



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ(21)(22) Заявка: **2010117173/15, 02.10.2008**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
02.10.2008

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
02.10.2007 IT RM2007A000510(43) Дата публикации заявки: **10.11.2011** Бюл. № 31(45) Опубликовано: **27.09.2013** Бюл. № 27(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 6056950 A, 02.05.2000. RU 2001120008 A, 20.08.2003. RU 2234337 C2, 20.08.2004. EP 892636 A1, 27.01.1999. US 2006/0046958 A1, 02.03.2006.**(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **04.05.2010**(86) Заявка РСТ:
IT 2008/000626 (02.10.2008)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2009/044423 (09.04.2009)

Адрес для переписки:

**129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной**

(72) Автор(ы):

**ДЕЛЬ ПРЕТЕ Антонио (ИТ),
САНСО' Марко (ИТ)**

(73) Патентообладатель(и):

РМФА ТРЕЙДИНГ С.А. (СН)**(54) ГЛАЗНЫЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДА СЕМЯН ТАМАРИНДА И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ**

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к области офтальмологии. Глазные препараты используют при глазных болезнях в качестве заменителей слез, они содержат комбинацию гиалуроновой кислоты и полисахарида, известного как TSP (полисахарид семян *Tamarindus indica*). Глазные препараты, предложенные для применения в лечении синдрома сухого глаза, содержат, в комбинации, от 0,05 до 2 масс.% полисахарида семян тамаринда (TSP) и от 0,05 до 1 масс.%

гиалуроновой кислоты в водном растворе. Изобретение обеспечивает при введении в комбинации гиалуроновой кислоты и TSP, синергическое действие в стимуляции возврата к нормальному состоянию конъюнктивной слизистой оболочки, пораженной синдромом сухого глаза, индуцируя посредством этого заметное улучшение в количестве и морфологии конъюнктивных микроворсинок. 3 н. и 13 з.п. ф-лы, 12 табл., 6 ил.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 31/728 (2006.01)**A61K 36/48** (2006.01)**A61P 27/04** (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2010117173/15, 02.10.2008**(24) Effective date for property rights:
02.10.2008

Priority:

(30) Convention priority:
02.10.2007 IT RM2007A000510(43) Application published: **10.11.2011 Bull. 31**(45) Date of publication: **27.09.2013 Bull. 27**(85) Commencement of national phase: **04.05.2010**(86) PCT application:
IT 2008/000626 (02.10.2008)(87) PCT publication:
WO 2009/044423 (09.04.2009)

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B.Spaskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. E.E.Nazinoj**

(72) Inventor(s):

**DEL' PRETE Antonio (IT),
SANSO' Marko (IT)**

(73) Proprietor(s):

RMFA TREJDING S.A. (CH)(54) **OPHTHALMIC COMPOSITIONS OF TAMARIND SEED POLYSACCHARIDE AND HYALURONIC ACID**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: group of inventions refers to ophthalmology. The ophthalmic preparations are used in ophthalmic diseases as a lacrimal substitute, and they contain a combination of hyaluronic acid and a polysaccharide known as TSP (a Tamarindus indica seed polysaccharide). The ophthalmic preparations suggested to be used in treating a dry eye syndrome contain in a combination of 0.05 to 2 wt % of the

tamarind seed polysaccharide and 0.05 to 1 wt % of hyaluronic acid in the aqueous solution.

EFFECT: when administered in a combination of hyaluronic acid and TSP, the invention provides a synergistic effect in stimulating the normal conjunctival mucosa recovery if affected by the dry eye syndrome, thereby inducing a noticeable improvement of the number and morphology of the conjunctival microvilli.

16 cl, 9 tbl, 6 dwg

Изобретение относится к глазным композициям (композициям, используемым при глазных болезнях) на основе полисахарида семян тамаринда (индийского финика) и гиалуроновой кислоты. Более конкретно, это изобретение относится к глазным растворам, показанным для применения в качестве заменителей слез, содержащим комбинацию гиалуроновой кислоты и полисахарида, известного как TSP (полисахарид семян *Tamarindus indica*), которые способны, при введении вместе в комбинации, действовать синергически в стимуляции возврата к норме в конъюнктивальной слизистой оболочке, пораженной синдромом сухого глаза, индуцируя заметное улучшение в количестве и морфологии микроворсинок конъюнктивы.

Как известно, поверхность глаза поддерживается постоянно влажной присутствием предроговичной слезной пленки, которая является организованным жидким структурным покрытием конъюнктивы и обнаженной поверхности глазного яблока. Крайне важно, что эта структура является количественно и качественно пригодной для получения должной очистки и защиты. Кроме того, эта слезная пленка содержит вещества с высокой бактерицидной способностью, такие как лизоцим и антитела, которые защищают глаза от атаки многочисленных антигенов.

В нормальных состояниях, слезы, которые являются результатом ряда растворов, экскретируемых различными железами в конъюнктивальном мешке, размещаются слоями на поверхности роговицы и конъюнктивы движениями век, образуя таким образом комплексную трехслойную структуру, содержащую:

- внутренний слой слизи, состоящий из смеси гликопротеинов (муцина, слизистого секрета), продуцируемых специализированными клетками (т.е. конъюнктивными бокаловидными клетками), которые присутствуют в конъюнктивальном эпителии - указанный слой адсорбируется на роговице, превращая посредством этого роговичный эпителий в гидрофильную поверхность: если муцин отсутствует, эти эпителиальные клетки являются гидрофобными и не могут гидратироваться слезами;
- толстый промежуточный водный слой (секретируемый основными и вспомогательными слезными железами), состоящий в основном из воды, электролитов, белков, ферментов и муцина; этот слой простирается на указанной гидрофильной поверхности и имеет функцию обеспечения атмосферного кислорода роговичному эпителию, проявляя антибактериальную активность и вымывание любых инородных веществ и остатков;
- тонкий наружный липидный слой (секретируемый сальными тарзальными пальпебральными железами или Мейбомиевыми железами), имеющий следующие функции: задержку испарения нижележащего водного слоя, увеличение поверхностного натяжения для стабилизации этой пленки во избежание ее ускользания на кожу и смазывание век.

Движение век выдавливает слизь из конъюнктивных клеток и вводит ее в конъюнктивные своды, и оттуда она однородно распределяется на всей поверхности роговицы мигающими движениями глаз.

Описанная выше трехслойная структура образует комплексную физиологическую систему, имеющую основные функции защиты поверхности глаз, поддержания гидратации, смазывания и очистки роговичной поверхности и содействия в получении нормального зрения. Точное равновесие и непрерывное восстановление указанной физиологической системы является необходимым условием для выполнения ею указанных функций. Для реализации указанных равновесия и восстановления должно происходить постоянное, но не избыточное испарение воды

из глазной жидкости для поддержания ее осмолярности при физиологическом уровне приблизительно 300 мОсм/л, и слезная пленка должна непрерывно распределяться на роговичной поверхности в результате моргания.

Не только эта слоистая структура различных компонентов является важной, но также присутствующие в ней растворенные вещества являются важными. Липиды наружного слоя расположены в виде двойной фазы: полярной фазы, смежной с промежуточным слоем, и более густой фазы при поверхности раздела с воздухом. Водная фаза обнаруживает вместо этого фиксированные ионные концентрации: в основном натрий, калий, кальций, магний, цинк, хлор и бикарбонат являются важными для поддержания осмолярности слез.

Целостность внутреннего слоя муцина представляет целостность основных элементов поддержания стабильности слезной пленки. Это связано с тем, что муцин усиливает смачиваемость роговичной поверхности, позволяет этой водной пленке прикрепляться к обнаженной поверхности непрерывным и гомогенным образом, защищая ее стабильность, и увеличивает вязкость слезной жидкости, препятствуя ее слишком быстрому вытеканию из конъюнктивального мешка. Как уже отмечалось, при отсутствии или недостаточности муцина роговица становится несмачиваемой и, вследствие нарушения равновесия между присутствующими электролитами и гликопротеинами, слезная пленка становится нестабильной и подвергается разрыванию с образованием сухих участков.

Различные заболевания или аномальные состояния глаза проявляются при нарушениях непрерывности слезной пленки как следствие, например, недостаточной частоты моргания, продолжительного применения контактных линз, введения некоторых системных лекарственных средств или, более часто, сенильной гипосекреции. Более часто, повреждение описанной выше эффективной смазывающей и защитной системы появляется в "синдроме сухого глаза", степень которого в сильной степени увеличивается, особенно вследствие атмосферного загрязнения и последующего возникновения аллергий нового типа. Фактически, синдром сухого глаза является наиболее частой патологией в офтальмологии, с коэффициентом между 10 и 15% всего населения. В этой связи, термин "сухой глаз", обычно используют для глазных состояний, происходящих из уменьшения или нестабильности глазной пленки, - характеризующихся с субъективной точки зрения, рядом раздражающих симптомов, включающих в себя ощущение жжения, ощущение чужеродного тела в глазах, светобоязнь и расплывчатое зрение, ощущение тяжести в глазах, легкое раздражение вследствие ветра, дыма и пыли и зрительные расстройства, - в то время как типичные изменения роговичной поверхности, встречающиеся в этой связи, называют обычно термином "keratoconjunctivitis sicca" (сухой кератоконъюнктивит).

В таких ситуациях имеет место дегенерация конъюнктивальных клеток, приводящая к увеличенной десквамации, потере микроскладок поверхности клеток, разрыванию мембран эпителиальных клеток и уменьшению количества муцинпродуцирующих бокаловидных клеток. По-видимому, конъюнктивальные эпителиальные клетки страдают и имеют уменьшенное количество микроворсинок до их полного исчезновения. Уменьшение количества микроворсинок является хорошей приближенной величиной, пропорциональной тяжести поражения и серьезности симптоматики. Эта анатомо-патологическая ситуация сопровождается, в различных степенях, инфильтрацией воспалительных клеток на уровне конъюнктивальных клеток (Cennamo G. L., Del Prete A., Forte R., Cafiero G., Del Prete

S., Marasco D., Impression cytology with scanning electron microscopy: a new method in the study of conjunctival microvilli, Eye (2007), 1-6).

Наряду с этим, синдром сухого глаза, лишенного защитного действия слезной пленки, предрасполагает к другим патологическим состояниям, таким как

Поскольку исследования патологий человека, показавшие все изменения, которые имеет место в сухом глазе, преклиническое исследование в модели животного с сухим кератоконъюнктивитом помогло понять естественную причину этих изменений (Gilbard J. P., Rossi S. R., Gray K. L.: A new rabbit model for keratoconjunctivitis sicca, Invest Ophthalmol. Vis. Sci. 28(2):225-228, (1987); Gilbard J. P., Rossi S.R., Gray K.L., Hanninen L.A.: Natural history of disease in a rabbit model for keratoconjunctivitis sicca, Acta Ophthalmol. (Suppl.) 792:95-101, (1989). Теперь известно, что сухой глаз развивается через четыре различные фазы:

1. Потеря воды из слезной пленки с увеличением осмолярности самой пленки.
2. Уменьшение плотности бокаловидных клеток и уменьшение роговичного гликогена (источника энергии для заживления возможных роговичных повреждений).
3. Увеличение роговичной десквамации (вследствие увеличения осмотического градиента между слезной пленкой и глазной поверхностью и уменьшения бокаловидных клеток, которые изымают воду из эпителиальных клеток конъюнктивы).
4. Дестабилизация поверхности раздела роговица-слезная пленка.

С диагностической точки зрения, синдром сухого глаза может быть детектирован и подвергнут мониторингу не только посредством оценивания его типичных симптомов, но также посредством хорошо установленных процедур, включающих в себя, наиболее часто, оценивание слезной секреции (тест Ширмера), оценивание времени, необходимого для разрывания слезной пленки после окончания мигания (времени разрыва, BUT), и оценивание цвета поверхности роговицы после окрашивания красителем розовым бенгальским или флуоресцеином.

Другим феноменом, который единодушно считают признаком неправильно структурированной глазной пленки, является уменьшение арборизации слизи (секрет кристаллизуется с образованием микроструктур, напоминающих папоротник). В нормальных условиях, слизь характеризуется кристаллизацией в виде папоротника при испарении при комнатной температуре из водного раствора. Феномен арборизации, который считают результатом взаимодействия электролитов с высокомолекулярными гликопротеинами слизи, проявляется после короткого периода времени из собранной слезной слизи из нижнего конъюнктивального свода конъюнктивы. Было определено, что различные формы указанного феномена, получаемые при помощи теста арборизации (т.е. Тип I, однородная арборизация; Тип II, хорошее количество арборизации с папоротникообразными структурами уменьшенного размера и пустыми пространствами; Тип III, арборизация присутствует только частично; Тип IV, арборизация отсутствует), связаны с нормальным или патологическим состоянием слезной жидкости. Плотная арборизация, например, считается выражением точного равновесия между муцином и электролитами, тогда как частичное присутствие или отсутствие слезной арборизации, которая детектируется в глазах, пораженных сухим кератоконъюнктивитом, обозначает количественное отсутствие глазной слизи или количественное изменение гликопротеинов или их окружения (т.е. pH, гидратации, электролитического равновесия).

Сухой кератоконъюнктивит обычно лечат жидкими препаратами для глазных болезней, обычно известными как "искусственные слезы", закапываемыми в виде капель восполнения или дополнения природного продуцирования слез. В самом простом случае, указанные препараты имеют только увлажняющее действие, так как они состоят из физиологических солевых растворов, нейтральных и изотонических со слезной пленкой, приготовленных на основе только хлорида натрия или на основе сбалансированных смесей различных электролитов.

Для преодоления недостатка уменьшенного удерживания внутри конъюнктивального мешка, который является типичным для таких солевых растворов, вводили искусственные препараты слез, которые сделаны вязкими добавлением высокомолекулярных агентов, обычно таких, как водорастворимые полимеры синтетического, полусинтетического или природного происхождения. Однако, было обнаружено, что, в случае указанных усилителей вязкости для придания благоприятных признаков композиции для применения в качестве искусственных слез, недостаточно того, что указанные усилители вязкости обычно увеличивают вязкость продукта, но также необходимо, чтобы образуемые таким образом дисперсии имели свойства близкие, насколько это возможно, к свойствам дисперсий муцина. А именно, указанные дисперсии должны вести себя по возможности как мукомиметики. Это требует, прежде всего, конкретного реологического поведения, т.е. неньютоновского (в частности, псевдопластического) поведения, сходного с реологическим поведением природных слез. В результате, только небольшое число макромолекулярных продуктов, которые могут быть использованы в качестве усилителей вязкости для искусственных слез, действительно способны обнаруживать сходное поведение.

Примерами композиций для применения в качестве искусственных слез, имеющих неньютоновское реологическое поведение, являются искусственные слезы, содержащие карбоксивиниловые полимеры, такие как Carbopol[®], сложные эфиры целлюлозы, такие как метилцеллюлоза, и их спиртовые производные (например, гидроксипропилцеллюлоза и гидроксипропилметилцеллюлоза) и гиалуроновая кислота. Последняя является полисахаридом природного происхождения, присутствующая во многих тканях и жидкостях, как человека, так и животного, и используется в широком масштабе в препаратах для глазных болезней, благодаря явному псевдопластическому поведению ее водных растворов и вследствие ее хорошей способности связываться как с водой, так и со стенкой эпителиальных клеток.

Природным полисахаридным полимером, который может считаться включенным в цитируемую категорию, является полисахарид, полученный из семян дерева тамаринда *Tamarindus indica*, вечнозеленого растения, которое может достигать высоты 15 метров, которое производит в качестве плода боб и которое широко распространено в Индии, Африке и в целом на Дальнем Востоке, где оно культивируется прежде всего для получения пищевых продуктов. Этот плод содержит большие семена, имеющие высокий процент полисахаридов, которые имеют функцию накопления и сохранения жизненно важных энергетических веществ.

Это семя, которое первоначально считалось побочным продуктом, нашло различные применения при его измельчении до порошкообразной формы (известной как "камедь тамаринда" или "порошок косточек тамаринда"). Наиболее важными из таких приложений являются применения в текстильной промышленности и в

бумажной промышленности, где камедь тамаринда используют, соответственно, в качестве шлихтующего агента, и в пищевой промышленности, где ее используют в качестве загущающего, желирующего, стабилизирующего и связывающего агента в любом типе продуктов, как это делается с другими полисахаридными продуктами, такими как альгинаты, пектины, гуаровая камедь или камедь рожкового дерева. Необработанный порошок косточек плода тамаринда, который коммерчески доступен как таковой, содержит 63-73 масс.% полисахарида, 15-23 масс.% белкового материала, 3-8 масс.% жиров и масла и 2-4 масс.% золы, наряду с минорными количествами неочищенной клетчатки, таннинов и других примесей.

В фармацевтической области, фракция полисахаридов камеди тамаринда (полисахарида семян тамаринда, в дальнейшем называемого TSP) нашла обоснованное применение в качестве активного компонента заменителей слез и в качестве носителя для местных лекарственных средств пролонгированного высвобождения для глазных болезней, как описано, в частности, в Европейском патенте EP 0892636 (Farmigee) и в соответствующем Патенте США № 6056950, содержание которого включено здесь в качестве ссылки. Среди мукомиметических свойств, которые, по-видимому, имеет полисахаридная фракция камеди тамаринда, должна быть доказана описанная ранее способность "арборизации". Таким образом, подобно гиалуроновой кислоте, указанная фракция полисахаридов способна давать, при испарении, кристаллические продукты, имеющие морфологию, совершенно одинаковую с морфологией кристаллизованной слезной слизи.

В связи с предыдущим описанием, целью данного изобретения является определение фармакологического лечения для терапии синдрома сухого глаза, в котором заменитель слез должен не только оставаться в течение продолжительного времени на поверхности глаза и самоинтегрироваться с поверхностью этого эпителия, проявляя защитную роль в отношении их, но также быть способным содействовать восстановлению их целостности, в частности, содействовать быстрому возвращению к нормальному состоянию конъюнктивальной слизистой оболочки в целом в отношении количества и морфологии микроворсинок.

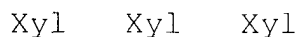
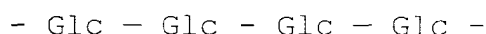
В рамках этих исследований, которые приводят к данному изобретению, обсуждается, что как известные растворы для лечения глазных болезней на основе TSP, так и более широко распространенные растворы на основе гиалуроновой кислоты, оказались способными производить улучшение в симптоматике сухого глаза, улучшение, которое находится в основе их успеха в продаже в лечении этого заболевания оказались способными производить улучшение в симптоматике сухого глаза, улучшение, которое находится в основе их успеха в продаже в лечении этого заболевания, но оба из этих растворов давали относительно скромные полезные результаты в отношении эффективности и быстрого восстановления в случае гистологических повреждений, которые являются типичными для рассматриваемой патологии, в частности, в отношении микроскопической структуры поверхности конъюнктивального эпителия.

На основании предыдущих обсуждений, было обнаружено в соответствии с данным изобретением, что конкретная комбинация активных ингредиентов TSP и гиалуроновой кислоты, примененных к глазной поверхности в едином продукте для лечения глазных болезней, приобретает новые терапевтические свойства, которые эти два продукта, взятые по отдельности, не имеют, в частности, в содействии более быстрому возвращению к нормальному состоянию конъюнктивальной слизистой оболочки, в частности, в отношении количества и морфологии микроворсинок.

Восстановление нормальной целостности микроворсинок ассоциировано с более продолжительно длящимся действием улучшения признаков и симптомов, которые сопутствуют синдрому сухого глаза.

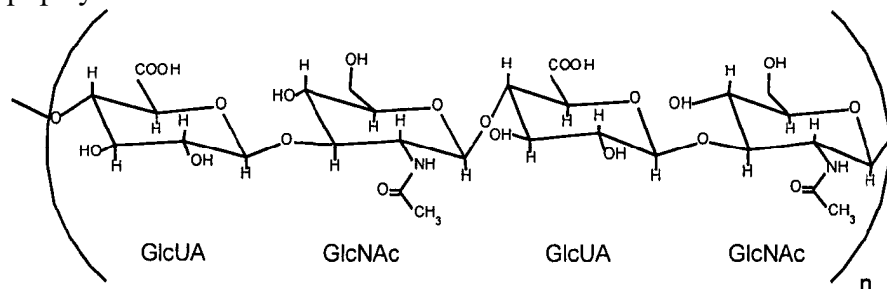
Согласно нескольким исследованиям, проводимым в отношении структуры полисахаридной фракции камеди тамаринда, установлено, что полисахарид семян тамаринда состоит из главной цепи глюкопиранозильных звеньев, связанных друг с другом через связи (1→4), с короткими боковыми цепями, состоящими из ксилопиранозильных звеньев, присоединенных к главной цепи через связи (1→6).

Указанные ксилопиранозильные звенья являются одиночными или они могут быть связаны, в свою очередь, с единственными галактопиранозильными звеньями через связь (1→2). Сообщалось также дополнительное присутствие арабинофуранозильных звеньев. Таким образом, структура полисахарида семян тамаринда (TSP) может быть представлена следующим образом:



Процедура для экстракции, фильтрования и очистки этого полимера из исходного необработанного материала требует высокой технологической специализации для сохранения неизменными функциональных характеристик, также в связи с высокой молекулярной массой, которая находится в диапазоне, в правильно очищенном продукте, от 600000 до 750000 Да.

Гиалуроновая кислота определяется химически как гликозаминогликан, состоящий из чередующихся звеньев D-глюкуроновой кислоты (GlcUA) и N-ацетил-D-глюкозамина (GlcNAc), структура которого может быть представлена следующей формулой:



которая показывает два различных дисахаридных звена последовательно и в которой число n повторяющихся пар звеньев является таким, что молекулярная масса этого полисахарида составляет 50000 - несколько миллионов дальтон.

Средняя молекулярная масса гиалуроновой кислоты, используемой в офтальмологии (в форме соответствующей натриевой соли) для растворов искусственных слез составляет обычно 700000-1 миллион Да.

In vivo, все карбоксильные группы гиалуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина полностью ионизированы, и придают высокую полярность молекуле гиалуроновой кислоты и, следовательно, высокую растворимость в воде. Благодаря ее высокой способности связывания как с водой, так и со стенкой клетки эпителия,

гиалуроновую кислоту используют в качестве главного компонента во многих заменителях слез в лечении патологии сухого глаза.

В области исследований, связанных с данным исследованием, некоторые лабораторные тесты на основе применения способов магнитного резонанса (которые будут подробно описаны ниже) показали, что TSP способен взаимодействовать в растворе с гиалуроновой кислотой (НА), индуцируя конформационные изменения, которые в основном влияют на внутренние звенья глюкозы и галактозы TSP и ацетильные группы НА. Этот факт производит действие на способность этой смеси удерживать воду, которая, для некоторых соотношений концентраций, оказалась заметно более высокой, чем эта способность, показанная этими двумя полимерами в несмешанной форме.

Вследствие того, что способность удерживать воду является фундаментальной для адгезивных характеристик и характеристик биосовместимости полимера, подлежащего применению для лечения сухого глаза, исследование с использованием смеси TSP-НА было дополнительно продлено при помощи преклинических тестов на модели сухого глаза в крысе с атропином для оценки безвредности и переносимости этой смеси. На основании результатов, полученных на такой модели (также синтетически сообщенных в дальнейшем), можно утверждать, что смесь TSP и НА не обнаруживает отрицательных взаимодействий между этими двумя продуктами и что она стимулирует лучшее восстановление гисто-физиологических повреждений после острого уменьшения продуцирования слез.

Последующий клинический тест, проводимый в качестве предварительного (поискового) исследования на относительно ограниченном количестве пациентов (сообщенный далее) подтвердил эффективность предложенного лечения, показав явное синергическое действие комбинации TSP и НА.

Таким образом, данное изобретение конкретно обеспечивает препарат для глазных болезней для применения в качестве заменителя слез, содержащий, в комбинации, 0,05-2 масс.% полисахарида семян тамаринда и 0,05-1 масс.% гиалуроновой кислоты в водном растворе.

Термин "полисахарид семян тамаринда" (полисахарид семян *Tamarindus indica* TSP, иногда называемый также термином "ксилоглюкан") в данном контексте обозначает любую обогащенную полисахаридом фракцию, получаемую из камеди тамаринда (т.е. порошка косточек тамаринда), причем последняя является необработанным продуктом, в настоящее время доступным в продаже. Продается частично очищенная фракция полисахарида камеди тамаринда, например, Dainippon Pharmaceutical Co. LTD of Osaka, Japan, под товарным названием Glyloid®. Однако, для цели данного изобретения соответствующую полисахаридную фракцию предпочтительно дополнительно очищают с получением практически чистого полисахарида семян тамаринда.

Термин "гиалуроновая кислота", в контексте данного изобретения, обозначает ранее описанный полисахарид (обычно называемый также "гликозаминогликан"), в частности, в форме соли, обычно используемой для приготовления искусственных слез, т.е. в форме гиалуроната натрия.

Предпочтительно, препарат для глазных болезней согласно этому изобретению содержит, в комбинации с водным раствором, 0,1-1 масс.% полисахарида семян тамаринда и 0,1-0,5 масс.% гиалуроновой кислоты.

Предпочтительно, концентрации по массе в препарате для глазных болезней по данному изобретению содержат 0,1-1 масс.% полисахарида семян тамаринда и 0,1-0,5

масс.% гиалуроновой кислоты. Вариант, который конкретно использовали в представленной ниже экспериментальной работе и который обеспечивает превосходные клинические эффективности в отношении способности этих двух активных агентов кооперироваться в восстановлении нормального состояния конъюнктивного эпителия, содержит, в водном растворе, 0,2 масс.% полисахарида семян тамаринда и 0,4 масс.% гиалуроновой кислоты.

Предпочтительно, полисахарид семян тамаринда, используемый в препаратах этого изобретения, имеет молекулярную массу, находящуюся в диапазоне 450000 Да - 750000 Да (предпочтительно 600000-750000 Да), а гиалуроновая кислота имеет молекулярную массу, находящуюся в диапазоне 600000 Да - 1000000 Да (предпочтительно 700000 - 1000000 Да).

В препаратах искусственных слез по данному изобретению должны быть добавлены один или несколько корректирующих тоничность агентов для получения таким образом раствора с правильной величиной осмолярности. Для этой цели может быть использован любой из продуктов, используемый в настоящее время в данной области в качестве агентов тоничности, такой как, например, хлорид натрия, хлорид калия, маннит, декстроза, борная кислота, сорбит или пропиленгликоль.

Другими ингредиентами, которые могут быть включены в препарат, в соответствии с известной областью, являются кислоты или основания в качестве корректирующих pH агентов, а также буферы, такие как, например, фосфатный буфер (дигидрофосфат натрия и моногидрофосфат натрия) или ацетатный буфер (система ацетат-уксусная кислота). Другими буферами, которые могут быть использованы, являются боратный, цитратный, бикарбонатный буферы или тризма (тригидроксиметиламинометан)-буфер.

Эта композиция может также содержать консерванты и антимикробные агенты, такие как хлорид бензалкония, мертиолат натрия или тимерозал, метил-, этил- и пропилпарабен, хлорбутанол, фенолмеркурнитрат или фенолмеркурацетат, фенолэтиловый спирт, ацетат или глюконат хлоргексидина, а также хелатообразующие агенты, такие как эдетаты или ЭДТА. Вследствие проблем переносимости консервантов, предпочтительно не включать подобные ингредиенты в препараты для использования в качестве искусственных слез. Это является вполне возможным, когда продукт упакован в однократные контейнеры. Однако, в некоторых случаях и особенно, когда продукт находится в многократных контейнерах, добавление консервантов является необходимым.

Согласно следующему аспекту, данное изобретение относится к применению комбинации полисахарида семян тамаринда и гиалуроновой кислоты в водном растворе для получения препарата для лечения синдрома сухого глаза.

Как уже отмечалось, указанный заменитель или препарат слез предпочтительно содержит 0,05-2 масс.% полисахарида семян тамаринда и 0,05-1 масс.% гиалуроновой кислоты, и более предпочтительно он содержит 0,1-1 масс.% полисахарида семян тамаринда и 0,1-0,5 масс.% гиалуроновой кислоты.

Полисахарид семян тамаринда предложенного препарата для применения, описанного ниже, имеет молекулярную массу в диапазоне 600000 Да - 750000 Да, тогда как молекулярная масса гиалуроновой кислоты находится в диапазоне 700000 Да - 1000000 Да.

Данное изобретение описано также следующими не ограничивающими изобретение примерами, в соответствии с его некоторыми конкретными вариантами, которые иллюстрируют примеры готовых форм на основе ксилоглюкана и

гиалуроновой кислоты, используемых в качестве заменителей слез, имеющих защитную и повторно эпителизирующую активность, в соответствии с тем, что экспериментально получено и сообщено в экспериментальном отчете, следующем ниже.

ПРИМЕРЫ ПРЕПАРАТОВ ИСКУССТВЕННЫХ СЛЕЗ

Пример 1

Ингредиенты	масс. %
TSP	0,1
Гиалуроновая кислота	0,1
Маннит	2,00
Деионизованная вода	q.s. до 100
Одноосновный фосфат и двухосновный фосфат натрия	q.s. до pH 7,0±0,5

Этот продукт получают с использованием следующих стадий:

- TSP и НА взвешивают в подходящий стеклянный сосуд;
- 90% доступной воды добавляют с легким перемешиванием до полного растворения этого продукта;
- добавляют требуемое количество маннита, продолжая перемешивание, и эту смесь оставляют при условиях перемешивания до полного растворения продукта;
- добавляют деионизованную воду до конечной массы (100%);
- добавляют одноосновный и двухосновный фосфат натрия до достижения желаемого pH;
- полученный таким образом раствор стерилизуют в автоклаве или, альтернативно, стерилизуют фильтрованием с использованием фильтра 0,22 микрон.

Пример 2

Ингредиенты	масс. %
TSP	0,1
Гиалуроновая кислота	0,4
Маннит	2,00
Деионизованная вода	q.s. до 100
Одноосновный фосфат и двухосновный фосфат натрия	q.s. до pH 7,0±0,5

Этот продукт получают так же, как в примере 1.

Пример 3

Ингредиенты	масс. %
TSP	0,2
Гиалуроновая кислота	0,1
Маннит	2,00
Деионизованная вода	q.s. до 100

Одноосновный фосфат и двухосновный фосфат натрия	q.s. до pH 7,0±0,5
--	--------------------

Этот продукт готовят так же, как в примере 1.

Пример 4

Ингредиенты	масс. %
TSP	0,2
Гиалуроновая кислота	0,2
Маннит	2,00
Деионизованная вода	q.s. до 100

Одноосновный фосфат и двухосновный фосфат натрия	q.s. до pH 7,0±0,5
--	--------------------

Этот продукт готовят так же, как в примере 1.

Пример 5

5

Ингредиенты	масс. %
TSP	0,2
Гиалуроновая кислота	0,4
Маннит	2,00
Деионизованная вода	q.s. до 100
Одноосновный фосфат и двухосновный фосфат натрия	q.s. до pH 7,0±0,5

10

Этот продукт готовят так же, как в примере 1.

Пример 6

15

Ингредиенты	масс. %
TSP	0,4
Гиалуроновая кислота	0,1

20

Маннит	2,00
Деионизованная вода	q.s. до 100
Одноосновный фосфат и двухосновный фосфат натрия	q.s. до pH 7,0±0,5

Этот продукт готовят так же, как в примере 1.

Пример 7

25

Ингредиенты	масс. %
TSP	0,4
Гиалуроновая кислота	0,2
Маннит	2,00
Деионизованная вода	q.s. до 100
Одноосновный фосфат и двухосновный фосфат натрия	q.s. до pH 7,0±0,5

30

Этот продукт готовят так же, как в примере 1.

Пример 8

35

Ингредиенты	масс. %
TSP	1,0
Гиалуроновая кислота	0,1
Маннит	2,00
Деионизованная вода	q.s. до 100
Одноосновный фосфат и двухосновный фосфат натрия	q.s. до pH 7,0±0,5

40

Этот продукт готовят так же, как в примере 1.

Пример 9

45

Ингредиенты	масс. %
TSP	1,0
Гиалуроновая кислота	0,4
Маннит	2,00
Деионизованная вода	q.s. до 100
Одноосновный фосфат и двухосновный фосфат натрия	q.s. до pH 7,0±0,5

50

Этот продукт готовят так же, как в примере 1.

Некоторые экспериментальные результаты, показывающие признаки

полисахаридных комбинаций по этому изобретению и эффективность препаратов, содержащих их, приведены ниже, вместе с некоторыми графиками и фотографиями, показанными в сопутствующих рисунках, где:

5 Фигура 1 показывает, в форме гистограммы, результаты предварительного исследования эффективности композиции по данному изобретению в лечении синдрома сухого глаза, касающиеся оценивания конъюнктивальных микроворсинок, в абсолютных величинах.

10 Фигура 2 показывает результаты, в том же самом предварительном исследовании, оценивания конъюнктивальных микроворсинок, в виде варьирования фоновых величин.

15 Фигура 3 показывает изображение сканирующей (растровой) электронной микроскопии (SEM 7500x) конъюнктивального эпителия левого глаза пациента женского пола того же самого предварительного исследования, причем указанный пациент принадлежит к группе TSP+HA, перед обработкой.

Фигура 4 показывает изображение сканирующей (растровой) электронной микроскопии (SEM 7500x) конъюнктивального эпителия левого глаза того же самого пациента женского пола фигуры 3, после 60 дней обработки TSP+HA.

20 Фигура 5 показывает, в форме гистограммы, результаты того же самого предварительного исследования фиг. 1, касающиеся оценивания действий на субъективную симптоматику, в абсолютных величинах.

Фигура 6 показывает результаты, в предварительном исследовании, оценивания действий на субъективную симптоматику, в виде фоновых величин.

25 Фигура 7 показывает, в форме гистограммы, результаты того же самого предварительного исследования фиг. 1, касающиеся оценивания действий на объективную симптоматику, в виде абсолютных величин.

Фигура 8 показывает результаты, в том же самом предварительном исследовании, оцениваний действий на объективную симптоматику, в виде фоновых величин.

30 Фигура 9 показывает, в форме гистограммы, результаты того же самого предварительного исследования фиг. 1, касающиеся оценивания действия на цитологию, в виде абсолютных величин.

35 Фигура 10 показывает результаты, в том же самом предварительном исследовании, оценивания действий на цитологию, в виде вариации относительно фоновых величин.

40 Фигура 11 показывает, в форме гистограммы, результаты того же самого предварительного исследования фиг. 1, касающиеся общего балла (объединенного балла) предыдущего оценивания, в виде абсолютных величин.

Фигура 12 показывает результаты, в том же самом предварительном исследовании, объединенного балла предыдущих оцениваний, в виде вариации относительно базальных величин.

45 ЯМР-исследование смеси гиалуроновой кислоты (HA) и TSP в водном растворе

50 Полисахаридные гидрогели обеспечивают очень усложненную трехмерную структуру, в которую может быть включена вода. Содержание воды, тип взаимодействия, который имеет место между водой и полимерными материалами, а также распределение воды внутри самого полимера имеют решающее влияние на механические свойства, муко-адгезивность и являются основой высокой степени совместимости. Обычно различают три типа воды в полисахаридном геле: связанная вода, промежуточная вода и свободная вода.

Спектроскопия ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) представляет собой один из

наиболее применимых способов для исследования свойств структуры, мобильности и гидратации полимерных систем. В частности, очень полезным является измерение времени спин-спиновой релаксации (T_2) или спин-решеточной релаксации (T_1) ядер протонов воды. Время релаксации T_2 представляет константное время, которое описывает затухание поперечного намагничивания во времени, в то время как время релаксации T_1 описывает возвращение процесса продольного намагничивания.

При растворении полисахарида в воде, молекулы воды образуют водородные связи в нем и, следовательно, их подвижность уменьшается, приводя к уменьшению как T_1 , так и T_2 . Однако, обычно детектируются не отдельные сигналы для связанной воды и свободной воды, а единый сигнал, который представляет взвешенное среднее вкладов, происходящих от этих двух типов воды. В результате, измеренный параметр ЯМР (T_1 и/или T_2) представляет взвешенное среднее этого параметра в свободном и связанном состоянии, в соответствии со следующим уравнением (уравнением 1):

$$\frac{1}{T_{obs}} = X_b \frac{1}{T_b} + X_f \frac{1}{T_f} \quad (1)$$

где $1/T_{obs}$ описывает степень скорости релаксации (обратную величину времени T_1 или T_2), измеренную для воды в соответствующем растворе, $1/T_b$ является степенью скорости релаксации связанной воды и $1/T_f$ является степенью скорости релаксации свободной воды, равной степени скорости релаксации, измеренной в растворе, лишенном полимерного материала. X_b и X_f , соответственно обозначают молярную фракцию связанной и свободной воды.

Количество молекул связанной воды может быть выражено следующим образом, в зависимости от поверхности S этого полимера, на толщину K поверхностного слоя связанной воды и на общий объем воды V (уравнение 2):

$$X_b = K \times \frac{S}{V} \quad (2)$$

При увеличении концентрации полимера, как T_1 , так и T_2 уменьшаются как следствие увеличения поверхности полимера и, следовательно, количества молекул связанной воды, пока не произойдут конформационные вариации или саморегулируемые феномены в зависимости от самой концентрации; однако действие скорости поперечной релаксации ($1/T_2$) является более заметным, чем действие, отмечаемое на скорости продольной релаксации ($1/T_1$).

На основании этих причин, следующие эксперименты измерения скорости поперечной релаксации ($1/T_2$) в ядрах протонов воды проводили в следующих растворах:

- а) растворах TSP, имеющих переменную концентрацию, от 0,1% (м/м) до 1%;
- б) растворах НА, имеющих переменную концентрацию, от 0,1% (м/м) до 1%;
- в) смесях, содержащих переменные концентрации НА и TSP, с постоянной общей концентрацией, равной 0,5%, получаемых смешиванием подходящих объемов исходных растворов с общей концентрацией 0,5%;
- г) смесях, содержащих переменные концентрации НА и TSP, с постоянной общей концентрацией, равной 1%, получаемых смешиванием подходящих объемов исходных растворов с общей концентрацией 1%.

Для получения информации о природе взаимодействия, которое имеет место между двумя полимерными материалами, сравнивали также спектральные параметры этих двух полимеров НА и TSP в различных концентрациях и в их смесях. Соответствующие спектральные параметры являются следующими:

1. Химический сдвиг ^{23}Na НА.
2. Измерения селективной спин-решеточной релаксации на аномерных протонах TSP и на ацетильных протонах НА.
3. Измерения спин-спиновой релаксации на протонах НА и TSP.
4. Измерения DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) для определения диффузии H_2O (определение воды, включенной в полимер).

Измерения сдвига ^{23}Na и измерения, проводимые на ацетильной группе гиалуроновой кислоты, нацелены на определение, включает ли в себя взаимодействие между этими двумя полимерными веществами полярные ионизированные группы гиалуроновой кислоты или ее ацетильную группу.

Измерения, проводимые на аномерных протонах, нацелены на определение, какие типы звеньев TSP преимущественно включены во взаимодействие с НА.

Приготовление проб для ЯМР-анализа и способы измерения

Исходные растворы готовили растворением твердых полимеров в D_2O при желаемых концентрациях. Готовили две серии растворов, первую серию, полученную после перемешивания при температуре окружающей среды в течение 12 часов, и вторую серию, полученную после перемешивания в течение 12 часов при температуре окружающей среды и при перемешивании при нагревании при 80°C в течение приблизительно 60 минут. Результаты, полученные из этих двух серий растворов, были полностью совпадающими; таким образом, в следующем обсуждении не будет проводиться различие между ними.

Эти ЯМР-исследования проводили на спектрометре NMR Varian INOVA 600 14T, работающем при 600 МГц для ^1H и 158,6 МГц для ^{23}Na , снабженном 5-миллиметровым обратным трехрезонансным зондом и 5-миллиметровым широкополосным зондом для прямого испытания. Этот спектрометр обеспечен системой контроля температуры $\pm 0,1^\circ\text{C}$.

Периоды времени селективной спин-спиновой релаксации протонов T_1 являются периодами времени, полученными со стандартной последовательностью инверсия-возврат (приобретение 180° - τ - 90°) для селективного приложения импульса инверсии желаемой частоты.

Периоды времени спин-спиновой релаксации T_2 измеряли с использованием последовательности Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) (90° - τ -(180° - 2τ) $_n$).

Карты DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) регистрировали с использованием времени релаксации 3 сек с рядом переходных величин, равных 4. Использовали 30 градиентов и параметры δ , ϵ , Δ оптимизировали (1 мс и 80 мс, соответственно) с получением падения до 10-5% начального сигнала.

Измерение времени релаксации ($R_2=1/T_2$) воды

Прежде всего, измеряли время релаксации T_2 воды в растворах, содержащих два чистых полимера, с переменными концентрациями от 0,1% до 1%.

Для TSP, величины измеряют при увеличении от $0,90\text{ c}^{-1}$ в наиболее разбавленном растворе (0,1 масс.%) до $3,08\text{ c}^{-1}$ в растворе, имеющем концентрацию 1 масс.%. Увеличение скорости спин-спиновой релаксации соответствуют увеличению, которое ожидается на основании увеличения молярной фракции связанной воды, которая сопровождает увеличение концентрации полимера.

Для чистой гиалуроновой кислоты отмечается сходное увеличение параметра релаксации воды при увеличении концентрации полимера. Не только эти измеренные величины являются явно более низкими относительно величин, наблюдаемых

для TSP, но также общая вариация является значимо более низкой. Принимая во внимание, что молекулярные массы этих двух полимеров являются, в обоих случаях, очень высокими, указанное различие может быть приемлемым образом коррелировано с разной тенденцией к самоагрегации этих двух полимеров:

возможно, TSP имеет более высокую тенденцию к самоагрегации при увеличивающихся концентрациях относительно НА и, как следствие этого феномена самоагрегации, имеет место увеличение фракции связанной воды относительно свободной воды.

Затем скорости релаксации воды измеряли в смесях TSP-НА, имеющих постоянную общую концентрацию, равную 0,5% (раствор с), но с переменными степенями между этими двумя компонентами. Эти измеренные величины сравнивали с величинами, полученными для этих двух чистых полимеров при той же самой концентрации этой смеси или при их общей концентрации. Результаты, полученные с варьирующимися отношениями масс между ТСП и НА, позволяют заключить, что с отношениями TSP/НА от 3:2 до 4:1 взаимодействие между этими двумя полимерными веществами становится строго кооперативным, приводя, следовательно, к неожиданному увеличению молярной фракции связанной воды относительно молярной фракции, типичной для отдельных полимеров при максимальной концентрации.

В растворах, имеющих общую концентрацию, равную 1% (раствор d), это поведение воспроизводится, а именно, для отношений TSP/НА, находящихся между 6,4 и 8,2, скорость релаксации воды в этой смеси имеет неожиданное увеличение, которое является большим, чем измеренная величина для TSP и для НА, как при концентрации, в которой каждый из них присутствует в этой смеси, так и при концентрации, соответствующей общей величине (1%). Таким образом, кооперативное поведение этих двух полимеров подтверждается; это поведение, которое, по-видимому, более критически зависит от отношения между этими двумя полимерами, чем от их общей концентрации.

Измерение скорости продольной релаксации ($R_1=1/T_1$) ацетильной группы гиалуроновой кислоты

Скорость продольной релаксации R_1 ацетильных протонов гиалуроновой кислоты измеряли в смесях, имеющих общую постоянную концентрацию, равную 0,5% и переменные соотношения TSP/НА. Поведение скорости релаксации R_1 ацетильной группы является особенно интересной в смесях НА/TSP, имеющих общую концентрацию 0,5%, где наблюдается еще раз уменьшение скорости релаксации R_1 с увеличением концентрации НА, но с абсолютными величинами, которые являются все еще более низкими, чем величины, измеренные в отсутствие TSP при той же самой концентрации. Величина уменьшения, полученная в скорости релаксации в ацетильной группе как следствие присутствия TSP, становится более высокой при переменных отношениях от 3:2 до 4:1; в этом промежутке подтверждается заметное синергическое действие этих двух полимеров.

Скорость спин-спиновой релаксации R_2 ацетильных протонов также следует тому же самому поведению, как в чистом полимере, так и в его смеси с TSP; а именно, при увеличении концентрации НА получают уменьшение параметра релаксации, но скорости этой релаксации в смеси являются более низкими, и уменьшение в этой смеси относительно чистого компонента увеличивается с высокими отношениями TSP/НА.

Измерение скорости спин-спиновой релаксации R_2 выбранных протонов TSP в

присутствии и в отсутствие гиалуроновой кислоты при общей концентрации 0,5%

В спектре этих смесей, аномерные протоны TSP при 5,06 м.д., 4,85 м.д. и 4,45 м.д. не приводят к соответствию с сигналами гиалуроновой кислоты, и поэтому они были
 5 взяты за основу с целью получения информации на протонах TSP, участвующих во взаимодействии с НА.

В частности, протон при 4,45 м.д., соответствующий звеньям Глюкозы и Галактозы, ведет себя полностью отличающимся образом относительно других протонов. Действительно, его величина едва ли зависит от концентрации раствора
 10 чистого компонента. Те же самые изменения обнаруживаются значимым образом в присутствии НА; в частности, в отличие от других протонов, он подвергается значимому уменьшению при увеличении содержания НА. Это поведение должно быть приписано конформационным вариациям, индуцируемым в TSP вследствие взаимодействия с НА.

15 Выводы

Результаты ЯМР-исследований, суммированные выше, ясно показывают, что взаимодействие между TSP и НА становится кооперативным в зависимости от отношения по массе между этими двумя полимерами. Такое взаимодействие
 20 приводит к конформационным вариациям, которые в основном влияют на внутренние звенья глюкозы и галактозы TSP и ацетильные группы НА. Карбоксильные группы НА, сами, напротив, не подвергаются этому влиянию. Последние, возможно, присутствующие в ионной форме, всегда стремятся к их размещению в наружной фазе, вместо TSP, с которым взаимодействует НА. Этот
 25 последний вывод подтверждается слабым действием на химический сдвиг натрия после вариаций общей концентрации и соотношения между этими двумя полимерами.

Влияние этого взаимодействия на способность этих двух полимеров связывать воду является очень важным: оно является более заметным в смесях относительно
 30 чистых полимеров. Проведенные исследования ясно показали существование интервала соотношения TSP/НА, находящегося между 3:2 и 4:1, в котором способность этих смесей включать воду становится очень высокой. Такое свойство является, по-видимому, фундаментальным для целей адгезивных характеристик и характеристик совместимости полученной полимерной смеси.

35 Оценивание эффективности смесей НА и TSP в модели животного, в сравнении с препаратом, имеющимся в продаже, таким как искусственные слезы

Одним из предположений для применения искусственных слез является нормальное состояние слезной пленки. Глаза предоставляют все более и более часто
 40 проблемы слезоотделения, также вследствие использования видеотерминалов, загрязнения атмосферы, питания и аллергий на окружающую среду, которые влияют на количество и качество слезоотделения и, следовательно, возможность применения контактных линз. В этом отношении следует отметить, что изменение слезной пленки неизбежно приводит к отказу от терапии с использованием
 45 искусственных слез.

В связи с продолжительным введением продукта для местного применения, такого как искусственные слезы, особенно важно иметь доступные тесты, которые могут гарантировать отсутствие серьезных побочных эффектов, таких как
 50 помутнение хрусталика и повреждение сетчатки.

В первой части проводимых преклинических исследований эффективность и возможные побочные эффекты предлагаемого продукта в соответствии с данным изобретением оценивают в сравнении с другими пятью продуктами, уже известными

в продаже, на модели здорового животного; вторая часть, вместо этого, использует подходящую патологическую модель для более тщательного исследования реальных преимуществ, имеющихся в лечении искусственными слезами.

Тест слезоотделения

5 Тест I Ширмера включает в себя введение полоски гигроскопичной бумаги из стандартного материала и стандартного размера, во внутреннее пространство конъюнктивального свода, в направлении наружного угла глазной щели. Эту
10 полоску оставляют *in situ* в течение заранее заданного периода времени (3 мин) и после указанного периода пропитанную часть измеряют, исключая сложенную часть. Время, использованное слезной жидкостью для вхождения, и длина в мм части
15 бумаги, пропитанной слезами, обеспечивает размер секреции слез.

В повседневной практике, можно проводить этот тест в течение периода времени 1 мин и умножать на 3 полученную величину. Затем этот результат - менее
15 зависящий от рефлекторного слезоотделения - сравнивают с величинами, определенными тестом Ширмера. Пропитанная часть менее 5 мм (в течение 5 минут) считается патологической.

Оценивание pH, которое проводят с использованием подходящей лакмусовой
20 бумаги, является важным тестом для выявления любых патологических изменений в эпителии. Нормальные величины pH слез у людей находятся в диапазоне 6,8-7,4, тогда как в крысе указанный диапазон смещается в направлении более высоких величин (7-8). Однако, в патологическом состоянии слезная жидкость становится
25 щелочной.

Тест арборизации был описан в его общих чертах в вводной части.

Обследование роговицы включает в себя маркирование натрий-флуоресцеином, после чего поверхность роговицы обследуют при помощи флуоресцентного
30 микроскопа. Маркирование пятен роговицы выявляет присутствие сухих зон на поверхности глаза, симптома сухости роговицы. Маркирование Лиссаминовым зеленым позволяет выявить присутствие изъязвленных или некротических зон на
35 поверхности глаза.

Выполнение экспериментов

Проведение экспериментов включало в себя создание следующих
35 экспериментальных групп, каждая из которых состояла из 3 крыс-альбиносов (= 6 глаз).

1. Контрольной группы.

2. Композиции по этому изобретению (0,4% гиалуроновой кислоты + 0,2% TSP):
40 (TSP+HA).

3. Смеси гликолей и гидроксипропил-гуаровой смолы (многодозовый флакон Systane multidose bottle, Alcon): (гуаровая смола).

4. 0,15% гиалуроновой кислоты (Blu Yal monodose, Sooft): (HA 0,15%).

5. 0,4% гиалуроновой кислоты (Dropstar monodose, Farmigea): (HA 0,4%).

45 6. Галактоксилоглюкана (TSP 0,2% monodose, Farmigea): (TSP 0,2%).

7. 0,5% натрий-карбоксиметилцеллюлозы (Celluvisc monodose, Allergan): (CMC 0,5%).

8. 0,2% гиалуроновой кислоты (Hyalistil 0,2%, Sifi): (HA 0,2%).

50 Фаза 1

Во время первой экспериментальной фазы оценивали качество этих продуктов на модели здоровых животных; этих животных обрабатывали соответствующими растворами 3 раза в день в течение 5 дней. Тесты проводили с использованием

следующих способов.

Тест I Ширмера проводили спустя 2, 3, 4 и 5 дней, после введения атропина, в обоих глазах всех животных, выдерживанием в течение 3 минут полосок гигроскопичной бумаги в наружной трети конъюнктивного свода. Измерение pH проводили в день 0 и в день 5 с использованием лакмусовой бумаги. Тест арборизации проводили на пробах слезной пленки из обработанных животных с различными композициями в день 5 смешиванием 10 мкл каждой композиции с 2 мкл искусственных слез. Эту смесь исследовали с использованием микроскопа при комнатной температуре ($20 \pm 1^\circ\text{C}$). Обследование роговицы проводили спустя 3, 4 и 5 дней, после введения атропина. После маркирования флуоресцеином и Лиссаминовым зеленым красителем поверхность роговицы наблюдали с использованием лампы с подходящими фильтрами.

Результаты теста Ширмера не обнаруживали каких-либо количественных различий в объеме слез после обработки этих животных композицией этого изобретения и другими продуктами, уже доступными в продаже. Оценивание pH слез также не показывало каких-либо патологических изменений ни для продукта по данному изобретению, ни для любого из других продуктов при этом исследовании. Обследование роговицы после маркирования флуоресцеином и Лиссаминовым зеленым не показало каких-либо патологических изменений роговицы после обработки продуктом по данному изобретению, аналогично тому, что наблюдали для других веществ, доступных в продаже. Тесты арборизации давали изображения кристаллизованных слез, которые не обнаруживают существенных различий между различными обработками при сравнении.

Таким образом, тесты Фазы 1 показали отсутствие отрицательных взаимодействий между предложенной композицией и физиологическим состоянием конъюнктивароговицы, так же как и другие препараты искусственных слез, уже доступные в продаже.

Фаза 2

В этой экспериментальной фазе оценивали различные возможные модели животных и установили модель сухого глаза в крысе-альбиносе, которая включает в себя использование трех циклов 2,5 ч, состоящих из следующего:

T0 (0 мин): внутрибрюшинной инъекции 4 мг/кг атропина и местного нанесения 1% атропина;

T1 (40 мин): анестезии 8,5% хлоралгидратом и воздействия непрерывного постоянного потока сухого воздуха в течение 1 часа;

T2 (100 мин): окончания потока сухого воздуха;

T3 (130 мин): 1% местного атропина;

T4 (150 мин): окончания этого цикла.

Животные, обработанные слезами данного изобретения, получали одно местное введение этих композиций после 30 мин от T0 и при T2.

Оценивание теста Ширмера показывает избыточное слезоотделение в конце этих трех циклов, в виде реакции в основном воспалительно-экссудативного типа. Даже если невозможно детектировать значимые различия вследствие высокой вариабельности, обнаруженной среди этих животных, очевидной является уменьшенная тенденция вследствие композиции (TSP+HA) этого изобретения и 0,5% TSP. Последнее указывает на лучшую защиту от вредных стимуляций. Оценивание pH слез не показало каких-либо патологических изменений после трех циклов ни для одной из экспериментальных групп.

Что касается теста арборизации, хотя не были детектированы значимые различия между исследуемыми группами, он, возможно, подтверждает присутствие защитных свойств в некоторых продуктах, с том числе композиции этого изобретения, в сравнении с контрольной группой.

Результат теста роговицы с флуоресцеином и Лиссаминовым зеленым, оцениваемый в виде процента поверхности роговицы, пораженной язвенным или некротическим повреждением, показал защиту, одинаковую в различных композициях, против повреждения, индуцированного выполнением вышеописанных трех циклов.

В заключение, можно сделать вывод, что сообщенные выше тесты показали не только отсутствие отрицательных взаимодействий между композицией этого изобретения и физиологическим состоянием конъюктива-роговица (Фаза 1), но также лучшее восстановление из гисто-физиологических повреждений после сильного уменьшения слезоотделения. Указанные тесты позволяют установить, что предложенная комбинация обнаруживает подходящие признаки для ее безопасного применения в качестве искусственных слез и в лечении синдрома сухого глаза.

Предварительное клиническое исследование эффективности смесей комбинации 0,2% TSP и 0,4% НА в лечении синдрома сухого глаза

Для оценивания эффективности комбинации TSP и НА в лечении синдрома сухого глаза проводили предварительное клиническое исследование на двадцать одном субъекте (21) (мужского и женского пола) (42 глаза). Критериями включения в этот эксперимент были отсутствие какой-либо патологии, отличающейся от сухого глаза (за исключением рефрактивных изменений) и отсутствие применения контактных линз.

Этот тест состоял в контролируемом рандомизированном открытом исследовании на трех параллельных группах, со слепым способом оценивания, без стадии вымывания, в котором продукты, вводимые в качестве искусственных слез, были следующими:

- Группа исследования: смесь равных массовых частей раствора для глаз TSP (TSP 0,2%) и раствора для глаз НА (НА 0,4%), называемая ниже "TSP+НА";
- 1-ая контрольная группа: раствор для глаз 0,2% TSP (TSP, Farmigea), называемый ниже "TSP";
- 2-ая контрольная группа: раствор для глаз 0,4% НА (Dropstar, Farmigea), называемый ниже "НА".

Во время рандомизации пациенты инструктировались окулистом в отношении самостоятельной инстилляции (закапывания) двух капель дважды в день непосредственно в конъюнктивальный мешок каждого из трех вышеупомянутых продуктов для сравнения.

В качестве первичной конечной точки этого теста определяли изменение балльной оценки количества конъюнктивальных микроворсинок из начала и конца обработки. В качестве вторичных конечных точек, определяли изменение балльной оценки субъективной симптоматики, объективной симптоматики конъюнктивальной цитологической структуры (соскоба), смешанной (объединенной) оценки (определенной ниже) и переносимости и безопасности продукта.

Оценивания субъективной симптоматики, объективной симптоматики, переносимости и безвредности проводились открытым образом, в то время как оценивание конъюнктивальной цитологии и микроворсинок проводились вслепую наблюдателем, игнорирующим лечение, ассоциированное с каждым субъектом.

Общая продолжительность лечения была равна 60 дням (± 8 дней) для всех трех групп пациентов.

Оценивания

Оценивание микроворсинок - Действия лечения на микроворсинки оценивали сканирующей (растровой) электронной микроскопией (SEM). Для каждого обследуемого глаза идентифицировали реперные точки с использованием васкулярного раstra для работы с базальными и конечными извлечениями в одной и той же зоне. Брели пробу эпителия, отдельно для каждого глаза, из верхней височной конъюнктивы глазного яблока с использованием способа «цитологии со снятием слепка».

Извлечение проводили от минимума 48 часов до максимума 7 дней после офтальмоскопического испытания. В одном и том же сеансе, когда брали пробу для исследования микроворсинок, за несколько минут до этого, выполняли взятие конъюнктивального соскоба для цитологического оценивания.

Затем эти пробы обрабатывали и фиксировали для исследования с использованием SEM и измеряли с использованием шкалы из 4 точек (от 1 до 4).

Субъективная симптоматика - Это было первым из параметров, оцениваемых во время каждого визита, (фоновым или конечным), когда пациента приглашали для описания субъективной степени помех (неудобств), которые приносили страдания во время последней недели, для прослеживания глазных симптомов: зуда, ощущения жжения, раздражения, слезоотделения. На основании прямой информации, обеспеченной пациентом, врач этой части экспериментирования преобразовывал общую интенсивность дискомфорта глаз по аналогичной шкале из 4 точек (от 1 до 4), где степень 1 представляла отсутствие симптома, степень 2 представляла легкую симптоматику, степень 3 представляла умеренную симптоматику и степень 4 представляла наиболее тяжелую симптоматику.

Объективная симптоматика - Эпителиальное повреждение и возможное распространение кератоконъюнктивальных повреждений определяли после субъективного оценивания. Это оценивание проводилось окулистом, после определения субъективной симптоматики, со щелевой лампой и флуоресцеином и измерялось с аналогичной шкалой из 4 точек (от 1 до 4) на основе следующих критериев: степень 1, эпителиальное повреждение, отсутствующее или ограниченное только одним квадрантом; степень 2, эпителиальное повреждение, ограниченное двумя квадрантами; степень 3, эпителиальное повреждение, которое явно поражает два квадранта с дополнительными сигналами повреждения в других квадрантах; степень 4, эпителиальное повреждение, распространенное на всю поверхность глаза.

Конъюнктивальная цитология - воспалительный клеточный компонент брали из конъюнктивы посредством соскоба и без анестетика, фиксировали раствором Мея-Грунвальда (эозинатом метиленового синего), имеющимся в продаже.

Соскоб выполняли при днях 2 и 7 после офтальмоскопического обследования во время того же самого сеанса, когда в график включали взятие пробы для исследования микроворсинок.

Предметное стекло окрашивали в лаборатории и наблюдали с использованием оптического микроскопа. Оценивание проводили вслепую на основе шкалы из 4 точек: 1 = только эпителиальные клетки и/или лимфоциты (+); 2 = лимфоциты (+), нейтрофилы (+); 3 = лимфоциты (++), нейтрофилы (++); 4 = лимфоциты (++), нейтрофилы (++) и/или эозинофилы (+).

Смешанная (объединенная) оценка - она обозначает сумму четырех параметров,

описанных выше, и ее оценивали как суррогатный индекс (показатель) глобальной эффективности.

Безвредность и переносимость - Безвредность и переносимость продуктов, являющихся предметом этого изобретения, определяли с использованием прямого опроса пациента врачом.

Действия на микроворсинки

Как отмечалось, действия обработки на микроворсинки, фотографируемые сканирующей микроскопией, определяли, оценивая с использованием 4-точечной шкалы.

Перед рандомизацией, эти три группы были вполне однородными, причем группа "TSP", имела среднюю оценку 3,0, а группы "TSP+HA" и "HA" имели среднюю оценку 3,3. Рассеяние этих данных было, по-видимому, умеренным, причем коэффициент вариации был равен 26% против 22%, против 22%, соответственно, для TSP, TSP+HA, HA.

ТАБЛИЦА 1

Микроворсинки – Сравнение до-после обработки на средних величинах

	TSP		TSP+HA		HA	
	Фон	День 60	Фон	День 60	Фон	День 60
N (количество)	14	14	14	14	14	14
Минимум	2	1	2	1	2	2
Максимум	4	4	4	3	4	4
Среднее	3,0	2,7	3,3	1,4	3,3	3,0
Стандартное отклонение	0,8	0,9	0,7	0,6	0,7	0,8
Коэффициент вариации	0,26	0,34	0,22	0,45	0,22	0,26
p (Уилкоксона)	0,602		<0,0001		0,219	

Как иллюстрировано в таблице 1 и в гистограммах фигур 1 и 2, после 60 дней обработки в группе TSP, наблюдали слабое улучшение количества конъюнктивальных микроворсинок (-0,3 оценочных балла), что равно -9,5% относительно фоновой величины (NS в критерии Уилкоксона). Подобным образом, в поведении в группе, обработанной HA, после 60 дней, наблюдали среднее улучшение 0,3 оценочных балла, равное -8,7% относительно фоновой величины (NS в критерии Уилкоксона).

В группе, обработанной TSP+HA, наблюдали, вместо этого, среднее улучшение, более, чем в 5 раз улучшенное, с оценочным баллом, который смещался в направлении нормальности 1,9 баллов, что равно процентному улучшению 56,5% относительно фоновой величины ($p < 0,0001$ в критерии Уилкоксона).

Как показано в следующей таблице 2, в отличие от того, что наблюдали для глаз, обработанных только TSP или только HA, все 14 глаз, обработанные TSP+HA, имели, после 60 дней, улучшение оценочного балла (с 1 до 3 баллов).

ТАБЛИЦА 2

	TSP 0,2%		TSP 0,2% / HA 0,4%		HA 0,4%	
3	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
2	1	7,1%	0	0,0%	0	0,0%
1	2	14,3%	0	0,0%	1	7,1%
0	5	35,7%	0	0,0%	8	57,1%
-1	4	28,6%	6	42,9%	5	35,7%
-2	2	14,3%	4	28,6%	0	0,0%
-3	0	0,0%	4	28,6%	0	0,0%

Для статистического анализа, использовали критерий значимости Крускала-Уоллиса на абсолютных величинах различий между фоновыми и конечными наблюдениями. Хотя количество исследованных проб было относительно ограниченным, этот анализ показал различие, статистически очень значимое в

группах обработки ($p < 0,0001$).

Присоединенные фигуры 3 и 4 показывают, с использованием сканирующего электронного микроскопа, присутствие развития микроворсинок на конъюнктивальном эпителии в пациенте-женщине в возрасте 64 года, обработанной в течение 60 дней TSP+HA. Фигура 3 позволяет увидеть почти полное отсутствие микроворсинок; на основании описанных ранее критериев, этому гистологическому кадру был приписан балл 4 (максимальное уменьшение присутствия микроворсинок). В том же самом пациенте и в той же самой зоне конъюнктивы того же самого глаза, фигура 4 показывает обширное разрастание микроворсинок, которое позволяет приписать этому кадру балл 1, по существу типичный для нормального состояния.

Как показано в таблице 2, в группе, обработанной TSP+HA, 4 глаза (28,6%), в 3 субъектах, обнаруживали улучшение балла микроворсинок, равное 3, в то время как то же самое количество глаз обнаруживали улучшение в балле, равное 2. Шесть глаз (42,9% обнаруживали улучшение в балле, равное только одному баллу.

Действия на субъективную симптоматику

Интенсивность субъективной симптоматики определяли с использованием аналогичной шкалы из четырех точек в форме интенсивности глазного неудобства (глазных помех), как описано выше. При фоновой величине, эти три группы представляли относительную однородность, как с точки зрения абсолютных величин оценочных баллов (со средним максимальным интервалом 0,3 балла), так и в виде величин рассеяния, измеренных в форме коэффициента вариации (33% против 12%, против 29%, соответственно для TSP, TSP+HA и HA).

ТАБЛИЦА 3						
Субъективная симптоматика - Сравнение до-после обработки на средних величинах						
	TSP		TSP+HA		HA	
	Фон	День 60	Фон	День 60	Фон	День 60
N (количество)	14	14	14	14	14	14
Минимум	1	1	2	1	1	2
Максимум	4	4	3	4	4	4
Среднее	2,6	2,6	2,9	1,9	2,8	2,6
Стандартное отклонение	0,9	0,9	0,4	1,1	0,8	0,6
Коэффициент вариации	0,33	0,33	0,13	0,59	0,29	0,25
p (Уилкоксона)	1,000		0,014		0,375	

После 60 дней обработки, как иллюстрировано в гистограммах фигур 5 и 6, не наблюдали изменения субъективной симптоматики в группе TSP, с баллом, который оставался при величине 2,6, в то время как в группе, обработанной HA, наблюдали слабое улучшение, статистически недостоверное, равное -0,2 балла среднего оценочного балла (-7,7%).

Улучшение группы, обработанной TSP+HA, было ощутимо более очевидным и статистически достоверным в критерии Уилкоксона, показывающим средний оценочный балл, уменьшенный до 1,0 балла, равный 35,0% относительно фоновой величины.

Как показано в следующей таблице 4, только два глаза из 14 при обработке TSP+HA обнаруживали ухудшение оценочного балла субъективной симптоматики и один оставался без изменения, в то время как для 6 и 5 глаз были зарегистрированы улучшения, соответственно, 1 и 2 балла.

ТАБЛИЦА 4

	TSP 0,2%	TSP 0,2% / HA 0,4%	HA 0,4%
3 0	0,0%	0	0,0%
2 0	0,0%	0	0,0%
1 3	21,4%	2	14,3%
0 8	57,1%	1	7,1%
-1 3	21,4%	6	42,9%
-2 0	0,0%	5	35,7%
-3 0	0,0%	0	0,0%

Статистический анализ проводили с применением критерия Крускала-Уоллиса к абсолютным величинам различий между фоновыми и конечными наблюдениями, и анализ показал статистически значимое различие между этими тремя группами ($p=0,005$).

Действия на объективную симптоматику

Объективную симптоматику измеряли с использованием шкалы из 4 точек, оценивающей степень поражения 4 корнеально-конъюнктивальных секторов с использованием щелевой лампы, как описано выше. В фоновых величинах, эти три группы представляли небольшую степень неоднородности, статистически недостоверную, причем группа TSP+HA имеет средний балл 2,8, на 0,3 балла более высокий, чем балл группы TSP, и на 0,1 балла более высокий, чем балл группы HA. Данные результатов рассеяния являются относительно высокими для всех трех групп, с коэффициентами вариации 41% против 29%, против 34%, соответственно, для TSP, TSP+HA, HA (см. следующую таблицу 5).

ТАБЛИЦА 5						
Объективная симптоматика - Сравнение до-после обработки на средних величинах						
	TSP		TSP+HA		HA	
	Фон	День 60	Фон	День 60	Фон	День 60
N (количество)	14	14	14	14	14	14
Минимум	1	1	1	1	1	1
Максимум	4	4	4	3	4	4
Среднее	2,5	2,2	2,8	1,9	2,7	2,6
Стандартное отклонение	1,0	1,0	0,8	0,8	0,9	0,8
Коэффициент вариации	0,41	0,44	0,29	0,41	0,34	0,29
p (Уилкоксон)	0,125		0,006		0,347	

Как лучше показано в гистограммах фигур 7 и 8, а также в таблице 5, после 60 дней обработки, наблюдали слабое улучшение объективной симптоматики (-0,3 балла), равное 11,4%, относительно фоновой величины в группе TSP. Прогресс в группе, обработанной HA, был меньшим, причем эта группа показывает, после 60 дней, уменьшение среднего балла, равное -0,1 балла (-5,3%). В обоих классах, эти различия не были статистически достоверными согласно критерию Уилкоксона.

В группе, обработанной TSP+HA, вместо этого, после 60 дней обработки, наблюдали, самый низкий средний балл, с 1,9, хотя начальная точка была слегка выше фоновых величин. Это эквивалентно улучшению -0,9 баллов, статистически достоверному, которое представляет изменение 33,3% относительно фоновой величины.

Как показано в следующей таблице 6, только один из 14 глаз, обработанных TSP+HA, имел ухудшение балла объективной симптоматики, один глаз оставался без изменения и 12 имели улучшение (см. следующую таблицу).

ТАБЛИЦА 6

	TSP 0,2%		TSP 0,2% / HA 0,4%		HA 0,4%	
3	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
2	0	0,0%	0	0,0%	1	7,1%
1	0	0,0%	1	7,1%	0	0,0%
0	10	71,4%	1	7,1%	9	64,3%
-1	4	28,6%	10	71,4%	4	28,6%
-2	0	0,0%	2	14,3%	0	0,0%
-3	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%

Статистический анализ проводили с применением критерия Крускала-Уоллиса к абсолютным величинам различий между фоновыми и конечными наблюдениями. Что касается объективной симптоматики, можно подтвердить, что различия, наблюдаемые в этих трех группах, являются статистически достоверными ($p=0,02$).

Действия на цитологию

Присутствие воспалительных клеток оценивали со шкалой из 4 точек, в соответствии с описанной выше. В фоновых величинах, перед рандомизацией, эти три группы были очень неоднородными, даже если не статистически значимым образом. Действительно, в группе HA, которая была наименее серьезной, был определен средний балл 1,9, в группе TSP этот балл был равен 2,1 и в группе TSP+HA, наиболее серьезной, был детектирован средний балл 2,7, с интервалом между крайними величинами 0,8. Результаты рассеяния казались ощутимыми с коэффициентом вариации 44% против 37%, против 55%, соответственно, для TSP, TSP+HA, HA (см. следующую таблицу 7).

ТАБЛИЦА 7						
Цитология - Сравнение до-после обработки на средних величинах						
	TSP		TSP+HA		HA	
	Фон	День 60	Фон	День 60	Фон	День 60
N (количество)	14	14	14	14	14	14
Минимум	1	1	1	1	1	1
Максимум	4	3	4	3	4	3
Среднее	2,1	2,3	2,7	1,9	1,9	2,0
Стандартное отклонение	0,9	0,9	1,0	0,8	1,0	0,6
Коэффициент вариации	0,44	0,40	0,37	0,43	0,55	0,28
p (Уилкоксон)	0,688		0,094		1,000	

Таблица 7 и присоединенные фигуры 9 и 10 показывают, что, после 60 дней обработки, как в группе TSP, так и группе HA наблюдали легкое ухудшение цитологического профиля. Напротив, в группе, обработанной TSP+HA, наблюдали сильное улучшение в цитологическом профиле, даже если не достоверное статистически, с переходом среднего балла 2,7 к величине 1,9 с процентным улучшением 28,9% относительно фоновой величины.

Как показано в следующей таблице 8, 7 глаз из 14, обработанных TSP+HA, показали улучшение в оценочных баллах, после 60 дней, в то время как 6 оставались неизменными и один имел ухудшение.

ТАБЛИЦА 8				
	TSP 0,2%	TSP 0,2% / HA 0,4%	HA 0,4%	
3	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	
2	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	
1	4 28,6%	1 7,1%	5 35,7%	
0	8 57,1%	6 42,9%	6 42,9%	
-1	2 14,3%	4 28,6%	3 21,4%	

-2	0	0,0%	1	7,1%	0	0,0%
-3	0	0,0%	2	14,3%	0	0,0%

Аналогично другим параметрам, критерий Крускала-Уоллиса статистического анализа применяли на абсолютных величинах различий между фоновыми и конечными наблюдениями. Этот анализ показал статистически достоверное различие между группами ($p=0,031$).

Смешанный оценочный балл

Как отмечалось, смешанный оценочный балл представляет сумму четырех параметров, описанных выше (микроворсинки, субъективная симптоматика, объективная симптоматика, цитология), и он является суррогатным индексом глобальной эффективности. Его максимальная теоретическая величина равна 16. Несмотря на источник возможного дисбаланса между этими группами, в основном вследствие цитологии, после рандомизации, при фоновой величине, эти три группы были достаточно однородными, как видно из следующей таблицы 9.

ТАБЛИЦА 9						
Цитология - Сравнение до-после обработки на средних величинах						
	TSP		TSP+HA		HA	
	Фон	День 60	Фон	День 60	Фон	День 60
N (количество)	14	14	14	14	14	14
Минимум	6	4	8	4	5	6
Максимум	16	13	14	11	15	14
Среднее	10,2	9,8	11,6	7,1	10,6	10,1
Стандартное отклонение	2,8	2,8	2,0	2,38	2,7	2,2
Коэффициент вариации	0,27	0,29	0,17	0,32	0,26	0,21
p (Уилкоксона)	0,555		<0,0001		0,197	

После 60 дней обработки, как показано на фигурах 11 и 12, в группе TSP не детектировали существенных изменений против фона. Аналогичное поведение отмечали в группе, обработанной HA, где, после 60 дней, имело место улучшение 0,5 балла, равное -4,7% относительно фоновой величины (NS).

Улучшение, наблюдаемое в группе, обработанной TSP+HA, было приблизительно в 10 раз более высоким и высоко статистически значимым, с -4,5 баллами, равными 39,3% относительно фоновой величины. Это улучшение было высоко значимым согласно критерию Уилкоксона.

В отношении смешанного оценочного балла, для статистического анализа критерий Крускала-Уоллиса также применяли на абсолютных величинах различий между фоновыми и конечными наблюдениями, который показал высокую значимость ($p<0,0001$).

Безвредность и переносимость

Ни в одной обработке, использованной в этом описанном предварительном исследовании, не сообщались никакие проблемы, связанные с переносимостью или с локальной, или системной безвредностью, за исключением редкой обратной связи, связанной с временным замутненным зрением, ассоциированным с закапыванием (инстилляцией) продуктов, которое обычно длилось в течение нескольких минут. Такие эффекты, известные также в отношении других заменителей слез, не обнаруживали различий в этих трех группах.

Выводы

На основании результатов этого изобретения можно заключить, что существуют достаточные клинические доказательства, подтверждаемые также оценками,

проведенными со сканирующим (растровым) электронным микроскопом, что комбинация TSP и гиалуроновой кислоты в одном и том же продукте от глазных болезней производит синергическое действие, показывающее результаты, не получаемые при отдельном введении этих двух продуктов.

Такие микроскопические доказательства указывают на то, что на основе этого синергического действия происходит быстрое улучшение состояния конъюнктивального эпителия, который, при подвергании действию комбинации НА и TSP, приводит к регенерации микроворсинок. В свою очередь, эти действия на конъюнктивальный эпителий, производят улучшение субъективных и объективных симптомов, которые характеризуют синдром сухого глаза.

Данное изобретение было описано с конкретной ссылкой на его некоторые специфические варианты осуществления, но должно быть понятно, что лицами с квалификацией в данной области могут быть произведены модификации и изменения без отклонения от объема этого изобретения, определенного в прилагаемой формуле изобретения.

Формула изобретения

1. Глазной препарат для применения в качестве заменителя слез, содержащий, в комбинации, от 0,05 до 2 мас.% полисахарида семян тамаринда и от 0,05 до 1 мас.% гиалуроновой кислоты в водном растворе.

2. Глазной препарат по п.1, содержащий от 0,1 до 1 мас.% полисахарида семян тамаринда и от 0,1 до 0,5 мас.% гиалуроновой кислоты.

3. Глазной препарат по п.1 или 2, где указанный полисахарид семян тамаринда имеет молекулярную массу, находящуюся в диапазоне 450000-750000 Да.

4. Глазной препарат по п.1 или 2, где указанная гиалуроновая кислота имеет молекулярную массу, находящуюся в диапазоне 600000-1000000 Да.

5. Глазной препарат по п.1, содержащий в водном растворе 0,2 мас.% полисахарида семян тамаринда и 0,4 мас.% гиалуроновой кислоты.

6. Глазной препарат по п.1 или 2, содержащий также один или несколько регулирующих тоничность агентов.

7. Глазной препарат по п.1 или 2, содержащий также одну или несколько офтальмически приемлемых кислот или одно или несколько офтальмически приемлемых оснований в качестве корректоров pH.

8. Глазной препарат по п.1 или 2, содержащий также один или несколько буферов.

9. Глазной препарат по п.1 или 2, содержащий также один или несколько консервантов.

10. Глазной препарат по п.1 или 2, содержащий также один или несколько хелатообразующих агентов.

11. Применение комбинации полисахарида семян тамаринда и гиалуроновой кислоты в водном растворе для приготовления заменителя слез.

12. Применение комбинации полисахарида семян тамаринда и гиалуроновой кислоты в водном растворе для получения лекарственного средства для лечения синдрома сухого глаза.

13. Применение по п.11 или 12, где указанный продукт содержит от 0,05 до 2 мас.% полисахарида семян тамаринда и от 0,05 до 1 мас.% гиалуроновой кислоты.

14. Применение по п.13, где указанный продукт содержит от 0,1 до 1 мас.% полисахарида семян тамаринда и от 0,1 до 0,5 мас.% гиалуроновой кислоты.

15. Применение по п.11 или 12, где указанный полисахарид семян тамаринда имеет

молекулярную массу, находящуюся в диапазоне 450000-750000 Да.

16. Применение по п.11 или 12, где указанная гиалуроновая кислота имеет молекулярную массу, находящуюся в диапазоне 600000-1000000 Да.

5

10

15

20

25

30

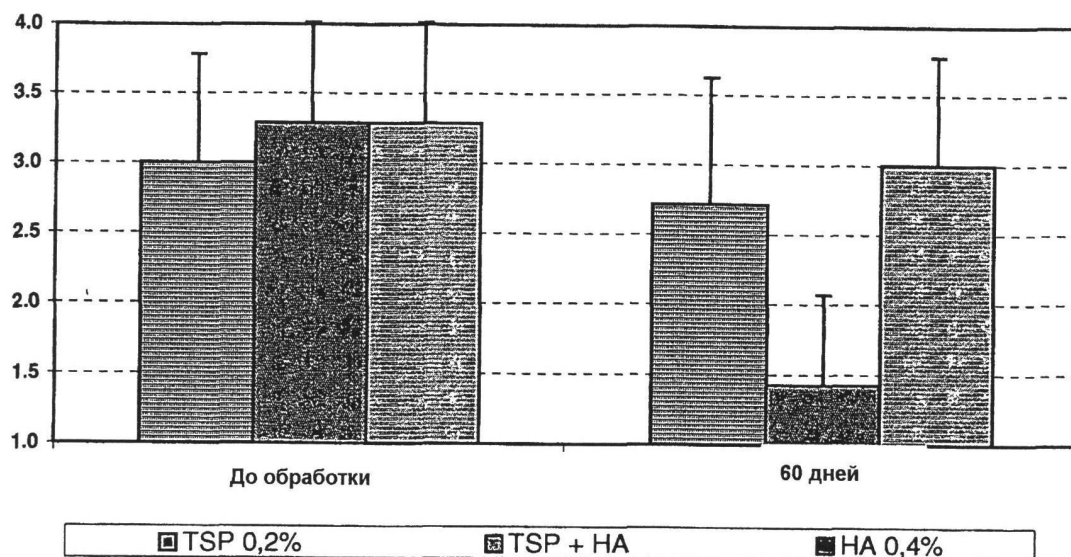
35

40

45

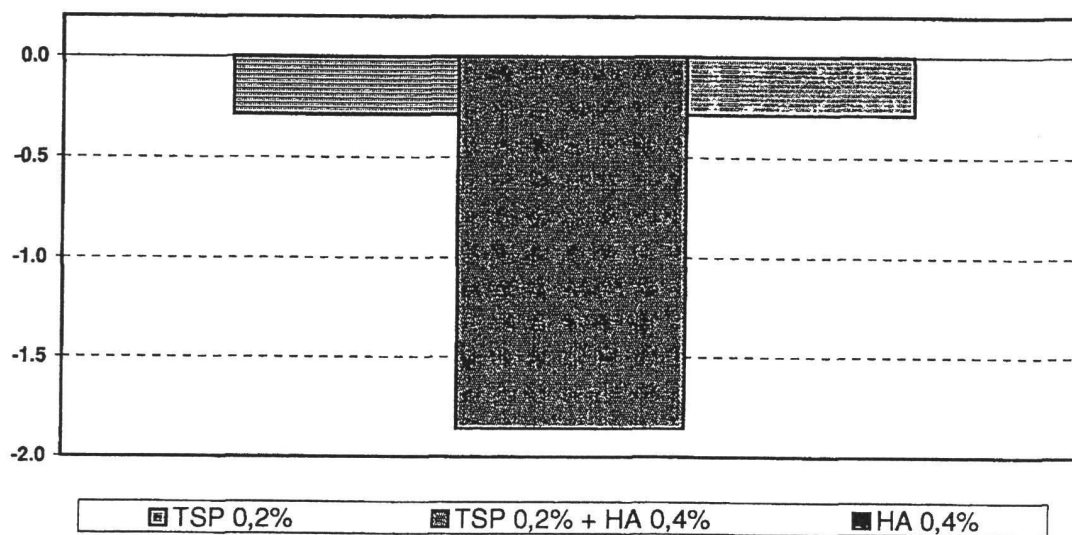
50

Микроворсинки – абсолютные величины

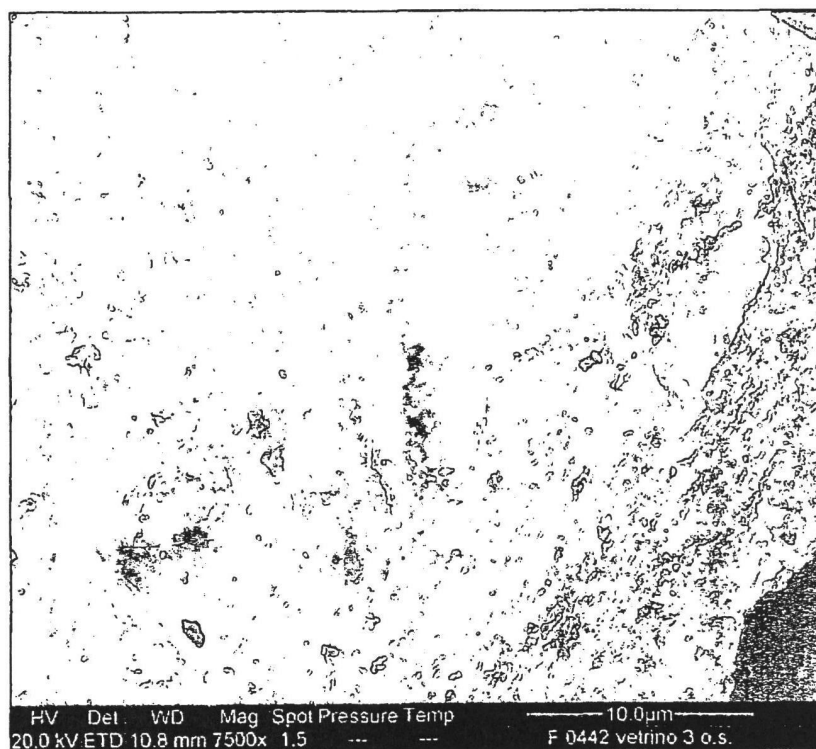


ФИГ. 1

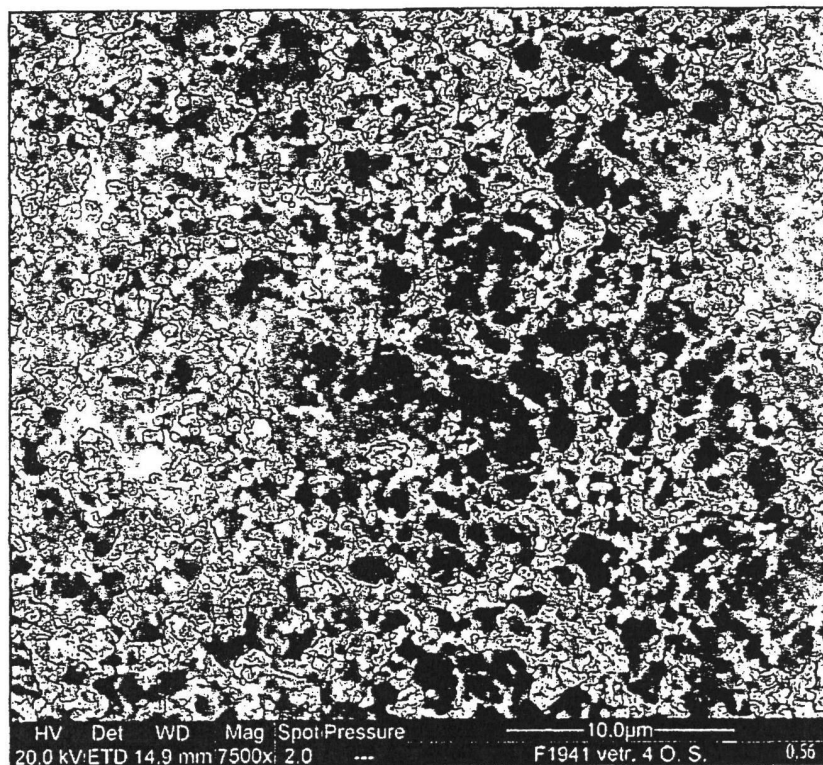
Микроворсинки – Абсолютная Δ (фон против 60 дней)



ФИГ. 2

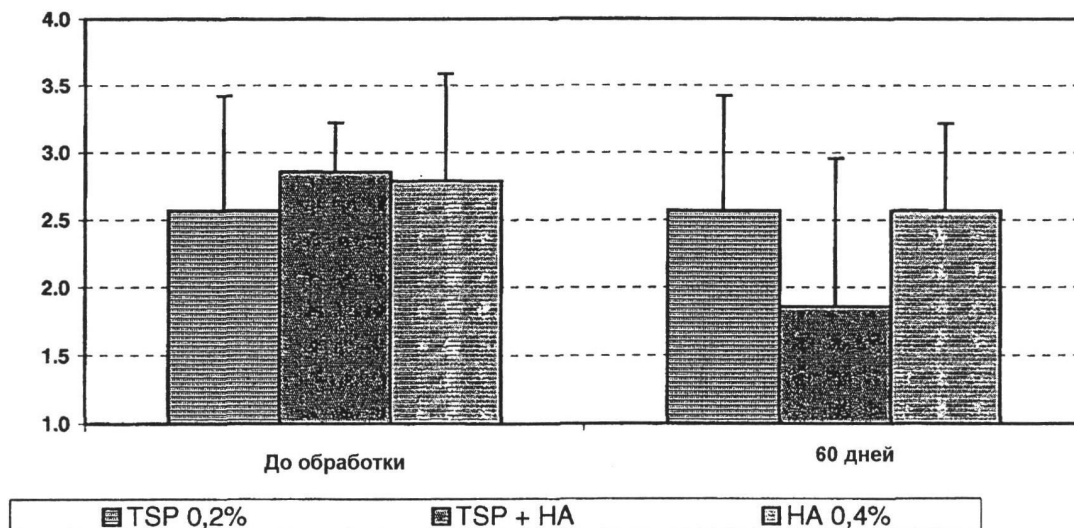


ФИГ. 3

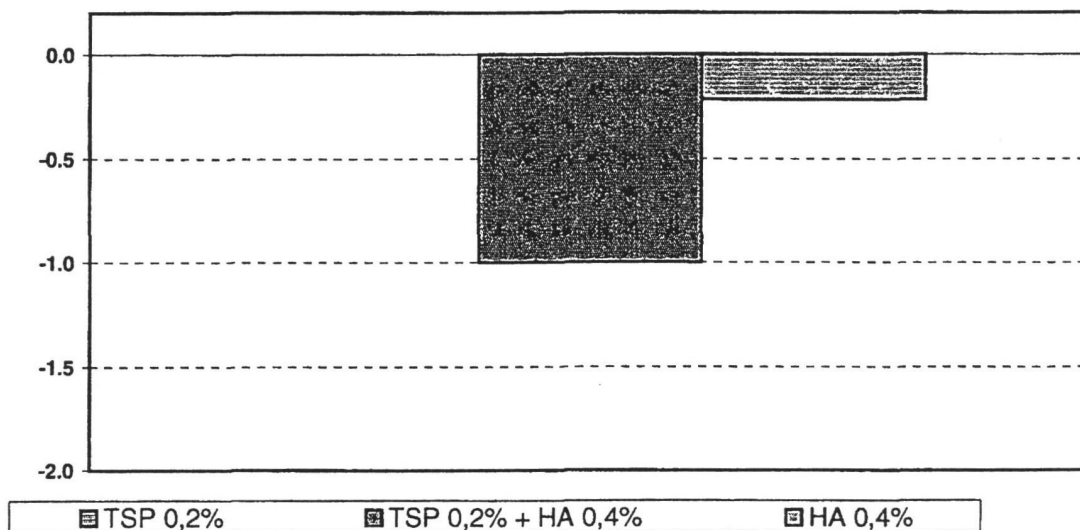


ФИГ. 4

Субъективная симптоматика – Абсолютные величины

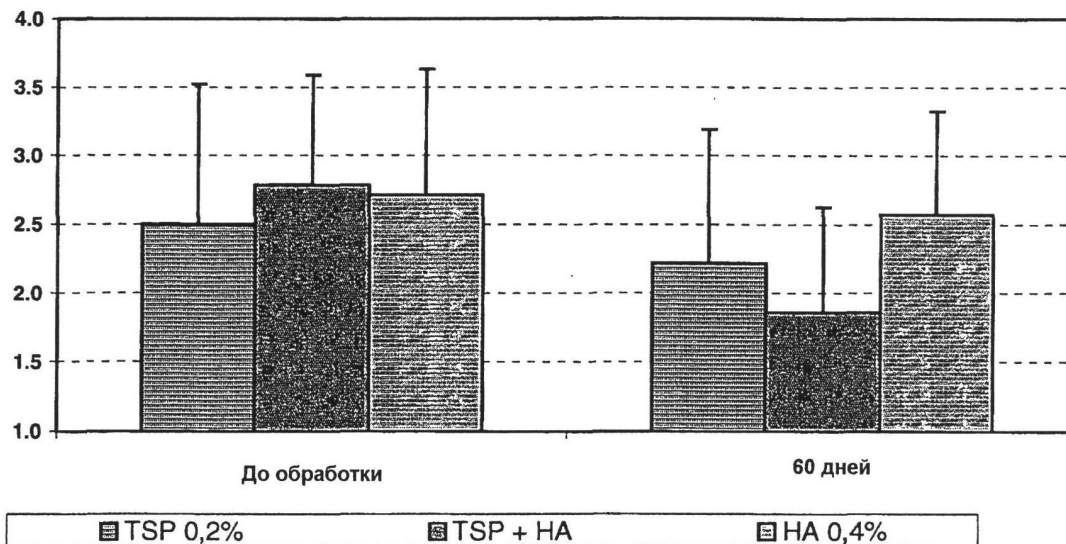


ФИГ. 5

Субъективная симптоматика – Абсолютная Δ (фон против 60 дней)

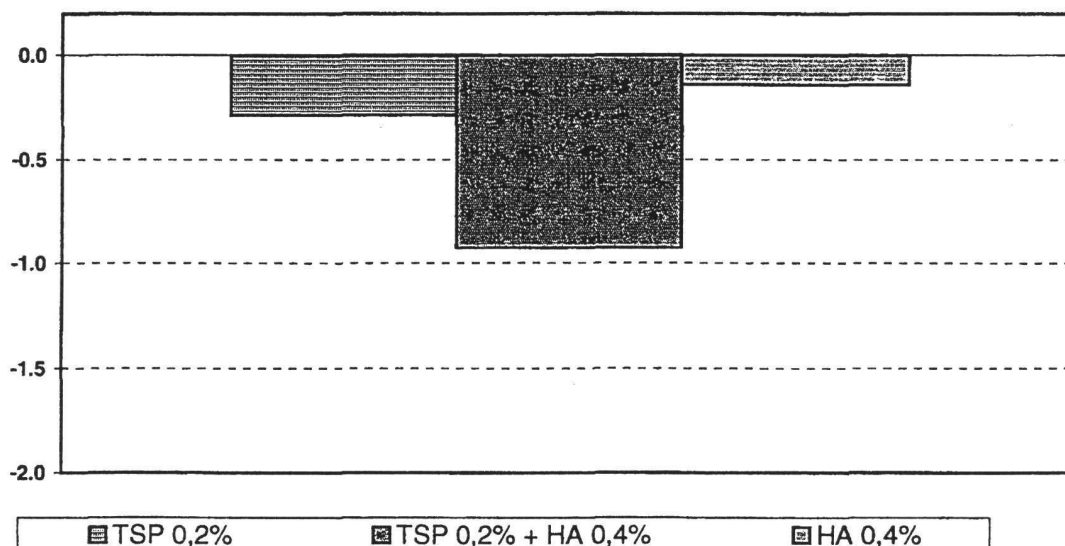
ФИГ. 6

Объективная симптоматика – Абсолютные величины



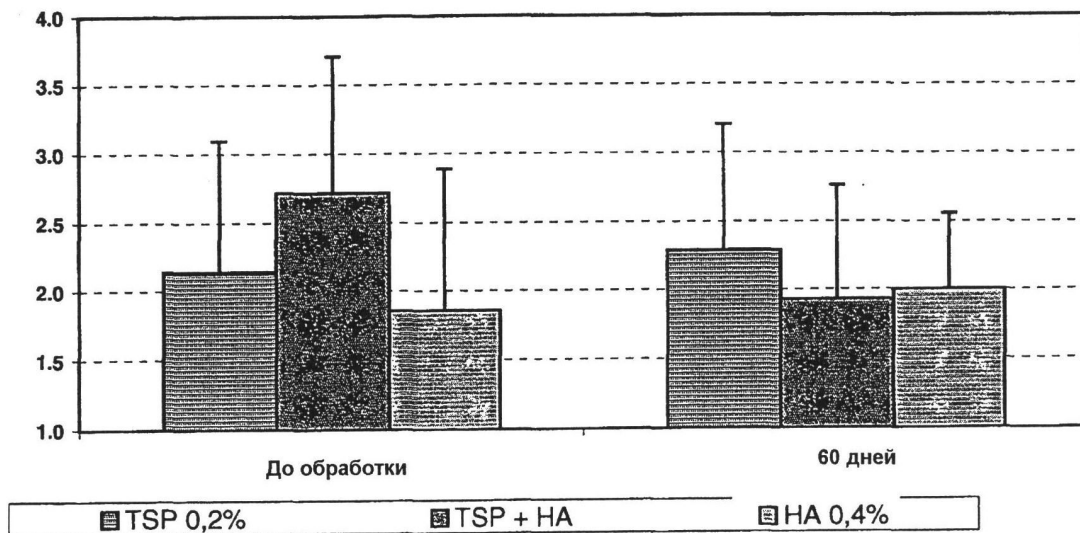
ФИГ. 7

Объективная симптоматика – Абсолютная Δ (фон против 60 дней)



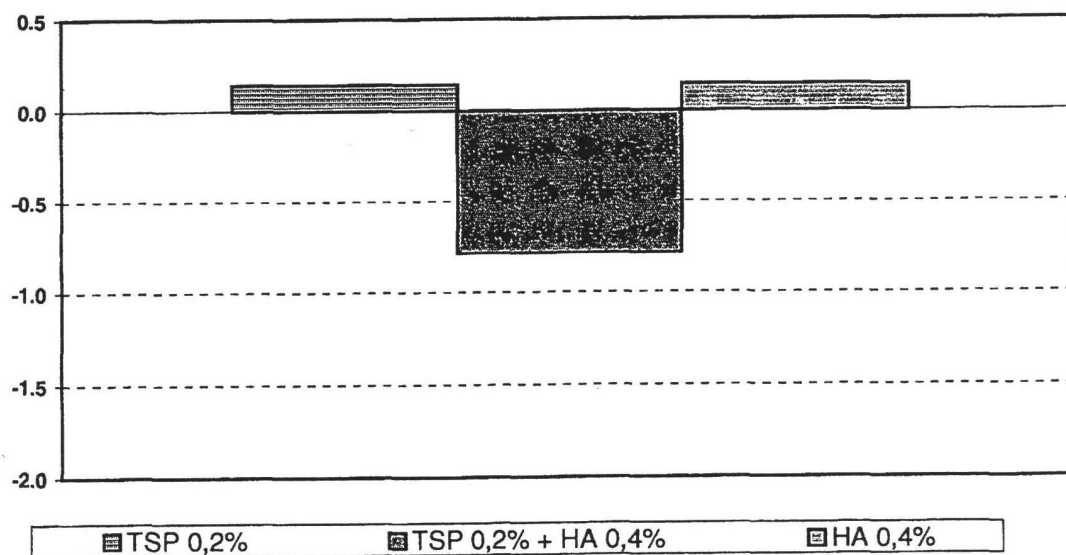
ФИГ. 8

Цитология – Абсолютные величины



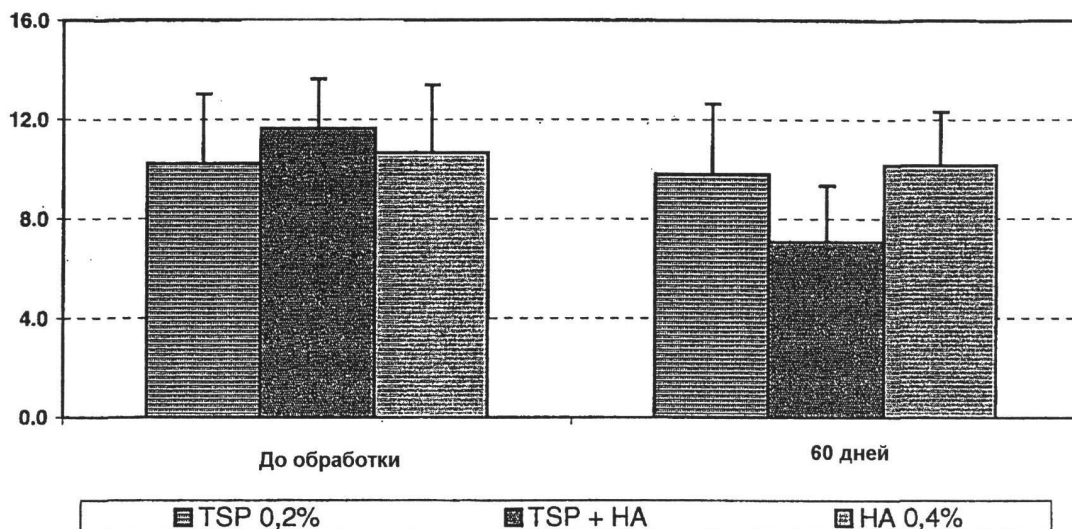
ФИГ. 9

Цитология – Абсолютная Δ (фон против 60 дней)



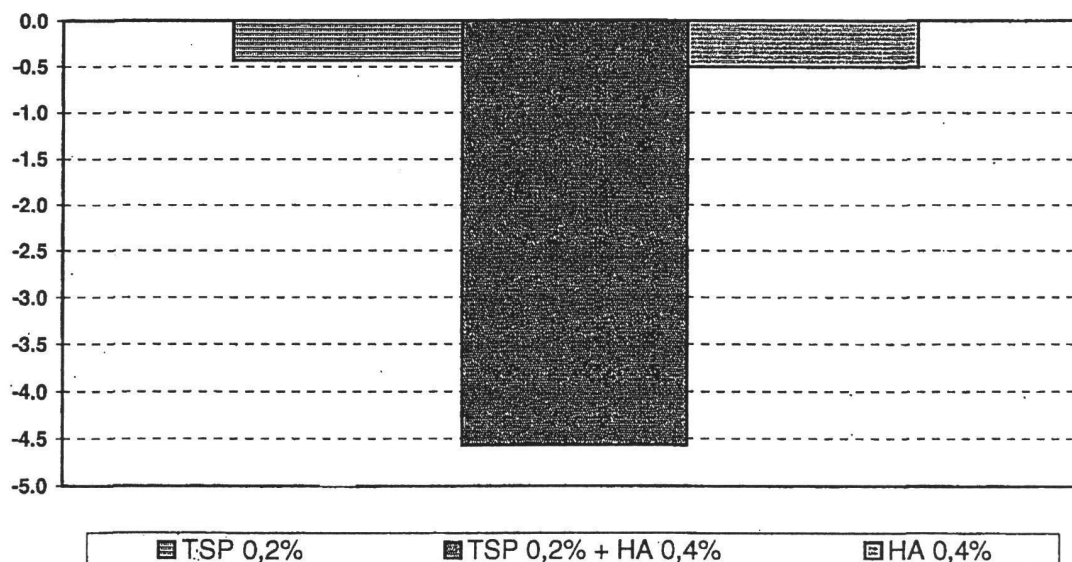
ФИГ. 10

Общий балл – Абсолютные величины



ФИГ. 11

Общий балл – Абсолютные вариации



ФИГ. 12