



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 111342

(13) C2

(51) МПК

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 31/714 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 47/22 (2006.01)

A61K 47/28 (2006.01)

A61P 11/02 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2013 06483	(72) Винахідник(и):	Пател Кетан Р. (IN), Пател Мілан Р. (IN), Шах Пракашчандра Дж. (IN)
(22) Дата подання заявки:	28.10.2011	(73) Власник(и):	ТРОІКАА ФАРМАСЬЮТИКАЛС ЛІМІТЕД, Commerce House-1, Satya Marg, Bodakdev, Ahmedabad 380054, Gujarat, India (IN)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	25.04.2016	(74) Представник:	Вуліх Олександр Наумович, реєстр. №102
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	2169/MUM/2010	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	US 7229636 B1, 12.06.2007 ES 2074396 A1, 01.09.1995 US 2009012039 A1, 08.01.2009 US 4724231 A, 09.02.1988 DE 3337304 A1, 03.05.1984
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	29.10.2010		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	IN		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.07.2013, Бюл.№ 14		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.04.2016, Бюл.№ 8		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	РСТ/IB2011/002546, 28.10.2011		

(54) НАЗАЛЬНІ КОМПОЗИЦІЇ ВІТАМІНУ В12

(57) Реферат:

Винахід належить до інтраназальної водної композиції, яка містить метилкобаламін у концентрації від 500 мкг/0,1 мл до 1500 мкг/0,1 мл, співрозчинники/солюбілізатори або їх суміші у воді, причому співрозчинники/солюбілізатори вибираються з глікофурулу, пропіленгліколю, поліетилен-гліколів або їх сумішей, рН композиції становить від 6 до 6,5, а в'язкість при температурі 25°C - від 1 до 200 спз (мПа·с). Композиція також додатково містить поліпшувач проникнення, який вибирається з солей жовчної кислоти, таких як глікохолат натрію.

UA 111342 C2

ГАЛУЗЬ, ЯКОЇ СТОСУЄТЬСЯ ВІНАХІД

Цей винахід стосується інтраназальних композицій класу похідних вітаміну B12, зокрема, метилкобаламіну, ціанокобаламіну, гідроксикобаламіну, та способу їх одержання.

ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ ВІНАХОДУ:

Дефіцит вітаміну B12 дуже поширений серед населення. Масштабні дослідження у США та Великій Британії показали, що біля 6 % осіб у віці від 60 років і старше відчувають дефіцит вітаміну B12. Більш того, у країнах, що розвиваються, зокрема, в Індії, цей дефіцит поширений набагато більше, починаючи з дитинства і до кінця життя. Обстеження 441 чоловіка середнього віку в м. Пуна (Індія) виявило у 67 % піддослідних низьку концентрацію вітаміну B12 (<150 пмол/л). Серед міського середнього класу 81 % мають низькі концентрації вітаміну B12, а серед вегетаріанців ризик дефіциту вітаміну B12 у 4,4 рази вищий.

До основних причин дефіциту вітаміну B12 належать нестача внутрішнього фактора (фактора Кастла – прим. перекл.) та інші кишкові фактори (наприклад, недостатнє засвоєння), рідко генетичні розлади та неправильне харчування. Отже, є необхідність подолання дефіциту вітаміну B12 шляхом додаткового введення метилкобаламіну, ціанокобаламіну або гідроксикобаламіну різними шляхами парентеральним, оральним тощо.

Оральна терапія придатна не для всіх хворих, наприклад, хворих з нестачею внутрішнього фактору, зі станами, пов'язаними з атрофією шлунку, наявністю рибного солітера тощо. Таким хворим більш показане назальне введення. Доставляння ліків інтраназальним шляхом також забезпечує потрапляння лікарського засобу до системного кровообігу, що дає більший терапевтичний ефект. Відомо також, що для поліпшеного системного доставляння ліків інтраназальним шляхом важливо, щоб лікарський засіб був розчинним. Як правило, добре розчинні засоби вважаються кращими кандидатами на таку терапію.

Метилкобаламін базується на корриновому кільці й має молекулярну формулу C₆₃H₉₁CoN₁₃O₁₄P. До класу варіантів вітаміну B12 належать також такі сполуки, як ціанокобаламін та гідроксикобаламін. Метилкобаламін гірше розчиняється у воді, ніж ціанокобаламін або гідроксикобаламін. Найкращу розчинність у воді має гідроксикобаламін, найгіршу метилкобаламін.

Також відомо, що метилкобаламін легко піддається розкладанню й через те є найменш стабільним серед похідних вітаміну B12. З урахуванням швидкого розкладання метилкобаламіну практикується велике передозування від 50 до 100 % у рідких композиціях метилкобаламіну (наприклад, для ін'єкцій), щоб компенсувати його втрати внаслідок розкладання при зберіганні. Такі високі передозування є небажані, бо вони мають наслідком великий вміст продуктів розкладання, тим вищий, чим довше зберігається продукт.

Відоме застосування ціанокобаламіну для інтраназального введення у дозах від принаймні 500 мкг/0,1 мл за тиждень. Також відоме застосування метилкобаламіну для лікування дефіциту вітаміну B12 і таких захворювань, як синдром дефіциту уваги при гіперактивності (СДУГ). Однак він є менш прийнятний, ніж інші похідні кобаламіну і не використовується в інтраназальних композиціях, що продаються на ринку, внаслідок низької розчинності та високої нестійкості.

У патенті США № 4,724,231 описується інтраназальний препарат ціанокобаламіну, розчинений у воді до концентрації 500 мкг/0,1 мл. Композиції, наведені у цьому патенті, мають вигляд гелів, кремів, мазей з високою в'язкістю від 2500 до 10000 спз. Автори вдалися до високої в'язкості, щоб подовжити час контакту композиції із слизовою носом. Гелі з такою високою в'язкістю важко вводити у точних дозах, і впродовж лікування вони викликають дискомфорт у хворого.

У патентній заявці США 20090012039 наводиться спосіб застосування інтраназальної композиції метилкобаламіну при лікуванні синдрому дефіциту уваги. У зазначеній заявці йдеться про композиції для назального введення, що їх можна готувати розчиненням, диспергуванням, змішуванням або введенням метилкобаламіну (з фоліновою кислотою або без неї), за бажанням, зі звичайними фармацевтичними наповнювачами (вода, фізрозчин, водний розчин декстрази, гліцерин, етанол тощо) з утворенням розчину або суспензії. Згадується, що композиція для назального введення може також, за потреби, містити невеликі кількості нетоксичних допоміжних речовин, таких як зволожувачі або емульгатори, рНбуфери тощо, наприклад, ацетат натрію, сорбітан монолаурат, триетаноламін олеат, сорбат калію, гліцерин, лецитин тощо.

У патенті США 7229636 описані водні композиції ціанокобаламіну низької в'язкості для назального введення, які мають рН в інтервалі від 4 до 6, причому перевага віддається і приклади наводяться для інтервалу 4,55,5. У патенті згадуються проблеми з неприємною консистенцією існуючих на ринку інтраназальних гелевих композицій (NASCOBAL), для усунення яких пропонуються інтраназальні композиції ціанокобаламіну низької в'язкості у

вигляді спреїв. Ціанокобаламін виявився кращим, ніж метилкобаламін, завдяки більшій розчинності та легкості створення композицій.

Хоча інтраназальні композиції ціанокобаламіну та деякі підходи до використання метилкобаламіну відомі, не вирішеними залишаються питання низької розчинності, нестабільності метилкобаламіну, а відтак їх вплив на біодоступність, з метою оптимізації терапевтичної ефективності. Далі, важко піддаються оптимізації в'язкість та рН композицій для ефективного інтраназального введення, а відтак терапевтично ефективні композиції метилкобаламіну на ринку відсутні. Також бажано створити композиції, які б поліпшили біодоступність композицій сімейства похідних вітаміну В12 з метою досягнення підвищеної терапевтичної ефективності.

Цей винахід пропонує нові стабільні інтраназальні композиції метилкобаламіну з що мають кращу біодоступність у порівнянні з відомими препаратами.

ЦІЛІ ВИНАХОДУ:

Головною метою винаходу є створення інтраназальних композицій класу похідних вітаміну В12, зокрема, метилкобаламіну, ціанокобаламіну та гідроксикобаламіну, та способу їх одержання.

Наступною метою винаходу є створення стабільних, висококонцентрованих композицій для інтраназального застосування з поліпшеною біодоступністю метилкобаламіну для досягнення більшого терапевтичного ефекту за рахунок застосування прицільних поліпшувачів проникнення.

Далі, метою винаходу є створення висококонцентрованих композицій інших похідних вітаміну В12, наприклад, ціанокобаламіну, які мають суттєво кращу біодоступність у порівнянні з відомими композиціями.

Також метою винаходу є створення стабільних, висококонцентрованих, прозорих розчинів метилкобаламіну у воді за рахунок використання придатних співрозчинників, солюбілізаторів або їх сумішей, з доданням поліпшувачів проникнення або без них, для досягнення максимальної біодоступності діючої речовини при інтраназальному введенні.

Ще одною метою винаходу є створення стабільних, висококонцентрованих, прозорих розчинів метилкобаламіну у воді за рахунок використання придатних співрозчинників, солюбілізаторів або їх сумішей, з доданням поліпшувачів проникнення або без них, де кількість придатних співрозчинників, солюбілізаторів або їх сумішей обирають таким чином, щоб поліпшити розчинність без суттєвого збільшення в'язкості інтраназальної композиції.

Також мета винаходу полягає у створенні зазначених висококонцентрованих, прозорих розчинів метилкобаламіну, у яких вміст метилкобаламіну становить від біля 500 мкг/0,1 мл до біля 1500 мкг/ОДмл.

Подальшою метою винаходу є створення зазначених висококонцентрованих, прозорих розчинів метилкобаламіну, рН яких є придатним для системного інтраназального введення метилкобаламіну і знаходиться у межах від біля 5,0 до біля 7,0.

Також метою винаходу є створення стабільних, висококонцентрованих, прозорих розчинів метилкобаламіну у воді, які мають в'язкість від біля 1 до біля 200 спз, придатну для системного інтраназального введення лікарського засобу.

Інша мета винаходу полягає у створенні стабільних, висококонцентрованих, прозорих розчинів метилкобаламіну у воді, які можуть містити певну кількість мукоадгезивного агента або їх сумішей і є придатні для системного інтраназального введення лікарського засобу.

І ще метою винаходу є створення стабільних, висококонцентрованих, прозорих розчинів метилкобаламіну у воді, з доданням поліпшувачів проникнення або без них, зокрема, солей жовчних кислот, вітаміну ЕТПГС ((токоферолу поліетіленглікольсукцинат прим, перекл.), алкілмальтозидів або їх сумішей, придатних для системного інтраназального введення лікарського засобу.

Наступна мета винаходу полягає у створенні стабільних, висококонцентрованих, прозорих розчинів метилкобаламіну у воді, у комбінації з достатньою кількістю хелатуючих агентів, зокрема, динатріюЕДТО (зтилендіамінтетраоцтова кислота прим, перекл.), придатних для системного інтраназального введення лікарського засобу.

Нарешті, метою винаходу є створення стабільних, висококонцентрованих, прозорих розчинів метилкобаламіну у воді у комбінації з придатними консервантами та антиоксидантами.

ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ:

Цей винахід пропонує композиції для інтраназального введення, які містять похідні вітаміну В12, зокрема, метилкобаламін, розчинені у воді за допомогою відповідних співрозчинників, солюбілізаторів або їх сумішей, та буферну систему, з можливим вмістом відповідних поліпшувачів проникнення, наприклад, солей жовчних кислот, або мукоадгезивних агентів, або

антиоксидантів, або хелатуючих агентів, наприклад, натрійЕДТО, або зволожувачів, або консервантів, або їх комбінацій. Винахід також пропонує спосіб одержання та спосіб введення зазначеної композиції.

В одному з варіантів здійснення цей винахід пропонує композиції для інтраназального введення, які містять ціанокобаламін та гідроксикобаламін, розчинені у воді за допомогою відповідних співрозчинників, солюбілізаторів або їх сумішей, та буферну систему, з можливим вмістом відповідних поліпшувачів проникнення для поліпшення біодоступності.

В одному з варіантів здійснення цей винахід пропонує композиції, що мають ефективний вміст похідних вітаміну В12 від біля 500 мкг/0,1 мл до 1500 мкг/0,1 мл.

В іншому варіанті цей винахід пропонує нові композиції для введення лікарського засобу, які містять метилкобаламін, розчинений у воді за допомогою відповідних співрозчинників солюбілізаторів, та один або кілька фармацевтично прийнятних наповнювачів, наприклад, буферну систему, або консерванти, або поліпшувачі проникнення, або їх комбінації.

У ще одному варіанті цей винахід пропонує нові композиції для введення лікарського засобу, які містять метилкобаламін, розчинений у воді за допомогою відповідних співрозчинників/солюбілізаторів, та один або кілька фармацевтично прийнятних наповнювачів, наприклад, буферну систему, або консерванти, або поліпшувачі проникнення, зокрема, солі жовчних кислот, або будьяке їх комбінації, або мукоадгезивні агенти, або антиоксиданти, або хелатуючі агенти, наприклад, натрійЕДТО, або зволожувачі, або будьяке їх комбінації.

Метилкобаламін значно гірше розчиняється у воді, ніж ціанокобаламін або гідроксикобаламін. Для забезпечення оптимальної терапевтичної дії при введенні через ніс необхідно солюбілізувати метилкобаламін таким чином, щоб концентрація розчинів становила від біля 500 мкг на 0,1 мл до біля 1500 мкг на 0,1 мл. Нами несподівано встановлено, що можна досягти солюбілізації у заданому інтервалі концентрацій та одержати розчини з регульованою в'язкістю, якщо належним чином підбирати систему розчинників, використовуючи співрозчинники/солюбілізатори, зокрема, глікофурол, пропіленгліколь, поліетиленгліколи або їх суміші нарізно або у комбінації з водою, причому вміст співрозчинників/солюбілізаторів становить від 1 до 35 % мас/об. Більш того, композиції оптимізовані щодо в'язкості та рН так, що досягається максимальна абсорбція діючої речовини із досягненням потрібного терапевтичного ефекту і біодоступності, не спричиняючи відторгнення хворим.

На додаток до системи розчинників, композиція містить інші фармацевтично прийнятні наповнювачі, зокрема, зволожувачі на зразок гліцерину, та/або консерванти, та/або антиоксиданти, та/або поліпшувачі проникнення, та/або мукоадгезиви.

Консерванти згідно з винаходом обирають зпоміж бензалконійхлориду, метилпарабену, етилпарабену, пропилпарабену, бензойної кислоти, бензилового спирту, бронополу, бутильованого гідроксиланізолу, бутильованого гідроксилтолуолу, хлоркрезолу, ізопропилового спирту або їх комбінацій.

Поліпшувачами проникнення у цьому винаході можуть бути солі жовчних кислот, вітамін ЕТГПС, алкілмальтози, неіонні, іонні або амфотерні поверхнево активні речовини, які мають показник гідрофільноліпофільного балансу 814, або їх комбінації. Як приклади таких поліпшувачів проникнення можна навести, зокрема, глікохолат натрію, таурохолат натрію, додецилмальтози, тридецилмальтози або тетрадецилмальтози, або будьякі їх комбінації. Поліпшувачі проникнення становлять до 2,5 % від маси композицій.

Мукоадгезиви обирають серед синтетичних полімерів, таких як похідні целюлози (метилцелюлоза, етилцелюлоза, гідроксиетилцелюлоза, гідроксипропилцелюлоза, гідроксипропилметилцелюлоза, натрійкарбоксиметилцелюлоза), полімери полі(акрилової кислоти) (карбомери або карбополи, полікарбофіл, наприклад, карбопол 934), полі(гідроксиетилметакрилат), полі(етиленоксид), полі(вінілпіролідон). Мукоадгезивами також можуть бути натуральні полімери, такі як трагакант, альгінат натрію, смола карайя, гуарова смола, ксантанова смола, лектин, розчинний крохмаль, желатин, пектин та хітозан, які використовують у кількості до 5 % від маси композиції.

Зволожувачами можуть бути гліцерин, лактат натрію, сорбітол, ксилітол, бутил енгліколь.

Нами несподівано встановлено, що можна досягти бажаної в'язкості від біля 1 до 200 спз належним підбором компонентів, зокрема, системи розчинників, і водночас суттєво поліпшити абсорбцію метилкобаламіну у носовій порожнині. Композиції мають форму розчинів, крапель або спреїв у багаторазовій тарі для введення заданих обсягів. Важливо зазначити, що, незважаючи на меншу в'язкість композицій згідно з винаходом, абсорбція діючої речовини у носовій порожнині не погіршилася. Відомий рівень техніки стверджував, що для забезпечення потрібного часу контакту із слизовою носом необхідно мати високу в'язкість (патент СІЛА 4724231 рекомендує від 2500 до 10000 спз). Цей винахід знаменує повний відхід від попередніх вимог,

втім, він забезпечує ідеальний баланс між в'язкістю, розпилюваністю, абсорбцією та поліпшеною біодоступністю.

Композиції за винаходом можуть додатково містити фармацевтично прийнятні наповнювачі, що підсилюють стабільність композицій. До таких наповнювачів належать, зокрема, хелатуючі агенти, наприклад, натрійЕДТО, та/або антиоксиданти, які не подразнюють слизову носа. Таким антиоксидантом може бути, наприклад, аскорбінова кислота.

Назальні розчини метилкобаламіну, як описано тут, мають бажану стабільність, а тому не потребують надвеликого передозування.

Самої по собі солюбілізації недостатньо, щоб забезпечити максимальну абсорбцію такої речовини, як метилкобаламін. Треба також оптимізувати такі показники, як в'язкість композиції, стабільність лікарського засобу при зберіганні, щоб забезпечити належну абсорбцію у носовій порожнині та біодоступність для терапевтичного ефекту.

Ми приготували низку розчинів з рН від біля 3,75 до 7. Для досягнення бажаного рН можна використовувати відповідні буферні системи, наприклад, цитратний буфер.

Далі необхідно визначити вплив рН на інтраназальну абсорбцію метилкобаламіну.

Для оцінки впливу рН на інтраназальну абсорбцію метилкобаламіну були приготовлені розчини метилкобаламіну та досліджена біодоступність композицій з рН 3,75, 5 та 6,25. Нами несподівано встановлено, що при рН вище 6 найкраще досягається бажана інтраназальна абсорбція метилкобаламіну. Результати наведені нижче у табл. 1 та 2.

Таблиця 1

Компоненти	Тест А	Тест В	Тест С
Метилкобаламін	500 мкг	500 мкг	500 мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг	0,02 мг	0,02 мг
Гліцерин	2,23 мг	2,23 мг	2,23 мг
Глікофуrol	1,00мг	1,00мг	1,00мг
Натрій цитрат дигідрат	0,32 мг	0,32 мг	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас/об.)	решта	решта	решта
Вода	решта до 0,1 мл	решта до ОД мл	решта до 0,1 мл
рН скоригований до	6,25	5,00	3,75

Результати: AUCOt (площа під кривою від 0 до t), пг год./мл, для мекобаламіну у дозі 1500 мкг та скоригована до дози 500 мкг з корекцією на початок відліку представлено нижче.

Таблиця 2

Тест	AUCOt (пг год./мл) (для дози 1500 мкг)	AUCOt (пг год./мл) (для дози, скоригованої до 500 мкг)
Тест А	8374,328	2791,44
Тест В	5120,904	1702,18
Тест С	4044,998	1348,33

Спосіб одержання композицій:

Весь процес приготування проводили під натрієвою вакуумною лампою з продуванням азотом. Рівень розчиненого кисню підтримували якомога низькими, краще біля 11,5 ррт. Процес складається з етапів

- i) додавання глікофуrolу до 80 % об. води на партію;
- ii) розчинення бензалконійхлориду та гліцерину при перемішуванні;
- iii) буферизація розчину цитратним буфером;
- iv) додавання метилкобаламіну при перемішуванні до повного розчинення;
- v) коригування рН до заданого рівня кислотою/лугом
- vi) складання об'єму розчину до одержання заданої концентрації 500 мкг на ОД мл розчину назального спрею.

Композиції згідно з винаходом звичайно містять: діючу речовину від 500 мкг на 0,1 мл до 1500 мкг на 0,1 мл; розчинники (сумарно) 135 %; зволожувач 05 %, мукоадгезив до 5 %; поліпшувачі проникнення до 2,5 %; консерванти до 4 %. Як буде далі показано в описі, композиції також можуть містити буферні компоненти для коригування рН до заданої величини у залежності від діючої речовини, що застосовується.

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОДОСТУПНОСТІ КОМПОЗИЦІЙ

Біодоступність одержаних у вищенаведений спосіб назальних спреїв, що містять 500 мкг на 0,1 мл метилкобаламіну, вивчали на здорових людях натще. Схема дослідження: з відкритою міткою, рандомізоване, три періоди, три прийоми, три послідовності, одна доза, тристороннє

перехресне порівняльне дослідження біодоступності натще на 6 здорових дорослих піддослідних. Методика: Дослідження проводять з метою визначення порівняної біодоступності трьох випробуваних продуктів шляхом оцінки фармакокінетичних параметрів, Стах, AUC_{0t}, AUC_{0inf}. (від 0 до безкінечності прим, перекл.) натще у 6 здорових дорослих піддослідних при рандомізованому перехресному випробуванні. Всі піддослідні дали письмову інформовану згоду на участь перед початком випробувань і мали змогу відмовитися від участі у будьякий час протягом дослідження. Воно було затверджене комісією з професійної етики й проводилося у відповідності до Доброї Клінічної Практики та Гельсінської декларації.

Досліджувані продукти: (Склад у мг див. табл.1)

Тестовий продукт (А): Назальний спрей мекобаламіну 500 мкг/0,1 мл

Тестовий продукт (В): Назальний спрей мекобаламіну 500 мкг/0,1 мл

Тестовий продукт (С): Назальний спрей мекобаламіну 500 мкг/ 0,1 мл

Попередня оцінка: піддослідних проаналізували за демографічними даними, історією хвороб, фізичним оглядом, результатами 12-каанльної ЕКГ, гемограми, аналізів біохімії, серології, клінічним аналізом сечі та аналізом сечі на наявність ліків.

Введення лікарського засобу:

Піддослідні приймали ліки (назальний спрей мекобаламіну) перехресно згідно із схемою рандомізації композицій з інтервалами вимивання між прийомами принаймні 7 днів.

Після 10-годинного голодування з вечора піддослідним вводили заплановану дозу тестової композиції (А), або тестової композиції (В), або тестової композиції (С) назальним шляхом під наглядом медичного персоналу.

Активізація назального спрею:

Перед введенням першої дози насос активували. Для цього насос вміщували між вказівним та середнім пальцями, а великий палець упирався у дно флакона. Ємність накачували сильно та швидко до появи першого струменя. Насос активують ще двічі, після чого спрей ставав придатним до вживання.

Процедура введення:

Піддослідних просили трохи схилити голову назад, щоб полегшити введення назального спрею. Після того спрей тричі впорскували глибоко до ніздрів. Піддослідних просили дві хвилини після того сидіти нерухомо, щоб спрей не витік назовні.

Спостереження за піддослідними протягом дослідження: Фізичний огляд, контроль життєво важливих показників та самопочуття здійснювали через 0,00 годин (до введення дози), 2,00. 5,00. 12,00. 24,00 та 36,00 годин (після введення дози) ± 30 хвилин, а також за потребою.

Оцінка після дослідження: 12-канальну ЕКГ, гемограму, біохімію та аналіз сечі виконували після останнього аналізу крові у періоді III або у разі припинення або скасування подальшої участі у дослідженні.

Знаходження у клініці: Від приблизно 12 годин до введення лікарського засобу до 36 годин після введення.

Харчування: Піддослідні одержували стандартну їжу через 4,00. 8,00. 12,00. 25, 29 та 33 годин після введення дози у кожному періоді дослідження.

Відбір проб:

Загальна кількість взятих проб крові: 20 (двадцять) у кожному періоді.

Інтервали взяття проб: 10,00. 06,00. 0,00 годин (до введення, для точки відліку), 0,50. 0,75. 1,00. 1,25. 1,50. 1,75. 2,00. 2,50. 3,00. 4,00. 5,00. 6,00. 8,00. 12,00. 18,00. 24,00 та 36,00 годин (після введення). Проби крові вміщували до вакуум контейнерів бурштинового кольору, вкритих алюмінієвою фольгою.

Сумарна втрата крові: Проби крові брали по 5,0 мл, перед кожним забиранням викидали 0,1 мл, у сумі це становить 306 мл. Загалом у кожного піддослідного протягом усіх періодів відібрали приблизно 326 мл крові (у тому числі 20 мл для клінічного лабораторного аналізу перед дослідженням та після).

Оброблення проб: Пробам крові давали згорнутися 1 годину при кімнатній температурі, після чого центрифугували 10 хвилин при 4000 \pm 300 об./хв. Відокремлювали сироватку і швидко переводили її до двох флаконів з поліпропіленовим ковпачками бурштинового кольору відповідного розміру, попередньо помічених кодом дослідження та кодом проби. Усі проби зберігали у морозильнику при 20 °C \pm 5 °C.

Фармакокінетичні параметри:

Основні параметри: Стах, AUCOt, AUCOinf. Додаткові параметри: 11/2, ke, Tmax Методика аналізу:

Концентрацію мекобаламіну у сироватці вимірювали аналітичним методом, попередньо перевіреною на достовірність.

Статистична оцінка

Виконували дисперсійний аналіз двох однобічних випробувань для порівняння та аналізу співвідношень для нетрансформованих і логарифмічно трансформованих фармакокінетичних параметрів C max, AUCOt, AUCOinf. Оскільки всі параметри давали подібні висновки, в результатах для композицій, наведених у прикладах, визначалася AUCOt (пг.год./мл), найбільш релевантний параметр для терапевтичної ефективності.

Це дослідження виконувалося для дози 1500 мкг метилкобаламіну, а статистичний аналіз проводився для дози 1500 мкг і для скоригованої дози 500 мкг. Крива середньої концентрації у плазмі у часі для дози 1500 мкг наведена на Фіг. 1, а крива середньої концентрації у плазмі у часі для скоригованих даних до одиничної дози 500 мкг наведена на Фіг. 2. Середні площі під кривою (AUCOt) для доз тестових композицій 1500 мкг і 500 мкг вказані у табл.2.

Результати: AUCOt (пг.год./мл) для дози мекобаламіну 1500 мкг та скоригованої дози 500 мкг з поправкою на точку відліку представлені нижче.

Таблиця 3

Тест	AUCOt (пг.год./мл) (для дози 1500 мкг)	AUCOt (пг.год./мл) (для дози, скоригованої до 500 мкг)
Тест А	8374,328	2791,44
Тест В	5120,904	1702,18
Тест С	4044,998	1348,33

Результати досліджень біодоступності для всіх трьох композицій свідчать, що максимальне трансназальне доставляння метилкобаламіну має місце у тесті А. Треба зазначити, що доступність метилкобаламіну різко зростає при підвищенні рН від 3,75 до 6,25. Графіки для дози 1500 мкг та для дози, скоригованої до 500 мкг, представлені на Фіг. 1 та Фіг. 2.

Несподівано виявилось, що інтервал рН для успішної абсорбції метилкобаламіну становить 5,7, краще від 5,5 до 7, а найвище значення абсорбції має місце при рН 6,25. Можна зазначити, що значення рН вище 7 не є кращими, бо високий рН сприяє зростанню патогенних бактерій у носовій порожнині.

Також несподівано встановлено, що додання поліпшувачів проникнення на зразок солей жовчної кислоти, вітаміну ЕТПГС (дальфатокоферилполіетиленглікольОООсукцинату) або алкілмальтозидів (додецилмальтозидів, тридецилмальтозидів або тетрадецилмальтозидів) або будької їх комбінації суттєво впливає на абсорбцію та біодоступність метилкобаламіну при назальному введенні композиції.

Відповідно композицію метилкобаламіну без поліпшувача проникнення (тест D) порівняли з композицією метилкобаламіну з вмістом 2 % поліпшувача проникнення (тест Е) для оцінки впливу поліпшувача проникнення на абсорбцію метилкобаламіну у носовій порожнині. рН цих композицій коригують до 6,25±0,25. Склад цих тестових композицій наведений у таблиці нижче. Див. також Фіг. 3 та Фіг. 4.

Таблиця 4

Компоненти	Тест D	Тест E
Метилкобаламін	500 мкг	500 мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг	0,02 мг
Гліцерин	2,23 мг	2,23 мг
Глікофурол	1,00мг	1,00мг
Глікохолат		2,00 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас/об.)	решта	Решта
Вода	решта до 0,1	решта до 0,1
рН скориговано до	6,23	6,28

Таблиця 5

Тест	Вимірюваний компонент	AUC _{0t} (пг.год./мл) (скориговано за точкою відліку)
Тест D	Метилкобаламін	22323,09
	Загальний B12	18651,79
Тест E	Метилкобаламін	897877,47
	Загальний B12	37399,75

Ці результати несподівано доводять, що засвоєння метилкобаламіну у носовій порожнині помітно збільшується у присутності невеликої кількості поліпшувача проникнення. Це також підтверджують результати дослідження концентрацій загального вітаміну B12 у плазмі. Оскільки високі концентрації глікохолату натрію спричиняють подразнення носової порожнини, бажано, щоб вони не перевищували 2,5 % мас./об. композиції.

Приготували та оцінили композиції, подібні до тесту E, зі змінюваними концентраціями глікохолату натрію, а саме 2 % мас/об., 1,5 % мас/об., та 1 об./мас, для абсорбції метилкобаламіну у носовій порожнині шляхом трьох методів випробування біодоступності. Результати випробування, що вказують рівні загального вітаміну B12, наведені нижче.

Таблиця 6

Тест	Вимірюваний компонент	AUC _{0t} (пг.год./мл) (скориговано за точкою відліку)
Композиція ту натрію з 2 % глікохола	Загальний B12	43446,58
Композиція лату натрію з 1,5 % глікохо	Загальний B12	27748,35
Композиція ту натрію з 1 % глікохола	Загальний B12	208134,59

Результати цього випробування, наведені також на Фіг. 5, чітко показують, що при включенні 1 % мас/об. глікохолату натрію абсорбція метилкобаламіну вище, ніж з 2 % мас./об. глікохолату натрію. Інакше кажучи, при зменшенні вмісту поліпшувача проникнення з 2 до 1 % мас./об. абсорбція зростає. Відповідно, зменшення вмісту поліпшувача проникнення приводить до кращої абсорбції.

У наступній серії експериментів оцінюють роль поліпшувача проникнення, зокрема, глікохолату натрію, у композиціях, що містять ціанокобаламін або гідроксикобаламін.

Виконували випробування біоеквівалентності трьома методами для оцінки дії глікохолату натрію на абсорбцію ціанокобаламіну в носовій порожнині, а також для порівняння рівнів метилкобаламіну, створюваних відповідними композиціями. Випробуванню біоеквівалентності піддали композиції ціанокобаламіну, одержані з включенням глікохолату натрію у відповідності до цього винаходу (тест G), існуюча на ринку інтраназальна композиція спрею ціанокобаламіну (NascobalUSA) та композиція метилкобаламіну згідно з цим винаходом (тест F). Склад тестових композицій F та G наводиться нижче у таблиці.

Таблиця 7

Компоненти	Тест F	Тест G
Метилкобаламін	500	—
Ціанокобаламін	—	500
Бензалконійхлорид	0,02 мг	0,02 мг
Гліцерин	2,23 мг	2,23 мг
Глікофурол	1,00мг	1,00мг
Глікохолат натрію	1,00 мг	1,00мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас/об.)	решта	решта
Вода	решта до 0,1 мл	решта до 0,1 мл

Вимірювали концентрацію метилкобаламіну у плазмі, а також загального вітаміну B12 з метою визначення ефективності введення метилкобаламіну у порів

5 нянні з ціанокобаламіном для інтраназальних композицій. Назальний спрей Nascobal® це розчин ціанокобаламіну у формі спрею для нанесення на слизову носа. Кожний флакон спрею Nascobal містить 2,3 мл розчину 500 мкг/0,1 мл ціанокобаламіну з цитратом натрію, лимонною
10 кислотою, гліцерином та бензалконійхлоридом в очищеній воді. Виконали хімічний аналіз готової композиції ціанокобаламіну (Nascobal), після чого приготували тестові композиції F та G згідно з винаходом, що включають еквівалентні кількості метилкобаламіну та ціанокобаламіну для точного порівняння біодоступності обох композицій. рН Nascobal, як встановлено, дорівнює 5, й відповідно рН композиції ціанокобаламіну згідно з винаходом (тест G) відкоригували до приблизно 4,96. Результати дослідження біоеквівалентності наведені нижче, а також на Фіг. 6 та Фіг. 7. рН композиції метилкобаламіну відкоригували до 6,25±0,25.

Таблиця 8

Тест	Вимірюваний компонент	AUC _{0t} (пг.год./мл) (скориговано за точкою відліку)
Тест F	Метилкобаламін	43376,84
	Загальний B12	47913,54
Тест G	Метилкобаламін	-3314,79
	Загальний B12	67567,87
Nascobal	Метилкобаламін	461,5
	Загальний B12	30022,68

15 Цілком несподівано виявилось, що композиція ціанокобаламіну з вмістом глікохолату натрію, одержана у відповідності до цього винаходу, більш ніж подвоює біодоступність загального вітаміну B12 у порівнянні з відомим спреєм ціанокобаламіну (Nascobal). Більш того, рівень загального вітаміну B12 у композиції з метил кобаламіном вищий, ніж у Nascobal.

Також встановлено, що композиція метилкобаламіну згідно з винаходом (тест F) дає значно
20 більший рівень метилкобаламіну у порівнянні з двома іншими композиціями ціанокобаламіну. Треба зазначити, що лише композиція метилкобаламіну за винаходом забезпечує високі рівні метилкобаламіну, який є активним коферментом вітаміну B12.

Ці результати беззаперечно підтверджують, що інтраназальна композиція, яка містить
25 ціанокобаламін з принаймні одним поліпшувачем проникнення, можливо, також консервантом, хелатуючим агентом, зволожувачем або їх комбінацією з рН від біля 4,15 до біля 6 і в'язкістю біля 1200 спз забезпечує значне збільшення системного доставляння лікарської речовини, а відтак більшу ефективність лікування без шкоди відчуттям хворого або стабільності композиції.

Далі винахід ілюструється прикладами, які не носять обмежувального характеру.

Приклад 1

Компоненти	Кількість
Метилкобаламін	500 мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг
Гліцерин	2,23 мг
Глікофуrol	1,00 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас./об.)	решта
Очищена вода	решта до 0,1 мл

рН композиції коригують до 6,25 ± 0,5, а її в'язкість становить 1,28 спз.

Приклад 2

Компоненти	Кількість
Метилкобаламін	500мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг
Гліцерин	2,23 мг
Глікофуrol	1,00 мг
Глікохолат натрію	2,00 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас./об.)	решта
Очищена вода	решта до 0,1 мл
pH скориговано до	6,28

pH композиції коригують до $6,25 \pm 0,5$, а її в'язкість становить 2,3 спз.

Приклад 3

Компоненти	Кількість
Метилкобаламін	500мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг
Гліцерин	2,23 мг
Глікофуrol	1,00 мг
Глікохолат натрію	1,00 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас./об.)	решта
Вода	решта до 0,1 мл

pH композиції коригують до $6,25 \pm 0,5$, а її в'язкість становить 1,57 спз.

Приклад 4

Компоненти	Кількість
Метилкобаламін	500 мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг
Гліцерин	2,23 мг
Глікофуrol	1,00 мг
Глікохолат натрію	1,50 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас./об.)	решта
Вода	решта до 0,1 мл

pH композиції коригують до $6,25 \pm 0,5$, а її в'язкість становить 2,0 спз.

Приклад 5

Компоненти	Кількість
Метилкобаламін	500 мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг
Гліцерин	2,23 мг
Глікофуrol	1,00 мг
Глікохолат натрію	0,50 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас./об.)	решта
Вода	решта до 0,1 мл

pH композиції коригують до $6,25 \pm 0,5$, а її в'язкість становить 1,43 спз.

Приклад 6

Компоненти	Кількість
Метилкобаламін	500 мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг
Гліцерин	5 мг
Глікофуrol	30 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас./об.)	решта
Вода	решта до 0,1 мл

pH композиції коригують до $6,25 \pm 0,5$, а її в'язкість становить 8 спз.

Приклад 7

Компоненти	Кількість
Ціанокобаламін	500 мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг
Гліцерин	2,23 мг
Глікофуrol	1,00 мг
Глікохолат натрію	1,00 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % об.)	решта
Вода	решта до 0,1 мл

pH композиції коригують до $4,5 \pm 0,5$, як у відомій композиції ціанокобаламіну, а її в'язкість становить 1,6 спз.

Приклад 8

Компоненти	Кількість
Метилкобаламін	500 мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг
Гліцерин	2,23 мг
Глікофуrol	1,00 мг
Carbopol 934P	0,30 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг
Розчин NaOH (1 % мас./мас.)	решта
Вода	решта до 0,1 мл

pH композиції коригують до $6,25 \pm 0,5$, а її в'язкість становить 10 спз.

Приклад 9

Компоненти	Кількість
Метилкобаламін	500 мкг
Гліцерин	5 мг
Пропиленгліколь	10 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас./об.)	решта
Вода	решта до 0,1 мл

pH композиції коригують до $6,25 \pm 0,5$, а її в'язкість знаходиться у межах згідно з цим винаходом.

Приклад 10

Компоненти	Кількість
Метилкобаламін	500 мкг
Бензалконійхлорид	0,02 мг
Гліцерин	5 мг
Полетиленгліколь	15 мг
Цитрат натрію дигідрат	0,32 мг
Лимонна кислота безводна (5 % мас./об.)	решта
Вода	решта до 0,1 мл

pH композиції коригують до $6,25 \pm 0,5$, а її в'язкість знаходиться у межах згідно з цим винаходом.

- 5 Можна приготувати композиції зі значно вищою в'язкістю, якщо збільшити вміст карбополу, поліетиленгліколю.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

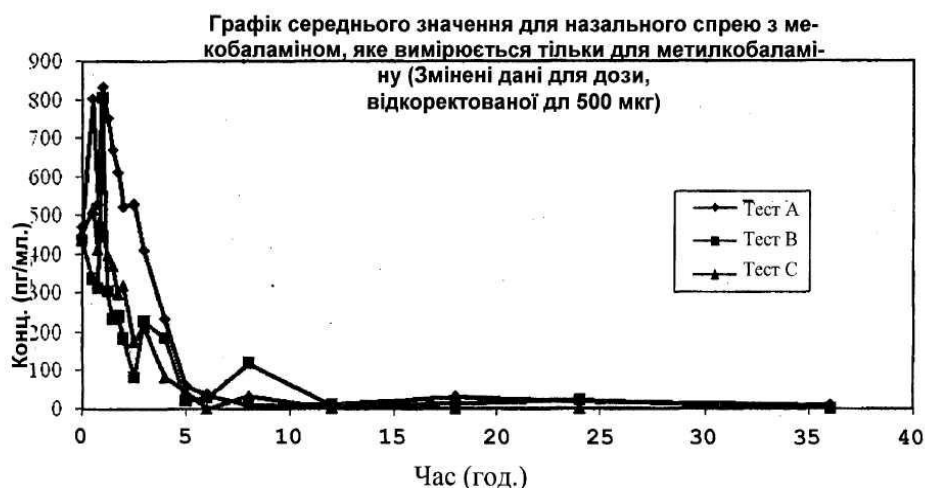
- 10 1. Стабільна інтраназальна водна композиція, яка містить метилкобаламін у концентрації від 500 мкг/0,1 мл до 1500 мкг/0,1 мл, співрозчинники/солюбілізатори або їх суміші у воді, причому співрозчинники/солюбілізатори вибираються з глікофуrolу, пропиленгліколю, поліетиленгліколю або їх сумішей, pH композиції становить від 6 до 6,5, а в'язкість при температурі 25 °C - від 1 до 200 спз (мПа·с).

2. Стабільна інтраназальна водна композиція за п. 1, у якій вміст співрозчинників/солюбілізаторів знаходиться у межах від 1 до 35 % (мас./об.).
3. Стабільна інтраназальна водна композиція за п. 1 або 2, яка додатково містить поліпшувач проникнення.
- 5 4. Стабільна інтраназальна водна композиція за п. 3, в якій вміст поліпшувача проникнення становить до 2,5 % (мас./об.) композиції.
5. Стабільна інтраназальна водна композиція, яка містить ціанокобаламін у концентрації від 500 мкг/0,1 мл до 1500 мкг/0,1 мл, співрозчинники/солюбілізатори або їх суміші у воді, та поліпшувач проникнення, причому співрозчинники/солюбілізатори вибираються з глікофуролу,
- 10 пропіленгліколю, поліетилен-гліколів або їх сумішей, поліпшувач проникнення вибирається з солей жовчної кислоти, таких як глікохолат натрію, рН композиції становить від 4 до 6, а в'язкість при температурі 25 °С - від 1 до 200 спз (мПа·с).
6. Стабільна інтраназальна водна композиція за п. 5, у якій вміст співрозчинників/солюбілізаторів знаходиться у межах від 1 до 35 % (мас./об.).
- 15 7. Стабільна інтраназальна водна композиція за п. 5 або 6, у якій вміст поліпшувача проникнення становить до 2,5 % (мас./об.) композиції.

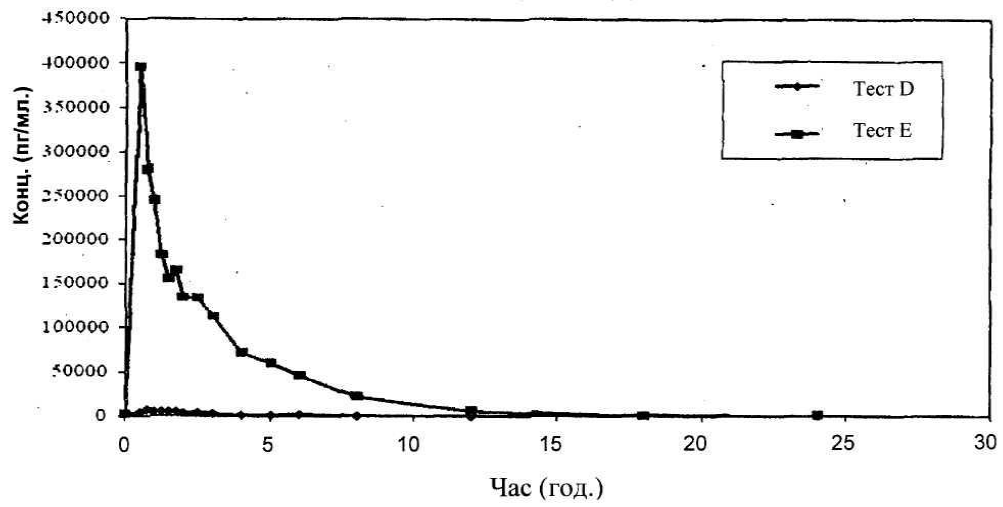
Фіг.1 Середня концентрація мекобаламіну (пг/мл) у часі для дози 1500 мкг



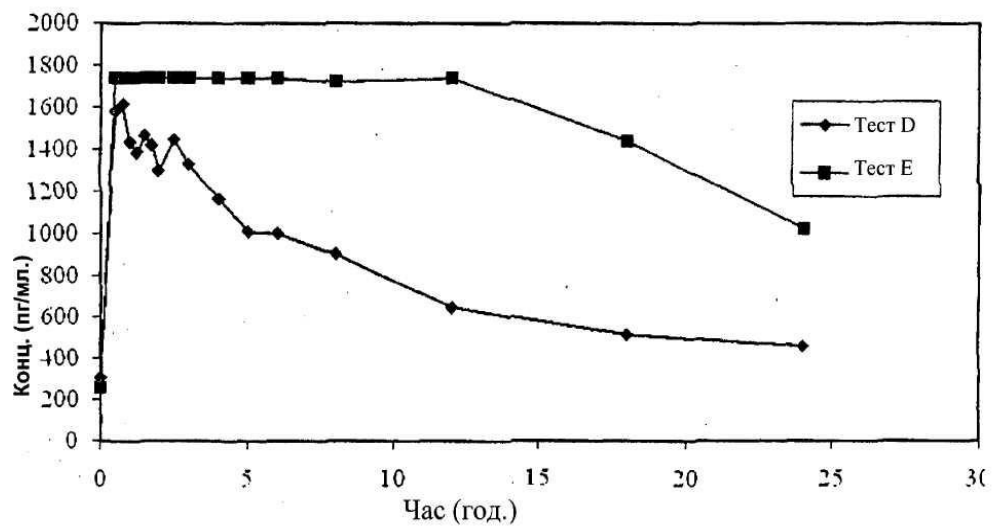
Фіг. 2. Залежність середньої концентрації мекобаламіну (пг/мл) від часу для дози, скоректованої до 500 мкг



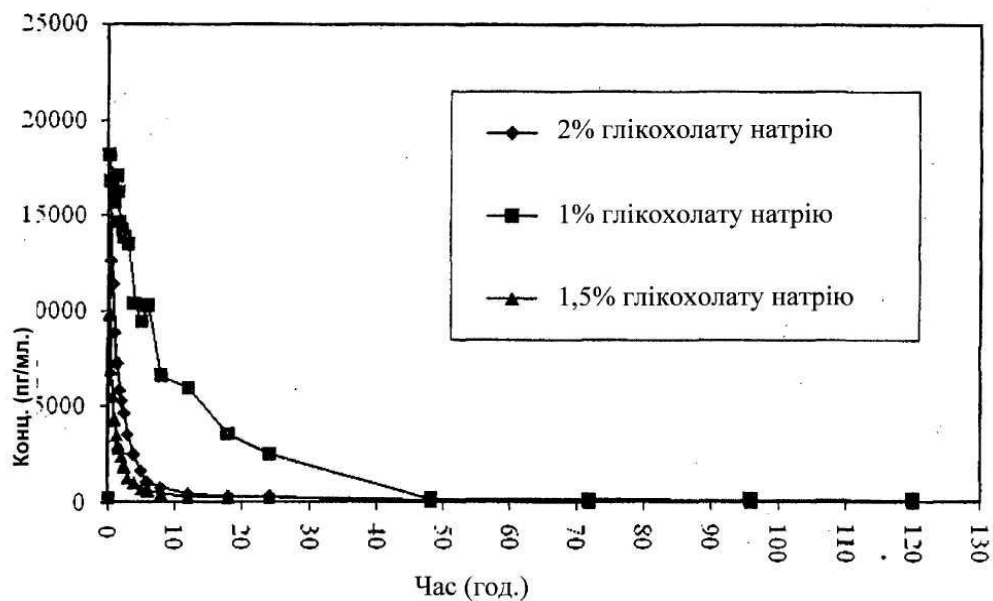
Фіг. 3. Графік середнього значення назального спрею з мекобаламіном, яке вимірюється для метилкобаламіну



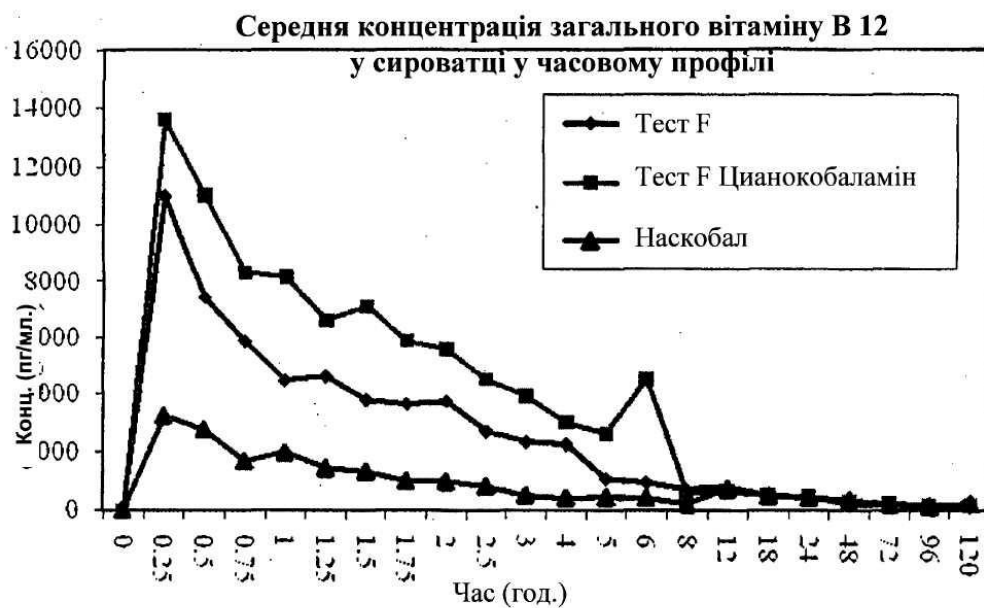
Фіг. 4. Графік середнього значення для назального спрею з мекобаламіном, яке вимірюється для загального B12



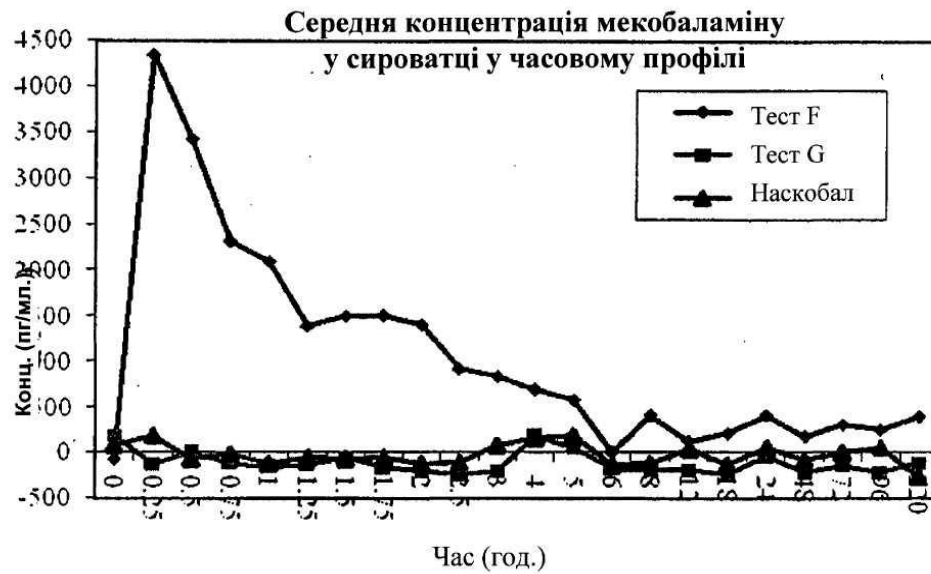
Фіг. 5. Графік середнього значення назального спрею з мекобаламіном, яке вимірюється для загального B12



Фіг. 6. Графік середнього значення назального спрею з мекобаламіном, яке вимірюється для загального вітаміну B12



Фіг. 7. Графік середнього значення для назального спрею з мекобаламіном, виміряне для метилкобаламіну



Комп'ютерна верстка О. Рябко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601