



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 104204

(13) C2

(51) МПК

A61K 31/606 (2006.01)

A61K 33/30 (2006.01)

A61P 31/06 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2012 02544	(72) Винахідник(и):	Мохіре́ва Лю́дмила Ві́кентієвна (RU), Єро́хін Владі́слав Все́олодові́ч (RU), Роба́кідзе́ Татя́на Ні́колаєвна (RU), Ємша́нова Свє́тлана Ві́талієвна (RU), Мохі́рев Але́ксей Вла́дімірович (RU)
(22) Дата подання заявки:	15.03.2010	(73) Власник(и):	ОТКРИТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО "ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОМБИНАТ "АКРИХИ", ул. Кирова, 29, г. Старая Купавна, Ногинский район, Московская обл., 142450, Российская Федерация (RU)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.01.2014	(74) Представник:	Громов Михаил Юрьевич
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	2009130212	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	UA 66208 A, 15.04.2004 RU 2 248 797 C1, 27.03.2005 RU 2 295 330 C2, 20.03.2007 RU 2 253 460 C1, 10.06.2005
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	07.08.2009		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	RU		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.05.2012, Бюл.№ 10		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.01.2014, Бюл.№ 1		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/RU2010/000110, 15.03.2010		

(54) КОМБІНОВАНА ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНА КОМПОЗИЦІЯ

(57) Реферат:

Винахід належить до медицини і стосується комбінованого лікарського засобу, що має протитуберкульозну активність, виконаного у вигляді твердої лікарської форми, яка містить як діючу основу комбінацію ПАСК і сульфат цинку і фармацевтично прийнятні допоміжні речовини. Заявлена композиція характеризується високою ефективністю.

UA 104204 C2

Винахід належить до галузі медицини, конкретно до комбінованих протитуберкульозних препаратів, і може бути використаний для лікування різноманітних форм туберкульозу.

Попередній рівень техніки

Незважаючи на значні успіхи в багатьох галузях медицини, в тому числі і в лікуванні туберкульозу, рівень захворюваності на туберкульоз залишається вкрай високим. Основною проблемою зниження ефективності лікування хворих на туберкульоз залишається швидкий розвиток лікарсько-стійких форм туберкульозу, обмеженість арсеналу протитуберкульозних препаратів, зниження імунного статусу хворих на туберкульоз.

За даними офіційної статистики в Росії, на даний час показник клінічного виліковування вперше виявлених хворих на туберкульоз залишається на досить низькому рівні (Шилова М.В. Туберкульоз в Росії в 2008 р. МВ. Шилова - Москва, 2008.).

Лікування хворого на туберкульоз обов'язково має бути комплексним і суворо індивідуальним, на основі принципів доказової медицини, і має проводитися тривалий час до отримання максимально позитивного результату, у тому числі до повного клінічного виліковування, якщо мова йде про групу вперше виявлених хворих (Мішин В.Ю. Лікування хворих на туберкульоз легенів // Навчально-методичний посібник для лікарів. - М: МГМСУ.-2006. -120 с.).

Індивідуальний набір методів лікування для кожного хворого обирає лікар, що лікує, і це передбачає: визначення організаційної форми лікування (стаціонарне, санаторне, амбулаторне), вибір комбінації протитуберкульозних препаратів і визначення режиму хіміотерапії з урахуванням регіональної та індивідуальної лікарської чутливості МБТ, вибір патогенетичних методів, спрямованих на нормалізацію порушених функцій організму, зменшення ступеню запальної реакції, усунення обмінних та імунних порушень, а також засобів стимулюючої терапії (Манічева О.А., Скворцова Л.А., Павлова М.В., Сапожникова Н.В., Арчакова Л.І., Вишневський Б.І. Бактеріостатична активність крові у хворих на туберкульоз органів дихання. // Мат. VIII Рос. З'їзду фтизіатрів. -М.-2007. - С 124. Мішин В.Ю. Оптимізація лікування вперше виявлених хворих на туберкульоз легенів на основі принципів доказової медицини // CONSILIUM medicum-2008 / - № 3. - С. 20-25.).

Хіміотерапія туберкульозу - це етиотропна (специфічна) терапія хворих із застосуванням оптимальної комбінації протитуберкульозних препаратів (далі ПТП), яка спрямована на знищення мікобактеріальної популяції (бактерицидний ефект), або на придушення її розмноження (бактеріостатичний ефект) (Хоменко А. Г. Хіміотерапія туберкульозу легенів. - М. - 1980. - 279 с.).

Лише при знищенні МБТ або придушенні їх розмноження можливий запуск адаптаційних механізмів, спрямованих на ліквідацію клінічних проявів захворювання, розсмоктування запальних змін в легенях, активацію репаративних процесів, відновлення зруйнованих морфологічних структур і відновлення функціональних порушень органів і систем в організмі хворого, тобто на створення умов для повного клінічного виліковування (Мішин В.Ю. Оптимізація лікування вперше виявлених хворих на туберкульоз легенів на основі принципів доказової медицини // CONSILIUM medicum-2008 / - № 3. - С. 20-25).

У РФ згідно з Наказом МОЗ РФ № 109 від 21 березня 2003 р. для лікування вперше виявлених хворих на туберкульоз використовуються протитуберкульозні препарати, які поділяють на основні та резервні. Основні препарати: ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол, стрептоміцин. Резервні препарати: протіонамід (етіонамід), канаміцин, амікацин, капреоміцин, циклосерин, рифабутин, ПАСК, фторхінолони.

Протитуберкульозні препарати основного ряду є більш ефективними, мають високу бактерицидну активність відносно мікобактерії туберкульозу (далі МБТ). Однак при їх тривалому застосуванні, яке необхідне для лікування туберкульозу, протягом декількох місяців розвивається стійкість МБТ. Для лікування лікарсько-стійких форм туберкульозу використовують резервні протитуберкульозні препарати.

п-Аміносалицилова кислота і її натрієва сіль (далі ПАСК) має бактериостатичну активність відносно МБТ і належить до резервних протитуберкульозних препаратів. За туберкулостатичною активністю ПАСК поступається ізоніазиду та іншим протитуберкульозним препаратам основного ряду, проте вона діє на мікобактерії, стійкі до вище названих препаратів. (Машковський М.Д., Лікарські засоби. - М.: Медицина, 1993, т.2, с. 366-367, 372).

Найбільш зручною формою ПАСК для лікування хворих на туберкульоз слід визнати таблетки.

У патенті США 2676902, 1954 р. заявлено композитний продукт для лікування туберкульозу, який містить ПАСК або її нетоксичну сіль і адьювант-п-(ді-н-пропілсульфаміл)бензойну кислоту.

Винахід вирішує тільки проблему зниження побічних ефектів від прийому великих кількостей ПАСК, які необхідні для лікування туберкульозу.

З метою попередження розвитку мікобактерій, стійких до лікарських засобів, в терапії туберкульозу пішли двома шляхами: створення комбінованих лікарських форм з фіксованими дозами протитуберкульозних препаратів, куди входять препарати різних груп, або ж хворому дається одночасно комбінація протитуберкульозних препаратів різних класів.

Дослідники запропонували ряд інших підходів для підвищення ефективності результату лікування, включаючи різні методи імунотерапії та імунотерапії. У ході досліджень було встановлено, що призначення препаратів, що містять цинк, хворим на туберкульоз легенів призводить до прискореної негатиції мокротиння і покращує рентгенологічні показники (Karyadi E, Mest CT, Schultnick M, et al. / A double blind, placebo-controlled study of vitamin A and zinc supplementation in persons with tuberculosis in Indonesia: effects on clinical response and nutritional status. Am J Clin Nutr. 2002; 75:720-727).

У патенті Російської Федерації № 2253460, 2005 р. заявлено спосіб лікування туберкульозу легенів, що включає хіміотерапію комбінаціями протитуберкульозних препаратів на основі ізоніазиду, або ізоніазиду і рифампіцину, який відрізняється тим, що додатково призначають сульфат цинку в добовій дозі 2,30-3,5 мг/кг дво-триразовим прийомом всередину курсом 21-28 днів, що дозволило скоротити тривалість хіміотерапії за рахунок вираженої антиапоптотичної дії на Т-лімфоцити.

У патенті РФ № 2182483 пропонується комбінований протитуберкульозний засіб, що містить ізоніазид і піразинамід, або етамбутолу гідрохлорид. Проте наявність в його складі тільки двох діючих компонентів не знімає повністю вищевказаних недоліків сполученої терапії і вимагає призначення додатково інших протитуберкульозних препаратів.

З метою зниження розвитку лікарської стійкості мікобактерій туберкульозу були запропоновані багатокомпонентні протитуберкульозні препарати, що містять три і більше діючі речовини. Наприклад, в патенті США № 5104875, 1992 р. описано фармацевтичний комбінований препарат, що містить рифампіцин, тіацетазон і, необов'язково, ізоніазид або етамбутол.

У патенті РФ № 2195937, 2003 р. пропонується комбінований протитуберкульозний препарат, що в якості діючої основи містить комбінацію ізоніазиду, рифампіцину, піразинамиду, етамбутолу та піридоксину, а в якості допоміжної речовини - метоцел-метилові ефіри целюлози, що містять 14-30 % метоксильних груп.

Відомим препаратам-аналогам притаманний ряд недоліків. Під час курсового застосування описаних вище препаратів спостерігається виражена токсична дія і виникнення побічних ефектів. Крім того, у відомих комбінованих лікарських складах взаємний вплив інгредієнтів призводить до істотного зниження біодоступності діючої основи, що погіршує протитуберкульозну ефективність і служить причиною повернення захворювання та розвитку вторинної резистентності до лікарських засобів.

Таким чином, важливим аспектом у підборі складових інгредієнтів діючої основи комбінованих протитуберкульозних препаратів є врахування їх взаємодії та поєднуваності в процесі виготовлення та зберігання.

Розкриття винаходу

Завданням даного винаходу є створення нового протитуберкульозного засобу з високою антибактеріальною активністю у відношенні до лікарсько-стійких мікобактерій туберкульозу, токсична побічна дія якого зведена до мінімуму, що дозволить розширити асортимент протитуберкульозних препаратів.

Поставлене завдання вирішується тим, що запропонований протитуберкульозний засіб містить терапевтично ефективну кількість діючої основи, в якості якої містить комбінацію ПАСК і цинковмісної сполуки, і фармацевтично прийнятні допоміжні речовини.

Згідно винаходу, в якості діючої основи лікарський склад включає комбінацію ПАСК і цинковмісної сполуки. Запропоноване поєднання діючих інгредієнтів є новим для комбінованих протитуберкульозних препаратів, і визначене дослідним шляхом.

У межах даного винаходу ПАСК означає п-аміносаліцилову кислоту або її сіль, переважно натрієву сіль, яка має інші назви - пара-аміносаліцилат натрію або аміносаліцилат натрію. В якості цинковмісної сполуки переважно застосовуються солі цинку, найоптимальніше - сульфат цинку.

Оптимальна кількість ПАСК і цинковмісної сполуки (в перерахунку на елементарний цинк) становить, мас. ч.

ПАСК-500-2000

Цинковмісна сполука (у перерахунку на елементарний цинк) - 0,75-3,0.

Коли в ролі цинковмісної сполуки застосовують сульфат цинку, то його оптимальна кількість становить:

3,3-13,2 мас. ч., якщо сульфат цинку вводять до композиції у вигляді гептагідрату, або 2,0-8,25 мас. ч, якщо сульфат цинку вводять до композиції у вигляді моногідрату. Найбільш оптимально застосовувати сульфат цинку у кількості, еквівалентній 1,5 мас. ч. елементарного цинку на 1000 мас. ч. ПАСК.

Застосування заявленої комбінації діючих інгредієнтів забезпечує синергетичний ефект, що полягає у значному підвищенні антимікробної активності по відношенню до лікарсько-стійких мікобактерій туберкульозу, а включення до складу цинку сульфату дає можливість застосовувати новий засіб для терапії лікарсько-стійких форм туберкульозу, ускладнених деструкцією легеневої тканини.

Біологічні дослідження *in vitro* та *in vivo* показали, що заявлений склад має високу протитуберкульозну активність, при цьому він діє також і на лікарсько-стійкі штами мікобактерій туберкульозу.

Дослідження (*in vitro*) дозволили вивчити мікробіологічними методами бактеріостатичну та бактерицидну активність нового комплексного протитуберкульозного засобу (далі - ПАСК ЦИНК) відносно мікобактерій туберкульозу (МБТ) лабораторного штаму H37Rv, MET MDR-штамів і МБТ XDR-штамів. Визначення антимікобактеріальної дії препарату проводилося відповідно до "Посібника з експериментального (доклінічного) вивчення нових фармацевтичних речовин" с. 287-292, 2000 р.

В якості біотестів у роботі використовували лабораторний штам *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv та клінічні (дикі) штами, виділені з діагностичного матеріалу хворих на туберкульоз легенів, які перебувають на лікуванні в стаціонарі ГУ ЦНДІТ РАМН. Клінічні штами охарактеризовані відносно ПТП як стійкі і позначені як MDR-штам-1 і MDR-штам-2, а також XDR-штам-1 і XDR-штам-2.

MDR-штам-1 стійкий до S, H, R і чутливий до E, Kn, Z, OfI, Et, Cs, Cp, Pas. MDR-штам-2 стійкий до S, H, R, E, Z і чутливий до Kn, OfI, Et, Cs, Cp, Pas. XDR-штам-1 стійкий до S, H, R, E, Kn, Z, OfI і чутливий до Et, Cs, Cp, Pas. XDR-штам-2 стійкий до S, H, R, E, Kn, Z, OfI, Et і чутливий до Cs, Cp, Pas.

Відповідно до плану роботи, культуру обраних штамів мікобактерій туберкульозу вирощували протягом 21 дня на щільному поживному середовищі Левенштейна-Йенсена (міжнародний стандарт). З культури, яка виросла, готували суспензію мікобактерій, яка відповідає V стандарту оптичної щільності (5×10^8 млн. мікробних тіл в 1 мл). Готову суспензію засівали по 0,2 мл в пробірки з 2 мл рідкого поживного середовища Школьникової, яка містить досліджувані сполуки у відповідних концентраціях - від 500,0 до 0,39 мкг/мл (12 розведень). Необхідна концентрація препаратів у пробірках досягалась методом серійних розведень.

Після 14 діб інкубації у рідкому середовищі при 37 °C пробірки центрифугували протягом 15' при 3000 об./хв., надосадову рідину зливали, а осад суспендували в 0,8 мл стерильного 0,9 % NaCl та засівали по 0,2 мл у дві пробірки з щільним поживним середовищем Ф-2. Ріст мікобактерій на щільному середовищі фіксували через 21, 42 і 70 днів культивування у термостаті при 37 °C. В якості контролю слугували пробірки з посівом тест-штамів, які не піддавалися впливу досліджуваних препаратів і їх сумішей.

При виявленні росту колоній МБТ на поживному середовищі з культур робили мазки та фарбували їх за методом Циля-Нільсена (світлова мікроскопія). Зазначена процедура проводилась для підтвердження наявності саме мікобактерій туберкульозу, а не сторонньої флори в даному конкретному випадку.

Мінімальна інгібуюча концентрація характеризувалася значним зменшенням числа колоній на щільному поживному середовищі, у порівнянні з контролем. Мінімальна бактерицидна концентрація визначалася як концентрація, що викликає повне придушення росту мікобактерій на щільному поживному середовищі.

Відповідно до плану робіт, перший перегляд та реєстрацію даних у дослідних і контрольних пробірках проводили на 21 день від моменту посіву, а також на 42 і 70 дні відповідно.

Результати порівняльного вивчення бактеріостатичної і бактерицидної активності заявленого комплексного протитуберкульозного засобу відносно мікобактерій туберкульозу резистентних MDR-штамів і XDR-штамів показали на прикладі комбінації ПАСК і сульфату цинку, що нова композиція має високу інгібуючу дію при низькій концентрації - 12,5 мкг/мл. Бактерицидний ефект спостерігається при концентрації в поживному середовищі - 18,7 мкг/мл.

Таким чином, новий комплексний препарат ПАСК ЦИНК відносно мікобактерій туберкульозу клінічних MDR-штамів і XDR-штамів спричиняє високу інгібуючу дію при низькій концентрації -

12,5 мкг/мл. Бактерицидний ефект, найбільш бажаний при створенні нових лікарських засобів, спостерігається при концентрації ПАСК ЦИНК в поживному середовищі - 18,7 мкг/мл.

Експериментальні дослідження *in vitro* проведені з метою вивчення специфічної активності відносно *M. tuberculosis* штаму H37Rv (МБТ) препарату ПАСК ЦИНК на моделі ексудативно-некротичного туберкульозу мишей. Для досягнення поставленої мети були визначені наступні завдання: визначити середню тривалість життя тварин після зараження смертельною дозою МБТ в різних експериментальних групах тварин; вивчити мікробіологічними методом *in vivo* бактерицидну та бактериостатичну активність досліджуваного препарату; морфологічними методами оцінити характер репаративних процесів в паренхіматозних органах у процесі лікування експериментального туберкульозу мишей досліджуваних груп.

Визначення специфічної протитуберкульозної активності у системі *in vivo* проводили на самцях інбредних мишей лінії AKR, отриманих з віварію ГУ ЦНДІТ РАМН. Вага мишей - 22-23 грами. Мишей заражали внутрішньовенним введенням *M. tuberculosis* штаму H37Rv з колекції інституту Пастера (Франція) в латеральну хвостову вену у дозі 5×10^6 КУО/миша.

У препаративних кількостях МБТ були отримані в лабораторії імуногенетики ГУ ЦНДІТ РАМН. Аліквоти (1мл) зберігали при -700°C . Для зараження мишей аліквоти розморожували, переводили в фосфатно-буферний розчин, що містить 0,025 % Твіна 80, і доводили до концентрації 5×10^6 КУО/0,5 мл. Для визначення кількості КУО мікобактерій в отриманій суспензії готували серію послідовних розведень, і 20 мкл кожного розведення розміщували у краплі на чашку Петрі з агаром Дюбо. Чашки культивували при 37°C протягом 14 діб для визначення концентрації МБ в інфікуючому матеріалі.

Всі експериментальні тварини були розділені на такі групи: заражені миші без лікування (контроль) - 10 шт.; заражені миші, які внутрішньошлунково отримують препарат ПАСК-ЦИНК в дозі 200 мг/кг - 10 шт.; заражені миші, які внутрішньошлунково отримують препарат ПАСК-ЦИНК в дозі 1000 мг/кг - 10 шт.; заражені миші, які внутрішньошлунково отримують ПАСК в дозі 1000 мг/кг - 10 шт.

Досліджувані препарати вводили внутрішньошлунково, щоденно (крім вихідних), протягом 2-х місяців, на наступний день після зараження, попередньо розчинивши у воді. Обсяг введеного препарату становив 0,5 мл/миша.

Відповідно до програми дослідження, через два місяці від початку лікування частину експериментальних тварин виводили з експерименту методом цервікальної дислокації для визначення кількості колонієутворюючих одиниць (КУО) *M. tuberculosis* (МБТ) в легенях мишей і гістологічного дослідження тканин легень, печінки і селезінки.

Для визначення кількості мікобактерій (КУО МБТ) в легенях заражених мишей, легень гомогенізували в 2 мл фізіологічного розчину, готували серію 10-кратних розведень початкової суспензії у фізіологічному розчині, і 50 мкл кожного розведення розміщували на чашку Петрі, покриту агаром Дюбо. Чашки Петрі з нанесеними суспензіями клітин легень інкубували протягом 21 дня при 37°C , після чого підраховували кількість колоній на чашці і визначали кількість КУО мікобактерій в легенях за формулою: $N_{\text{лег}} = 2N_1 \times P / 0.1$, де N - кількість колоній в легенях.

Для гістологічного вивчення шматочки легень, селезінки і печінки фіксували 10 % забуферованим формаліном, розташовували в парафіні, готували гістологічні зрізи, які зафарбовували гематоксиліном і еозином.

Основними показниками резистентності тварини до туберкульозу є термін виживаності після інфікування, здатність контролювати розмноження мікобактерій в органах (тобто кількість мікобактерій, що вимірюється в КУО), і ступінь патологічних змін легеневої тканини.

У мишей контрольної групи, що не отримували ніяких препаратів, виживаність після смеральної дози зараження склала $35,7 \pm 0,26$ днів. Миші, що отримували ПАСК в дозі 1000 мг/кг, прожили $62,6 \pm 0,57$ дні; ПАСК ЦИНК в дозі 200 мг/кг - $85,7 \pm 1,7$; ПАСК ЦИНК в дозі 1000 мг/кг - $100,7 \pm 0,33$ днів.

Згідно отриманих даних, кількість висіяних КУО МБТ з легень тварин, які отримували ПАСК в дозі 1000 мг/кг, була у 10 разів вища $(8,3 \pm 0,78) \times 10^8$, ніж у групі тварин, які отримували ПАСК ЦИНК в дозі 200 мг/кг $(9,2 \pm 0,8) \times 10^7$. Відмінності між групами тварин, які отримували ПАСК ЦИНК в дозах 200 і 1000 мг/кг, були незначними $(9,2 \pm 0,8) \times 10^7$ і $(2,0 \pm 0,3) \times 10^7$ відповідно.

При внутрішньовенному введенні МБТ у мишей розвивається ексудативно-некротичний запальний процес, що вражає різні паренхіматозні органи. Контрольні тварини гинуть від генералізованого туберкульозу через 36 днів. До моменту загибелі в легенях, печінці і селезінці спостерігається повнокрів'я, сладж еритроцитів, у кровоносних судинах великого і середнього калібру виявляються юні та зрілі форми поліморфноядерних лейкоцитів (ПЯЛ). Навколо судин формуються клітинні інфільтрати, що складаються з моно- і полінуклеарів; кількість останніх варіюється у різних органах.

Особливо великі пневмонічні фокуси формуються у легенях, де поряд з макрофагами і лімфоцитами відзначаються великі скупчення ПЯЛ. Серед альвеолярних макрофагів переважають ліпофаги, які на гістологічних зрізах мають пінисту цитоплазму через чисельні гранули нейтрального ліпиду. Саме в цих клітинах відзначаються скупчення МБТ. При руйнуванні ліпофагів МБТ потрапляють під внутрішньоальвеолярний простір, де навколо них концентруються ПЯЛ. Тому наявність пінистих клітин (ПК), особливо їх зруйнованих форм, відображає активність специфічного запалення у мишей, яка максимально виражена у нелікованих тварин. У термінальному періоді процесу клітинні інфільтрати займають до 70 % гістологічного зрізу; в їхньому складі відзначаються великі скупчення ПК, тут же концентруються ПЯЛ, що формують зони некрозу.

Пограничні з осередками альвеоли частково або повністю заповнені набряковою рідиною, містять фібрин і фрагменти зруйнованих клітинних елементів. У ділянках паренхіми, яка зберігає повітря, міжальвеолярні перегородки потовщені за рахунок інтерстиціального набряку та інфільтрації моно- і полінуклеарами. Ті самі клітини визначаються у розширених петлях капілярної мережі.

У печінці нелікованих мишей, окрім ексудативної реакції, формування периваскулярних інфільтратів, звертає на себе увагу розвиток дистрофічних змін гепатоцитів, особливо виражений у термінальний період запалення. Клітини печінкових балок мають просвітлену вакуолізовану цитоплазму, часто з ознаками деструкції. У зонах некрозу відзначаються ПЯЛ.

Селезінка контрольних мишей збіднена лімфоцитами, спостерігається проліферація стромальних елементів, формування дифузних мононуклеарних інфільтратів, у складі яких визначаються ПЯЛ.

У мишей, що отримували ПАСК в дозі 1000 мг/кг і ПАСК ЦИНК в дозі 200 мг/кг, морфологічна картина паренхіматозних органів близька і суттєво не відрізняється від контрольних тварин.

У мишей, що отримували ПАСК ЦИНК в дозі 1000 мг/кг, повітряна легенева паренхіма становить не менше 50-55 %, а клітинні інфільтрати - не більше 35-40 % площі гістологічного зрізу. У складі інфільтратів помітно зростає число моноцитів і лімфоїдних елементів різного ступеня зрілості, у той час як частота виявлення ПК та ПЯЛ є істотно нижчою, ніж в інших терапевтичних групах. Зазначені клітинні елементи зберігають структурну цілісність, зони некрозу не виражені. Деструктивні зміни гепатоцитів у мишей групи, яка отримувала ПАСК ЦИНК в дозі 1000 мг/кг, виражені меншою мірою, ніж в інших групах, хоча явища білкової дистрофії зберігаються. У перипортальній зоні відзначаються невеликі клітинні інфільтрати, що містять одиничні ПЯЛ.

У селезінці відзначається проліферація лімфоїдних елементів, структура фолікулів відновлюється. У червоній пульпі багато макрофагальних елементів, в той час як ПЯЛ визначаються відносно рідко.

Таким чином, гістологічне дослідження паренхіматозних органів мишей з моделлю ексудативно-некротичного туберкульозного запалення показало виражений позитивний вплив препарату ПАСК ЦИНК в дозі 1000 мг/кг на динаміку процесів загоєння осередків некрозу, відновлення структурно-функціональних особливостей легенів, печінки і селезінки. Препарат дозволив отримати більш виражене скорочення площі запального процесу, зниження його активності у порівнянні з традиційною формою ПАСК, застосованою у тій самій дозі.

Таким чином, встановлено достовірне збільшення середньої тривалості життя мишей, що отримували терапію препаратом ПАСК ЦИНК, у порівнянні з тими, що отримували препарат ПАСК, що має дозозалежний ефект; також встановлено бактеріостатичну дію препарату ПАСК ЦИНК in vivo у відношенні до M.tuberculosis H37R.V на гострій моделі ексудативно-некротичного туберкульозу, яка перевищує бактеріостатичний ефект препарату ПАСК в 10 разів; показано, що тривале введення препарату ПАСК ЦИНК в дозі 1000 мг/кг активує проліферацію лімфоїдних елементів у селезінці і помітно збільшує частоту виявлення моноцитів і лімфоїдних елементів у легенях, а також встановлено виражений позитивний вплив препарату ПАСК ЦИНК в дозі 1000 мг/кг на відновлення структурно-функціональних особливостей легенів, печінки та селезінки у інфікованих мишей.

Таким чином, на підставі отриманих результатів біологічних досліджень можна зробити висновок про високу терапевтичну ефективність нового препарату і можливість його застосування як протитуберкульозного засобу.

Запропонований лікарський засіб виготовляють у вигляді різних твердих лікарських форм - таблеток, капсул, гранул, порошків. Отримання заявленої комбінованої композиції може бути здійснене у відповідності з відомими прийомами виготовлення твердих лікарських форм, наприклад, методом вологої грануляції з подальшим додаванням до сухих гранул лубриканту,

формуванням вихідної суміші інгредієнтів з утворенням лікарської форми заданої конфігурації і розміру, і, за необхідності, нанесенням оболонки.

Прикладами цинковмісних сполук є солі цинку - сульфат, аспартат, гіалуронат, гліцерат, піколінат, цитрат, ацетат, найоптимальніше - сульфат цинку. В якості допоміжних речовин можуть бути використані речовини, що зазвичай використовуються у фармацевтичній промисловості для виробництва твердих лікарських форм, наприклад, крохмаль, сахарид, і целюлоза та її похідні, желатин, полівінілпіролідон, поліетиленоксид, фосфат кальцію, лубрикант, змочуючий агент, такий як натрійлаурилсульфат, складні ефіри поліоксиетиленсорбітану і жирних кислот (твіни), складні ефіри сорбітану і жирних кислот (спани), оптимально - крохмаль, у тому числі модифікований, лактоза, мікрокристалічна целюлоза, натрієв карбоксиметил-целюлоза, полівінілпіролідон, лубрикант. Прикладами останнього є: стеаринова кислота та/або її солі - стеарат кальцію, стеарат магнію, стеарат цинку, тальк, коллоїдний діоксид кремнію, аеросил, поліетиленгліколь, гідрогенізована рослинна олія, рідкий парафін. Нова композиція може також містити ароматизатори, барвники та/або смакові добавки. Згідно винаходу, сульфат цинку можна вводити в композицію у вигляді гідрату, наприклад гептагідрату або моногідрату, оптимально у вигляді моногідрату. Пара-аміносаліцилат можна вводити в композицію у вигляді дигідрату.

Переважно препарат виготовляють у формі таблетки, яка може мати оболонку. Наявність останньої покращує зовнішній вигляд і органолептичні властивості лікарської форми, захищає її від механічних пошкоджень. Переважно оболонка виготовляється на основі сополімеру метакрилової кислоти з етилакрилатом, або готової суміші марки "Acryl-Eze".

Багато в ролі діючої основи заявленої композиції використовувати комбінацію натрію пара-аміносаліцилату і сульфату цинку. В межах даного винаходу термін сульфат цинку означає як сульфат $ZnSO_4$, так і його гідрати, наприклад гептагідрат або моногідрат.

Оптимальна кількість інгредієнтів діючої основи - пара-аміносаліцилату натрію і сульфату цинку в одиничній дозі становить - для пара-аміносаліцилату натрію від 500 мг до 2 000 мг, оптимальніше 1000 мг, для сульфату цинку (у перерахунку на елементарний цинк) від 0,75 мг до 3,0 мг, оптимальніше 1,5 мг, що відповідає 4,12 мг моногідрату або 6,6 мг гептагідрату.

Отримання заявленої композиції ілюструється наступним прикладом.

Приклад.

Попередньо просіяні порошки натрію пара-аміносаліцилату, сорбітолу, карбоксиметилкрохмалю натрію і частини полівінілпіролідону перемішують до однорідного стану, гранулюють водним розчином решти полівінілпіролідону марки Коллідон, в якому також розчинені лимонна кислота та поліетиленгліколь (ПЕГ 6000), сушать і проводять сухе гранулювання. До розмеленого грануляту додають цинку сульфат у вигляді моногідрату, колоїдний діоксид кремнію, і сіль стеаринової кислоти (стеарат кальцію), та таблетують готову масу. Отримують таблетки з середньою масою 1,200 г. Вміст натріюаміносаліцилату в одній таблетці (ВЕРХ) - 1000,0 мг, вміст цинку (УФ спектрометрія) - 1,50 мг або в перерахунку на сульфат цинку - 4,12 мг, міцність - 250 Н.

На отримані таблетки наносять плівкоутворюючий склад на основі готової композиції Acryl-Eze. Нашарування здійснюють до отримання плівки задовільної товщини. Отримані таблетки з середньою масою 1,320 г задовольняють нормативним вимогам до фармацевтичного засобу. Розчинення, % вивільнення пара-аміносаліцилату натрію в середовище - фосфатний буферний розчин з рН 7,4 через 45 хв. (УФ-спектрометрія) - 99. Отримані таблетки мають термін придатності більше 2-х років.

Промислова застосовність

Заявлена фармацевтична композиція може знайти широке застосування в охороні здоров'я як лікарський засіб для лікування туберкульозу.

50 ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Протитуберкульозна композиція, що включає терапевтично ефективну кількість діючої основи, що як таку містить комбінацію ПАСК і сульфату цинку, і фармацевтично прийнятні допоміжні речовини.

2. Протитуберкульозна композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що як ПАСК містить натрію пара-аміносаліцилат.

3. Протитуберкульозна композиція за п. 2, яка **відрізняється** тим, що містить інгредієнти діючої основи у наступному співвідношенні, мас. ч.:

натрію пара-аміносаліцилат - 500-2000,
цинку сульфат (у перерахунку на елементарний цинк) - 0,75-3,0.

4. Протитуберкульозна композиція за п. 3, яка **відрізняється** тим, що виконана у вигляді твердої лікарської форми.
5. Протитуберкульозна композиція за п. 4, яка **відрізняється** тим, що виконана у формі таблетки.
- 5 6. Протитуберкульозна композиція за п. 5, яка **відрізняється** тим, що вона має оболонку.
7. Протитуберкульозна композиція за п. 6, яка **відрізняється** тим, що вона має плівкову оболонку.
8. Протитуберкульозна композиція за будь-яким з пп. 2-7, яка **відрізняється** тим, що містить інгредієнти діючої основи в одиничній дозі у наступній кількості, мг:
- 10 натрію пара-аміносаліцилат - 500-2000,
цинку сульфат (у перерахунку на елементарний цинк) - 0,75-3,0.
9. Протитуберкульозна композиція за будь-яким з пп. 2-7, яка **відрізняється** тим, що містить інгредієнти діючої основи в одиничній дозі у наступній кількості, мг:
натрію пара-аміносаліцилат - 1000,
- 15 цинку сульфат (у перерахунку на елементарний цинк) - 1,5 мг.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

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

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