

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046579**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.03.27

(21) Номер заявки
202200102

(22) Дата подачи заявки
2022.02.22

(51) Int. Cl. *A61K 31/198* (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A61P 5/14 (2006.01)

(54) **СОСТАВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА/АРАБИНОГАЛАКТАНА ДЛЯ ДЛИТЕЛЬНОГО
ДЕЙСТВИЯ ПЕНТАГИДРАТА ЛЕВОТИРОКСИНА НАТРИЯ**

(43) **2023.08.31**

(96) **2022/005 (AZ) 2022.02.22**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ГУММАТОВ АЗЕР ФАРАХИМ ОГЛЫ
(AZ)**

(72) Изобретатель:
**Гумматов Азер Фарахим оглы,
Зейналов Низами Аллахверди
оглы, Тагиев Дильгам Бабир оглы,
Ширинова Сафарова Хатира
Новрузали кызы, Тапдыгов Шамо
Зохран оглы, Сафаралиева Самира
Фаиг кызы, Балаева Эмильяс Закир
кызы (AZ)**

(74) Представитель:
Рамазанов Г.Ч. (AZ)

(56) OBINNA E. Development and in vitro characterization of polymer-based nasal formulations of levothyroxine. Dalhousie University Halifax, Nova Scotia, 2020 [on-line] [found 2023-02-09], Found in <https://dalspace.library.dal.ca/handle/10222/79676>, section 3.5 on p. 21-22, table 6

KAUR N. et al. Levothyroxine Sodium Pentahydrate Tablets - Formulation Considerations. JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES. 2021, Vol. 110, P. 3743-3756, doi: 10.1016/j.xphs.2021.08.006, p 3744, right column, the last paragraph

SLYUSARENKO N. et al. Synthesis and Properties of Interpolymer Complexes Based on Chitosan and Sulfated Arabinogalactan. POLYMER SCIENCE, SERIES B. 2020, Vol. 62, No. 3, P. 272-278, doi: 10.1134/S1560090420020050, abstract, p. 2020, right column, the first full paragraph

EHRENFREUND-KLEINMAN T. et al. Synthesis and biodegradation of arabinogalactan sponges prepared by reductive amination. BIOMATERIALS. 2002, Vol. 23, P. 4621-4631, doi: 10.1016/S0142-9612(02)00209-0, abstract, sections 3.2.3 и 3.2.4 on p. 4627-4630

RU-C1-2698455
US-A1-2002012705

(57) Изобретение относится к области медицины, а именно к созданию комплекса хитозана и левотироксина. Синтезированная полимер-левотироксиновая смесь, содержащая хитозан/арабиногалактан, может быть использована в медицине для удовлетворения суточной потребности организма в гормоне L-тироксине при гипотериозе. Комплекс содержит низкомолекулярный хитозан со средней молекулярной массой 35 кДа и степенью деацетилирования 85-87% - 4750-4950 мг; природный полисахарид арабиногалактан - 50-250 мг; левотироксин натрия пентагидрат - 5-100 мкг.

B1**046579****046579****B1**

Изобретение относится к области медицины, а именно к созданию комплекса хитозана и левотироксина. Синтезированная полимер-левотироксиновая смесь, содержащая хитозан/арабиногалактан, может быть использована в медицине для удовлетворения суточной потребности организма в гормоне L-тироксине при гипотиреозе.

Комплекс содержит низкомолекулярный хитозан 4750-4950 мг со средней молекулярной массой 35 кДа (95-99% по массе), природный полисахарид арабиногалактан 250-50 мг (1-5%) и левотироксин-На пентагидрат в количестве 5-100 мкг (см. таблицу).

№	Хитозан (масса), мг	Арабиногалактан (масса), мг	Левотироксин-На пентагидрат, мкг.
1.	4750	250	5
2.	4800	200	25
3.	4850	150	50
4.	4900	100	75
5.	4950	50	100

Известно, что тироксин, гормон щитовидной железы, стимулирует рост и развитие, повышает потребность тканей в кислороде, обеспечивает обмен белков, жиров и углеводов, регулирует деятельность сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. В связи с гипотиреозом, вызванным удалением части или полностью желез при дисфункции, больные получают в течение всей жизни солевую форму гормонозаменивателя L-тироксина - левотироксин-На пентагидрат. При длительном применении препарата наблюдаются такие побочные действия, как прибавка в весе вследствие повышенного аппетита, выпадение волос, нарушение функции почек, тахикардия, аритмия, нарушение сна, необъяснимая тревожность и др. [1].

В последние годы для избежания передозировки, как в антибиотиках и белках, левотироксин иммобилизуется на природных и синтетических полимерных носителях. В результате увеличивается период активности препарата в плане выполнения им своей функции за счет продления его циркуляции в кровотоке. Среди таких полимерных носителей особое значение имеет хитозан, природный полиаминосахарид, который считается более благоприятной матрицей с точки зрения биосовместимости [2].

Анализы показывают, что исследования процесса выделения левотироксина путем его загрузки в матрицы на основе хитозана ограничены. Только в небольших количествах исследований можно встретить, что биологическую активность левотироксина можно исследовать *in vitro* или *in vivo* путем иммобилизации его в гидрогели на основе хитозана.

Э. Обинной [3] были получены комплексы левотироксина отдельно с карбопол-, поликарбофил-, гидроксипропилметилцеллюлозой и хитозаном и изучено кумулятивное выделение левотироксина. Состав каждой матрицы был дифференцирован различными количествами левотироксина, и были проведены *in vitro* и *in vivo* исследования высвобождения. Однако биополимеры с высокой молекулярной массой, оптимальный состав которых не определен, создают трудности с растворимостью.

В связи с высоким значением вязкости высокомолекулярного хитозана была разработана новая композиция с использованием относительно низкомолекулярного хитозана [4]:

хитозан - 2% (по массе), степень деацетилирования 83%, вязкость 30,85 мл/г;

гидроксиапатит - 1 % (по массе);

карбоксиметилцеллюлоза - 2% (по массе);

левотироксин-На - 0,1; 0,5 и 1,0 мкг/мл.

Гидрогель хитозан/карбоксиметилцеллюлоза/гидроксиапатит загружали левотироксином и изучали ангиогенные эксперименты в условиях *ex vivo*. Наряду с тем, что гидрогель, содержащий 0,1 мкг левотироксина, проявлял хорошие свойства изгиба, складывания, растекания и растяжения, он был нетоксичен и обладал максимальным потенциалом неоваскуляризации. Однако трехкомпонентный состав и присутствие гидроксиапатита не могут обеспечить однородное (гомогенное) распределение препарата.

Изобретение было осуществлено на следующем прототипе.

В качестве прототипа, близкого к предлагаемому составу [5], может быть показана смесь хитозана и коллагена в различных массовых количествах:

хитозан (87 кДа) - 0,4 г;

коллаген - 0,4 г;

левотироксин - 1 и 10 мкг.

Левотироксин загружали в смарт-гидрогель и изучали его разделение в фосфатно-солевом буфере, перекиси водорода и лизоцимной среде. Установлено, что ангиогенный потенциал комплекса гидрогель-препарат, содержащий 1-10 мкг левотироксина, является высоким в течение 8-14 дней. Однако использование в ходе исследования хитозана с высокой молекулярной массой затрудняет его удобную абсорбцию.

Его отличие от представленного прототипа состоит в том, что часть хитозана заменена биополимером арабиногалактана, а молекулярная масса хитозана относительно мала. Также наличие определенного количества белковой части на конце макромолекулы арабиногалактана влияет на прочность химической связи между активным лекарственным средством и носителем, что может обеспечить его длительную

стабильность в кровяном русле.

Целью изобретения является создание композиции как минимум из двух полимеров, особенно низкомолекулярных полисахаридов, и использование второго компонента - арабиногалактана, обладающего высокой биосовместимостью, иммуномодулирующими и гастропротекторными свойствами.

В патенте описан синтез комплекса левоти록сина с новыми бинарными полимерами, основным компонентом которых является низкомолекулярный хитозан и другой природный полисахарид арабиногалактан в количестве до 1-5%.

Вещества.

Хитозан со средней молекулярной массой 35 кДа (степень деацетилирования 85-87%), ледяная (безводная) уксусная кислота, этанол (95%), арабиногалактан ($\geq 99,9\%$), этанол и NaOH от Sigma-Aldrich. Пентагидрат левоти록сина-натрия (CAS 6106-07-6) также был приобретен от Sigma Aldrich.

Способ получения комплекса.

Изобретение представлено следующими примерами.

Пример 1.

Хитозан – 4750 мг.
Арабиногалактан – 250 мг.
Уксусная кислота CH_3COOH - 20 мл 0,5 М
Левоти록син-На пентагидрат - 5 мкг

4750 мг хитозана диспергируют в 20 мл 0,5 М уксусной кислоты и 250 мг арабиногалактана в деионизированной воде и непрерывно перемешивают в течение 24 ч до полного растворения. Раствор выливают в чашку Петри и замораживают при -20°C в течение 15 ч. Затем образец погружают в 3 М холодный раствор NaOH в этаноле и снова выдерживают при -20°C в течение 24 ч. Гидрогель промывают сначала 50%-ным раствором этанола, а затем бидистиллированной водой до получения нейтральной среды (рН 6,5-7). Затем после промывания 95%-ным раствором этанола сушится при комнатной температуре. Для получения комплекса с левоти록сином бинарную пробу Xz/AQ диаметром 15-20 мм добавляют к 5 мл раствора левоти록сина с концентрацией 1 мкг/мл и выдерживают в течение 24 ч для иммобилизации. После абсорбции препарата комплекс Xz/AQ-левоти록син промывают раствором щелочи в этаноле, высушивают методом вакуумирования при -40°C . После высушивания комплекс доводят до постоянной массы выдерживанием при 30°C в течение 48 ч.

Пример 2.

Хитозан – 4800 мг.
Арабиногалактан - 200 мг.
Уксусная кислота CH_3COOH - 20 мл 0,5 М
Левоти록син-На пентагидрат - 25 мкг

4800 мг хитозана растворяют в 20 мл 0,5 М уксусной кислоты и 200 мг арабиногалактана в 10 мл воды. Раствор замораживают при -20°C и повторно хранят в этанольном растворе NaOH при -20°C в течение 24 ч. Для получения комплекса с левоти록сином образец Xz/AQ добавляют к 5 мл лекарственного раствора с концентрацией 5 мкг/мл и сохраняют для иммобилизации. После абсорбции препарата комплекс Xz/AQ-левоти록син промывают раствором щелочи в этаноле, высушивают методом вакуумирования при -40°C . Комплекс доводят до постоянной массы выдерживанием при 30°C в течение 2 суток.

Пример 3.

Хитозан - 4950 мг.
Арабиногалактан - 50 мг.
Уксусная кислота CH_3COOH - 20 мл 0,5 М
Левоти록син-На пентагидрат - 100 мкг

4950 мг хитозана полностью растворяют в 20 мл 0,5 М уксусной кислоты и 50 мг арабиногалактана в небольшом количестве воды. Для получения комплекса препарата используется 10 мл раствора левоти록сина с концентрацией 10 мкг/мл. После абсорбции препарата комплекс Xz/AQ-левоти록син промывают раствором щелочи в этаноле, сушат при -40°C и доводят до постоянной массы.

FTIR и UV-Vis спектроскопические исследования показали, что левоти록син химически связан со структурой Xz/AQ, и было доказано, что он иммобилизован в матрицу в основном за счет водородных связей, а также ориентационных и электростатических сил.

Для исследования *in vivo* комплексы Xz/AQ-левоти록сина с различным содержанием действующего вещества растворяли в слабой уксусной кислоте и желудочном соке и изучали процессы всасывания на кроликах.

По сравнению с прототипом изобретение описывает содержание в комплексе до 5-100 мкг активного препарата левоти록сина-пентагидрата натрия, который согласно экспериментальным испытаниям на кроликах имеет более длительный период всасывания и циркуляции в кровотоке. Кроме того, нежелательно тратить много времени на создание комплексов левоти록сина с матрицами и использовать в процессе токсическое вещество - метанол. Использование в процессе D-маннитола в качестве связующего и высушивание при -80°C также могут рассматриваться как сложная процедура. Однако предлагаемый заявителями метод отличается тем, что он более прост и эффективен.

Литература:

1. Jayeon S., Hansol K., Chang Y.L., Junhyeok Y., Won S.Y., Hyun G.P. Identification of thyroid hormone/thyroid hormone receptor interaction based on aptamer-assisted protein-induced fluorescence enhancement // *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 191, p.113444.
2. Islam K.N., Ihara M., Dong J.H., Kasagi N., Mori T., Ueda H. Direct Construction of an Open-Sandwich Enzyme Immunoassay for One-Step Noncompetitive Detection of Thyroid Hormone T4 // *Analytical Chemistry*, 2011, 83, p.1008–1014.
3. E.Vin-Boris Obinna. Development and *in vitro* characterization of polymer-based nasal formulations of levothyroxine. Submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of masters of science at Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, 2020.
4. Muhammad H.M., Lubna Sh., Razia B., Sher Z.S., Abdul S.K., Ather F.K., Aqif A.C., Ihtesham Ur.R., Muhammad Y. Thyroxine-loaded chitosan/carboxymethyl cellulose/hydroxyapatite hydrogels enhance angiogenesis in in-ovo experiments // *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 145, p.1162-1170.
5. Aleem A.R., Shahzadi L., Alvi F., Khan A.F., Chaudhry A.A., Rehman I.Ur., Yar M. Thyroxin releasing chitosan/collagen based smart hydrogels to stimulate neovascularization // *Materials and Design*, 2017, 133, p.416-425.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Комплекс полисахарида с пентагидратом левотироксина натрия для удовлетворения суточной потребности в L-тироксине при гипотериозе, отличающийся тем, что содержит смесь хитозана и водорастворимого арабиногалактана при следующем их массовом содержании:

хитозан со средней молекулярной массой 35 кДа и степенью деацетилирования 85-87%, мг - 4750-4950;

водорастворимый арабиногалактан, мг - 50-250;

левотироксин-На пентагидрат, мкг - 5-100.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2
