immediate release, and one or more analgesic agents formulated for extended or delayed release. Also provided is a pharmaceutical composition

consisting of effective amounts of zolpidem formulated for immediate release, and one or more analgesic agents formulated for extended or delayed release.

EFFECT: group of inventions provides the effective suppression of smooth muscle contraction of the bladder.

2 cl, 9 tbl, 8 ex, 1 dwg

Для данной заявки испрашивается приоритет по патентной заявке США, регистрационный № 13/424000, поданной 19 марта 2012 г., в настоящее время патент США № 8236857, и патентной заявке США, регистрационный № 13/487348, поданной 4 июня 2012 г. Полное содержание вышеупомянутых заявок включено в настоящий

5 документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящая заявка, в целом, относится к способам и композициям для подавления сокращения мышц, в частности, к способам и композициям для подавления сокращения гладких мышц мочевого пузыря.

10 УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Мышца детрузор представляет собой слой стенки мочевого пузыря, состоящий из гладких мышечных волокон, собранных в спиральные, продольные и кольцевые пучки. Когда мочевой пузырь растягивается, подается сигнал парасимпатической нервной системе на сокращение мышцы детрузора. Это стимулирует удаление мочи из мочевого

15 пузыря через мочеиспускательный канал.

Для вытекания мочи из мочевого пузыря должен быть открыт как автономно контролируемый внутренний сфинктер, так и сознательно контролируемый внешний сфинктер. Проблемы с этими мышцами могут приводить к недержанию мочи. Если количество мочи достигает 100% абсолютной емкости мочевого пузыря, сознательно

20 управляемый сфинктер становится неуправляемым и моча сразу же вытекает.

Мочевой пузырь взрослого человека, как правило, удерживает примерно 300-350 мл мочи (рабочий объем), однако полный мочевой пузырь взрослого человека может удерживать примерно до 1000 мл мочи (абсолютный объем), с индивидуальными вариациями. По мере накопления мочи гребни, образующиеся в результате складывания 25 стенки мочевого пузыря (складки), уплощаются и стенка мочевого пузыря утончается при растяжении, что позволяет мочевому пузырю удерживать большие количества мочи без значительного повышения внутреннего давления.

У большинства людей желание помочиться обычно возникает, когда объем мочи в мочевом пузыре достигает примерно 200 мл. На этой стадии человеку несложно, если

30 нужно, удержаться от желания помочиться. По мере того, как мочевой пузырь продолжается заполняться, желание помочиться становится все сильнее и его все труднее

игнорировать. В конечном итоге мочевой пузырь заполняется до такой степени, когда позывы к мочеиспусканию становятся непреодолимыми и человек больше не в состоянии 35 их игнорировать. У некоторых людей желание помочиться возникает, когда мочевой

пузырь полон менее чем на 100% его рабочего объема. Такое повышенное желание мочиться может мешать нормальной деятельности, в том числе возможности спать в течение достаточно долгих периодов непрерывного отдыха. В некоторых случаях такое повышенное желание мочиться может быть связано с медицинскими состояниями, такими как доброкачественная гиперплазия предстательной железы или рак

40 предстательной железы у мужчин, или беременность у женщин. Однако повышенное желание мочиться также возникает у людей, как мужчин, так и женщин, которые не страдают от другого медицинского состояния.

Соответственно, существует потребность в композициях и способах для лечения мужчин и женщин, страдающих от позывов к мочеиспусканию, когда их мочевой пузырь

45 полон менее чем на 100% его рабочего объема. Указанные композиции и способы нужны для подавления мышечного сокращения с тем, чтобы позывы к мочеиспусканию могли возникать у указанных людей, когда объем мочи в мочевом пузыре превышает примерно 100% его рабочего объема.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Один аспект настоящей заявки относится к способу снижения частоты мочеиспускания. Способ включает введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей: активный ингредиент, включающий одно или более анальгетических средств в количестве 50-400 мг для каждого средства, причем указанные одно или более анальгетические средства выбирают из группы, состоящей из аспирина, ибuproфена, напроксена, напроксена натрия, индометацина, набуметона и ацетаминофена, при этом указанная фармацевтическая композиция составлена для длительного высвобождения, так что указанный активный ингредиент высвобождается непрерывно в течение 5-24 часов. Способ можно использовать для лечения никтурии или гиперактивного мочевого пузыря.

Другой аспект настоящей заявки относится к способу снижения частоты мочеиспускания. Способ включает введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей: активный ингредиент, включающий одно или более анальгетических средств в количестве 50-400 мг для каждого средства, причем указанные одно или более анальгетические средства выбирают из группы, состоящей из аспирина, ибuproфена, напроксена, напроксена натрия, индометацина, набуметона и ацетаминофена, при этом указанная фармацевтическая композиция составлена для длительного высвобождения, характеризующегося двухфазным профилем высвобождения, в котором 20-60% указанного активного ингредиента высвобождается в течение двух часов после введения и остаток указанного активного ингредиента высвобождается непрерывно в течение 5-24 часов. Способ можно использовать для лечения никтурии или гиперактивного мочевого пузыря.

Другой аспект настоящей заявки относится к способу снижения частоты мочеиспускания, включающему введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества ботулотоксина, причем указанный ботулотоксин вводят инъекцией в мышцу мочевого пузыря, и пероральное введение указанному субъекту фармацевтической композиции, содержащей: активный ингредиент, включающий одно или более анальгетических средств в количестве 50-400 мг для каждого средства, причем указанные одно или более анальгетических средств выбирают из группы, состоящей из аспирина, ибuproфена, напроксена, напроксена натрия, индометацина, набуметона и ацетаминофена, при этом указанная фармацевтическая композиция составлена для длительного высвобождения. Способ можно использовать для лечения никтурии или гиперактивного мочевого пузыря.

Другой аспект настоящей заявки относится к способу снижения частоты мочеиспускания, включающему введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества одного или более анальгетических средств и эффективного количества золпидема. Способ можно использовать для лечения никтурии или гиперактивного мочевого пузыря.

Другой аспект настоящей заявки относится к способу снижения частоты мочеиспускания, включающему введение указанному субъекту фармацевтической композиции, содержащей: одно или более анальгетических средств и антидиуретик, при этом указанные одно или более анальгетических средств составлены для отсроченного высвобождения и указанный антидиуретик составлен для немедленного высвобождения. Способ можно использовать для лечения никтурии или гиперактивного мочевого пузыря.

Другой аспект настоящей заявки относится к фармацевтической композиции, содержащей активный ингредиент, включающий одно или более анальгетических

средств, золпидем и фармацевтически приемлемый носитель.

Другой аспект настоящей заявки относится к фармацевтической композиции, содержащей одно или более анальгетических средств и антидиуретик, при этом указанные одно или более анальгетических средств составлены для отсроченного 5 высвобождения и указанный антидиуретик составлен для немедленного высвобождения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

На фиг. 1А и 1В приведены диаграммы, демонстрирующие, что анальгетики регулируют экспрессию костимулирующих молекул клетками макрофагов Raw 264 в отсутствие (фиг. 1А) или в присутствии (фиг. 1В) ЛПС. Клетки культивировали в течение 10 24 часов в присутствии только анальгетика или анальгетика вместе с ЛПС *Salmonella typhimurium* (0,05 мкг/мл). Результаты представляют собой средние относительные значения в % для CD40+CD80+ клеток.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Следующее подробное описание приведено с целью помочи специалистам в данной

15 области осуществлять и применять данное изобретение. Для целей разъяснения приведена определенная номенклатура, чтобы обеспечить полное понимание настоящего изобретения. Однако для специалиста в данной области будет очевидно, что эти конкретные детали не являются необходимыми для применения на практике изобретения. Описания конкретных вариантов применения приведены только в качестве 20 иллюстративных примеров. Настоящее изобретение не должно быть ограничено приведенными вариантами осуществления, а должно соответствовать наиболее широкому возможному объему, совместимому с принципами и признаками, раскрытыми в настоящем документе.

Используемый в настоящем документе термин «эффективное количество» означает

25 количество, необходимое для достижения выбранного результата.

Используемый в настоящем документе термин «анальгетик» относится к средствам, соединениям или лекарственным средствам, используемым для облегчения боли, включая противовоспалительные соединения. Типичные анальгетические и/или 30 противовоспалительные средства, соединения или лекарственные средства включают, но не ограничиваются ими, следующие вещества: нестериоидные противовоспалительные лекарственные средства (НПВС), салицилаты, аспирин, салициловую кислоту, метилсалицилат, дифлунизал, салсалат, олсалазин, сульфасалазин, производные парааминофенола, ацетанилид, ацетаминофен, фенацетин, фенаматы, мефенамовую кислоту, меклофенамат, меклофенамат натрия, производные гетероарилуксусной 35 кислоты, толметин, кеторолак, диклофенак, производные пропионовой кислоты, ибuproфен, напроксена натрий, напроксен, фенопрофен, кетопрофен, флурубипрофен, оксапрозин; енольные кислоты, производные оксикама, пироксикам, мелоксикам, теноксикам, ампироксикам, дроксикам, пивоксикам, производные пиразолона, фенилбутазон, оксифенбутазон, антипирин, аминопирин, дипирон, коксибы, целекоксиб, 40 рофекоксиб, набуметон, апазон, индометацин, сулиндак, этодолак, изобутилфенилпропионовую кислоту, люмиракоксиб, эторикоксиб, парекоксиб, вальдекоксиб, тиракоксиб, этодолак, дарбуфелон, декскетопрофен, ацеклофенак, ликофелон, бромфенак, локсопрофен, пранопрофен, пироксикам, нимесулид, цизолиртин, 3-формиламино-7-метилсульфониламино-6-фенокси-4Н-1-бензопиран-4-45 он, мелоксикам, лорноксикам, д-индолбуфен, мофезолак, амтолметин, пранопрофен, толфенамовую кислоту, флурубипрофен, супрофен, оксапрозин, залтопрофен, алминопрофен, тиапрофеновую кислоту, ее фармакологические соли, ее гидраты и ее сольваты.

Используемые в настоящем документе термины «коксиб» и «ингибитор COX» относятся к композиции соединений, которые способны ингибировать активность или экспрессию ферментов COX2 или способны ингибировать или снижать тяжесть, включая боль и отек, тяжелого воспалительного ответа.

5 Используемый в настоящем документе термин «производное» относится к химически модифицированному соединению, в котором модификация признается обычной квалифицированным химиком, например, сложный эфир или амид кислоты, защитные группы, например, бензильная группа для спирта или тиола и трет-бутоксиарбонильная группа для амина.

10 Используемый в настоящем документе термин «аналог» относится к соединению, которое представляет собой химически модифицированную форму конкретного соединения или его класса и которое сохраняет фармацевтические и/или фармакологические активности, характерные для указанного соединения или класса.

15 Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемые соли» относится к производным описанных соединений в случаях, когда исходное соединение модифицировано путем образования из него кислых или основных солей. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соли минеральных или органических кислот с основаниями, такими как амины; соли щелочей или органических оснований с кислотами, такими как карбоновые кислоты, и тому подобное. Фармацевтически приемлемые соли включают общепринятые нетоксичные соли или четвертичные соли аммония исходного соединения, образованные, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Например, такие общепринятые нетоксичные соли включают соли, полученные из неорганических кислот, таких как хлористоводородная, бромистоводородная, серная, сульфаминовая, фосфорная, азотная и тому подобное; и соли, полученные из органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, янтарная, гликолевая, стеариновая, молочная, яблочная, виннокаменная, лимонная, аскорбиновая, памовая, малеиновая, гидроксималеиновая, фенилуксусная, глютаминовая, бензойная, салициловая, сульфаниловая, 2-ацетоксибензойная, фумаровая, толуолсульфоновая, метансульфоновая, этандисульфоновая, щавелевая, изетионовая и тому подобные.

20 Используемое в настоящем документе выражение «фармацевтически приемлемый» используют применительно к соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые, в рамках здравого медицинского суждения, подходят для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, 25 раздражения, аллергических реакций или других проблем или осложнений, с разумным соотношением польза/риска.

30 Используемый в настоящем документе термин «субъект» или «пациент» охватывает млекопитающих. В одном аспекте млекопитающее является человеком. В другом аспекте млекопитающее является приматом, отличным от человека, таким как шимпанзе и 35 другие виды человекообразных обезьян и обезьян. В одном аспекте млекопитающее является домашним животным, таким как кролик, собака или кошка. В другом аспекте млекопитающее является сельскохозяйственным животным, таким как крупный рогатый скот, лошадь, овца, коза или свинья. В другом аспекте млекопитающее является лабораторным животным, включая грызунов, таких как крысы, мыши и морские свинки, 40 и тому подобное.

45 Мочевой пузырь имеет две важные функции: хранение мочи и опорожнение. Хранение мочи происходит при низком давлении, что означает, что мышца детрузора расслабляется во время фазы заполнения. Опорожнение мочевого пузыря требует

скоординированного сокращения детрузора и расслабления мышц сфинктера мочеиспускательного канала. Нарушение функции хранения может приводить к появлению симптомов со стороны нижних мочевыводящих путей, таких как неотложные позывы к мочеиспусканию, частое мочеиспускание и недержание мочи, компоненты

5 синдрома гиперактивного мочевого пузыря. Синдром гиперактивного мочевого пузыря, который может быть связан с непроизвольными сокращениями гладкой мускулатуры мочевого пузыря (детрузора) на стадии хранения, является обычной и замалчиваемой проблемой, распространность которой только недавно была оценена.

Один аспект настоящей заявки относится к способу снижения частоты мочеиспускания

10 путем введения человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, составленной в препарат длительного высвобождения. Фармацевтическая композиция содержит одно или более анальгетических средств и необязательно одно или более антимускариновых средств, одно или более антидиуретических средств, один или более спазмолитиков и/или золпидем. Способ можно использовать для лечения никтурии или

15 гиперактивного мочевого пузыря.

«Длительное высвобождение», также известное как замедленное высвобождение (SR), замедленное действие (SA), высвобождение с выдержкой времени (TR), контролируемое высвобождение (CR), модифицированное высвобождение (MR) или непрерывное высвобождение (CR), представляет собой используемый в медицине

20 механизм, когда таблетки или капсулы растворяются медленно и высвобождают активный ингредиент в течение долгого времени. Преимущества таблеток или капсул длительного высвобождения заключаются в том, что их зачастую можно принимать реже, чем препараты немедленного высвобождения того же самого лекарственного средства, и в том, что они поддерживают более стабильные уровни лекарственного

25 средства в крови, таким образом продлевая срок действия лекарственного средства и снижая пиковое количество лекарственного средства в крови. Например, анальгетик длительного высвобождения может позволить человеку спать всю ночь, не просыпаясь для посещения туалета.

В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция составлена для

30 длительного высвобождения путем помещения активного ингредиента в матрицу из нерастворимого вещества (веществ), такого как акрилы или хитин. Форма длительного высвобождения предназначена для высвобождения анальгетического соединения с заданной скоростью с целью поддержания постоянного уровня лекарственного средства в течение определенного периода времени. Это может быть достигнуто с помощью

35 различных препаратов, включая, но не ограничиваясь ими, липосомы и конъюгаты лекарственное средство-полимер, такие как гидрогели.

Препарат длительного высвобождения может быть разработан для высвобождения активных средств с заданной скоростью так, чтобы поддерживать постоянный уровень лекарственного средства в течение определенного, продолжительного периода времени,

40 например, вплоть до примерно 24 часов, примерно 20 часов, примерно 16 часов, примерно 12 часов, примерно 10 часов, примерно 9 часов, примерно 8 часов, примерно 7 часов, примерно 6 часов, примерно 5 часов, примерно 4 часов, примерно 3 часов, примерно 2 часов или примерно 1 часа после введения или после лаг-периода, связанного с отсроченным высвобождением лекарственного средства.

45 В некоторых предпочтительных вариантах осуществления активные средства высвобождаются в течение интервала времени от примерно 2 до примерно 10 часов. Альтернативно активные средства могут высвобождаться на протяжении примерно 3, примерно 4, примерно 5, примерно 6, примерно 7, примерно 8, примерно 9, примерно

10 часов, примерно 12 часов, примерно 16 часов, примерно 20 часов или примерно 24 часов. В других вариантах осуществления активные средства высвобождаются в течение периода времени от примерно трех до примерно восьми часов после введения.

В некоторых вариантах осуществления препарата длительного высвобождения

- 5 содержит активное ядро, состоящее из одной или более инертных частиц, каждая в виде шарика, гранулы, пилюли, гранулированной частицы, микрокапсул, микросферы, микрогранулы, нанокапсул или наносферы, с нанесенными на их поверхность лекарственными средствами в форме, например, содержащего лекарственное средство покрытия или пленкообразующей композиции, с использованием, например, методики
- 10 псевдоожиженного слоя или других методологий, известных специалистам в данной области. Инертная частица может иметь разный размер при условии, что она достаточно велика, чтобы оставаться плохо растворимой. Альтернативно активное ядро можно получать путем гранулирования и измельчения и/или путем экструзии и сферонизации полимерной композиции, содержащей лекарственное средство.

- 15 Активные средства можно вводить в инертный носитель с помощью методов, известных специалисту в данной области, таких как насыщивание лекарственного средства, порошковое покрытие, экструзия/сферонизация, вальцевание или грануляция. Количество лекарственного средства в ядре будет зависеть от дозы, которая требуется, и, как правило, варьируется от примерно 5 до 90 массовых %. Как правило, полимерное
- 20 покрытие на активном ядре будет составлять от примерно 1 до 50%, исходя из массы покрытой частицы, в зависимости от необходимого лаг-периода и/или выбранных полимеров и растворителей для покрытия. Специалисты в данной области смогут выбрать соответствующее количество лекарственного средства для покрытия или включения в ядро, чтобы добиться желаемой дозировки. В одном варианте
- 25 осуществления неактивное ядро может представлять собой сахарную сферу или кристалл буфера, или инкапсулированный кристалл буфера, например, карбоната кальция, бикарбоната натрия, фумаровой кислоты, виннокаменной кислоты и так далее, который изменяет микросреду лекарственного средства для облегчения его высвобождения.

В препаратах длительного высвобождения можно использовать различные покрытия

- 30 или механизмы длительного высвобождения, способствующие постепенному высвобождению активных средств с течением времени. В некоторых вариантах осуществления средства длительного высвобождения содержит полимер, контролирующий высвобождение за счет контролируемого растворения. В конкретном варианте осуществления активное средство(а) включено в матрицу, содержащую
- 35 нерастворимый полимер и частицы или гранулы лекарственного средства, покрытые полимерными материалами различной толщины. Полимерный материал может содержать липидный барьер, включающий восковой материал, такой как карнаубский воск, пчелиный воск, спермацетовый воск, канделильский воск, шеллаковый воск, масло какао, цетостеариловый спирт, частично гидрогенизованные растительные масла,
- 40 церезин, парафиновый воск, церезин, миристиловый спирт, стеариловый спирт, цетиловый спирт и стеариновая кислота, наряду с сурфактантами, такими какmonoолеат полиоксиэтиленсорбитана. При контакте с водной средой, такой как биологические жидкости, полимерное покрытие эмульгируется или эродирует после заранее определенного лаг-периода, зависящего от толщины полимерного покрытия. Лаг-период не зависит от желудочно-кишечной моторики, pH или нахождения в желудке.
- 45

В других вариантах осуществления средства длительного высвобождения содержит полимерную матрицу, осуществляющую контролируемое высвобождение за счет диффузии. Матрица может содержать один или более гидрофильных и/или набухающих

в воде образующих матрицу полимеров, рН-зависимых полимеров и/или рН-независимых полимеров.

В одном варианте осуществления препарата длительного высвобождения содержит водорастворимый или набухающий в воде, образующий матрицу полимер, необязательно 5 содержащий один или более увеличивающих растворимость эксципиентов и/или способствующие высвобождению средства. При солюбилизации водорастворимого полимера активное средство(а) растворяется (если оно растворимо) и постепенно диффундирует через гидратированную часть матрицы. Слой геля увеличивается со временем по мере того, как все больше воды проникает в ядро матрицы, увеличивая 10 толщину слоя геля и обеспечивая диффузионный барьер для высвобождения лекарственного средства. Когда внешний слой становится полностью гидратированным, полимерные цепи становятся полностью расслабленными и больше не могут поддерживать целостность слоя геля, что приводит к распусканию и эрозии внешнего 15 гидратированного полимера на поверхности матрицы. Вода продолжает проникать в ядро через слой геля до тех пор, пока оно полностью не эродирует. При том, что растворимые лекарственные средства высвобождаются за счет такого сочетания механизмов диффузии и эрозии, эрозия является преобладающим механизмом для 20 нерастворимых лекарственных средств, независимо от дозы.

Аналогично набухающие в воде полимеры, как правило, гидратируются и набухают 25 в биологических жидкостях, образуя гомогенную матричную структуру, которая сохраняет свою форму в процессе высвобождения лекарственного средства и служит носителем для лекарственного средства, усилителей растворимости и/или стимуляторов высвобождения. Результатом начальной фазы гидратации матричного полимера является медленное высвобождение лекарственного средства (лаг-фаза). После того, как 30 набухающий в воде полимер становится полностью гидратированным и набухшим, вода внутри матрицы может аналогичным образом растворять лекарственное средство и делать возможной его диффузию наружу через покрытие матрицы.

Кроме того, пористость матрицы может быть увеличена за счет вымывания рН- 35 зависимых стимуляторов высвобождения так, чтобы лекарственное средство высвобождалось с большей скоростью. Затем скорость высвобождения лекарственного средства становится постоянной и зависит от диффузии лекарственного средства через гидратированный полимерный гель. Скорость высвобождения из матрицы зависит от различных факторов, включая тип и уровень содержания полимера; растворимость и дозу лекарственного средства; соотношение полимер : лекарственное средство; тип и 40 уровень содержания наполнителя; соотношение полимера и наполнителя; размер частиц лекарственного средства и полимера, а также пористость и форму матрицы.

Типичные гидрофильные и/или набухающие в воде образующие матрицу полимеры включают, но не ограничиваются ими, целлюлозные полимеры, включая гидроксиалкилцеллюлозы и карбоксиалкилцеллюлозы, такие как 45 гидроксипропилметилцеллюлоза (HPMC), гидроксипропилцеллюлоза (HPC), гидроксиэтилцеллюлоза (HEC), метилцеллюлоза (MC), карбоксиметилцеллюлоза (CMC), порошковая целлюлоза, такая как микрокристаллическая целлюлоза, целлюлозы ацетат, этилцеллюлоза, ее соли, и комбинации с ней; альгинаты, камеди, включая гетерополисахаридные камеди и гомополисахаридные камеди, такие как ксантановая камедь, трагакант, пектин, гуммиарабик, камедь карайи, альгинаты, агар, гуаровая камедь, гидроксипропил гуар, вигум, каррагинан, камедь плодов рожкового дерева, геллановая камедь, и производные из них; акриловые смолы, включая полимеры и сополимеры акриловой кислоты, метакриловой кислоты, метилакрилата и

метилметакрилата, а также сшитые производные полиакриловой кислоты, такие как карбомеры (например, *Carbopol*[®], включая *Carbopol*[®] 71G NF, различные марки в зависимости от молекулярной массы поставляются компанией Noveon, Inc., Цинциннати,

5 Огайо); каррагинан; поливинилацетат (например, *KOLLIDON*[®] SR);

10 поливинилпирролидон и его производные, такие как кросповидон; полиэтиленоксиды и поливиниловый спирт. Предпочтительные гидрофильные и набухающие в воде полимеры включают целлюлозные полимеры, особенно HPMC.

15 Препарат длительного высвобождения может дополнительно содержать по меньшей мере одно связующее вещество, которое способно сшивать гидрофильное соединение с образованием гидрофильной полимерной матрицы (то есть гелевой матрицы) в водной среде, включая биологические жидкости.

20 Типичные связующие вещества включают гомополисахариды, такие как

галактоманнановые камеди, гуаровая камедь, гидроксипропил гуаровая камедь,

25 гидроксипропилцеллюз (HPC; например, *Klucel EXF*) и камедь плодов рожкового дерева. В других вариантах осуществления связующее вещество представляет собой производное альгиновой кислоты, HPC или микрокристаллическую целлюлозу (МСС). Другие связующие вещества включают, но не ограничиваются ими, крахмалы, микрокристаллическую целлюлозу, гидроксипропилцеллюз, гидроксигидроксипропилцеллюз, 30 гидроксипропилметилцеллюз и поливинилпирролидон.

25 В одном варианте осуществления способ включения представляет собой наслаждение лекарственного средства путем распыления суспензии активного средства (средств) и связующего вещества на инертный носитель.

30 Связующее вещество может присутствовать в гранулированном препарате в количестве от примерно 0,1% до примерно 15% по массе и предпочтительно от примерно 0,2% до примерно 10% по массе.

35 В некоторых вариантах осуществления гидрофильная полимерная матрица может дополнительно содержать ионный полимер, неионный полимер или нерастворимый в воде гидрофобный полимер для создания более прочного слоя геля и/или для

40 уменьшения количества и размеров пор в матрице с тем, чтобы уменьшить скорости диффузии и эрозии и сопутствующего высвобождения активного средства (средств). Кроме того, это может подавлять первоначальный эффект взрыва и создавать более стабильное «высвобождение нулевого порядка» активного средства (средств).

45 Типичные ионные полимеры для уменьшения скорости растворения включают как анионные, так и катионные полимеры. Типичные анионные полимеры включают,

например, натрий-карбоксиметилцеллюз (Na CMC), альгинат натрия, полимеры акриловой кислоты или карбомеры (например, *Carbopol*[®] 934, 940, 974P NF);

50 энтеросолюбильные полимеры, такие как поливинилацетат фталат (PVAP), сополимеры метакриловой кислоты (например, *EUDRAGIT*[®] L100, L 30D 55, A и FS 30D),

55 гипромеллозы ацетата сукцинат (AQUAT HPMCAS) и ксантановую камедь. Типичные катионные полимеры включают, например, сополимер диметиламиноэтилметакрилат

(например, *EUDRAGIT*[®] E 100). Включение анионных полимеров, особенно

55 энтеросолюбильных полимеров, дает преимущества для создания рН-независимого

60 профиля высвобождения для слабощелочных лекарственных средств по сравнению с одним только гидрофильным полимером.

65 Типичные неионные полимеры для замедления скорости растворения включают, например, гидроксипропилцеллюз (HPC) и полиэтиленоксид (PEO) (например, *POLYOX*TM).

Типичные гидрофобные полимеры включают этилцеллюлозу (например, ETHOCEL™, SURELEASE®), целлюлозы ацетат, сополимеры метакриловой кислоты (например, EUDRAGIT® NE 30D), сополимеры аммониометакрилата (например, EUDRAGIT® RL 100 или PO RS100), поливинилацетат, глицерилмоностеарат, жирные кислоты, такие как ацетил трибутил цитрат, а также их сочетания и производные.

Набухающий полимер можно включать в препарат в пропорции от 1% до 50% по массе, предпочтительно от 5% до 40% по массе, наиболее предпочтительно от 5% до 20% по массе. Набухающие полимеры и связующие вещества можно включать в препарат либо до, либо после грануляции. Полимеры можно также диспергировать в органических растворителях или гидроспиртах и распылять в процессе грануляции.

Типичные стимулирующие высвобождение средства, включающие pH-зависимые энтеросолюбильные полимеры, которые остаются интактными при значениях pH ниже, чем примерно 4,0, и растворяются при значениях pH выше, чем 4,0, предпочтительно выше, чем 5,0, наиболее предпочтительно примерно 6,0, считаются полезными в качестве стимулирующих высвобождение средств для данного изобретения. Типичные pH-зависимые полимеры включают, но не ограничиваются ими, сополимеры метакриловой кислоты, сополимеры метакриловой кислоты-метилметакрилата (например, EUDRAGIT® L100 (тип A), EUDRAGIT® S100 (тип B), Rohm GmbH, Германия); сополимеры метакриловой кислоты-этилакрилата (например, EUDRAGIT® L100-55 (тип C) и EUDRAGIT® L30D-55 дисперсия сополимеров, Rohm GmbH, Германия); сополимеры метакриловой кислоты-метилметакрилата и метилметакрилата (EUDRAGIT® FS); терполимеры метакриловой кислоты, метакрилата и этилакрилата; целлюлозы ацетат фталаты (CAP); гидроксипропилметилцеллюлозы фталат (HPMCP) (например, HP-55, HP-50, HP-55S, Shinetsu Chemical, Япония); поливинилацетат фталаты (PVAP) (например, COATERIC®, OPADRY® энтеросолюбильный белый OY-P-7171); поливинилбутират ацетат; целлюлозы ацетат сукцинаты (CAS); гидроксипропилметилцеллюлозы ацетат сукцинат (HPMCAS), например, HPMCAS категории LF, категории MF, категории HF, включая AQOAT® LF и AQOAT® MF (Shin-Etsu Chemical, Япония); шеллак (например, MARCOAT™ 125 и MARCOAT™ 125N); сополимер винилацетата-малеинового ангидрида; сополимер стирола-малеинового моноэфира; карбоксиметилэтилцеллюлозу (CMEC, Freund Corporation, Japan); целлюлозы ацетат фталаты (CAP) (например, AQUATERIC®); целлюлозы ацетат тримеллитаты (CAT); а также смеси из двух или более из них в массовых соотношениях от примерно 2:1 до примерно 5:1, такие как, например, смесь EUDRAGIT® L 100-55 и EUDRAGIT® S 100 в массовом соотношении от примерно 3:1 до примерно 2:1 или смесь EUDRAGIT® L 30 D-55 и EUDRAGIT® FS в массовом соотношении от примерно 3:1 до примерно 5:1.

Эти полимеры можно использовать либо в отдельности, либо в сочетании, либо вместе с полимерами, отличными от тех, которые упомянуты выше. Предпочтительными энтеросолюбильными pH-зависимыми полимерами являются фармацевтически приемлемые сополимеры метакриловой кислоты. Эти сополимеры являются анионными полимерами на основе метакриловой кислоты и метилметакрилата и предпочтительно имеют среднюю молекулярную массу примерно 135000. Соотношение свободных карбоксильных групп и метил-эстерифицированных карбоксильных групп в этих сополимерах может находиться в диапазоне, например, от 1:1 до 1:3, например, примерно

1:1 или 1:2. Такие полимеры продаются под торговым названием EUDRAGIT[®], например, EUDRAGIT[®] серии L, например, EUDRAGIT L 12,5[®], EUDRAGIT L 12,5P[®], EUDRAGIT L100[®], EUDRAGIT L 100-55[®], EUDRAGIT L-30D[®], EUDRAGIT L-30 D-55[®], серии

⁵ EUDRAGIT S[®], например, EUDRAGIT S 12,5[®], EUDRAGIT S 12,5P[®], EUDRAGIT S100[®]. Стимуляторы высвобождения не ограничены pH-зависимыми полимерами. Другие гидрофильные молекулы, которые быстро растворяются и быстро вымываются из лекарственной формы, оставляя пористую структуру, также можно использовать для той же цели.

¹⁰ В некоторых вариантах осуществления матрица может содержать сочетание стимуляторов высвобождения и усилителей растворимости. Усилители растворимости могут представлять собой ионные и неионные сурфактанты, комплексообразующие вещества, гидрофильные полимеры, модификаторы pH, такие как подкисляющие средства и защелачивающие средства, а также молекулы, которые повышают ¹⁵ растворимость слаборастворимых лекарственных средств за счет молекулярной инкапсуляции. Одновременно можно использовать несколько усилителей растворимости.

Усилители растворимости могут включать поверхностно-активные вещества, такие как докузат натрия, лаурилсульфат натрия, стеарил фумарат натрия, твины[®] и спаны (PEO-модифицированные моноэфиры сорбитана и сложные эфиры жирных кислот сорбитанов), блоксополимеры поли(этиленоксида)-полипропиленоксида-поли (этиленоксида) (также называемые плюроникамиTM); комплексообразующие вещества, такие как низкомолекулярный поливинилпирролидон и низкомолекулярная гидроксиприметилцеллюлоза; молекулы, которые способствуют растворимости за счет молекулярной инкапсуляции, такие как циклодекстрины, и модифицирующие pH ²⁵ средства, включая подкисляющие средства, такие как лимонная кислота, фумаровая кислота, виннокаменная кислота и хлористоводородная кислота; и защелачивающие средства, такие как меглумин и гидроксид натрия.

³⁰ Повышающие растворимость вещества, как правило, составляют от 1% до 80% по массе, предпочтительно от 1% до 60%, более предпочтительно от 1% до 50% от лекарственной формы и могут быть включены различными способами. Их можно включать в препарат до гранулирования в сухой или влажной форме. Их также можно добавлять к препарату после того, как остальные материалы гранулированы или иным образом обработаны. В процессе гранулирования солюбилизаторы можно распылять в виде растворов с добавлением или без добавления связующего вещества.

³⁵ В одном варианте осуществления препарата длительного высвобождения содержит поверх активного ядра нерастворимое в воде водопроницаемое полимерное покрытие или матрицу с содержанием одного или более нерастворимых в воде водопроницаемых пленкообразующих веществ. Кроме того, покрытие может содержать один или более водорастворимых полимеров и/или один или более пластификаторов. Нерастворимое в воде полимерное покрытие представляет собой барьерное покрытие для высвобождения активных средств в ядре, при этом категория веществ с низкой молекулярной массой (вязкостью) отличается более высокими скоростями высвобождения по сравнению с категорией веществ с более высокой вязкостью.

⁴⁵ В предпочтительных вариантах осуществления нерастворимые в воде пленкообразующие полимеры включают один или более эфиров алкилцеллюлозы, например, этилцеллюлозы, и их смеси (например, этилцеллюлозы категорий PR100, PR45, PR20, PR10 и PR7; ETHOCEL[®], Dow).

Типичными водорастворимыми полимерами являются поливинилпирролидон (POVIDONE[®]), гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза и их смеси.

В некоторых вариантах осуществления нерастворимый в воде полимер придает подходящие свойства (например, характеристики длительного высвобождения, 5 механические свойства и свойства покрытия) без необходимости в пластификаторе. Например, покрытия, содержащие поливинилацетат (PVA), нейтральные сополимеры сложных эфиров акрилатов/метакрилатов, такие как коммерчески доступные EUDRAGIT NE30D от компании Evonik Industries, этилцеллюлозу в сочетании с гидроксипропилцеллюлозой, воски и так далее, можно применять без пластификаторов.

10 В другом варианте осуществления нерастворимая в воде полимерная матрица может дополнительно содержать пластификатор. Необходимое количество пластификатора зависит от пластификатора, свойств нерастворимого в воде полимера и желаемых 15 конечных свойств покрытия. Подходящие уровни содержания пластификатора находятся в диапазоне от примерно 1% до примерно 20%, от примерно 3% до примерно 20%, от примерно 3% до примерно 5%, от примерно 7% до примерно 10%, от примерно 12% 20 до примерно 15%, от примерно 17% до примерно 20% или примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9%, примерно 10%, примерно 15% или примерно 20% по массе относительно общей массы покрытия, включая все диапазоны и поддиапазоны между указанными значениями.

Типичные пластификаторы включают, но не ограничиваются ими, триацетин, 25 ацетилированный моноглицерид, масла (касторовое масло, гидрогенизированное касторовое масло, рапсовое масло, кунжутное масло, оливковое масло и так далее), цитратные сложные эфиры, триэтилцитрат, ацетилтриэтилцитрат, ацетилтрибутилцитрат, трибутилцитрат, ацетил три-н-бутилцитрат, диэтилфталат, дибутилфталат, 30 диоктилфталат, метилпарабен, пропилпарабен, пропилпарабен, бутилпарабен, диэтилсебакат, дибутилсебакат, глицеринтрибутират, замещенные триглицериды и глицериды,monoацетилированные и диацетилированные глицериды (например,

35 MYVACET[®] 9-45), глицерилмоностеарат, глицеринтрибутират, полисорбат 80, полиэтиленгликоль (такой как PEG-4000, PEG-400), пропиленгликоль, 1,2-пропиленгликоль, глицерин, сорбит, диэтилоксалат, диэтилмалат, диэтилфумарат, диэтилмалонат, дибутилсукцинат, жирные кислоты, глицерин, сорбит, диэтилоксалат, диэтилмалат, диэтилмалеат, диэтилфумарат, диэтилсукцинат, диэтилмалонат, 40 диоктилфталат, дибутилсебакат, а также их смеси. Пластификатор может иметь сурфактантные свойства, так что он может действовать в качестве модификатора высвобождения. Например, можно использовать неионные детергенты, такие как Brj 58 (полиоксиэтилен (20) цетиловый эфир), и тому подобное.

Пластификаторы могут представлять собой органические растворители с высокой 45 температурой кипения, которые используют для придания гибкости твердым или хрупким полимерным материалам и которые могут влиять на профиль высвобождения активного средства (средств). Пластификаторы, как правило, вызывают ослабление связывающих межмолекулярных сил вдоль полимерных цепей, что приводит к различным изменениям в свойствах полимеров, включая уменьшение предела прочности при растяжении, увеличение растяжения и снижение температуры стеклования или температуры размягчения полимера. Количество и выбор пластификатора может влиять на прочность таблетки, например, и даже может влиять на ее характеристики растворения или распада, а также на ее физическую и химическую стабильность. Некоторые пластификаторы могут повышать эластичность и/или гибкость покрытия,

тем самым уменьшая ломкость покрытия.

В другом варианте осуществления препарата длительного высвобождения содержит сочетание по меньшей мере двух гелеобразующих полимеров, включая по меньшей мере один неионный гелеобразующий полимер и/или по меньшей мере один анионный гелеобразующий полимер. Гель, образованный сочетанием гелеобразующих полимеров, обеспечивает контролируемое высвобождение таким образом, что, когда препарат проглатывается и вступает в контакт с желудочно-кишечными жидкостями, полимеры, расположенные ближе всего к поверхности, гидратируются с образованием вязкого слоя геля. Из-за высокой вязкости вязкий слой растворяется лишь постепенно, вызывая тот же процесс в находящемся под ним материале. Таким образом, масса растворяется медленно, вследствие этого медленно высвобождая активный ингредиент в желудочно-кишечные жидкости. Сочетание по меньшей мере двух гелеобразующих полимеров позволяет манипулировать свойствами получаемого геля, такими как вязкость, для достижения желаемого профиля высвобождения.

В конкретном варианте осуществления препарата содержит по меньшей мере один неионный гелеобразующий полимер и по меньшей мере один анионный гелеобразующий полимер. В другом варианте осуществления препарата содержит два различных неионных гелеобразующих полимера. В другом варианте осуществления препарата содержит сочетание неионных гелеобразующих полимеров одного и того же химического состава, но имеющих разные растворимости, вязкости и/или молекулярные массы (например, сочетание гидроксипропилметилцеллюлозы различных степеней вязкости, например, HPMC K100 и HPMC K15M или HPMC K100M).

Типичные анионные гелеобразующие полимеры включают, но не ограничиваются ими, натрий-карбоксиметилцеллюлозу (Na CMC), карбоксиметилцеллюлозу (CMC), анионные полисахариды, такие как альгинат натрия, альгиновая кислота, пектин, полиглюкуроновую кислоту (поли- α - и β -1,4-глюкуроновую кислоту), полигалактуроновую кислоту (пектиновую кислоту), хондроитина сульфат, каррагинан, фурцелларан, анионные камеди, такие как ксантановая камедь, полимеры акриловой кислоты или карбомеры (Carbopol[®] 934, 940, 974P NF), сополимеры Carbopol[®], полимер Pemulen[®], поликарбофил и другие.

Типичные неионные гелеобразующие полимеры включают, но не ограничиваются ими, повидон (PVP: поливинилпирролидон), поливиниловый спирт, сополимер PVP и поливинилацетата, HPC (гидроксипропилцеллюлозу), HPMC (гидроксипропилметилцеллюлозу), гидроксиэтилцеллюлозу, гидроксиметилцеллюлозу, желатин, полиэтиленоксид, гуммиарабик, декстрин, крахмал, полигидроксиэтилметакрилат (PHEMA), водорастворимые неионные полиметакрилаты и их сополимеры, модифицированную целлюлозу, модифицированные полисахариды, неионные камеди, неионные полисахариды и/или их смеси.

Препарат может необязательно содержать энтеросолюбильный полимер, описанный выше, и/или по меньшей мере один эксципиент, такой как наполнитель, связующее вещество (описанное выше), дезинтегрирующее средство и/или средство повышения текучести или вещество, способствующее скольжению.

Типичные наполнители включают, но не ограничиваются ими, лактозу, глюкозу, фруктозу, сахарозу, фосфат дикальция, сахарные спирты, также известные как «сахарные полиолы», такие как сорбит, маннит, лактит, ксилит, изомальт, эритрит, и гидрогенизированные гидролизаты крахмала (смесь нескольких сахарных спиртов), кукурузный крахмал, картофельный крахмал, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, этилцеллюлозу и целлюлозы ацетат, энтеросолюбильные полимеры, или их смеси.

Типичные связующие вещества включают, но не ограничиваются ими, водорастворимые гидрофильные полимеры, такие как повидон (PVP: поливинилпирролидон), коповидон (сополимер поливинилпирролидона и поливинилацетата), низкомолекулярная HPC (гидроксипропилцеллюлоза), 5 низкомолекулярная HPMC (гидроксипропилметилцеллюлоза), низкомолекулярная карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза, желатин, полиэтиленоксид, гуммиарабик, декстрин, алюмосиликат магния, крахмал и полиметакрилаты, такие как EUDRAGIT NE 30D, EUDRAGIT RL, EUDRAGIT RS, EUDRAGIT E, поливинилацетат и энтеросолубильные полимеры, или их смеси.

10 Типичные дезинтегрирующие средства включают, но не ограничиваются ими, низкозамещенную натрий-карбоксиметилцеллюлозу, кросповидон (сшитый поливинилпирролидон), натрий-карбоксиметилкрахмал (натриевую соль гликолята крахмала), сшитую натрий-карбоксиметилцеллюлозу (кроскармеллозу), 15 прежелатинизированный крахмал (крахмал 1500), микрокристаллическую целлюлозу, нерастворимый в воде крахмал, кальций-карбоксиметилцеллюлозу, низкозамещенную гидроксипропилцеллюлозу, а также силикат магния или алюминия.

Типичные вещества, способствующие скольжению, включают, но не ограничиваются ими, магний, диоксид кремния, тальк, крахмал, диоксид титана и тому подобное.

В еще одном варианте осуществления препарата длительного высвобождения

20 получают путем покрытия частиц, содержащих водорастворимое/диспергируемое лекарственное средство, таких как гранула или совокупность гранул (как описано выше), покрывающим материалом и необязательно порообразователем и другими экспципиентами. Материал покрытия предпочтительно выбирают из группы, включающей целлюлозные полимеры, такие как этилцеллюлоза (например, 25 SURELEASE[®]), метилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, целлюлозы ацетат и целлюлозы ацетат фталат; поливиниловый спирт; акриловые полимеры, такие как полиакрилаты, полиметакрилаты и их сополимеры, а также другие покрывающие материалы на основе воды или на 30 основе растворителя. Контролирующее высвобождение покрытие для конкретной совокупности гранул можно регулировать за счет по меньшей мере одного параметра контролирующего высвобождение покрытия, например, природы покрытия, уровня покрытия, типа и концентрации порообразователя, параметров процесса, а также их сочетания. Таким образом, изменение параметра, такого как концентрация порообразователя или условия отверждения, позволяет вносить изменения в 35 высвобождение активного средства (средств) из любой конкретной совокупности гранул, тем самым делая возможной избирательную корректировку препарата для достижения заданного профиля высвобождения.

Порообразователи, подходящие для использования в контролирующем высвобождение покрытии, описанном в настоящем документе, могут представлять 40 собой органические или неорганические вещества и включают материалы, которые могут растворяться, экстрагироваться или вымываться из покрытия в среде применения. Типичные порообразователи включают, но не ограничиваются ими, органические соединения, такие как моно-, олиго- и полисахариды, включая сахарозу, глюкозу, фруктозу, маннит, маннозу, галактозу, сорбит, пуллулан, декстрин; полимеры, 45 растворимые в среде применения, такие как водорастворимые гидрофильные полимеры, гидроксиалкилцеллюлозы, карбоксиалкилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлоза, эфиры целлюлозы, акриловые смолы, поливинилпирролидон, сшитый поливинилпирролидон, полиэтиленоксид, карбовоски, карбопол и тому подобное,

диолы, полиолы, многоатомные спирты, полиалкиленгликоли, полиэтиленгликоли, полипропиленгликоли или их блокполимеры, полигликоли, поли(α - Ω)алкилендиолы; неорганические соединения, такие как соли щелочных металлов, карбонат лития, хлорид натрия, бромид натрия, хлорид калия, сульфат калия, фосфат калия, ацетат натрия, цитрат натрия, подходящие соли кальция, их сочетания и тому подобное.

Контролирующее высвобождение покрытие может дополнительно содержать другие добавки, известные в данной области, такие как пластификаторы, антиадгезивы, вещества, способствующие скольжению (или средства повышения текучести) и пеногасители.

В некоторых вариантах осуществления покрытые частицы или гранулы могут, кроме того, иметь «внешнее покрытие» для обеспечения, например, защиты от влаги, снижения статического заряда, маскировки вкуса, ароматизации, окрашивания и/или полировки или придания другой косметической привлекательности гранулам. Подходящие покрывающие материалы для такого внешнего покрытия известны в данной области и включают, но не ограничиваются ими, целлюлозные полимеры, такие как гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза и микрокристаллическая целлюлоза, или их сочетания (например, различные покрывающие материалы OPADRY®).

Покрытые частицы или гранулы могут дополнительно содержать усилители, в качестве примера которых, но без ограничения, можно назвать усилители растворимости, усилители растворения, усилители абсорбции, усилители проницаемости, стабилизаторы, комплексообразующие средства, ингибиторы ферментов, ингибиторы π -гликопротеина и ингибиторы белка множественной лекарственной устойчивости.

Альтернативно препарат может также содержать усилители, которые отделены от покрытых частиц, например, в отдельной совокупности гранул или в виде порошка. В другом варианте осуществления усилитель(и) может содержаться в отдельном слое на покрытых частицах либо ниже, либо выше контролирующего высвобождение покрытия.

В других вариантах осуществления препарата длительного высвобождения составлен для высвобождения активного средства (средств) при помощи механизма осмоса. В качестве примера капсулу можно формулировать с одной осмотической единицей или она может включать 2, 3, 4, 5 или 6 пушпульных единиц, инкапсулированных в твердой желатиновой капсule, в результате чего каждая двухслойная пушпульная единица содержит осмотический выталкивающий слой и слой лекарственного средства, окруженные полупроницаемой мембраной. Одно или более отверстий высверливают в мембране вблизи от слоя лекарственного средства. Эта мембрана может быть дополнительно покрыта pH-зависимым энтеросолюбильным покрытием для предотвращения высвобождения до момента после опорожнения желудка. Желатиновая капсула растворяется сразу после проглатывания. Когда пушпульная единица(ы) входит в тонкий кишечник, энтеросолюбильное покрытие распадается, что позволяет жидкости протекать через полупроницаемую мембрану, при этом набухающий осмотический выталкивающий компартмент выталкивает лекарственные средства через отверстие(я) со скоростью, точно контролируемой скоростью прохождения воды через полупроницаемую мембрану. Высвобождение лекарственных средств может происходить с постоянной скоростью в течение вплоть до 24 часов или более.

Осмотический выталкивающий слой содержит одно или более осмотических средств, создающих движущую силу для транспорта воды через полупроницаемую мембрану в ядро доставляющего лекарственные средства носителя. Один из классов осмотических средств включает набухающие в воде гидрофильные полимеры, также называемые

- «осмополимерами» и «гидрогелями», включая, но не ограничиваясь ими, гидрофильные виниловые и акриловые полимеры, полисахариды, такие как альгинат кальция, полиэтиленоксид (PEO), полиэтиленгликоль (PEG), полипропиленгликоль (PPG), поли(2-гидроксиэтилметакрилат), поли(акриловую) кислоту, поли(метакриловую) кислоту, 5 поливинилпирролидон (PVP), сшитый PVP, поливиниловый спирт (PVA), сополимеры PVA/PVP, сополимеры PVA/PVP с гидрофобными мономерами, такими как метилметакрилат и винилацетат, гидрофильные полиуретаны, содержащие большие блоки PEO, натрий-кроскармеллозу, каррагинан, гидроксиэтилцеллюзу (HEC), гидроксипропилцеллюзу (HPC), гидроксипропилметилцеллюзу (HPMC), 10 карбоксиметилцеллюзу (CMC) и карбоксиэтилцеллюзу (SEC), альгинат натрия, поликарбофил, желатин, ксантановую камедь и натриевую соль гликолята крахмала.

Другой класс осмотических средств включает осмогены, которые способны впитывать воду, создавая осмотический градиент давления через полупроницаемую мембрану.

- Типичные осмогены включают, но не ограничиваются ими, неорганические соли, такие 15 как сульфат магния, хлорид магния, хлорид кальция, хлорид натрия, хлорид лития, сульфат калия, фосфаты калия, карбонат натрия, сульфит натрия, сульфат лития, хлорид калия и сульфат натрия; сахара, такие как декстроза, фруктоза, глюкоза, инозитол, лактоза, малтоза, маннит, рафиноза, сорбит, сахароза, трегалоза и ксилит; органические кислоты, такие как аскорбиновая кислота, бензойная кислота, фумаровая кислота, 20 лимонная кислота, малеиновая кислота, себациновая кислота, сорбиновая кислота, адипиновая кислота, эдетовая кислота, глютаминовая кислота, п-толуолсульфоновая кислота, янтарная кислота и виннокаменная кислота; мочевину, а также их смеси.

- Материалы, полезные для получения полупроницаемых мембран, включают 25 различные категории акрилов, винилов, эфиров, полиамидов, сложных полиэфиров и производных целлюлозы, которые являются водопроницаемыми и нерастворимыми в воде при физиологических значениях pH или могут становиться нерастворимыми в воде в результате химической модификации, такой как перекрестная сшивка.

- В некоторых вариантах осуществления препарата длительного высвобождения может 30 содержать полисахаридное покрытие, которое устойчиво к эрозии как в желудке, так и в кишечнике. Такие полимеры могут распадаться только в толстой кишке, которая содержит большое количество микрофлоры, содержащей ферменты биодеградации, разрушающие, например, полисахаридные покрытия, высвобождая содержащееся лекарственное средство контролируемым, зависимым от времени образом. Типичные 35 полисахаридные покрытия могут включать, например, амилозу, арабиногалактан, хитозан, хондроитина сульфат, циклодекстрин, декстрин, гуаровую камедь, пектин, ксилан, а также их сочетания или производные.

- В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция составлена 40 для отсроченного длительного высвобождения. Используемый в настоящем документе термин «отсроченное высвобождение» относится к лекарственному средству, которое не распадается и не высвобождает активный ингредиент(ы) в организме немедленно. В некоторых вариантах осуществления термин «отсроченное длительное высвобождение» используют применительно к препарату лекарственного средства, имеющему профиль высвобождения, в котором имеется заранее определенная задержка высвобождения лекарственного средства после введения. В некоторых вариантах 45 осуществления препарата отсроченного длительного высвобождения включает препарат длительного высвобождения, покрытый энтеросолюбильным покрытием, которое является барьером, используемым в случае пероральных лекарственных средств, который предотвращает высвобождение лекарственного средства до момента, когда

оно достигает тонкого кишечника. Препараты отсроченного высвобождения, например, с энтеросолюбильным покрытием, предотвращают растворение в желудке таких лекарственных средств, которые оказывают раздражающее действие на желудок, например, аспирина. Такие покрытия также используют для защиты нестабильных в 5 кислой среде лекарственных средств от воздействия кислой среды желудка, вместо этого доставляя их в среду со щелочным рН (в кишечнике рН 5,5 и выше), где они не распадутся и окажут свое желаемое действие.

Термин «импульсное высвобождение» относится к одному из видов отсроченного высвобождения, он используется в настоящем документе применительно к препарату 10 лекарственного средства, который обеспечивает быстрое и преходящее высвобождение лекарственного средства в течение короткого периода времени сразу после заданного лаг-периода, тем самым создавая «импульсный» профиль лекарственного средства в плазме после введения лекарственного средства. Препараты могут быть разработаны для обеспечения одного импульсного высвобождения или нескольких импульсных 15 высвобождений через заданные интервалы времени после введения, или импульсного высвобождения (например, 20-60% активного ингредиента) с последующим длительным высвобождением в течение определенного периода времени (например, непрерывным высвобождением остатка активного ингредиента).

Препарат отсроченного высвобождения или импульсного высвобождения, как

20 правило, включает один или более элементов, покрытых барьерным покрытием, которое растворяется, эродирует или разрывается через определенный период лаг-фазы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция по настоящей заявке составлена для длительного высвобождения или отсроченного длительного высвобождения и содержит 100% общей дозы определенного активного средства, 25 вводимого в единичной стандартной дозе. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит компонент длительного/отсроченного высвобождения и компонент немедленного высвобождения. В некоторых вариантах осуществления компонент немедленного высвобождения и компонент длительного/ отсроченного высвобождения содержат один и тот же активный ингредиент. В других 30 вариантах осуществления компонент немедленного высвобождения и компонент длительного/отсроченного высвобождения содержат разные активные ингредиенты (например, анальгетик в одном компоненте и антимускариновое средство в другом компоненте). В некоторых вариантах осуществления каждый из первого и второго компонента содержит анальгетик, выбранный из группы, состоящей из аспирина, 35 ибuproфена, напроксена натрия, индометацина, набуметона и ацетаминофена. В других вариантах осуществления компонент длительного/отсроченного высвобождения покрыт энтеросолюбильным покрытием. В других вариантах осуществления компонент немедленного высвобождения и/или компонент длительного/отсроченного высвобождения дополнительно содержит антимускариновое средство, выбранное из 40 группы, состоящей из оксибутинина, солифенацина, дарифенацина и атропина. В других вариантах осуществления анальгетическое средство в каждом компоненте вводят перорально в суточной дозе 5-2000 мг, 20-1000 мг, 50-500 мг или 250-1000 мг. В других вариантах осуществления компонент немедленного высвобождения и/или компонент длительного/отсроченного высвобождения дополнительно содержит антидиуретическое 45 средство, антимускариновое средство или оба. В других вариантах осуществления способ лечения включает введение субъекту диуретика по меньшей мере за 8 или 7 часов до целевого времени, такого как время отхода ко сну, и введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей компонент немедленного высвобождения

и/или компонент длительного/отсроченного высвобождения в пределах 2 часов до целевого времени.

В других вариантах осуществления компонент «немедленного высвобождения» обеспечивает примерно 5-50% общей дозы активного средства (средств) и компонент «длительного высвобождения» обеспечивает 50-95% общей дозы активного средства (средств), доставляемого фармацевтическим препаратом. Например, компонент немедленного высвобождения может обеспечивать примерно 20-60% или примерно 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% общей дозы активного средства (средств), доставляемого фармацевтическим препаратом. Компонент длительного высвобождения обеспечивает примерно 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или 80% общей дозы активного средства (средств), доставляемого фармацевтическим препаратом. В некоторых вариантах осуществления компонент длительного высвобождения дополнительно содержит барьерное покрытие для задержки высвобождения активного средства.

Барьерное покрытие для отсроченного высвобождения может состоять из множества различных материалов в зависимости от цели. Кроме того, препарат может содержать множество барьерных покрытий для облегчения высвобождения в определенное время. Покрытие может представлять собой сахарное покрытие, пленочное покрытие (например, на основе гидроксипропилметилцеллюлозы, метилцеллюлозы, 20 метилгидроксигидроксипропилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, сополимеров акрилата, полиэтиленгликолей и/или поливинилпирролидона) или покрытие на основе сополимера метакриловой кислоты, целлюлозы ацетата фталата, гидроксипропилметилцеллюлозы фталата, гидроксипропилметилцеллюлозы ацетата сукцината, поливинилацетата фталата, шеллака и/или этилцеллюлозы. Кроме того, 25 препарат может дополнительно содержать материал, обеспечивающий задержку высвобождения, такой как, например, глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат.

В некоторых вариантах осуществления препарата отсроченного длительного высвобождения включает энтеросолюбильное покрытие, содержащее один или более полимеров, облегчающих высвобождение активных средств в проксимальных или 30 дистальных отделах желудочно-кишечного тракта. Используемый в настоящем документе термин «энтеросолюбильное полимерное покрытие» означает покрытие, состоящее из одного или более полимеров, имеющих pH-зависимый или pH-независимый профиль высвобождения. Таблетки с энтеросолюбильным покрытием не будут растворяться в кислом желудочном соке (pH~3), но будут растворяться в щелочной (pH 7-9) среде тонкого кишечника или толстой кишки. Энтеросолюбильное полимерное покрытие, как правило, препятствует высвобождению активных средств до того, как пройдет некоторое время после лаг-периода опорожнения желудка, составляющее 35 примерно 3-4 часа после введения.

pH-зависимые энтеросолюбильные покрытия содержат один или более pH-зависимых или pH-чувствительных полимеров, которые сохраняют свою структурную целостность при низком pH, как в желудке, но растворяются в среде с более высоким pH в более дистальных отделах желудочно-кишечного тракта, таких как тонкий кишечник, где и высвобождается содержащееся лекарственное средство. Для целей настоящего изобретения «pH-зависимый» означает имеющий характеристики (например, 40 растворение), которые меняются в зависимости от pH окружающей среды. Типичные pH-зависимые полимеры включают, но не ограничиваются ими, сополимеры метакриловой кислоты, сополимеры метакриловой кислоты-метилметакрилата (например, EUDRAGIT® L100 (тип A), EUDRAGIT® S100 (тип B), Rohm GmbH, Германия);

сополимеры метакриловой кислоты-этилакрилата (например, EUDRAGIT® L100-55 (тип C) и дисперсия сополимеров EUDRAGIT® L30D-55, Rohm GmbH, Германия); сополимеры метакриловой кислоты-метилметакрилата и метилметакрилата

5 (EUDRAGIT® FS); терполимеры метакриловой кислоты, метакрилата и этилакрилата; целлюлозы ацетат фталаты (CAP); гидроксипропилметилцеллюлозы фталат (HPMCP) (например, HP-55, HP-50, HP-55S, Shinetsu Chemical, Япония); поливинилацетат фталаты (PVAP) (например, COATERIC®, OPADRY® энтеросолubleный белый OY-P-7171); целлюлозы ацетат сукцинаты (CAS); гидроксипропилметилцеллюлозы ацетат сукцинат (HPMCAS), например, HPMCAS категории LF, категории MF, категории HF, включая AQOAT® LF и AQOAT® MF (Shin-Etsu Chemical, Япония); шеллак (например, MARCOAT™ 125 и MARCOAT™ 125N); карбоксиметилэтилцеллюлозу (CMEC, Freund Corporation, Япония); целлюлозы ацетат фталаты (CAP) (например, AQUATERIC®);

10 целлюлозы ацетат тримеллитаты (CAT); а также смеси из двух или более из них в массовых соотношениях от примерно 2:1 до примерно 5:1, такие как, например, смесь EUDRAGIT® L 100-55 и EUDRAGIT® S 100 в массовом соотношении от примерно 3:1 до примерно 2:1 или смесь EUDRAGIT® L 30 D-55 и EUDRAGIT® FS в массовом соотношении от примерно 3:1 до примерно 5:1.

20 25 pH-зависимые полимеры, как правило, имеют характерный оптимум pH для растворения. В некоторых вариантах осуществления pH-зависимый полимер имеет оптимум pH от примерно 5,0 до 5,5, от примерно 5,5 до 6,0, от примерно 6,0 до 6,5 или от примерно 6,5 до 7,0. В других вариантах осуществления pH-зависимый полимер имеет оптимум pH $\geq 5,0, \geq 5,5, \geq 6,0, \geq 6,5$ или $\geq 7,0$.

Эти полимеры можно использовать либо в отдельности, либо в сочетании, либо вместе с полимерами, отличными от тех, которые упомянуты выше. Предпочтительными энтеросолubleными pH-зависимыми полимерами являются фармацевтически приемлемые сополимеры метакриловой кислоты. Эти сополимеры являются анионными полимерами на основе метакриловой кислоты и метилметакрилата и предпочтительно имеют среднюю молекулярную массу примерно 135000. Соотношение свободных карбоксильных групп и метил-эстерифицированных карбоксильных групп в этих сополимерах может находиться в диапазоне, например, от 1:1 до 1:3, примерно 1:1 или 1:2. Такие полимеры продаются под торговым названием EUDRAGIT®, например, EUDRAGIT серии L, например, EUDRAGIT L 12,5®, EUDRAGIT L 12,5P®, EUDRAGIT L100®, EUDRAGIT L 100-55®, EUDRAGIT L-30D®, EUDRAGIT L-30 D-55®, серии EUDRAGIT S®, например, EUDRAGIT S 12,5®, EUDRAGIT S 12,5P®, EUDRAGIT S100®. Стимуляторы высвобождения не ограничены pH-зависимыми полимерами. Другие 30 гидрофильные молекулы, которые быстро растворяются и быстро вымываются из лекарственной формы, оставляя пористую структуру, также можно использовать для той же цели.

40 45 В конкретном варианте осуществления в методике нанесения покрытия используют смешивание одного или более pH-зависимых и одного или более pH-независимых полимеров. Смешивание pH-зависимых и pH-независимых полимеров может уменьшать скорость высвобождения активных ингредиентов после того, как растворимый полимер достиг своего оптимума pH для растворения.

В некоторых вариантах осуществления «контролируемый по времени» или

«зависимый от времени» профиль высвобождения можно получать с использованием нерастворимой в воде капсулы, содержащей одно или более активных средств, при этом капсула закрыта с одного конца нерастворимой, но проницаемой и набухающей гидрогелевой пробкой. При контакте с желудочно-кишечной жидкостью или средой

- 5 растворения пробка набухает, выталкивается из капсулы и происходит высвобождение лекарственных средств через заданный лаг-период времени, который может контролироваться, например, положением и размерами пробки. Капсула может быть дополнительно покрыта внешним pH-зависимым энтеросолюбильным покрытием, сохраняющим капсулу неповрежденной до момента попадания ее в тонкий кишечник.
- 10 Подходящие материалы для пробки включают, например, полиметакрилаты, эродиуемые сжатые полимеры (например, НРМС, поливиниловый спирт), застывший расплавленный полимер (например, глицерилмоноолеат) и ферментативно контролируемые эродиуемые полимеры (например, полисахариды, такие как амилоза, арабиногалактан, хитозан, хондроитина сульфат, циклодекстрин, декстрин, гуаровая 15 камедь, пектин и ксилан).

В других вариантах осуществления капсулы или двухслойные таблетки можно формулировать так, чтобы они включали содержащее лекарственное средство ядро, покрытое набухающим слоем, и внешнее нерастворимое, но полупроницаемое полимерное покрытие или мембрану. Лаг-период до разрушения можно контролировать 20 за счет проницаемости и механических свойств полимерного покрытия и характера набухания набухающего слоя. Как правило, набухающий слой содержит одно или более набухающих веществ, таких как набухающие гидрофильные полимеры, которые набухают и удерживают воду в своих структурах.

Типичные, набухающие в воде материалы для использования в покрытии 25 отсроченного высвобождения включают, но не ограничиваются ими, полиэтиленоксид (имеющий, например, среднюю молекулярную массу от 1000000 до 7000000, такой как POLYOX[®]), метилцеллюзу, гидроксипропилцеллюзу, гидроксипропилметилцеллюзу; полиалкиленоксиды, имеющие средневесовую молекулярную массу от 100000 до 6000000, включая, но не ограничиваясь ими, поли 30 (метиленоксид), поли(бутиленоксид); поли(гидроксиалкилметакрилат) с молекулярной массой от 25000 до 5000000; поли(виниловый)спирт с низким содержанием ацетала, который перекрестно спит с глиоксалем, формальдегидом или глутаральдегидом и имеющий степень полимеризации от 200 до 30000; смеси метилцеллюзы, спитого агара и карбоксиметилцеллюзы; образующие гидрогель сополимеры, полученные 35 путем образования дисперсии тонко измельченного сополимера малеинового ангидрида со стиролом, этиленом, пропиленом, бутиленом или изобутиленом, спитого при помощи 0,001-0,5 молей насыщенного спивающего агента на моль малеинового ангидрида в сополимере; кислые карбоксиполимеры CARBOPOL[®] с молекулярной массой от 450000 до 4000000; поликариламиды CYANAMER[®]; спитые набухающие в воде полимеры инденмалеинового ангидрида; полиакриловую кислоту GOODRITE[®] с молекулярной массой от 80000 до 200000; привитые сополимеры крахмала; акрилатные полимерные 40 полисахариды AQUA-KEEPS[®], состоящие из конденсированных глюкозных единиц, таких как сложный диэфир спитого полиглюкана; карбомеры, имеющие вязкость от 3000 до 60000 мПа·с в виде водного раствора с концентрацией 0,5%-1% масс./об.; эфиры целлюлозы, такие как гидроксипропилцеллюзоза, имеющая вязкость примерно 1000-7000 мПа·с в виде водного раствора с концентрацией 1% масс./масс. (25°C); гидроксипропилметилцеллюзоза, имеющая вязкость примерно 1000 или выше,

предпочтительно 2500 или выше, максимально до 25000 мПа·с в виде водного раствора с концентрацией 2% масс./об.; поливинилпирролидон, имеющий вязкость примерно 300-700 мПа·с в виде водного раствора с концентрацией 10% масс./об. при 20°C, а также их сочетания.

- 5 Альтернативно время высвобождения лекарственных средств можно контролировать при помощи лаг-периода распада, зависящего от равновесия между устойчивостью и толщиной нерастворимой в воде полимерной мембранны (например, из этилцеллюлозы, EC), содержащей заданное количество микропор на дне капсулного отсека и определенное количество набухающего эксципиона, такого как низкозамещенная 10 гидроксипропилцеллюлоза (L-HPC) и гликолят натрия. После перорального введения желудочно-кишечные жидкости проникают через микропоры, вызывая набухание набухающих эксципиона, что создает внутреннее давление, разъединяющее капсулные компоненты, включая первый капсулный отсек, содержащий набухающие материалы, второй капсулный отсек, содержащий лекарственные средства, и внешний колпачок, 15 прикрепленный к первому капсулному отсеку.

Энтеросолюбильный слой может дополнительно содержать противосклейывающие вещества, такие как тальк или глицерилмоностеарат, и/или пластификаторы.

Энтеросолюбильный слой может дополнительно содержать один или более пластификаторов, включая, но не ограничиваясь ими, триэтилцитрат,

- 20 ацетилтриэтилцитрат, ацетилтрибутилцитрат, полиэтиленгликоль, ацетилированные моноглицериды, глицерин, триацетин, пропиленгликоль, сложные эфиры фталаты (например, диэтилфталат, дибутилфталат), диоксид титана, оксиды железа, касторовое масло, сорбит и дибутилсебакат.

В другом варианте осуществления в препарате отсроченного высвобождения

- 25 используют водопроницаемое, но нерастворимое пленочное покрытие для инкапсуляции активного ингредиента и осмотического средства. По мере того, как вода из желудка медленно диффундирует через пленку к ядру, ядро набухает до тех пор, пока пленка не разорвется, при этом высвобождаются активные ингредиенты. Пленочное покрытие можно отрегулировать так, чтобы оно допускало различные скорости проникновения 30 воды или время высвобождения.

В другом варианте осуществления в препарате отсроченного высвобождения используют водонепроницаемое покрытие таблетки, так что вода проникает через контролируемое отверстие в покрытии до тех пор, пока ядро не распадется. Когда таблетка распадается, содержащееся лекарственное средство высвобождается

- 35 немедленно или в течение более длительного периода времени. Эти и другие методы можно модифицировать для достижения заранее определенного лаг-периода перед тем, как начнется высвобождение лекарственных средств.

- В другом варианте осуществления активные средства доставляются в препарате, предназначенном для обеспечения как отсроченного высвобождения, так и длительного 40 высвобождения (отсроченное длительное). Термин «отсроченное длительное высвобождение» используют в настоящем документе применительно к препарату лекарственного средства, обеспечивающему импульсное высвобождение активных средств через заранее определенное время или лаг-период после введения, за которым следует длительное высвобождение активных средств.

- 45 В некоторых вариантах осуществления препараты немедленного высвобождения, длительного высвобождения, отсроченного высвобождения или отсроченного длительного высвобождения содержат активное ядро, состоящее из одной или более инертных частиц, каждая в виде шарика, гранулы, пилюли, гранулированной частицы,

микрокапсулы, микросфера, микрогранулы, нанокапсулы или наносферы, с нанесенными на их поверхность лекарственными средствами в форме, например, пленкообразующей композиции, с использованием, например, методики псевдоожженного слоя или других методологий, известных специалистам в данной 5 области. Инертная частица может иметь разный размер при условии, что она достаточно велика, чтобы оставаться плохо растворимой. Альтернативно активное ядро можно получать путем гранулирования и измельчения и/или путем экструзии и сферонизации полимерной композиции, содержащей лекарственное средство.

Количество лекарственного средства в ядре будет зависеть от дозы, которая

10 требуется, и, как правило, варьируется от примерно 5 до 90 массовых %. Как правило, полимерное покрытие на активном ядре будет составлять от примерно 1 до 50%, исходя из массы покрытой частицы, в зависимости от необходимого лаг-периода и типа профиля высвобождения и/или выбранных полимеров и растворителей для покрытия.

Специалисты в данной области смогут выбрать соответствующее количество 15 лекарственного средства для покрытия или включения в ядро, чтобы добиться желаемой дозировки. В одном варианте осуществления неактивное ядро может представлять собой сахарную сферу или кристалл буфера или инкапсулированный кристалл буфера, например, карбоната кальция, бикарбоната натрия, фумаровой кислоты, виннокаменной кислоты и так далее, который изменяет микросреду лекарственного средства для 20 облегчения его высвобождения.

В некоторых вариантах осуществления, например, композиции отсроченного высвобождения или отсроченного длительного высвобождения можно получать путем покрытия частиц, содержащих водорастворимое/диспергируемое лекарственное средство, таких как гранулы, смесь нерастворимого в воде полимера и 25 энтеросолюбильного полимера, при этом нерастворимый в воде полимер и энтеросолюбильный полимер могут присутствовать в массовом отношении от 4:1 до 1:1, и общая масса покрытий составляет от 10 до 60 массовых % в расчете на общую массу покрытых гранул. Гранулы с наслоенным лекарственным средством могут необязательно содержать внутреннюю контролирующую скорость растворения 30 мембрану из этилцеллюлозы. Состав внешнего слоя, а также индивидуальные массы внутреннего и внешнего слоев полимерной мембраны оптимизируют для достижения профилей высвобождения с желаемым циркадным ритмом для данного активного вещества, который прогнозируют на основании *in vitro/in vivo* корреляций.

В других вариантах осуществления препараты могут содержать смесь из содержащих 35 лекарственное средство частиц немедленного высвобождения без контролирующей скорость растворения полимерной мембраны и гранул отсроченного длительного высвобождения, имеющих, например, лаг-период 2-4 часа после перорального введения, таким образом обеспечивая двухимпульсный профиль высвобождения.

В некоторых вариантах осуществления активное ядро покрыто одним или более 40 слоями контролирующих скорость растворения полимеров для получения желаемых профилей высвобождения с лаг-периодом или без него. Мембрана внутреннего слоя может в значительной степени контролировать скорость высвобождения лекарственного средства после поступления воды или жидкостей организма в ядро, тогда как мембрана внешнего слоя может обеспечивать желаемый лаг-период (период без высвобождения 45 или с небольшим высвобождением лекарственного средства после поступления воды или жидкостей организма в ядро). Мембрана внутреннего слоя может содержать нерастворимый в воде полимер или смесь нерастворимых в воде и водорастворимых полимеров.

Полимеры, подходящие для внешней мембраны, которая в значительной степени контролирует лаг-период вплоть до 6 часов, могут включать энтеросолюбильный полимер, описанный выше, и нерастворимый в воде полимер в количестве от 10 до 50 массовых %. Соотношение нерастворимого в воде полимера и энтеросолюбильного полимера может варьироваться от 4:1 до 1:2, предпочтительно полимеры присутствуют в соотношении примерно 1:1. Используемый, нерастворимый в воде полимер, как правило, представляет собой этилцеллюлозу.

Типичные, нерастворимые в воде полимеры включают этилцеллюлозу, поливинилацетат (Kollicoat SR#0D от компании BASF), нейтральные сополимеры на основе этилакрилата и метилметакрилата, сополимеры сложных эфиров акриловой и метакриловой кислоты с группами четвертичного аммония, такие как EUDRAGIT® NE, RS и RS30D, RL или RL30D и тому подобное. Типичные водорастворимые полимеры включают низкомолекулярную HPMC, HPC, метилцеллюлозу, полиэтиленгликоль (PEG с молекулярной массой >3000) с толщиной слоя в диапазоне от 1 массового % вплоть до 10 массовых % в зависимости от растворимости активного вещества в воде и используемого покрывающего препарата на основе растворителя или латексной суспензии. Соотношение нерастворимого в воде полимера и водорастворимого полимера может, как правило, варьироваться от 95:5 до 60:40, предпочтительно от 80:20 до 65:35.

В некоторых вариантах осуществления используют смолу AMBERLITE™ IRP69 в качестве носителя длительного высвобождения. AMBERLITE™ IRP69 представляет собой нерастворимую сильнокислую натриевую форму катионообменной смолы, которая подходит в качестве носителя для катионных (основных) веществ. В других вариантах осуществления используют смолу DUOLITE™ AP143/1093 в качестве носителя длительного высвобождения. DUOLITE™ AP143/1093 представляет собой нерастворимую сильнощелочную анионообменную смолу, которая подходит в качестве носителя для анионных (кислых) веществ.

При использовании в качестве носителя лекарственного средства смола AMBERLITE IRP69 или/и DUOLITE™ AP143/1093 обеспечивает возможность для связывания лекарственных средств на нерастворимой полимерной матрице. Длительное высвобождение достигается за счет образования комплексов смолы и лекарственного средства (резинатов лекарственного средства). Лекарственное средство высвобождается из смолы *in vivo*, когда лекарственное средство достигает равновесия с высокими концентрациями электролитов, которые типичны для желудочно-кишечного тракта. Более гидрофобные лекарственные средства, как правило, будут элюироваться из смолы с более низкой скоростью из-за гидрофобного взаимодействия с ароматической структурой катионообменной системы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция составлена для перорального введения. Пероральные лекарственные формы включают, например, таблетки, капсулы, каплеты и могут также содержать множество гранул, шариков, порошков или пилюль, которые могут быть или не быть инкапсулированы. Таблетки и капсулы представляют собой наиболее удобные пероральные лекарственные формы, в этом случае используются твердые фармацевтические носители.

В препарате отсроченного высвобождения одно или более барьерных покрытий могут быть нанесены на пилюли, таблетки или капсулы для содействия медленному растворению и сопутствующему высвобождению лекарственных средств в кишечнике. Как правило, барьерное покрытие содержит один или более полимеров, заключающих в себе, окружающих или образующих слой или мембрану вокруг терапевтической

композиции или активного ядра.

В некоторых вариантах осуществления активные средства доставляются в препарате, предназначенном для обеспечения отсроченного высвобождения через заранее определенное время после введения. Эта задержка может составлять вплоть до примерно 5 минут, примерно 10 минут, примерно 20 минут, примерно 30 минут, примерно 1 часа, примерно 2 часов, примерно 3 часов, примерно 4 часов, примерно 5 часов, примерно 6 часов или дольше.

Различные методы нанесения покрытия можно применять к гранулам, шарикам, порошкам или пилюлям, таблеткам, капсулам или их сочетанию, содержащим активные средства, для получения различных и отличающихся профилей высвобождения. В 10 некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в форме таблетки или капсулы, содержащей один покрывающий слой. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в форме таблетки или капсулы, содержащей несколько покрывающих слоев.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит

15 несколько активных ингредиентов, выбранных из группы, состоящей из анальгетиков, антимускариновых средств, антидиуретиков, спазмолитиков и золпидема. Примеры антимускариновых средств включают, но не ограничиваются ими, оксибутинин, солифенацин, дарифенацин и атропин. Примеры антидиуретиков включают, но не ограничиваются ими, антидиуретический гормон (ADH), ангиотензин II, альдостерон, 20 вазопрессин, аналоги вазопрессина (например, десмопрессин, аргипрессин, липрессин, фелипрессин, орнипрессин, терлипрессин); агонисты рецепторов вазопрессина, антагонисты рецепторов предсердного натрийуретического пептида (ANP) и натрийуретического пептида C-типа (CNP) (то есть NPR1, NPR2, NPR3) (например, HS-142-1, изатин [Asu7,23']b-ANP-(7-28)], анантин, циклический пептид из *Streptomyces*

25 coeruleuscens, и моноклональное антитело 3G12); антагонисты рецептора соматостатина 2 типа (например, соматостатин), а также их фармацевтически приемлемые производные, аналоги, соли, гидраты и сольваты. Примеры спазмолитиков включают, но не ограничиваются ими, карисопродол, бензодиазепины, баклофен, циклобензаприн, метаксалон, метокарбамол, клонидин, аналог клонидина и дантролен. В некоторых

30 вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит один или более анальгетиков. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит (1) один или более анальгетиков и (2) один или более других активных ингредиентов, выбранных из группы, состоящей из антимускариновых средств, антидиуретиков и спазмолитиков. В другом варианте осуществления фармацевтическая

35 композиция содержит (1) один или более анальгетиков и (2) один или более антимускариновых средств. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит (1) один или более анальгетиков и (2) один или более антидиуретиков. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит (1) один или более анальгетиков и (2) один или более спазмолитиков. В другом

40 варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит (1) один или более анальгетиков и (2) золпидем. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит (1) один или два анальгетика, (2) одно или два антимускариновых средства и (3) один или два антидиуретика. В другом варианте осуществления

45 фармацевтическая композиция содержит (1) один или более анальгетиков, (2) одно или более спазмолитических средств и (3) один или более антидиуретиков. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит (1) один или более анальгетиков, (2) один или более антидиуретиков и (3) золпидем.

В одном варианте осуществления несколько активных ингредиентов составлены для

немедленного высвобождения. В другом варианте осуществления несколько активных ингредиентов составлены для длительного высвобождения. В другом варианте осуществления несколько активных ингредиентов составлены как для немедленного высвобождения, так и для длительного высвобождения (например, первая порция

- 5 каждого активного ингредиента составлена для немедленного высвобождения и вторая порция каждого активного ингредиента составлена для длительного высвобождения). В другом варианте осуществления некоторые из нескольких активных ингредиентов составлены для немедленного высвобождения и некоторые из нескольких активных ингредиентов составлены для длительного высвобождения (например, активные
- 10 ингредиенты А, В, С составлены для немедленного высвобождения, а активные ингредиенты С и D составлены для длительного высвобождения). В некоторых других вариантах осуществления компонент немедленного высвобождения и/или компонент длительного высвобождения дополнительно покрыт покрытием для отсроченного высвобождения, таким как энтеросолюбильное покрытие.

- 15 В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит компонент немедленного высвобождения и компонент длительного высвобождения. Компонент немедленного высвобождения может содержать один или более активных ингредиентов, выбранных из группы, состоящей из анальгетиков, антимускариновых средств, антидиуретиков и спазмолитиков. Компонент длительного высвобождения
- 20 может содержать один или более активных ингредиентов, выбранных из группы, состоящей из анальгетиков, антимускариновых средств, антидиуретиков и спазмолитиков. В некоторых вариантах осуществления компонент немедленного высвобождения и компонент длительного высвобождения имеют совершенно
- 25 одинаковые активные ингредиенты. В других вариантах осуществления компонент немедленного высвобождения и компонент длительного высвобождения имеют разные активные ингредиенты. В других вариантах осуществления компонент немедленного высвобождения и компонент длительного высвобождения имеют один или более общих
- 30 активных ингредиентов. В некоторых других вариантах осуществления компонент немедленного высвобождения и/или компонент длительного высвобождения дополнительно покрыт покрытием для отсроченного высвобождения, таким как энтеросолюбильное покрытие.

- 35 В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит два или более активных ингредиентов (например, два или более анальгетических средств или смесь одного или более анальгетических средств и одного или более антимускариновых средств или антидиуретиков, или спазмолитиков, или золпидема), составленных для немедленного высвобождения примерно в одно и то же время. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит два или более активных ингредиентов, составленных для длительного высвобождения примерно в одно и то же время. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит
- 40 два или более активных ингредиентов, составленных как два компонента длительного высвобождения, каждый с разным профилем длительного высвобождения. Например, первый компонент длительного высвобождения высвобождает первый активный ингредиент с первой скоростью высвобождения и второй компонент длительного высвобождения высвобождает второй активный ингредиент со второй скоростью
- 45 высвобождения. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит два или более активных ингредиентов, оба составленные для отсроченного высвобождения. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит два или более активных ингредиентов, составленных для отсроченного

высвобождения. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит два или более активных ингредиентов, составленных как два компонента отсроченного высвобождения, каждый с отличающимся профилем отсроченного высвобождения. Например, первый компонент отсроченного высвобождения

- 5 высвобождает первый активный ингредиент в первый момент времени и второй компонент отсроченного высвобождения высвобождает второй активный ингредиент во второй момент времени. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит два или более активных ингредиентов, один или более из которых составлены для немедленного высвобождения, а другие составлены для длительного
- 10 высвобождения. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит два или более активных ингредиентов, часть которых составлена для немедленного высвобождения и остальная часть составлена для длительного высвобождения.

В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит два

- 15 активных ингредиента (например, два анальгетических средства, или смесь из одного анальгетического средства и одного антимускаринового средства или антидиуретика, или спазмолитика, или золпидема), составленных для немедленного высвобождения, и (2) два активных ингредиента (например, два анальгетических средства, или смесь из одного анальгетического средства и одного антимускаринового средства или
- 20 антидиуретика, или спазмолитика, или золпидема), составленных для длительного высвобождения. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит три активных ингредиента, составленных для немедленного высвобождения, и (2) три активных ингредиента, составленных для длительного высвобождения. В других вариантах осуществления, фармацевтическая композиция содержит четыре
- 25 активных ингредиента, составленных для немедленного высвобождения, и (2) четыре активных ингредиента, составленных для длительного высвобождения. В этих вариантах осуществления активный ингредиент(ы) в компоненте немедленного высвобождения может быть таким же или отличающимся от активного ингредиента(ов) в компоненте длительного высвобождения. В некоторых других вариантах осуществления компонент
- 30 немедленного высвобождения и/или компонент длительного высвобождения дополнительно покрыт покрытием для отсроченного высвобождения, таким как энтеросолюбильное покрытие.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит одно или более анальгетических средств и антидиуретик, при этом одно или более

- 35 анальгетических средств составлены для отсроченного высвобождения и антидиуретик составлен для немедленного освобождения. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция, кроме того, содержит дополнительное средство, выбранное из группы, состоящей из антимускаринового средства, антидиуретического средства, спазмолитика и золпидема, при этом дополнительное средство составлено
- 40 для отсроченного высвобождения. В некоторых вариантах осуществления препарата отсроченного высвобождения задерживает высвобождение активного ингредиента (например, анальгетического средства, антимускаринового средства, антидиуретического средства, спазмолитика и/или золпидема) на 1, 2, 3, 4 или 5 часов.

Термин «немедленное высвобождение» используют в настоящем документе

- 45 применительно к препарату лекарственного средства, который не содержит материал, контролирующий скорость растворения. Нет практически никакой задержки в высвобождении активных средств после введения препарата немедленного высвобождения. Покрытие для немедленного высвобождения может содержать

подходящие материалы, немедленно растворяющиеся после введения для высвобождения заключенного в них лекарственного средства. Типичные материалы покрытия для немедленного высвобождения включают желатин, сополимеры поливинилового спирта и полиэтиленгликоля (PVA-PEG) (например, KOLlicoat® и различные другие 5 материалы, известные специалистам в данной области).

Композиция немедленного высвобождения может содержать 100% общей дозы определенного активного средства, вводимого в единичной стандартной дозе.

Альтернативно компонент немедленного высвобождения может быть включен в 10 качестве компонента в препарат с комбинированным профилем высвобождения, что может обеспечить доставку фармацевтическим препаратом от примерно 1% до примерно 60% общей дозы активного средства (средств). Например, компонент немедленного высвобождения может обеспечивать доставку препаратом примерно 5%-60%, от примерно 10% до примерно 60%, от примерно 10% до примерно 50%, от примерно 10% 15 до примерно 40%, от примерно 10% до примерно 30%, от примерно 10% до примерно 20%, от примерно 20% до примерно 60%, от примерно 20% до примерно 50%, от примерно 20% до примерно 30%, от примерно 30% до примерно 60%, от примерно 30% до примерно 50%, от примерно 40% до примерно 60%, от примерно 40% до примерно 50%, от примерно 45% до примерно 60% или от примерно 45% до примерно 50% общей дозы активного средства (средств). В альтернативных вариантах осуществления 20 компонент немедленного высвобождения обеспечивает доставку препаратом примерно 2, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 или 60% общей дозы активного средства (средств).

В некоторых вариантах осуществления препарат немедленного высвобождения или отсроченного высвобождения содержит активное ядро, состоящее из одной или более 25 инертных частиц, каждая в виде шарика, гранулы, пилюли, гранулированной частицы, микрокапсулы, микросфера, микрогранулы, нанокапсулы или наносферы, с нанесенными на их поверхность лекарственными средствами в форме, например, содержащей лекарственное средство пленкообразующей композиции, с использованием, например, методики псевдоожиженного слоя или других методологий, известных 30 специалистам в данной области. Инертная частица может иметь разный размер при условии, что она достаточно велика, чтобы оставаться плохо растворимой.

Альтернативно активное ядро можно получать путем гранулирования и измельчения и/или путем экструзии и сферонизации полимерной композиции, содержащей лекарственное средство.

Количество лекарственного средства в ядре будет зависеть от дозы, которая требуется, и, как правило, варьируется от примерно 5 до 90 массовых %. Как правило, полимерное покрытие на активном ядре будет составлять от примерно 1 до 50%, исходя 35 из массы покрытой частицы, в зависимости от необходимого лаг-периода и типа профиля высвобождения и/или выбранных полимеров и растворителей для покрытия.

Специалисты в данной области смогут выбрать соответствующее количество 40 лекарственного средства для покрытия или включения в ядро, чтобы добиться желаемой дозировки. В одном варианте осуществления неактивное ядро может представлять собой сахарную сферу или кристалл буфера, или инкапсулированный кристалл буфера, например, карбоната кальция, бикарбоната натрия, фумаровой кислоты, виннокаменной 45 кислоты и так далее, который изменяет микросреду лекарственного средства для облегчения его высвобождения.

В некоторых вариантах осуществления препарата отсроченного высвобождения получают путем покрытия частиц, содержащих водорастворимое/диспергируемое

лекарственное средство, таких как гранулы, смесью нерастворимого в воде полимера и энтеросолюбильного полимера, при этом нерастворимый в воде полимер и энтеросолюбильный полимер могут присутствовать в массовом отношении от 4:1 до 1:1 и общая масса покрытий составляет от 10 до 60 массовых % в расчете на общую

5 массу покрытых гранул. Гранулы с наслоенным лекарственным средством могут необязательно содержать внутреннюю контролирующую скорость растворения мембрану из этилцеллюлозы. Состав внешнего слоя, а также индивидуальные массы внутреннего и внешнего слоев полимерной мембраны оптимизируют для достижения профилей высвобождения с желаемым циркадным ритмом для данного активного

10 вещества, который прогнозируют на основании *in vitro/in vivo* корреляций.

В других вариантах осуществления препараты содержат смесь из содержащих лекарственное средство частиц немедленного высвобождения без контролирующей скорость растворения полимерной мембраны и гранул отсроченного высвобождения, имеющих, например, лаг-период 2-4 часа после перорального введения, таким образом

15 обеспечивая двухимпульсный профиль высвобождения. В других вариантах осуществления препараты содержат смесь из гранул отсроченного высвобождения двух типов: первого типа, имеющего лаг-период 1-3 часа, и второго типа, имеющего лаг-период 4-6 часов.

Предпочтительно, препараты разработаны с такими профилями высвобождения,

20 чтобы ограничивать препятствия для полноценного сна, при этом из препарата высвобождается лекарственное средство в то время, когда человек обычно просыпался бы от позыва к мочеиспусканию. Например, рассмотрим случай, когда человек засыпает в 11 часов ночи и обычно просыпается в 12:30 ночи, 3:00 ночи и 6:00 утра, чтобы помочиться. Носитель для отсроченного длительного высвобождения может быть

25 принят в 10 часов вечера и начнет доставлять лекарственное средство в 12 часов ночи и постепенно высвобождать лекарственное средство в течение 5-8 часов, тем самым откладывая или устранивая потребность мочиться.

В других вариантах осуществления препараты разработаны с такими профилями высвобождения, чтобы часть лекарственного средства (например, 20-60%)

30 высвобождалась немедленно или в течение 2 часов после введения, а остаток высвобождался в течение продолжительного периода времени. Фармацевтическую композицию можно вводить ежедневно или вводить по мере надобности. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят субъекту перед сном. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят

35 непосредственно перед сном. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят в пределах примерно двух часов перед сном, предпочтительно в пределах примерно одного часа перед сном. В другом варианте осуществления фармацевтическую композицию вводят примерно за два часа перед сном. В следующем варианте осуществления фармацевтическую композицию вводят по меньшей мере за

40 два часа перед сном. В еще одном варианте осуществления фармацевтическую композицию вводят примерно за один час перед сном. В следующем варианте осуществления фармацевтическую композицию вводят по меньшей мере за один час перед сном. В еще одном варианте осуществления фармацевтическую композицию вводят менее чем за один час перед сном. В другом варианте осуществления

45 фармацевтическую композицию вводят непосредственно перед сном. Предпочтительно, фармацевтическую композицию вводят перорально.

Соответствующая доза («терапевтически эффективное количество») активного средства (средств) в компоненте немедленного высвобождения или компоненте

длительного высвобождения будет зависеть, например, от тяжести и течения состояния, способа введения, биодоступности конкретного средства (средств), возраста и массы тела пациента, истории болезни пациента и реакции на активное средство (средства), мнения врача и так далее.

- 5 В качестве общего предложения, вводимое терапевтически эффективное количество активного средства (средств) в компоненте немедленного высвобождения, компоненте длительного высвобождения или компоненте отсроченного длительного высвобождения находится в диапазоне от примерно 100 мкг/кг массы тела/сутки до примерно 100 мг/кг массы тела/сутки либо за одно, либо за несколько введений. В некоторых вариантах 10 осуществления диапазон для каждого активного средства, вводимого ежедневно одной дозой или несколькими дозами, составляет от примерно 100 мкг/кг массы тела/сутки до примерно 50 мг/кг массы тела/сутки, от 100 мкг/кг массы тела/сутки до примерно 10 мг/кг массы тела/сутки, от 100 мкг/кг массы тела/сутки до примерно 1 мг/кг массы тела/сутки, от 100 мкг/кг массы тела/сутки до примерно 10 мг/кг массы тела/сутки, от 15 500 мкг/кг массы тела/сутки до примерно 100 мг/кг массы тела/сутки, от 500 мкг/кг массы тела/сутки до примерно 50 мг/кг массы тела/сутки, от 500 мкг/кг массы тела/сутки до примерно 5 мг/кг массы тела/сутки, от 1 мг/кг массы тела/сутки до примерно 100 мг/кг массы тела/сутки, от 1 мг/кг массы тела/сутки до примерно 50 мг/кг массы тела/сутки, от 1 мг/кг массы тела/сутки до примерно 10 мг/кг массы тела/сутки, от 20 5 мг/кг массы тела/сутки до примерно 100 мг/кг массы тела/сутки, от 5 мг/кг массы тела/сутки до примерно 50 мг/кг массы тела/сутки, от 10 мг/кг массы тела/сутки до примерно 100 мг/кг массы тела/сутки и от 10 мг/кг массы тела/сутки до примерно 50 мг/кг массы тела/сутки.

- Активное средство(а), описанное в настоящем документе, можно включать в 25 компонент немедленного высвобождения или компонент длительного высвобождения, компонент отсроченного длительного высвобождения или их сочетания для ежедневного перорального введения одной дозой или комбинированной дозой в диапазоне от 1 мг до 2000 мг, от 5 мг до 2000 мг, от 10 мг до 2000 мг, от 50 мг до 2000 мг, от 100 мг до 2000 мг, от 200 мг до 2000 мг, от 500 мг до 2000 мг, от 5 мг до 1800 мг, от 10 мг до 1600 30 мг, от 50 мг до 1600 мг, от 100 мг до 1500 мг, от 150 мг до 1200 мг, от 200 мг до 1000 мг, от 300 мг до 800 мг, от 325 мг до 500 мг, от 1 мг до 1000 мг, от 1 мг до 500 мг, от 1 мг до 200 мг, от 5 мг до 1000 мг, от 5 мг до 500 мг, от 5 мг до 200 мг, от 10 мг до 1000 мг, от 10 мг до 500 мг, от 10 мг до 200 мг, от 50 мг до 1000 мг, от 50 мг до 500 мг, от 50 мг до 200 мг, от 250 мг до 1000 мг, от 250 мг до 500 мг, от 500 мг до 1000 мг, от 500 мг до 35 2000 мг. Как и следует ожидать, доза будет зависеть от патологического состояния, размеров, возраста и состояния здоровья пациента.

- В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит одно анальгетическое средство. В одном варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой аспирин. В другом варианте осуществления одно 40 анальгетическое средство представляет собой ибупрофен. В другом варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой напроксен или напроксен натрия. В другом варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой индометацин. В другом варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой набуметон. В другом варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой ацетаминофен.

В некоторых вариантах осуществления одно анальгетическое средство принимают в суточной дозе от 1 мг до 2000 мг, от 5 мг до 2000 мг, от 20 мг до 2000 мг, от 5 мг до 1000 мг, от 20 мг до 1000 мг, от 50 мг до 500 мг, от 100 мг до 500 мг, от 250 мг до 500

мг, от 250 мг до 1000 мг или от 500 мг до 1000 мг. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит ацетилсалициловую кислоту, ибупрофен, напроксен, напроксен натрия, индометацин, набуметон или ацетаминофен в качестве одного анальгетического средства и анальгетическое средство вводят перорально в 5 суточной дозе, находящейся в диапазоне от 5 мг до 2000 мг, от 20 мг до 2000 мг, от 5 мг до 1000 мг, от 20 мг до 1000 мг, от 50 мг до 500 мг, от 100 мг до 500 мг, от 250 мг до 500 мг, от 250 мг до 1000 мг или от 500 мг до 1000 мг. В некоторых вариантах осуществления второе анальгетическое средство принимают в суточной дозе от 1 мг до 2000 мг, от 5 мг до 2000 мг, от 20 мг до 2000 мг, от 5 мг до 1000 мг, от 20 мг до 1000 10 мг, от 50 мг до 500 мг, от 100 мг до 500 мг, от 250 мг до 500 мг, от 250 мг до 1000 мг или от 500 мг до 1000 мг.

В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит пару анальгетических средств. Примеры таких пар анальгетических средств включают, но не ограничиваются ими, ацетилсалициловую кислоту и ибупрофен, ацетилсалициловую 15 кислоту и напроксен натрия, ацетилсалициловую кислоту и набуметон, ацетилсалициловую кислоту и ацетаминофен, ацетилсалициловую кислоту и индометацин, ибупрофен и напроксен натрия, ибупрофен и набуметон, ибупрофен и ацетаминофен, ибупрофен и индометацин, напроксен, напроксен натрия и набуметон, напроксен натрия и ацетаминофен, напроксен натрия и индометацин, набуметон и ацетаминофен, 20 набуметон и индометацин, а также ацетаминофен и индометацин. Пары анальгетических средств смешивают в массовом отношении, находящемся в диапазоне от 0,1:1 до 10:1, от 0,2:1 до 5:1 или от 0,3:1 до 3:1, при этом комбинированная доза находится в диапазоне от 5 мг до 2000 мг, от 20 мг до 2000 мг, от 100 мг до 2000 мг, от 200 мг до 2000 мг, от 500 мг до 2000 мг, от 5 мг до 1500 мг, от 20 мг до 1500 мг, от 100 мг до 1500 мг, от 200 25 мг до 1500 мг, от 500 мг до 1500 мг, от 5 мг до 1000 мг, от 20 мг до 1000 мг, от 100 мг до 1000 мг, от 250 мг до 500 мг, от 250 мг до 1000 мг, от 250 мг до 1500 мг, от 500 мг до 1000 мг, от 500 мг до 1500 мг, от 1000 мг до 1500 мг и от 1000 мг до 2000 мг. В одном варианте осуществления пары анальгетических средств смешивают в массовом отношении 1:1.

В некоторых других вариантах осуществления фармацевтическая композиция по 30 настоящей заявке дополнительно содержит одно или более антимускариновых средств. Примеры антимускариновых средств включают, но не ограничиваются ими, оксибутинин, солифенацин, дарифенацин, фезотеродин, толтеродин, тропспий и атропин. Суточная доза антимускаринового средства находится в диапазоне от 0,01 мг до 100 35 мг, от 0,1 мг до 100 мг, от 1 мг до 100 мг, от 10 мг до 100 мг, от 0,01 мг до 25 мг, от 0,1 мг до 25 мг, от 1 мг до 25 мг, от 10 мг до 25 мг, от 0,01 мг до 10 мг, от 0,1 мг до 10 мг, от 1 мг до 10 мг, от 10 мг до 100 мг и от 10 мг до 25 мг.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит 40 анальгетическое средство, выбранное из группы, состоящей из ацетилсалициловой кислоты, ибупрофена, напроксена, напроксена натрия, набуметона, ацетаминофена и индометацина, и антимускариновое средство, выбранное из группы, состоящей из оксибутинина, солифенацина, дарифенацина и атропина.

Другой аспект настоящей заявки относится к способу снижения частоты 45 мочеиспускания путем введения человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, составленной в препарат немедленного высвобождения. Фармацевтическая композиция содержит несколько анальгетических средств и/или антимускариновых средств.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит два

или более анальгетических средств. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит одно или более анальгетических средств и одно или более антимускариновых средств. Фармацевтическая композиция может быть составлена в форме таблетки, капсулы, драже, порошка, гранулята, жидкости, геля или эмульсии.

- 5 Указанные жидкость, гель или эмульсию субъект может принимать в чистом виде или содержащимися внутри капсулы.

В некоторых вариантах осуществления анальгетическое средство выбрано из группы, состоящей из салицилатов, аспирина, салициловой кислоты, метилсалицилата, дифлунизала, салсалата, олсалазина, сульфасалазина, производных парааминофенола,

- 10 ацетанилида, ацетаминофена, фенацетина, фенаматов, мефенамовой кислоты, меклофенамата, натрия меклофенамата, гетероарильных производных уксусной кислоты, толметина, кеторолака, диклофенака, производных пропионовой кислоты, ибuproфена, напроксена натрия, напроксена, фенопрофена, кетопрофена, флурбипрофена, оксапрозина; енольных кислот, производных оксикама, пироксикама,

- 15 мелоксикама, теноксикама, ампироксикама, дроксикама, пивоксикама, производных пиразолона, фенилбутазона, оксифенбутазона, антипирина, аминопирина, дипирона, коксибов, целекоксиба, рофекоксиба, набуметона, апазона, нимесулида, индометацина, сулиндака, этодолака, дифлунизала и изобутилфенилпропионовой кислоты.

Антимускариновое средство выбрано из группы, состоящей из оксибутинина,

- 20 солифенацина, дарифенацина и атропина.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит одно анальгетическое средство и одно антимускариновое средство. В одном варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой аспирин. В другом варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой ибuproфен.

- 25 В другом варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой напроксен или напроксен натрия. В другом варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой индометацин. В другом варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой набуметон. В другом варианте осуществления одно анальгетическое средство представляет собой

- 30 ацетаминофен. Анальгетическое средство и антимускариновое средство можно принимать в дозах, находящихся в диапазонах, указанных выше.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит одно или более анальгетических средств, индивидуально или в сочетании, в количестве в диапазоне 50-2000 мг, 50-1500 мг, 50-1200 мг, 50-1000 мг, 50-800 мг, 50-600 мг, 50-500

- 35 мг, 50-400 мг, 50-300 мг, 50-250 мг, 50-200 мг, 50-150 мг, 50-100 мг, 100-2000 мг, 100-1500 мг, 100-1200 мг, 100-1000 мг, 100-800 мг, 100-600 мг, 100-400 мг, 100-250 мг, 250-2000 мг, 250-1500 мг, 250-1200 мг, 250-1000 мг, 250-800 мг, 250-600 мг, 250-400 мг, 400-2000 мг, 400-1500 мг, 400-1200 мг, 400-1000 мг, 400-800 мг, 400-600 мг, 600-2000 мг, 600-1500 мг, 600-1200 мг, 600-1000 мг, 600-800 мг, 800-2000 мг, 800-1500 мг, 800-1200 мг, 800-1000

- 40 мг, 1000-2000 мг, 1000-1500 мг, 1000-1200 мг, 1200-2000 мг, 1200-1500 мг или 1500-2000 мг, при этом композиция составлена для длительного высвобождения с профилем высвобождения, в котором одно или более анальгетических средств высвобождаются непрерывно в течение 5-24 часов, 5-8, 8-16 часов или 16-24 часов.

- 45 В некоторых вариантах осуществления композиция составлена для длительного высвобождения с профилем высвобождения, в котором по меньшей мере 90% одного или более анальгетических средств высвобождаются непрерывно в течение 5-24 часов, 5-8, 8-16 часов или 16-24 часов.

В некоторых вариантах осуществления композиция составлена для длительного

высвобождения с профилем высвобождения, в котором одно или более анальгетических средств высвобождаются непрерывно в течение 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 или 24 часов. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит антимускариновое средство, антидиуретическое средство или спазмолитик.

5 В других вариантах осуществления композиция составлена для длительного высвобождения с профилем высвобождения, в котором анальгетическое средство высвобождается с постоянной скоростью в течение 5-24 часов, 5-8, 8-16 часов или 16-24 часов. В других вариантах осуществления композиция составлена для длительного 10 высвобождения с профилем высвобождения, в котором анальгетическое средство высвобождается с постоянной скоростью в течение 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 или 24 часов. Используемое в настоящем документе выражение «с постоянной скоростью в течение определенного периода времени» означает профиль высвобождения, в котором скорость высвобождения в любой момент на протяжении данного периода времени 15 находится в пределах 30-300% от средней скорости высвобождения в течение этого заданного периода времени. Например, если 80 мг аспирина высвобождается с постоянной скоростью в течение 8 часов, средняя скорость высвобождения составляет 10 мг/час в течение этого периода времени и фактическая скорость высвобождения в любое время в течение этого периода находится в диапазоне от 3 мг/час до 30 мг/час 20 (то есть в пределах 30-300% от средней скорости высвобождения 10 мг/час в течение 8-часового периода). В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит антимускариновое средство, антидиуретическое средство или спазмолитик.

25 В некоторых вариантах осуществления анальгетическое средство выбрано из группы, состоящей из аспирина, ибuproфена, напроксена натрия, напроксена, индометацина, набуметона и ацетаминофена. Фармацевтическая композиция составлена для обеспечения стабильного высвобождения небольшого количества анальгетического средства для поддержания эффективной концентрации лекарственного средства в крови и поэтому общее количество лекарственного средства в одной дозе уменьшено по 30 сравнению с препаратом немедленного высвобождения.

35 В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит 50-250 мг, 250-400 мг или 400-600 мг анальгетического средства, составленного для длительного высвобождения, с профилем высвобождения, в котором по меньшей мере 90% анальгетического средства высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

40 В одном конкретном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 50-250 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с профилем высвобождения, в котором по меньшей мере 90% ацетаминофена высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

45 В другом конкретном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 250-400 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с профилем высвобождения, в котором 90% ацетаминофена высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

50 В другом конкретном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 400-600 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с профилем высвобождения, в котором 90% ацетаминофена высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

В другом конкретном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 600-800 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с профилем высвобождения, в котором 90% ацетаминофена высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

5 В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 800-1000 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с профилем высвобождения, в котором 90% ацетаминофена высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

В некоторых других вариантах осуществления фармацевтическая композиция 10 содержит одно или более анальгетических средств, индивидуально или в сочетании, в количестве в диапазоне 50-2000 мг, 50-1500 мг, 50-1200 мг, 50-1000 мг, 50-800 мг, 50-600 мг, 50-500 мг, 50-400 мг, 50-300 мг, 50-250 мг, 50-200 мг, 100-2000 мг, 100-1500 мг, 100-1200 мг, 100-1000 мг, 100-800 мг, 100-600 мг, 100-500 мг, 100-400 мг, 100-300 мг, 100-200 мг, 200-2000 мг, 200-1500 мг, 200-1200 мг, 200-1000 мг, 200-800 мг, 200-600 мг, 200-400 15 мг, 400-2000 мг, 400-1500 мг, 400-1200 мг, 400-1000 мг, 400-800 мг, 400-600 мг, 600-2000 мг, 600-1500 мг, 600-1200 мг, 600-1000 мг, 600-800 мг, 800-2000 мг, 800-1500 мг, 800-1200 мг, 800-1000 мг, 1000-2000 мг, 1000-1500 мг, 1000-1200 мг, 1200-2000 мг, 1200-1500 мг или 1500-2000 мг, при этом анальгетическое средство(а) составлено для длительного высвобождения, характеризующегося двухфазным профилем высвобождения, в котором 20 20-60% анальгетического средства (средств) высвобождается в течение 2 часов после введения и остаток высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24 часов. В другом варианте осуществления анальгетическое средство(а) составлено для длительного высвобождения с двухфазным профилем высвобождения, в котором 20, 30, 40, 50 или 60% анальгетического средства (средств) высвобождается в течение 25 2 часов после введения и остаток высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-8, 8-16 или 16-24 часов. В одном варианте осуществления анальгетическое средство(а) выбрано из группы, состоящей из аспирина, ибупрофена, напроксена натрия, напроксена, индометацина, набуметона и ацетаминофена. В другом варианте осуществления анальгетическое средство представляет собой ацетаминофен. 30 В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит антимускариновое средство, антидиуретическое средство, спазмолитик или золпидем.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 50-400 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с двухфазным 35 профилем высвобождения, в котором 20%, 30%, 40%, 50% или 60% ацетаминофена высвобождается в течение 2 часов после введения и остаток высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 100-300 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с двухфазным 40 профилем высвобождения, в котором 20%, 30%, 40%, 50% или 60% ацетаминофена высвобождается в течение 2 часов после введения и остаток высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 400-600 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с двухфазным 45 профилем высвобождения, в котором 20%, 30%, 40%, 50% или 60% ацетаминофена высвобождается в течение 2 часов после введения и остаток высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 600-800

5 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с двухфазным профилем высвобождения, в котором 20%, 30%, 40%, 50% или 60% ацетаминофена высвобождается в течение 2 часов после введения и остаток высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

10 В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 800-1000 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с двухфазным профилем высвобождения, в котором 20%, 30%, 40%, 50% или 60% ацетаминофена высвобождается в течение 2 часов после введения и остаток высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

15 В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит 1000-1200 мг ацетаминофена, составленного для длительного высвобождения, с двухфазным профилем высвобождения, в котором 20%, 30%, 40%, 50% или 60% ацетаминофена высвобождается в течение 2 часов после введения и остаток высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24, 5-8, 8-16 или 16-24 часов.

20 Другой аспект настоящей заявки относится к способу лечения никтурии путем введения человеку, нуждающемуся в этом, первой фармацевтической композиции, содержащей диуретик, с последующим введением второй фармацевтической композиции, содержащей одно или более анальгетических средств. Первая фармацевтическая композиция дозирована и составлена для оказания диуретического эффекта в пределах

25 6 часов после введения и ее вводят по меньшей мере за 8 или 7 часов до сна. Вторая фармацевтическая композиция составлена для длительного высвобождения или отсроченного длительного высвобождения и ее водят в пределах 2 часов до сна.

30 Примеры диуретиков включают, но не ограничиваются ими, подкисляющие соли, такие как CaCl_2 и NH_4Cl ; антагонисты рецептора 2 аргинина-вазопрессина, такие как амфотерицин В и лития цитрат; акваретики, такие как Goldenrod и Junipe; антагонисты обмена Na-H , такие как дофамин; ингибиторы карбоангидразы, такие как ацетазоламид и дозоламид; петлевые диуретики, такие как бутметанид, этакриновая кислота, фуросемид и торсемид; осмотические диуретики, такие как глюкоза и маннит; сохраняющие калий диуретики, такие как амилорид, спиронолактон, триамтерен, калия канrenoат; тиазиды, такие как бендрофлуметиазид и гидрохлортиазид, и ксантины, такие как кофеин, теофилин и теобромин.

35 В некоторых вариантах осуществления вторая фармацевтическая композиция дополнительно содержит одно или более антимускариновых средств. В некоторых других вариантах осуществления вторая фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или более антидиуретических средств. В некоторых других вариантах осуществления вторая фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или более спазмолитиков. В некоторых других вариантах осуществления вторая фармацевтическая композиция дополнительно содержит золпидем. Вторая фармацевтическая композиция может быть составлена в препарат немедленного высвобождения или препарат отсроченного высвобождения.

40 Другой аспект настоящей заявки относится к способу снижения частоты мочеиспускания путем введения нуждающемуся в этом субъекту двух или более анальгетических средств попеременно для предотвращения развития устойчивости к лекарственному средству. В одном варианте осуществления способ включает введение первого анальгетического средства в первый период времени и затем введение второго анальгетического средства во второй период времени. В другом варианте осуществления способ дополнительно включает введение третьего анальгетического средства в третий период времени. Первое, второе и третье анальгетические средства отличаются друг

от друга и по меньшей мере одно из них составлено для длительного высвобождения или отсроченного длительного высвобождения. В одном варианте осуществления первое анальгетическое средство представляет собой ацетаминофен, второе анальгетическое средство представляет собой ибупрофен и третье анальгетическое 5 средство представляет собой напроксен натрия. Продолжительность каждого периода может варьироваться в зависимости от реакции субъекта на каждое анальгетическое средство. В некоторых вариантах осуществления каждый период длится от 3 дней до трех недель. В другом варианте осуществления первый, второй и третий анальгетики 10 составлены для длительного высвобождения или отсроченного длительного высвобождения.

Другой аспект настоящей заявки относится к фармацевтической композиции, содержащей несколько активных ингредиентов и фармацевтически приемлемый носитель, при этом по меньшей мере один из нескольких активных ингредиентов 15 составлен для длительного высвобождения или отсроченного длительного высвобождения. В некоторых вариантах осуществления несколько активных ингредиентов включают один или более анальгетиков и одно или более антидиуретических средств. В других вариантах осуществления несколько активных ингредиентов включают один или более анальгетиков и одно или более 20 антихолинергических средств. В других вариантах осуществления несколько активных ингредиентов включают один или более анальгетиков и золпидем. В других вариантах осуществления несколько активных ингредиентов включают один или более анальгетиков, одно или более антидиуретических средств и одно или более антихолинергических средств. В других вариантах осуществления несколько активных ингредиентов включают один или более анальгетиков, золпидем и одно или более 25 антихолинергических средств или одно или более антихолинергических средств. Антимускариновое средство может быть выбрано из группы, состоящей из оксибутинина, солифенацина, дарифенацина и атропина. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит два различных анальгетика, выбранных из группы, состоящей из ацетилсалициловой кислоты, ибупрофена, 30 напроксена натрия, напроксена, набуметона, ацетаминофена и индометацина. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит один анальгетик, выбранный из группы, состоящей из ацетилсалициловой кислоты, ибупрофена, напроксена натрия, набуметона, ацетаминофена и индометацина; и антихолинергическое 35 средство, выбранное из группы, состоящей из оксибутинина, солифенацина, дарифенацина и атропина.

В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция по настоящей заявке дополнительно содержит один или более спазмолитиков. Примеры спазмолитиков включают, но не ограничиваются ими, карисопродол, бензодиазепины, баклофен, циклобензаприн, метаксалон, метокарбамол, клонидин, аналог клонидина и дантролен. 40 В некоторых вариантах осуществления спазмолитики используют в суточной дозе от 1 мг до 1000 мг, от 1 мг до 100 мг, от 10 мг до 1000 мг, от 10 мг до 100 мг, от 20 мг до 1000 мг, от 20 мг до 800 мг, от 20 мг до 500 мг, от 20 мг до 200 мг, от 50 мг до 1000 мг, от 50 мг до 800 мг, от 50 мг до 200 мг, от 100 мг до 800 мг, от 100 мг до 500 мг, от 200 мг до 800 мг и от 200 мг до 500 мг. Спазмолитики могут быть составлены отдельно или 45 вместе с другим активным ингредиентом(ами) в фармацевтическую композицию для немедленного высвобождения, длительного высвобождения, отсроченного длительного высвобождения или их сочетания.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит

одно или более анальгетических средств, выбранных из группы, состоящей из аспирина, ибuproфена, напроксена, напроксена натрия, индометацина, набуметона и ацетаминофена в количестве 50-400 мг для каждого средства, и одно или более антимускариновых средств, выбранных из группы, состоящей из оксибутинина, 5 солифенацина, дарифенацина и атропина в общем количестве 1-25 мг, при этом фармацевтическая композиция составлена для длительного высвобождения с двухфазным профилем высвобождения, в котором 20-60% активных ингредиентов высвобождается в течение 2 часов после введения и остаток активных ингредиентов высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24 часов, 5-8 10 часов, 8-16 часов или 16-24 часов.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит одно или более анальгетических средств, выбранных из группы, состоящей из аспирина, ибuproфена, напроксена, напроксена натрия, индометацина, набуметона и ацетаминофена в количестве 50-400 мг для каждого средства, и одно или более 15 антидиуретических средств, выбранных из группы, состоящей из антидиуретического гормона (ADH), ангиотензина II, альдостерона, вазопрессина, аналогов вазопрессина (например, десмопрессина, аргипрессина, липрессина, фелипрессина, орнипрессина, терлипрессина); агонистов рецептора вазопрессина, антагонистов рецепторов предсердного натрийуретического пептида (ANP) и натрийуретического пептида С-типа (CNP) (то есть NPR1, NPR2, NPR3) (например, HS-142-1, изатина [Asu7,23']b-ANP-(7-28)], анантина, циклического пептида из *Streptomyces coeruleescens* и моноклонального антитела 3G12); антагонистов рецептора соматостатина 2 типа (например, соматостатина), а также их фармацевтически приемлемых производных, аналогов, солей, гидратов и сольватов, при этом фармацевтическая композиция составлена для 20 длительного высвобождения с двухфазным профилем высвобождения, в котором 20-60% активных ингредиентов высвобождается в течение 2 часов после введения и остаток активных ингредиентов высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24 часов, 5-8 часов, 8-16 часов или 16-24 часов.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит 30 одно или более анальгетических средств, выбранных из группы, состоящей из аспирина, ибuproфена, напроксена, напроксена натрия, индометацина, набуметона и ацетаминофена в количестве 50-400 мг для каждого средства, и один или более спазмолитиков, выбранных из группы, состоящей из карисопродола, бензодиазепинов, баклофена, циклобензаприна, метаксалона, метокарбамола, клонидина, аналога 35 клонидина и дантролена в общем количестве 50-500 мг, при этом фармацевтическая композиция составлена для длительного высвобождения с двухфазным профилем высвобождения, в котором 20-60% активных ингредиентов высвобождается в течение 2 часов после введения и остаток активных ингредиентов высвобождается непрерывно или с постоянной скоростью в течение 5-24 часов, 5-8 часов, 8-16 часов или 16-24 часов.

40 Настоящее изобретение далее проиллюстрировано следующими примерами, которые не должны быть истолкованы как ограничивающие. Содержание всех литературных источников, патентов и опубликованных патентных заявок, упомянутых в данной заявке, включено в настоящий документ посредством ссылки.

ПРИМЕР 1: ПОДАВЛЕНИЕ ПОЗЫВОВ К МОЧЕИСПУСКАНИЮ

45 В исследовании принимали участие двадцать добровольцев, как мужчин, так и женщин, каждый из которых испытывал преждевременные позывы или желание помочиться, что не давало им возможности спать в течение достаточного периода времени, чтобы чувствовать себя хорошо отдохнувшими. Каждый субъект принимал

400-800 мг ибuproфена одной дозой перед сном. По меньшей мере 14 субъектов сообщили, что они смогли лучше отдохнуть, поскольку не просыпались так часто, как раньше, из-за позывов к мочеиспусканию.

Некоторые субъекты сообщили, что после нескольких недель приема на ночь

ибuproфена пропадал положительный эффект менее частых позывов к мочеиспусканию. Однако все эти субъекты затем сообщили о том, что положительный эффект возвращался после нескольких дней воздержания от приема доз.

ПРИМЕР 2: ЭФФЕКТ АНАЛЬГЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ, БОТУЛИНИЧЕСКОГО НЕЙРОТОКСИНА И АНТИМУСКАРИНОВЫХ СРЕДСТВ НА ОТВЕТНУЮ РЕАКЦИЮ МАКРОФАГОВ НА ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И НЕВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СТИМУЛЫ

Дизайн эксперимента

Данное исследование предназначено для определения дозы и *in vitro* эффективности анальгетиков и антимускариновых средств в контролировании ответной реакции макрофагов на воспалительные и невоспалительные стимулы, опосредованной COX2 и простагландинами (PGE, PGH и так далее). Оно устанавливает базовые показатели (дозу и кинетику) ответных реакций на воспалительные и невоспалительные эффекторы в клетках мочевого пузыря. Вкратце культивируемые клетки подвергают воздействию анальгетических средств и/или антимускариновых средств в отсутствие или в присутствии различных эффекторов.

Эффекторы включают: липополисахарид (ЛПС), воспалительное средство и индуктор Cox2 в качестве воспалительного стимула; карбахол или ацетилхолин, стимулятор сокращения гладких мышц, в качестве невоспалительного стимула; ботулинический нейротоксин А, известный ингибитор высвобождения ацетилхолина в качестве положительного контроля и арахидоновую кислоту (АА), гамма-линоленовую кислоту (DGLA) или эйкозапентаеновую кислоту (EPA) в качестве предшественников простагландинов, которые продуцируются после последовательного окисления АА, DGLA или EPA внутри клетки циклооксигеназами (COX1 и COX2) и конечными простагландинсинтазами.

Анальгетические средства включают: салицилаты, такие как аспирин, производное изобутилфенилпропионовой кислоты (ибuproфена), например, адвил, мотрин, нуприн и медипрен, напроксен натрия, например, алив, анапрокс, анталгин, феминакс ультра, фланакс, инза, мидол длительного действия, налгезин, напозин, напрелан, напрогезик, напрозин, напрозин суспензия, ЕС-напрозин, нароцин, проксен, синфлекс и ксенобид, производное уксусной кислоты, такое как индометацин (индоцин), производное 1-нафтилинуксусной кислоты, такое как набуметон или релафен, производное N-ацетил-пара-аминофенола (APAP), например, ацетаминофен или парацетамол (тайленол), и целекоксиб.

Антимускариновые средства включают: оксибутинин, солифенацин, дарифенацин и атропин.

Макрофаги подвергают кратковременной (1-2 часа) или долговременной (24-48 часов) стимуляции при помощи:

- 1) каждого анальгетического средства в отдельности в разных дозах,
- 2) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии ЛПС,
- 3) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,
- 4) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии АА, DGLA или EPA,

- (5) ботулинического нейротоксина А в отдельности в разных дозах,
- (6) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии ЛПС,
- (7) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,
- 5 (8) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии AA, DGLA или EPA,
- (9) каждого антимускаринового средства в отдельности в разных дозах,
- (10) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии ЛПС,
- (11) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии карбахола
- 10 или ацетилхолина,
- (12) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии AA, DGLA или EPA.

Затем клетки анализируют на высвобождение PGH2, PGE, PGE2, простацидина, тромбоксана, IL-1 β , IL-6, TNF- α , активность COX2, продукцию цАМФ и цГМФ, продукцию мРНК IL-1 β , IL-6, TNF- α и COX2, а также поверхностную экспрессию молекул CD80, CD86 и МНС класса II.

Материалы и методы

Макрофаги

В данном исследовании использовали мышиные макрофаги линий RAW264.7 или 20 J774 (получены из ATCC). Клетки поддерживали в культуральной среде, содержащей RPMI 1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки (ЭБС), 15 мМ HEPES, 2 мМ L-глютамина, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина. Клетки культивировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ и разделяли (пересевали) один раз в неделю.

25 In vitro обработка макрофагов анальгетиками

Макрофаги линии RAW264.7 высевали в 96-луночные планшеты при плотности клеток $1,5 \times 10^5$ клеток на лунку в 100 мкл культуральной среды. Клетки обрабатывали (1) анальгетиком (ацетаминофен, аспирин, ибупрофен или напроксен) в различных концентрациях, (2) липополисахаридом (ЛПС), который является эффектором воспалительных стимулов для макрофагов, в различных концентрациях, (3) карбахолом или ацетилхолином, которые являются эффекторами невоспалительных стимулов, в различных концентрациях, (4) анальгетиком и ЛПС или (5) анальгетиком и карбахолом или ацетилхолином. Вкратце анальгетики растворяли в культуральной среде без ЭБС (то есть RPMI 1640 с добавлением 15 мМ HEPES, 2 мМ L-глютамина, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина) и разбавляли до нужных концентраций серийным разведением в той же среде. Для клеток, обработанных анальгетиком в отсутствие ЛПС, 50 мкл раствора анальгетика и 50 мкл культуральной среды без ЭБС добавляли в каждую лунку. Для клеток, обработанных анальгетиком в присутствии ЛПС, 50 мкл раствора анальгетика и 50 мкл ЛПС (из *Salmonella typhimurium*) в культуральной среде без ЭБС добавляли в каждую лунку. Все условия обработки тестировали в двух повторах.

Через 24 или 48 часов культивирования 150 мкл культуральных супернатантов собирали, осаждали центрифугированием в течение 2 мин со скоростью 8000 об/мин при 4°C для удаления клеток и детрита и хранили при -70°C для анализа на цитокиновый ответ методом ELISA. Клетки собирали и промывали центрифугированием (5 мин со скоростью 1500 об/мин при 4°C) в 500 мкл фосфатного буфера (PBS). Затем половину клеток быстро замораживали в жидком азоте и хранили при -70°C. Оставшиеся клетки окрашивали флуоресцентно меченными моноклональными антителами и анализировали

методом проточной цитометрии.

Анализ методом проточной цитометрии экспрессии костимуляторных молекул

для FACS (фосфатно-солевой буфер (PBS) с 2% бычьего сывороточного альбумина

5 (БСА) и 0,01% NaN₃) и окрашивали в течение 30 мин при 4°C путем добавления FITC-конъюгиранного анти-CD40 антитела, PE-конъюгиированного анти-CD80 антитела, PE-конъюгиированного анти-CD86 антитела, PE-конъюгиированного анти-МНС класса

10 II (I-A^d) антитела (BD Bioscience). Затем клетки промывали центрифугированием (5 мин со скоростью 1500 об/мин при 4°C) в 300 мкл буфера для FACS. После второго промывания клетки ресуспенсировали в 200 мкл буфера для FACS и процент клеток, экспрессирующих конкретный маркер (положительные), или сочетание маркеров (дважды положительные) анализировали с использованием проточного цитометра Accuri C6 (BD Biosciences).

15 Анализ цитокиновых ответов методом ELISA

Культуральные супернатанты анализировали методом цитокин-специфичной ELISA для определения IL-1β, IL-6 и TNF-α ответов в культурах макрофагов, обработанных только анальгетиком, ЛПС или сочетанием ЛПС и анальгетика. Для анализов использовали иммунологические планшеты Nunc MaxiSorp (Nunc), покрытые в течение

20 ночи 100 мкл мАт против IL-6, TNF-α мыши (BD Biosciences) или мАт против IL-1β (R&D Systems) мыши в 0,1M натрий-бикарбонатном буфере (рН 9,5). После двух промываний PBS (200 мкл на лунку) добавляли 200 мкл PBS с 3% БСА в каждую лунку (блокирование) и планшеты инкубировали в течение 2 часов при комнатной температуре.

25 Планшеты вновь промывали два раза, добавляя по 200 мкл в лунку, затем добавляли 100 мкл стандартов цитокинов и культуральные супернатанты в серийных разведениях в двух повторах и планшеты инкубировали в течение ночи при 4°C. В конечном итоге, планшеты промывали дважды и инкубировали с 100 мкл вторичных биотинилированных мАт против IL-6, TNF-α (BD Biosciences) или IL-1β (R&D Systems) мыши с последующим использованием меченых пероксидазой мАт козы против биотина (Vector Laboratories).

30 Колориметрическая реакция развивалась при добавлении субстрата 2,2'-азино-бис(3) этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты (ABTS) и H₂O₂ (Sigma) и оптическую плотность измеряли при 415 нм, используя планшетный ридер для множественных

меток Victor[®] V (PerkinElmer).

Определение активности COX2 и продукции цАМФ и цГМФ

35 Активность COX2 в культивируемых макрофагах определяли методом последовательного конкурентного анализа ELISA (R&D Systems). Продукцию цАМФ и цГМФ определяли при помощи анализа на цАМФ и анализа на цГМФ. Такие анализы являются обычными в данной области.

Результаты

40 В таблице 1 приведены результаты экспериментов, проведенных с линией клеток макрофагов Raw 264, и основные результаты, касающиеся влияния анальгетиков на экспрессию на поверхности клеток костимуляторных молекул CD40 и CD80. Экспрессия этих молекул стимулируется COX2 и воспалительными сигналами и, таким образом, оценивается с целью определения функциональных последствий ингибирования COX2.

45 Как видно из таблицы 2, ацетаминофен, аспирин, ибuproфен и напроксен ингибируют базальную экспрессию костимуляторных молекул CD40 и CD80 макрофагами при всех тестируемых дозах (то есть 5×10⁵ нМ, 5×10⁴ нМ, 5×10³ нМ, 5×10² нМ, 50 нМ и 5 нМ),

за исключением самой высокой дозы (то есть 5×10^6 нМ), которая, судя по всему, усиливает, а не ингибитирует экспрессию костимуляторных молекул. Как показано на фиг. 1А и 1В, такой ингибирующий эффект на экспрессию CD40 и CD50 наблюдали при таких низких дозах анальгетиков как 0,05 нМ (то есть 0,00005 мкМ). Эти результаты подтверждают мнение о том, что контролируемое высвобождение небольших доз анальгетиков может быть более предпочтительным, чем кратковременная доставка высоких доз. Эксперимент также выявил, что ацетаминофен, аспирин, ибупрофен и напроксен оказывают сходный ингибирующий эффект на индуцированную ЛПС экспрессию CD40 и CD80.

10

Таблица 1						
Дизайн экспериментов						
	Контроль	ЛПС Salmonella typhimurium	Ацетаминофен	Аспирин	Ибупрофен	Напроксен
ТЕСТЫ						
1	X					
2	X	Ответы на дозу(0, 5, 50, 1000) нг/мл				
3	X		Ответы на дозу (0, 5, 50, 500, 5×10^3 , 5×10^4 , 5×10^5 , 5×10^6) нМ			
4	X	X (5 нг/мл) X (50 нг/мл) X (1000 нг/мл)	Ответы на дозу (0, 5, 50, 500, 5×10^3 , 5×10^4 , 5×10^5 , 5×10^6) нМ			

АНАЛИЗЫ	
a	Характеристика статуса активации/стимуляции: Анализ методом проточной цитометрии CD40, CD80, CD86 и МНС класса II
b	Медиаторы воспалительных ответов: анализ IL-1 β , IL-6, TNF- α методом ELISA

20

Таблица 2										
Сводные основные результаты экспериментов										
Эффекторы	% положи-тель-ных	Отрица-тель-ный кон-троль	ЛПС 5 нг/мл	Доза анальгетика (нМ)						
				5×10^6	5×10^5	5×10^4	5×10^3	500	50	5
	CD40 $^+$ CD80 $^+$	20,6	77,8							
Ацетаминофен	CD40 $^+$ CD80 $^+$			63	18	12	9,8	8,3	9,5	7,5
Аспирин	CD40 $^+$ CD80 $^+$			44	11	10,3	8,3	8	10,5	7,5
Ибупрофен	CD40 $^+$ CD80 $^+$			HB*	6,4	7,7	7,9	6,0	4,9	5,8
Напроксен	CD40 $^+$ CD80 $^+$			37	9,6	7,7	6,9	7,2	6,8	5,2
Анальгетик плюс ЛПС										
Ацетаминофен	CD40 $^+$ CD80 $^+$			95,1	82,7	72,4	68,8	66,8	66,2	62,1
Аспирин	CD40 $^+$ CD80 $^+$			84,5	80	78,7	74,7	75,8	70,1	65,7
Ибупрофен	CD40 $^+$ CD80 $^+$			HB	67	77,9	72,9	71,1	63,7	60,3
Напроксен	CD40 $^+$ CD80 $^+$			66,0	74,1	77,1	71,0	68,8	72	73

40

*HB: не выполнено (токсичность)

45

В таблице 3 суммированы результаты нескольких исследований, в которых измеряли уровни в сыворотке анальгетиков после перорального введения терапевтических доз взрослым людям. Как видно из таблицы 3, максимальные уровни в сыворотке анальгетиков после перорального введения терапевтических доз находятся в диапазоне от 10^4 до 10^5 нМ. Таким образом, протестированные *in vitro* дозы анальгетиков, указанные в таблице 2, покрывают диапазон концентраций, достигаемых *in vivo* в организме человека.

Таблица 3

Уровни анальгетиков в сыворотке крови человека после перорального введения терапевтических доз				
Анальгетическое средство	Молекулярная масса	Максимальные уровни в сыворотке после перорального введения терапевтических доз		Ссылки
		мг/л	нМ	
Ацетаминофен (Тайленол)	151,16	11-18	$7,2 \times 10^4$ - $1,19 \times 10^5$	*BMC Clinical Pharmacology, 2010, 10:10 *Anaesth Intensive Care, 2011, 39:242
Аспирин (Ацетилсалциловая кислота)	181,66	30-100	$1,65 \times 10^5$ - $5,5 \times 10^5$	*Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, 8th Edition, Biomedical Public, Foster City, CA, 2008, pp, 22-25 *J Lab Clin Med, 1984 Jun; 103:869
Ибuproфен (Адвил, Мотрин)	206,29	24-32	$1,16 \times 10^5$ - $1,55 \times 10^5$	*BMC Clinical Pharmacology 2010, 10:10 * J Clin Pharmacol, 2001, 41:330
Напроксен (Алив)	230,26	до 60	до $2,6 \times 10^5$	*J Clin Pharmacol, 2001, 41:330

ПРИМЕР 3: ЭФФЕКТ АНАЛЬГЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ, БОТУЛИНИЧЕСКОГО НЕЙРОТОКСИНА И АНТИМУСКАРИНОВЫХ СРЕДСТВ НА РЕАКЦИЮ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ МЫШИ НА ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И НЕВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СТИМУЛЫ

Дизайн эксперимента

Данное исследование предназначено для определения того, как оптимальные дозы анальгетиков, определенные в примере 2, влияют на гладкомышечные клетки мочевого пузыря в клеточной культуре или в тканевых культурах, и выяснения того, могут ли анальгетики различных классов действовать синергично для более эффективного ингибирования COX2 и PGE2 ответов.

Эффекторы, анальгетические средства и антимускариновые средства описаны в примере 2.

Первичную культуру гладкомышечных клеток мочевого пузыря мыши подвергают кратковременной (1-2 часа) или долговременной (24-48 часов) стимуляции при помощи:

- 1) каждого анальгетического средства в отдельности в разных дозах,
- (2) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии ЛПС,
- (3) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,
- (4) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии AA, DGLA или EPA,

- (5) ботулинического нейротоксина А в отдельности в разных дозах,
- (6) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии ЛПС,
- (7) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,
- (8) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии AA, DGLA или EPA,

- (9) каждого антимускаринового средства в отдельности в разных дозах,
- (10) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии ЛПС,
- (11) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,
- (12) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии AA, DGLA или EPA.

Затем клетки анализируют на высвобождение PGH2, PGE, PGE2, простацидина, тромбоксана, IL-1 β , IL-6, TNF- α , активность COX2, продукцию цАМФ и цГМФ, продукцию мРНК IL-1 β , IL-6, TNF- α и COX2, а также поверхностную экспрессию молекул CD80, CD86 и МНС класса II.

Материалы и методы

Выделение и очистка клеток мочевого пузыря мыши

Мочевой пузырь извлекали из подвергнутых эвтаназии мышей линии C57BL/6 (возраст 8-12 недель) и клетки выделяли путем ферментативного расщепления с последующей очисткой на градиенте перколла. Вкратце мочевые пузыри от 10 мышей измельчали

5 ножницами до тонкой суспензии в 10 мл буфера расщепления (RPMI 1640, 2% эмбриональной бычьей сыворотки, 0,5 мг/мл коллагеназы, 30 мкг/мл ДНКазы).

Суспензии мочевого пузыря ферментативно расщепляли в течение 30 минут при 37°C. Нерасщепленные фрагменты дополнительно диспергировали при помощи устройства

10 Cell-tainer®. Клеточную суспензию осаждали и добавляли к ступенчатому градиенту 20%, 40% и 75% перколла для очистки мононуклеарных клеток. В каждом эксперименте использовали 50-60 мочевых пузырей.

После промывания в RPMI 1640 клетки мочевого пузыря ресусцинировали в RPMI 1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 15 мМ HEPES, 2 мМ L-глютамина, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина и высевали в черные с прозрачным дном 96-луночные планшеты для микрокультивирования при плотности клеток 3×10^4 клеток на лунку в объеме 100 мкл. Клетки культивировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂.

In vitro обработка клеток анальгетиками

20 Клетки мочевого пузыря обрабатывали растворами анальгетиков (50 мкл/лунку) либо в отдельности, либо в сочетании с карбахолом (10-молярный, 50 мкл/лунку), в качестве примера невоспалительного стимула, или липополисахаридом (ЛПС) из *Salmonella typhimurium* (1 мкг/мл, 50 мкл/лунку), в качестве примера воспалительного стимула. Если к клеткам не добавляли никаких других эффекторов, в лунки добавляли 25 50 мкл RPMI 1640 без эмбриональной бычьей сыворотки для доведения конечного объема до 200 мкл.

Через 24 часа культивирования 150 мкл культуральных супернатантов собирали, центрифугировали в течение 2 мин со скоростью 8000 об/мин при 4°C для удаления клеток и детрита и хранили при -70°C для анализа на простагландин Е2 (PGE2) ответы 30 методом ELISA. Клетки фиксировали, пермеабилизировали и блокировали для обнаружения циклооксигеназы-2 (COX2) с использованием флуорогенного субстрата. В определенном эксперименте клетки стимулировали 12 часов *in vitro* для анализа COX2 ответов.

Анализ COX2 ответов

35 COX2 ответы анализировали методом клеточного анализа ELISA с использованием набора для иммуноанализа на общее количество COX2 человека/мыши (R&D Systems), следуя инструкциям изготовителя. Вкратце после фиксации и пермеабилизации клеток антитела мыши против всех COX2 и антитела кролика против общего GAPDH добавляли в лунки черных с прозрачным дном 96-луночных планшетов для микрокультивирования.

40 После инкубации и промываний в лунки добавляли ПХ-конъюгированные антитела против IgG мыши и ЩФ-конъюгированные антитела против IgG кролика. После следующей инкубации и серии промываний добавляли флуорогенные субстраты для ПХ и ЩФ. В конечном итоге использовали планшетный ридер для множественных меток Victor® V (PerkinElmer) для регистрации флуоресценции, излучаемой при длине волны 600 нм (флуоресценция COX2) и 450 нм (флуоресценция GAPDH). Результаты представлены в виде относительных уровней всех COX2, выраженных в относительных единицах флуоресценции (ОЕФ) (RFUs) и нормированных на белок «домашнего хозяйства» GAPDH.

Анализ PGE2 ответов

Простагландин E2 ответы анализировали методом последовательного конкурентного анализа ELISA (R&D Systems). Более подробно культуральные супернатанты или стандарты PGE2 добавляли в лунки 96-луночного полистирольного планшета для 5 микротитрования, покрытого поликлональными антителами козы против иммуноглобулинов мыши. Через час инкубации на планшетном шейкере добавляли ПХ-конъюгированный PGE2 и планшеты инкубировали еще в течение двух часов при комнатной температуре. Затем планшеты промывали и раствор субстрата ПХ добавляли 10 в каждую лунку. Окраска развивалась в течение 30 мин и реакцию останавливали добавлением серной кислоты перед снятием показаний в лунках планшета при длине волны 450 нм с коррекцией длины волны при 570 нм. Результаты выражены в виде среднего значения пг/мл PGE2.

Другие анализы

Высвобождение PGH2, PGE, простацидина, тромбоксана, IL-1 β , IL-6 и TNF- α , 15 продукцию цАМФ и цГМФ, продукцию мРНК IL-1 β , IL-6, TNF- α и COX2, а также поверхность экспрессию молекул CD80, CD86 и МНС класса II определяли, как описано в примере 2.

Результаты

Аналгетики ингибируют COX2 ответы клеток мочевого пузыря мыши на

20 воспалительных стимулах

Несколько анальгетиков (ацетаминофен, аспирин, ибупрофен и напроксен) 25 тестировали на клетках мочевого пузыря мыши в концентрации 5 мкМ или 50 мкМ для определения того, могут ли анальгетики индуцировать COX2 ответы. Анализ 24-часовых культур показал, что ни один из протестированных анальгетиков не индуцировал COX2 ответы в клетках мочевого пузыря мыши *in vitro*.

Также тестировали эффект этих анальгетиков на COX2 ответы клеток мочевого пузыря на стимуляцию карбахолом или ЛПС *in vitro*. Как указано в таблице 1, карбахол в протестированной дозе не оказывал значительного эффекта на уровни COX2 в клетках мочевого пузыря мыши. С другой стороны, ЛПС значительно увеличивал общие уровни 30 COX2. Интересно, что ацетаминофен, аспирин, ибупрофен и напроксен, все могли подавлять эффект ЛПС на уровне COX2. Подавляющий эффект анальгетиков был замечен, когда эти лекарственные средства тестировали в концентрации либо 5 мкМ, либо 50 мкМ (таблица 4).

35 Таблица 4

Экспрессия COX2 клетками мочевого пузыря мыши после *in vitro* стимуляции и обработки анальгетиком

Стимул	Анальгетик	Общие уровни COX2 (нормированные ОЕФ)
нет	нет	158±18
Карбахол (мМ)	нет	149±21
ЛПС (1 мкг/мл)	нет	420±26
ЛПС (1 мкг/мл)	Ацетаминофен (5 мкМ)	275±12
ЛПС (1 мкг/мл)	Аспирин (5 мкМ)	240±17
ЛПС (1 мкг/мл)	Ибупрофен (5 мкМ)	253±32
ЛПС (1 мкг/мл)	Напроксен (5 мкМ)	284±11
ЛПС (1 мкг/мл)	Ацетаминофен (50 мкМ)	243±15
ЛПС (1 мкг/мл)	Аспирин (50 мкМ)	258±21
ЛПС (1 мкг/мл)	Ибупрофен (50 мкМ)	266±19
ЛПС (1 мкг/мл)	Напроксен (50 мкМ)	279±23

Аналгетики ингибируют PGE2 ответы клеток мочевого пузыря мыши на воспалительный стимул

Измеряли секрецию PGE2 в культуральных супернатантах клеток мочевого пузыря мыши для определения биологической значимости изменения анальгетиками уровней COX2 в клетках мочевого пузыря мыши. Как показано в таблице 5, PGE2 не был обнаружен в культуральных супернатантах нестимулированных клеток мочевого пузыря или клеток мочевого пузыря, культивированных в присутствии карбахола. Так же, как и в случае с COX2 ответами, описанными выше, стимуляция клеток мочевого пузыря мыши ЛПС индуцировала секрецию больших количеств PGE2. Добавление анальгетиков ацетаминофена, аспирина, ибuproфена и напроксена приводило к подавлению эффекта ЛПС на секрецию PGE2, и не было обнаружено разницы между ответами клеток, обработанных анальгетиками в дозе 5 или 50 мкМ.

Таблица 5		
Секреция PGE2 клетками мочевого пузыря мыши после <i>in vitro</i> стимуляции и обработки анальгетиком		
Стимул	Анальгетик	Уровни PGE2 (пг/мл)
нет	нет	<20,5
15 Карбахол (мМ)	нет	<20,5
	нет	925±55
	Ацетаминофен (5 мкМ)	619±32
	Аспирин (5 мкМ)	588±21
	Ибупрофен (5 мкМ)	593±46
	Напроксен (5 мкМ)	597±19
	Ацетаминофен (50 мкМ)	600±45
	Аспирин (50 мкМ)	571±53
	Ибупрофен (50 мкМ)	568±32
	Напроксен (50 мкМ)	588±37

Таким образом, эти данные показывают, что сами по себе анальгетики в концентрации 5 мкМ или 50 мкМ не индуцируют COX2 и PGE2 ответы в клетках мочевого пузыря мыши. Однако анальгетики в дозе 5 мкМ или 50 мкМ значительно ингибируют COX2 и PGE2 ответы клеток мочевого пузыря мыши, стимулированных *in vitro* ЛПС (1 мкг/мл). Не наблюдали никакого значительного эффекта анальгетиков на COX2 и PGE2 ответы клеток мочевого пузыря, стимулированных карбахолом (1 мМ).

30 ПРИМЕР 4: ЭФФЕКТ АНАЛЬГЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ, БОТУЛИНИЧЕСКОГО НЕЙРОТОКСИНА И АНТИМУСКАРИНОВЫХ СРЕДСТВ НА СОКРАЩЕНИЕ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ МЫШИ

Дизайн эксперимента

35 Культивируемые гладкомышечные клетки мочевого пузыря мыши или крысы и гладкомышечную ткань мочевого пузыря мыши или крысы подвергают воздействию воспалительных стимулов и невоспалительных стимулов в присутствии анальгетического средства и/или антимускаринового средства в различных концентрациях. Индуцируемое стимулом сокращение измеряют для оценки ингибирующего эффекта анальгетического средства и/или антимускаринового средства.

40 Эффекторы, анальгетические средства и антимускариновые средства описаны в примере 2.

Первичную культуру гладкомышечных клеток мочевого пузыря мыши подвергают кратковременной (1-2 часа) или долговременной (24-48 часов) стимуляции при помощи:

- 1) каждого анальгетического средства в отдельности в разных дозах,
- 45 (2) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии ЛПС,
- (3) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,
- (4) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии AA, DGLA или

ЕРА,

- (5) ботулинического нейротоксина А в отдельности в разных дозах,
- (6) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии ЛПС,
- (7) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии карбахола или

5 ацетилхолина,

- (8) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии АА, DGLA или ЕРА,

(9) каждого антимускаринового средства в отдельности в разных дозах,

(10) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии ЛПС,

10 (11) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,

- (12) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии АА, DGLA или ЕРА.

Материалы и методы

15 Первичные клетки мочевого пузыря мыши выделяли, как описано в примере 3. В определенных экспериментах использовали культуры ткани мочевого пузыря.

Сокращения гладкомышечных клеток мочевого пузыря регистрировали на полиграфе Grass (Quincy Mass, США).

ПРИМЕР 5: ЭФФЕКТ ПЕРОРАЛЬНЫХ АНАЛЬГЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ И 20 АНТИМУСКАРИНОВЫХ СРЕДСТВ НА СОХ2 И РГЕ2 ОТВЕТЫ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ МЫШИ

Дизайн эксперимента

25 Нормальным мышам и мышам с синдромом гиперактивного мочевого пузыря вводят перорально дозы аспирина, напроксена натрия, ибuproфена, индоцина, набуметона,

тайленола, целекоксиба, оксибутинина, солифенацина, дарифенацина, атропина и их сочетаний. Контрольные группы включают не получающих препараты нормальных мышей и не получающих препараты мышей с синдромом гиперактивного мочевого пузыря ГМП (ОАВ). Через тридцать (30) минут после последних доз мочевые пузыри собирают и стимулируют *ex vivo* карбахолом или ацетилхолином. В определенных

30 экспериментах мочевые пузыри обрабатывают ботулиническим нейротоксином А перед стимуляцией карбахолом. Животных содержат в метаболических клетках и оценивают частоту (и объем) мочеиспускания. Продуктивность мочевого пузыря определяют, контролируя потребление воды и вес подстилки в клетках. Уровни в сыворотке РГН2, РГЕ, РГЕ2, простацидина, тромбоксана, IL-1 β , IL-6, TNF- α , цАМФ и цГМФ определяют

35 методом ELISA. Экспрессию CD80, CD86, МНС класса II в клетках цельной крови определяют методом проточной цитометрии.

В конце эксперимента животных подвергают эвтаназии и сокращения мочевого пузыря *ex vivo* регистрируют на полиграфе Grass. Части мочевых пузырей фиксируют в формалине и СОХ2 ответы анализируют иммуногистохимическими методами.

40 ПРИМЕР 6: ЭФФЕКТ АНАЛЬГЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ, БОТУЛИНИЧЕСКОГО НЕЙРОТОКСИНА И АНТИМУСКАРИНОВЫХ СРЕДСТВ НА РЕАКЦИЮ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ ЧЕЛОВЕКА НА ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И НЕВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СТИМУЛЫ

Дизайн эксперимента

45 Данное исследование предназначено для определения того, как оптимальные дозы анальгетиков, определенные в примерах 1-5, влияют на гладкомышечные клетки мочевого пузыря человека в клеточной культуре или в тканевых культурах, и выяснения того, могут ли анальгетики различных классов действовать синергично для более

эффективного ингибиования COX2 и PGE2 ответов.

Эффекторы, анальгетические средства и антимускариновые средства описаны в примере 2.

Гладкомышечные клетки мочевого пузыря человека подвергают кратковременной

5 (1-2 часа) или долговременной (24-48 часов) стимуляции при помощи:

1) каждого анальгетического средства в отдельности в разных дозах,

2) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии ЛПС,

3) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,

10 4) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии AA, DGLA или EPA,

5) ботулинического нейротоксина A в отдельности в разных дозах,

6) ботулинического нейротоксина A в разных дозах в присутствии ЛПС,

7) ботулинического нейротоксина A в разных дозах в присутствии карбахола или

15 ацетилхолина,

8) ботулинического нейротоксина A в разных дозах в присутствии AA, DGLA или EPA,

9) каждого антимускаринового средства в отдельности в разных дозах,

10) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии ЛПС,

20 11) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,

12) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии AA, DGLA или EPA.

Затем клетки анализируют на высвобождение PGH2, PGE, PGE2, простацидина,

25 тромбоксана, IL-1 β , IL-6, TNF- α , активность COX2, продукцию цАМФ и цГМФ,

продукцию мРНК IL-1 β , IL-6, TNF- α и COX2, а также поверхностную экспрессию молекул CD80, CD86 и МНС класса II.

ПРИМЕР 7: ЭФФЕКТ АНАЛЬГЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ, БОТУЛИНИЧЕСКОГО НЕЙРТОКСИНА И АНТИМУСКАРИНОВЫХ СРЕДСТВ НА СОКРАЩЕНИЕ

30 ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ ЧЕЛОВЕКА

Дизайн эксперимента

Культивируемые гладкомышечные клетки мочевого пузыря человека подвергают воздействию воспалительных стимулов и невоспалительных стимулов в присутствии анальгетического средства и/или антимускаринового средства в различных

35 концентрациях. Индуцируемое стимулом сокращение измеряют для оценки ингибирующего эффекта анальгетического средства и/или антимускаринового средства.

Эффекторы, анальгетические средства и антимускариновые средства описаны в примере 2.

Гладкомышечные клетки мочевого пузыря человека подвергают кратковременной

40 (1-2 часа) или долговременной (24-48 часов) стимуляции при помощи:

1) каждого анальгетического средства в отдельности в разных дозах,

2) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии ЛПС,

3) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,

45 4) каждого анальгетического средства в разных дозах в присутствии AA, DGLA или EPA,

5) ботулинического нейротоксина A в отдельности в разных дозах,

6) ботулинического нейротоксина A в разных дозах в присутствии ЛПС,

(7) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,

(8) ботулинического нейротоксина А в разных дозах в присутствии AA, DGLA или EPA,

5 (9) каждого антимускаринового средства в отдельности в разных дозах,

(10) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии ЛПС,

(11) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии карбахола или ацетилхолина,

(12) каждого антимускаринового средства в разных дозах в присутствии AA, DGLA

10 или EPA.

Сокращения гладкомышечных клеток мочевого пузыря регистрируют на полиграфе Grass (Quincy Mass, США).

ПРИМЕР 8: ЭФФЕКТ АНАЛЬГЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА РЕАКЦИЮ

ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК НОРМАЛЬНОГО МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

15 ЧЕЛОВЕКА НА ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И НЕВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СИГНАЛЫ

Дизайн эксперимента

Культура гладкомышечных клеток нормального мочевого пузыря человека

Гладкомышечные клетки нормального мочевого пузыря человека выделяли путем ферментативного расщепления макроскопически нормальных фрагментов мочевого 20 пузыря человека. Клетки наращивали *in vitro* путем культивирования при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в среде RPMI 1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 15 mM HEPES, 2 mM L-глютамина, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мг/мл стрептомицина и пересевали один раз в неделю, обрабатывая трипсином для открепления клеток, с последующим пересевом в новый культуральный матрас. В первую неделю 25 культивирования в культуральную среду добавляли эпидермальный фактор роста в концентрации 0,5 нг/мл, фактор роста фибробластов в концентрации 2 нг/мл и инсулин в концентрации 5 мкг/мл.

Обработка гладкомышечных клеток нормального мочевого пузыря человека анальгетиками *in vitro*

30 Гладкомышечные клетки мочевого пузыря, обработанные трипсином и высаженные в планшеты для микрокультивирования при плотности клеток 3×10⁴ клеток на лунку в объеме 100 мкл, обрабатывали растворами анальгетиков (50 мкл/лунку) либо в отдельности, либо в сочетании с карбахолом (10-молярный, 50 мкл/лунку), в качестве примера невоспалительного стимула, или липополисахаридом (ЛПС) из *Salmonella typhimurium* (1 мкг/мл, 50 мкл/лунку), в качестве примера воспалительного стимула. Если к клеткам не добавляли никаких других эффекторов, в лунки добавляли 50 мкл 35 RPMI 1640 без эмбриональной бычьей сыворотки для доведения конечного объема до 200 мкл.

40 Через 24 часа культивирования 150 мкл культуральных супернатантов собирали, центрифугировали в течение 2 мин со скоростью 8000 об/мин при 4°C для удаления клеток и детрита и хранили при -70°C для анализа на простагландин E2 (PGE2) ответы методом ELISA. Клетки фиксировали, пермеабилизировали и блокировали для обнаружения COX2 с использованием флуорогенного субстрата. В определенном эксперименте клетки стимулировали 12 часов *in vitro* для анализа COX2, PGE2 и 45 цитокиновых ответов.

Анализ COX2, PGE2 и цитокиновых ответов

COX2 и PGE2 ответы анализировали, как описано в примере 3. Цитокиновые ответы анализировали, как описано в примере 2.

Результаты

Анальгетики ингибируют COX2 ответы гладкомышечных клеток нормального мочевого пузыря человека на воспалительные и невоспалительные стимулы - Анализ клеток и культуральных супернатантов через 24 часа культивирования показал, что ни один из анальгетиков, протестированных в отдельности, не индуцировал COX2 ответы в гладкомышечных клетках нормального мочевого пузыря человека. Однако, как показано в таблице 6, карбахол индуцировал низкие, но существенные COX2 ответы в гладкомышечных клетках нормального мочевого пузыря человека. С другой стороны, обработка ЛПС приводила к более высоким уровням COX2 ответов в гладкомышечных клетках нормального мочевого пузыря человека. Ацетаминофен, аспирин, ибупрофен и напроксен, все могли подавлять эффект карбохола и ЛПС на уровне COX2. Подавляющее действие анальгетиков было заметно в отношении ЛПС-индуцированных ответов, когда эти лекарственные средства тестировали в концентрации либо 5 мкМ, либо 50 мкМ.

Таблица 6			
Экспрессия COX2 гладкомышечными клетками нормального мочевого пузыря человека после <i>in vitro</i> стимуляции воспалительными и невоспалительными стимулами и обработки анальгетиками			
Стимул	Анальгетик	Общие уровни COX2 [#] (нормиро-ванные ОЕФ) субъект 1	Общие уровни COX2 [#] (нормиро-ванные ОЕФ) субъект 2
нет	нет	230	199
Карбахол 10 ⁻³ М	нет (50 мкМ)	437	462
Карбахол 10 ⁻³ М	Ацетаминофен (50 мкМ)	298	310
25	Карбахол 10 ⁻³ М	Аспирин (50 мкМ)	312
	Карбахол 10 ⁻³ М	Ибупрофен (50 мкМ)	309
	Карбахол 10 ⁻³ М	Напроксен (50 мкМ)	354
20	ЛПС (10 мкг/мл)	нет	672
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ацетаминофен (5 мкМ)	428
	ЛПС (10 мкг/мл)	Аспирин (5 мкМ)	472
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ибупрофен (5 мкМ)	417
	ЛПС (10 мкг/мл)	Напроксен (5 мкМ)	458
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ацетаминофен (50 мкМ)	399
	ЛПС (10 мкг/мл)	Аспирин (50 мкМ)	413
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ибупрофен (50 мкМ)	427
30	ЛПС (10 мкг/мл)	Напроксен (50 мкМ)	409
35	ЛПС (10 мкг/мл)		458

#Данные представляют собой средние значения из двух повторов

Анальгетики ингибируют PGE2 ответы гладкомышечных клеток нормального мочевого пузыря человека на воспалительные и невоспалительные стимулы - Так же, как и в случае с индукцией COX2 ответов, описанной выше, как карбахол, так и ЛПС индуцировали продукцию PGE2 гладкомышечными клетками нормального мочевого пузыря человека. Также было установлено, что ацетаминофен, аспирин, ибупрофен и напроксен подавляют ЛПС-индуцированные PGE2 ответы как в концентрации 5 мкМ, так и 50 мкМ (таблица 7).

Таблица 7			
Секреция PGE2 гладкомышечными клетками нормального мочевого пузыря человека после <i>in vitro</i> стимуляции воспалительными и невоспалительными стимулами и обработки анальгетиками			
Стимул	Анальгетик	Уровни PGE2 [#] (пг/мл) Субъект 1	Уровни PGE2 (пг/мл) Субъект 2

5	нет	нет	<20,5	<20,5
	Карбахол 10 ⁻³ М	нет	129	104
	Карбахол 10 ⁻³ М	Ацетаминофен (50 мкМ)	76	62
	Карбахол 10 ⁻³ М	Аспирин (50 мкМ)	89	59
	Карбахол 10 ⁻³ М	Ибупрофен (50 мкМ)	84	73
	Карбахол 10 ⁻³ М	Напроксен (50 мкМ)	77	66
10	ЛПС (10 мкг/мл)	нет	1125	998
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ацетаминофен (5 мкМ)	817	542
	ЛПС (10 мкг/мл)	Аспирин (5 мкМ)	838	598
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ибупрофен (5 мкМ)	824	527
	ЛПС (10 мкг/мл)	Напроксен (5 мкМ)	859	506
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ацетаминофен (50 мкМ)	803	540
	ЛПС (10 мкг/мл)	Аспирин (50 мкМ)	812	534
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ибупрофен (50 мкМ)	821	501
15	ЛПС (10 мкг/мл)	Напроксен (50 мкМ)	819	523

#Данные представляют собой средние значения из двух повторов

Анальгетики ингибируют цитокиновые ответы гладкомышечных клеток нормального мочевого пузыря человека на воспалительные стимулы - Анализ клеток и культуральных супернатантов через 24 часа культивирования показал, что ни один из анальгетиков, 20 протестированных в отдельности, не индуцировал секрецию IL-6 или TNF α в гладкомышечных клетках нормального мочевого пузыря человека. Как показано в таблицах 8 и 9, карбахол в протестированных дозах индуцировал низкие, но существенные TNF α и IL-6 ответы в гладкомышечных клетках нормального мочевого пузыря человека. С другой стороны, обработка ЛПС приводила к массовой индукции 25 этих провоспалительных цитокинов. Ацетаминофен, аспирин, ибупрофен и напроксен подавляли эффект карбахола и ЛПС на TNF α и IL-6 ответы. Подавляющее действие анальгетиков было заметно в отношении ЛПС-индуцированных ответов, когда эти лекарственные средства тестировали в концентрации либо 5 мкМ, либо 50 мкМ.

30	Таблица 8			
Секреция TNF α гладкомышечными клетками нормального мочевого пузыря человека после <i>in vitro</i> стимуляции воспалительными и невоспалительными стимулами и обработки анальгетиками				
	Стимул	Анальгетик	TNF α (пг/мл) [#] Субъект 1	TNF α (пг/мл) Субъект 2
	нет	нет	<5	<5
35	Карбахол 10 ⁻³ М	нет	350	286
	Карбахол 10 ⁻³ М	Ацетаминофен (50 мкМ)	138	164
	Карбахол 10 ⁻³ М	Аспирин (50 мкМ)	110	142
	Карбахол 10 ⁻³ М	Ибупрофен (50 мкМ)	146	121
	Карбахол 10 ⁻³ М	Напроксен (50 мкМ)	129	137
40	ЛПС (10 мкг/мл)	нет	5725	4107
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ацетаминофен (5 мкМ)	2338	2267
	ЛПС (10 мкг/мл)	Аспирин (5 мкМ)	2479	2187
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ибупрофен (5 мкМ)	2733	2288
	ЛПС (10 мкг/мл)	Напроксен (5 мкМ)	2591	2215
45	ЛПС (10 мкг/мл)	Ацетаминофен (50 мкМ)	2184	2056

ЛПС (10 мкг/мл)	Аспирин (50 мкМ)	2266	2089
ЛПС (10 мкг/мл)	Ибупрофен (50 мкМ)	2603	1997
ЛПС (10 мкг/мл)	Напроксен (50 мкМ)	2427	2192

#Данные представляют собой средние значения из двух повторов			
Таблица 9			
Секреция IL-6 гладкомышечными клетками нормального мочевого пузыря человека после <i>in vitro</i> стимуляции воспалительными и невоспалительными стимулами и обработки анальгетиками			
5	Стимул	Анальгетик	IL-6 (пг/мл) [#] Субъект 1
	нет	нет	<5
	Карбахол 10 ⁻³ М	нет	232
	Карбахол 10 ⁻³ М	Ацетаминофен (50 мкМ)	119
10	Карбахол 10 ⁻³ М	Аспирин (50 мкМ)	95
	Карбахол 10 ⁻³ М	Ибупрофен (50 мкМ)	107
	Карбахол 10 ⁻³ М	Напроксен (50 мкМ)	114
	ЛПС (10 мкг/мл)	нет	4838
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ацетаминофен (5 мкМ)	2012
15	ЛПС (10 мкг/мл)	Аспирин (5 мкМ)	2199
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ибупрофен (5 мкМ)	2063
	ЛПС (10 мкг/мл)	Напроксен (5 мкМ)	2077
	ЛПС (10 мкг/мл)	Ацетаминофен (50 мкМ)	2018
	ЛПС (10 мкг/мл)	Аспирин (50 мкМ)	1987
20	ЛПС (10 мкг/мл)	Ибупрофен (50 мкМ)	2021
	ЛПС (10 мкг/мл)	Напроксен (50 мкМ)	2102
	#Данные представляют собой средние значения из двух повторов		

Первичные гладкомышечные клетки нормального мочевого пузыря человека изолировали, культивировали и оценивали в отношении их ответов на анальгетики в присутствии невоспалительных (карбахол) и воспалительных (ЛПС) стимулов. Цель 25 данного исследования заключалась в определении того, могут или не могут наблюдения, сделанные ранее для клеток мочевого пузыря мыши, быть применимы к гладкомышечным клеткам нормального мочевого пузыря человека.

Вышеописанный эксперимент будет воспроизведен с анальгетическими средствами и/или антимускариновыми средствами в препарате отсроченного высвобождения или 30 длительного высвобождения или препаратах отсроченного и длительного высвобождения.

Приведенное выше описание имеет целью разъяснение рядовому специалисту в данной области, каким образом применять на практике настоящее изобретение, и оно не предназначено для подробного описания всех явных модификаций и вариаций, 35 которые станут очевидны для квалифицированного специалиста при прочтении данного описания. Предусмотрено, однако, что все такие явные модификации и вариации будут входить в объем настоящего изобретения, который определяется прилагаемой формулой изобретения. Формула изобретения должна охватывать заявленные компоненты и этапы в любой последовательности, которые эффективны для осуществления 40 намеченных целей, если из контекста определенно не следует противоположное.

(57) Формула изобретения

1. Способ снижения частоты мочеиспускания у субъекта, включающий:
введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, состоящей 45 из:
эффективных количеств золпидема и одного или более из анальгетических средств;
и
фармацевтически приемлемого носителя,

в которой указанные одно или более из анальгетических средств составлены для длительного или отсроченного высвобождения и при этом указанный золпидем составлен для немедленного высвобождения.

2. Фармацевтическая композиция для снижения частоты мочеиспускания у субъекта,

5 состоящая из:

эффективных количеств золпидема и

одного или более из анальгетических средств; и

фармацевтически приемлемого носителя,

в которой указанные одно или более из анальгетических средств составлены для

10 длительного или отсроченного высвобождения и при этом указанный золпидем составлен для немедленного высвобождения.

15

20

25

30

35

40

45

518295

1/1

