

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **047747**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2024.09.04**

**(21)** Номер заявки  
**202293162**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2021.05.26**

**(51)** Int. Cl. **A61K 9/00** (2006.01)  
**A61K 38/00** (2006.01)  
**A61K 47/36** (2006.01)

---

**(54) КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ ПЕПСТАТИН И АЛЬГИНОВУЮ КИСЛОТУ ИЛИ ЕЕ СОЛЬ, И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

---

**(31)** 102020000012370

**(32)** 2020.05.26

**(33)** IT

**(43)** 2023.02.22

**(86)** PCT/IB2021/054572

**(87)** WO 2021/240382 2021.12.02

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ДРАГС МИНЕРАЛС ЭНД  
ДЖЕНЕРИКС ИТАЛИЯ С.Р.Л. ИН  
ФОРМА АББРЕВИАТА ДИ.ЭМ.ДЖИ.  
ИТАЛИЯ С.Р.Л. (IT)**

**(72)** Изобретатель:  
**Меркури Луиджи, Тибери Личия (IT)**

**(74)** Представитель:  
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,  
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев  
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,  
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

**(56)** Balestrazzi Alessandra ET AL.: "A new therapeutic approach for the Dry Eye Syndrome in patients with laryngopharyngeal reflux: first data", 17 February 2020 (2020-02-17), XP055772805, DOI: 10.23750/abm.v9i1i1-S.9250 Retrieved from the Internet: URL:https://mattioli1885journals.com/index.php/actabiomedica/article/view/9250/8576 [retrieved on 2021-02-05] page 36, right-hand column, last paragraph - page 37, left-hand column, paragraph 2 page 41, left-hand column, paragraph 2

WO-A2-2008039984  
US-A-4339439

STRUGALA V ET AL.: "Inhibition of pepsin activity by alginates in vitro and the effect of epimerization", INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, ELSEVIER, NL, vol. 304, no. 1-2, 4 November 2005 (2005-11-04), pages 40-50, XP027624171, ISSN: 0378-5173 [retrieved on 2005-11-04] paragraph [03.2] page 47, right-hand column, paragraph 2

---

**(57)** Изобретение относится к водной композиции для офтальмологического применения, содержащей пепстатин и альгиновую кислоту или ее соль, и к применению указанной композиции в способе лечения заболевания или симптома глазного яблока и/или периокулярной области, связанных с присутствием пепсина в слезной жидкости или являющихся его следствием.

---

**B1**

**047747**

**047747 B1**

Настоящее изобретение относится к композиции, предпочтительно для офтальмологического применения, содержащей пепстатин и альгиновую кислоту или ее соль и, возможно, гиалуроновую кислоту или ее соль, и к применению указанной композиции в способе лечения заболевания или симптома, связанных с присутствием пепсина во внепищеводных областях или являющихся его следствием, предпочтительно заболевания или симптома глазного яблока и/или периокулярной области, связанного с присутствием пепсина в слезной жидкости или являющегося его следствием, у нуждающихся в этом субъектов, таких как, например, субъекты с гастроэзофагеальным рефлюксом и/или обратным оттоком желудочных жидкостей из желудка в экстраэзофагеальную область (ларингофарингеальный рефлюкс или экстраэзофагеальный рефлюкс).

Гастроэзофагеальный рефлюкс или гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (сокращенно GERD) представляет собой парафизиологическое состояние, характеризующееся обратным потоком из желудка в пищевод содержимого желудка или кислых желудочных жидкостей (pH 1-2), например, содержащих пепсин, соляную кислоту, желудочные соки, соки двенадцатиперстной кишки и кислые желудочные жидкости. Таким образом, у пациентов с GERD обратный поток даже в очень небольших количествах желудочного содержимого из желудка в пищевод вызывает раздражение эпителия пищевода, что вызывает ощущение жжения в загрудинном положении и боли при глотании, а также увеличение кариеса (из-за коррозии зубной эмали, вызванной желудочными кислотами), рвоту после приема пищи, ощущение кислотности в верхней части пищевода и в глотке.

Гастроэзофагеальный рефлюкс представляет собой очень распространенное заболевание у населения, часто связанное с ожирением, сахарным диабетом, с состояниями повышенной желудочной секреции, беременностью, курением, алкоголем, грыжей пищеводного отверстия диафрагмы.

При отсутствии эндоскопических повреждений, видимых при гастроскопии, желудочный рефлюкс определяется как неэрозивный рефлюкс или неэрозивная рефлюксная болезнь (сокращенно NERD), учитывая, что рефлюкс кислотного содержимого не вызывает эзофагит.

Ларингофарингеальный рефлюкс (сокращенно LPR) или ларингофарингеальная рефлюксная болезнь или, альтернативно, экстраэзофагеальный рефлюкс, представляют собой разные термины, используемые для обозначения симптомов или расстройств или заболеваний, вызванных обратным током содержимого желудка из желудка в экстраэзофагеальные области. Указанные экстраэзофагеальные области могут представлять собой верхние дыхательные пути, глазное яблоко (или глаз), периокулярную область (например, веко, конъюнктиву и слезный аппарат) и ушной аппарат, евстахиеву трубу и среднее ухо.

В контексте настоящего изобретения периокулярная область определяется как область вокруг глаза или касающаяся контура глаза, такая как, например, веко, конъюнктива и слезный аппарат. Веко представляет собой кожно-мембранное образование, которое покрывает глаз. Конъюнктива представляет собой слизистую мембрану, которая покрывает глазное яблоко и внутреннюю часть век. Слезный аппарат представляет собой совокупность секреторной системы слезной пленки, которая включает слезную железу, и аппарат, обеспечивающий отток слез. Аппарат, обеспечивающий отток слез, включает в себя слезные пути, состоящие из: слезных точек, слезного мешка и слезных каналов или слезных протоков или носослезного протока.

Когда содержимое желудка или его часть (например, пепсин) вытекает обратно из желудка, на уровне экстраэзофагеальных областей возникают явления воспаления и/или раздражения, которые могут вовлекать одну или более из указанных экстраэзофагеальных областей, например верхние дыхательные пути, полость рта, полость уха, глазное яблоко (или глаз), и/или периокулярную область (например, веко, конъюнктиву и слезный аппарат).

Эти два заболевания, GERD и LPR или экстраэзофагеальный рефлюкс, могут присутствовать одновременно или проявляться по отдельности.

В случае, когда GERD и LPR присутствуют одновременно, помимо расстройств в области пищевода, пациенты с GERD могут также страдать от расстройств или заболеваний в одной или нескольких экстраэзофагеальных областях.

Если GERD и LPR не присутствуют одновременно, то расстройства или симптомы, ощущаемые в одной или нескольких экстраэзофагеальных областях, также могут возникать у субъектов с отсутствием GERD, в результате обратного оттока содержимого желудка из желудка в экстраэзофагеальную область.

В свете вышесказанного, люди с LPR (эрозивным или неэрозивным) или LPR (или экстраэзофагеальным рефлюксом) могут страдать, например, от синдрома слезной дисфункции (сокращенно LDS) или заболевания поверхностных тканей глаза (OSD), альтернативно определяемого как синдром сухого глаза. Фактически присутствие пепсина (компонента содержимого желудка) было обнаружено в слезном секрете субъектов с гастроэзофагеальным рефлюксом.

Синдром слезной дисфункции (LDS) представляет собой заболевание глаз, которое заключается в уменьшении количества и/или изменении качества слезной пленки, которая в основном выполняет функцию увлажнения и защиты передней поверхности глазного яблока. Слезная пленка предназначена для выполнения следующих важнейших функций:

- 1) питательной: слезы дают возможность обеспечить надлежащее поступление кислорода и питательных веществ для необходимого обновления клеток поверхностных тканей глаза;

- 2) антимикробной: присутствие антител и ферментов в слезной пленке обеспечивает защитное действие против внешней агрессии;
- 3) очищения; и
- 4) смазки.

Таким образом, изменение количества/качества слезной пленки влечет за собой подвержение глазного яблока большому трению (определяемому движением век) и большому риску инфекций. Синдром слезной дисфункции является одним из наиболее частых заболеваний в офтальмологии и его влияние высоко среди населения среднего и пожилого возраста.

В контексте настоящего изобретения выражения "синдром слезной дисфункции" (LDS) и "синдром сухого глаза" будут использоваться взаимозаменяемо.

Другое заболевание или симптом, которые могут иметь место у субъектов с GERD, LPR или экстраэзофагеальным рефлюксом, представляет собой воспаление глазного яблока или воспаление периокулярной области, в частности конъюнктивит, который представляет собой воспаление, которое поражает конъюнктиву, вызывая покраснение глаз и придавая им характерные признаки красных глаз. Конъюнктивит может поражать как взрослых, так и детей и новорожденных.

Часто расстройства или симптомы, или заболевания в экстраэзофагеальных областях, таких как глазное яблоко и периокулярная область, анализируют, диагностируют и/или лечат без учета возможной корреляции с феноменом обратного потока содержимого желудка, например пепсина, из желудка в экстраэзофагеальные области.

В результате многие из указанных заболеваний или симптомов глазного яблока и/или периокулярной области, такие как, например, синдром слезной дисфункции (SDL), конъюнктивит или воспаление глаз или периокулярное воспаление, лечат продуктами, имеющимися в настоящее время в продаже на рынке (например, стероидными продуктами), которые не лечат конкретно причину, вызывающую указанные заболевания или симптомы, а предлагают только временное лечебное средство; например, указанные продукты не лечат эффективно присутствие пепсина в слезной жидкости, глазном яблоке и/или периокулярной области.

Balestrazzi alessandra et al.: "A new therapeutic approach for the Dry Eye Syndrome in patients with laryngopharyngeal reflux: first data" представляет собой предварительное исследование сравнения двух способов лечения у пациентов с синдромом сухого глаза и LPR. Пациентов лечили глазными каплями Gastroftal и таблетками Gastroftal либо только одними глазными каплями с гиалуроновой кислотой (Atlantis) в течение 3 месяцев. Глазные капли Gastroftal не содержат пепстатина.

В WO 2008/039984 A2 описываются соединения, которые представляют собой ингибиторы катепсина D, члена подсемейства аспартилпротеазы, и фармацевтические композиции, которые содержат указанные ингибиторы. Такие соединения обладают нейротрофической активностью, и они являются полезными в лечении и предупреждении нейронных расстройств, таких как боковой амиотрофический склероз, рассеянный склероз и мышечная дистрофия. Указанные фармацевтические композиции содержат альгиновую кислоту или ее соль.

В US 4339439 A показана большая противоязвенная активность, полученная у теплокровных животных при одновременном введении энтитидина, антагониста гистаминового H<sub>2</sub>-рецептора, и пепстатина, комплексообразователя пепсина.

Техническая проблема, рассматриваемая и решаемая настоящим изобретением, заключается в предложении композиций или смесей для офтальмологического применения, или для назального применения, или для применения в полости рта в способах превентивного и/или куративного лечения заболеваний или симптомов в экстраэзофагеальных областях, предпочтительно заболеваний или симптомов глазного яблока и/или периокулярной области, таких как, например, синдром слезной дисфункции (LDS), конъюнктивит, внутриглазное воспаление или периокулярное воспаление, связанных с присутствием пепсина в указанных экстраэзофагеальных областях или являющихся его следствием, предпочтительно в слезной жидкости, в первую очередь из-за желудочного рефлюкса в эзофагеальной и/или экстраэзофагеальной области.

Кроме того, техническая проблема, рассматриваемая и решаемая настоящим изобретением, заключается в предложении композиций или смесей для офтальмологического, или назального применения, или применения в полости рта в указанных способах лечения, которые являются стабильными, эффективными, простыми для введения/применения, хорошо переносимыми и в основном свободными от побочных эффектов.

После обширного и углубленного исследования и изобретательской активности заявитель рассматривает и решает вышеупомянутые технические задачи путем предложения композиций или смесей (то есть композиций или смесей по изобретению) для офтальмологического применения, или для назального применения, или для применения в полости рта, содержащих пепстатин и альгиновую кислоту или ее соль и возможно гиалуроновую кислоту или ее соль, как описано ниже. Предпочтительно композиции и смеси по изобретению не содержат стероидных веществ.

Помимо того, что они являются эффективными в лечении экстраэзофагеальных расстройств, предпочтительно указанных воспалительных внутриглазных и/или периокулярных расстройств, композиции

или смеси по изобретению для офтальмологического применения на основе пепстатина и альгиновой кислоты или ее соли и возможно гиалуроновой кислоты или ее соли являются стабильными, простыми для введения/применения, хорошо переносятся и в основном не имеют побочных эффектов.

В частности, комбинация пепстатина и альгиновой кислоты или ее соли действует эффективно и синергически, уменьшая и удаляя пепсин из слезной жидкости. Эта эффективность в первую очередь обусловлена ингибирующим действием пепстатина даже в низких концентрациях и одновременным действием альгината как секвестранта пепсина посредством неспецифического связывания и как смазывающего вещества.

Кроме того, добавление возможного смазывающего агента, предпочтительно гиалуроновой кислоты или ее соли, придает композиции по изобретению вязкоупругую активность.

Кроме того, офтальмологические композиции или смеси по изобретению предпочтительно не содержат стероидных веществ.

Наконец, композиции для офтальмологического применения по настоящему изобретению просты в приготовлении и экономически эффективны.

Эти и другие задачи, которые будут очевидны из последующего подробного описания, достигаются смесями и композицией по настоящему изобретению благодаря техническим характеристикам, заявленным в прилагаемой формуле изобретения.

#### Графические материалы

Фиг. 1: спектры поглощения контроля и образца (пепсин) без присутствия ингибирующего вещества (пепстатина); условия: пепсин 0,02%, гемоглобин 2%, рН 1,5, 37°C.

Фиг. 2: спектры поглощения контроля и образца пепсина в присутствии пепстатина (пепстатин: суспензия в H<sub>2</sub>O) и сравнение со спектрами, относящимися к свободному пепсину без присутствия пепстатина.

Фиг. 3: спектры поглощения контроля (пепсин без пепстатина) и образца (пепсин + пепстатин) (пепстатин: растворен в EtOH и разбавлен в воде).

Фиг. 4: спектры активности пепсина в присутствии водного раствора, содержащего альгинат магния; условия: пепсин 0,02%, гемоглобин 2%, 1% водного раствора, содержащего альгинат магния; рН 1,5, 37°C.

Фиг. 5: спектры поглощения контроля (пепсин в отсутствие пепстатина, но в присутствии водного раствора, содержащего альгинат магния) и образцов пепсина в присутствии водного раствора, содержащего альгинат магния и пепстатин (пепстатин, разведенный в водном растворе альгината после растворения в EtOH).

#### Подробное описание изобретения

Объектом настоящего изобретения является композиция, содержащая

(1) смесь М активных компонентов, содержащую:

(а) пепстатин или его фармацевтически приемлемую соль, предпочтительно соль щелочного металла или щелочно-земельного металла (например, магния, натрия, калия или кальция), и

(б) альгиновую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль, предпочтительно альгинат щелочного металла или щелочно-земельного металла (например, магния, натрия, калия или кальция), или, альтернативно, состоящую из вышеуказанного;

и возможно указанная композиция содержит (2) по меньшей мере одну фармацевтическую или офтальмологическую добавку и/или по меньшей мере один фармацевтический или офтальмологический эксципиент.

Пепстатин (альтернативно именуемый как пепстатин А) представляет собой ингибитор аспартил-протеазы. Это гексапептид, содержащий аминокислоту статин (Sta, (3S,4S)-4-амино-3-гидрокси-6-метилгептановая кислота) с последовательностью изовалерил-Val-Val-Sta-Ala-Sta (Iva-Val-Val-Sta-Ala-Sta) (пример CAS №: 26305-03-3). Пепстатин представляет собой молекулу, продуцируемую бактериями-актиномицетами. При нейтральном рН (забуференном) пепстатин находится в кислой форме и может быть растворен в спирте (например, этаноле) с последующим разведением в воде. Вместо этого пепстатин в форме соли можно растворить в воде при нейтральном рН. Предпочтительно для приготовления смесей или композиций по настоящему изобретению, содержащих (а), (б) и возможно (в) и/или другие компоненты, описанные в настоящем изобретении, используют пепстатин как таковой, то есть пепстатин не в форме соли.

Вместе с (а) и возможно (в) и/или другими компонентами, описанными в настоящем изобретении, альгиновая кислота, содержащаяся в смеси или в композиции по изобретению, предпочтительно представляет собой альгиновую кислоту (например, CAS № 9005-32-7), имеющую среднюю молекулярную массу в диапазоне от примерно 50 кДа (килодальтон) до примерно 800 кДа; предпочтительно от примерно 100 кДа до примерно 600 кДа; более предпочтительно от примерно 200 кДа до примерно 400 кДа, например до примерно 240 кДа (единицы атомной массы).

Предпочтительно указанную (б) альгиновую кислоту или ее соль получают из морских водорослей.

В предпочтительном воплощении смесь М активных компонентов, содержащаяся в композиции по изобретению, содержит: а) пепстатин или его соль, (б) альгиновую кислоту или ее соль, предпочтительно

соль щелочного металла или щелочно-земельного металла (например, магния, натрия, калия или кальция), более предпочтительно альгинат магния, и (в) смазывающий агент, предпочтительно гиалуроновую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль, более предпочтительно гиалуронат щелочного металла или щелочно-земельного металла (например, магния, натрия, калия или кальция), еще более предпочтительно гиалуронат натрия, или, альтернативно, состоит из вышеуказанного.

Вместе с (а) и (б) согласно любому из воплощений настоящего изобретения указанный смазывающий агент (в), возможно содержащийся в смеси М композиции по изобретению, может быть выбран из гиалуроновой кислоты или ее соли, карбоксиметилцеллюлозы, гипромеллозы, ксантановой камеди, поливинилпирролидона (PVP), поливинилового спирта и их смесей; предпочтительно гиалуроновой кислоты или ее соли.

Вместе с (а) и (б) и возможно другими компонентами, описанными в настоящем изобретении, гиалуроновая кислота или ее соль (например, гиалуронат натрия), содержащаяся в смеси или композиции по изобретению, предпочтительно представляет собой линейную или разветвленную гиалуроновую кислоту со средней молекулярной массой, находящейся в диапазоне от примерно 200 кДа до примерно 5000 кДа; предпочтительно от примерно 1000 кДа до примерно 3000 кДа; более предпочтительно от примерно 1500 кДа до примерно 2000 кДа, или получена из нее.

Согласно предпочтительному примеру, композиция по изобретению содержит (а) пепстатин; (б) альгинат щелочного металла или щелочно-земельного металла, предпочтительно альгинат магния, (в) гиалуронат щелочного металла или щелочноземельного металла, предпочтительно гиалуронат натрия, и офтальмологические добавки и/или эксципиенты или, альтернативно, состоит из вышеуказанного.

Согласно более предпочтительному примеру, композиция по изобретению содержит (а) пепстатин, (б) альгинат магния, (в) гиалуронат натрия и офтальмологические добавки и/или эксципиенты или, альтернативно, состоит из вышеуказанного.

Согласно еще одному предпочтительному примеру, композиция по изобретению содержит (а) пепстатин, (б) альгинат магния из альгиновую кислоту, полученную из морских водорослей, имеющую среднюю молекулярную массу от примерно 200 кДа до примерно 400 кДа, например до примерно 240 кДа, (в) гиалуронат натрия со средней молекулярной массой от примерно 1500 кДа до примерно 2000 кДа и офтальмологические добавки и/или эксципиенты или, альтернативно, состоит из вышеуказанного.

Кроме (а) пепстатина, (б) альгиновой кислоты или ее соли и, возможно, (в) смазывающего агента, предпочтительно гиалуроновой кислоты или ее соли, смесь М, содержащаяся вместе с добавками в композиции по изобретению, может дополнительно содержать по меньшей мере один дополнительный активный компонент (г), выбранный из группы, состоящей из растительных экстрактов (например, экстрактов зеленого чая (*Camellia sinensis*), аминокислот, витаминов группы А, В, С, D и/или Е и их смесей).

Композиции по настоящему изобретению, содержащие указанную смесь М, содержащую (а), (б) и возможно (в), могут содержать по меньшей мере одну приемлемую фармацевтическую или пищевую добавку и/или по меньшей мере один приемлемый фармацевтический или пищевой эксципиент, то есть вещество, лишенное терапевтической активности, пригодное для фармацевтического или пищевого применения. В контексте настоящего изобретения приемлемые добавки и/или эксципиенты для фармацевтического или пищевого применения включают все вспомогательные вещества, известные специалисту в данной области техники для приготовления композиций в полутвердой или жидкой форме, такие как, например, разбавители, растворители (включая воду), солюбилизаторы, подкислители, загустители, подсластители, смазывающие вещества, поверхностно-активные вещества, консерванты, стабилизаторы, стабилизирующие рН буферы и их смеси.

Композиция и смесь М по настоящему изобретению содержат (а), (б) и возможно (в) согласно любому из описанных воплощений, предпочтительно не содержат стероидное соединение.

Согласно одному аспекту изобретения, смеси или композиции по изобретению не изготовлены в форме для перорального применения.

Композиция для офтальмологического применения по изобретению, содержащая (а), (б) и возможно (в) (согласно любому из описанных воплощений), может находиться в жидкой форме, такой как глазные капли на водной основе, и она показывает высокую стабильность (предпочтительно больше или равную 24 месяцам), однородность и отсутствие образования осадков в жидкой форме, предпочтительно в виде глазных капель на водной или масляной основе, или в полутвердой форме, предпочтительно в виде мази, бальзама, геля или крема.

Композиция по изобретению в жидкой форме, например в форме глазных капель, может содержать пепстатин в молярной концентрации (М), находящейся в диапазоне от 0,1 нМ (0,0001 мкМ) до 50 мкМ; предпочтительно от 0,01 до 5 мкМ; более предпочтительно от 0,5 до 2 мкМ (например, примерно 1 мкМ).

Согласно аспекту изобретения композиция по изобретению может содержать в процентах (%) по массе по отношению к общей массе композиции: (а) пепстатин как таковой от 0,0000001% ( $1 \times 10^{-8}$ %) до 0,001% ( $1 \times 10^{-3}$ %), предпочтительно от 0,000001% ( $1 \times 10^{-6}$ %) до 0,0003% ( $3 \times 10^{-4}$ %), более предпочтительно от 0,00003% ( $3 \times 10^{-5}$ %) до 0,0001% ( $1 \times 10^{-4}$ %); (б) альгиновую кислоту или ее соль, предпочтительно альгинат магния, от 0,01 до 10%, предпочтительно от 0,05 до 2%, более предпочтительно от 0,05 до 0,4%,

например 0,2%; и возможно (в) смазывающий агент, предпочтительно гиалуроновую кислоту или ее соль, более предпочтительно гиалуронат натрия, от 0,01 до 10%; предпочтительно от 0,05 до 2%; более предпочтительно от 0,05 до 0,30%, например 0,15%.

В контексте настоящего изобретения выражение "композиция" используется для обозначения фармацевтической композиции или композиции для медицинского устройства в соответствии с Европейским регламентом по медицинским устройствам [EU 2017/745-(MDR), Директива 93/42/ЕЕС-(MDD)].

Объектом настоящего изобретения являются композиции и смесь М по настоящему изобретению, содержащие (а), (б) и возможно (в) и/или добавки/эксципиенты в соответствии с любым из описанных воплощений, для применения в качестве лекарственного средства.

Объектом настоящего изобретения являются композиции и смесь М по настоящему изобретению, содержащие (а), (б) и возможно (в) и/или добавки/эксципиенты в соответствии с любым из описанных воплощений, для применения в способе превентивного и/или куративного лечения расстройства или заболевания глазного яблока и/или периокулярной области, предпочтительно воспалительной природы, такого как, например, синдром слезной дисфункции (LDS), конъюнктивит, внутриглазное воспаление или периокулярное воспаление (например, блефарит, кератит, увеит), в первую очередь связанного с присутствием пепсина в слезной жидкости или являющегося его следствием, у нуждающихся в этом субъектов.

Присутствие пепсина в слезной жидкости вероятно связано с желудочным рефлюксом в эзофагеальной и/или экстраэзофагеальной области.

Присутствие пепсина в слезной жидкости может быть определено с помощью обычных диагностических способов и способов, известных специалисту в данной области техники, подходящих для обнаружения пепсина в жидкости.

Присутствие пепсина в слезной жидкости проявляется как таковое у субъектов с желудочным рефлюксом и/или заболеванием или симптомом, ассоциированным с указанным желудочным рефлюксом.

Указанные заболевания или симптомы, ассоциированные с желудочным рефлюксом, выбирают из группы, включающей гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (GERD), ларингофарингеальную рефлюксную болезнь (RFL) или экстраэзофагеальный рефлюкс, эзофагит (острое или хроническое воспаление эзофагеальной слизистой оболочки), эзофагеальные язвы, дезэпителизацию эзофагеальной слизистой оболочки, кислотную регургитацию, изжогу, ощущение переполнения желудка, боль в эпигастрии, диспепсию, тошноту, хронический кашель, бронхоспазм, воспаление горла, ларингит, ощущение "комка в горле" или гипофарингеальный болюс, пироз, дисфонию и ринофарингеальный флогоз и все расстройства, вызываемые в первую очередь или обусловленные желудочным рефлюксом, или, альтернативно, состоящей из вышеуказанного.

Указанные заболевания или симптомы, ассоциированные с желудочным рефлюксом, включая заболевание или симптом глазного яблока и/или периокулярной области, предпочтительно воспалительной природы, такие как, например, синдром слезной дисфункции (LDS), конъюнктивит, внутриглазное воспаление или периокулярное воспаление (например, блефарит, кератит, увеит), могут присутствовать даже при отсутствии диагноза гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (GERD), то есть у субъектов, не страдающих GERD.

Кроме того, настоящее изобретение дополнительно относится к способу изготовления смеси или композиции по изобретению (одним словом, к способу по изобретению), предпочтительно для офтальмологического применения, включающему стадию 1) растворения пепстатина в подходящем растворителе (например спиртовом растворителе, этаноле или этиловом спирте, изопропиловом спирте, глицерине, пропиленгликоле, сорбите 20 или Tween® 20 (смесь неполных триэфиров сорбита с его моно- и диангидридами со стеариновой кислотой), этоксилированное гидрогенизированное касторовое масло 40 молей (ПЭГ-40 гидрогенизированное касторовое масло); предпочтительно в спиртовом растворителе, более предпочтительно этаноле) при нейтральном рН (полученном с использованием буферного раствора; предпочтительно боратного буферного раствора) с получением спиртового раствора пепстатина, предпочтительно спиртового раствора пепстатина с концентрацией, находящейся в диапазоне от 0,01 мг/мл до 1 мг/мл, предпочтительно от 0,1 мг/мл до 1 мг/мл, например, 1 мг/мл. За указанной стадией (1) следует стадия (2) разведения спиртового раствора пепстатина в водном растворе, содержащем соль альгиновой кислоты, предпочтительно альгинат щелочного металла или щелочно-земельного металла, более предпочтительно альгинат магния.

Пепстатин при нейтральном рН не растворим в воде, и в уровне техники пепстатин используется в форме водной суспензии.

Напротив, способ по изобретению позволяет растворять пепстатин в водной фазе и без использования растворителей, которые потенциально токсичны или непригодны для офтальмологического применения.

Для ясности, для осуществления этого объекта настоящего изобретения компоненты (или активные компоненты) (а), (б) и возможно (в) смеси или композиции по изобретению можно вводить одновременно или раздельно (предпочтительно с интервалом времени от 5 до 30 мин) и в любом порядке; предпочтительно активные компоненты вводят субъекту одновременно, еще более предпочтительно в единой

композиции для получения более быстрого эффекта и для простоты введения. Когда активные компоненты по изобретению вводят в виде единой композиции, указанная единая композиция соответствует композиции по настоящему изобретению.

В контексте настоящего изобретения выражение "субъект/ы" используется для обозначения субъектов - людей или животных, предпочтительно млекопитающих (например, домашних животных, таких как собаки, кошки, лошади, овцы или крупный рогатый скот). Предпочтительно композиции по изобретению предназначены для использования в способах лечения субъектов-людей.

Если не указано иное, выражение композиция, или смесь, или иное, содержащее компонент в количестве, "находящемся в диапазоне от x до y", используется для указания на то, что указанный компонент может присутствовать в композиции или смеси или ином во всех количествах, присутствующих в указанном диапазоне, даже если они не указаны, включая крайние значения диапазона.

Если не указано иное, содержание компонента в композиции или смеси относится к процентному содержанию (%) по массе этого компонента по отношению к указанной общей массе указанной композиции или смеси.

Если не указано иное, указание на то, что композиция, или смесь, или иное "содержит" один или более компонентов, означает, что могут присутствовать другие компоненты кроме того или тех, которые указаны конкретно, и указание на то, что композиция, или смесь, или иное "состоит из" определенных компонентов, означает, что присутствие других не указанных компонентов исключено.

В контексте настоящего изобретения выражение "способ лечения" используют для обозначения вмешательства у нуждающегося в этом субъекта, включающего введение композиции или смеси по изобретению указанному субъекту в терапевтически эффективном количестве с целью устранения, уменьшения/ослабления или предотвращения заболевания или недомогания и их симптомов или расстройств.

Выражение "терапевтически эффективное количество" относится к количеству активного соединения, которое вызывает биологическую или лечебную реакцию в ткани, системе, млекопитающем или человеке, которую предполагает и определяет индивидуум, исследователь, ветеринар, врач или другой клиницист или работник здравоохранения.

#### Примеры

Примеры офтальмологической композиции в жидкой форме согласно изобретению приведены в табл. 1, 2, 3 и 4 (растворы забуферены до примерно рН 7,6 ± 0,1: 7,4-7,8 ± 0,1).

Таблица 1

Компонент	% масса/общая масса (масс./масс.)
Очищенная вода	от 90% до 99%
Пепстатин или пепстатин в EtOH, 1 мг/мл	от $1 \times 10^{-8}$ до $1 \times 10^{-3}$ ( $3 \times 10^{-5}\%$ - $1 \times 10^{-4}\%$ ) от 0,01% до 1% (0,01% - 0,1%)
Альгинат магния	от 0,01% до 10% (0,05% - 0,4%)
Добавки и/или эксципиенты	сколько потребуется до 100

Таблица 2

Компонент	% масса/общая масса (масс./масс.)
Очищенная вода	от 90% до 99%
Пепстатин или пепстатин в EtOH, 1 мг/мл	от $1 \times 10^{-8}$ до $1 \times 10^{-3}$ ( $3 \times 10^{-5}\%$ - $1 \times 10^{-4}\%$ ) от 0,01% до 1% (0,01% - 0,1%)
Альгинат магния	от 0,01% до 10% (0,05% - 0,4%)
Тетраборат натрия	от 0,01% до 5% (0,05% - 0,50%)
Борная кислота	от 0,01% до 5% (0,30% - 1,50%)
Хлорид натрия	от 0,01% до 5% (0,10% - 1,00%)
возможно другие добавки и/или эксципиенты	сколько потребуется до 100

Таблица 3

Компонент	% масса/общая масса (масс./масс.)
Очищенная вода	от 95% до 99%
Пепстатин или пепстатин в EtOH, 1 мг/мл	$1 \times 10^{-8}$ до $1 \times 10^{-3}$ ( $3 \times 10^{-5} \% - 1 \times 10^{-4} \%$ ) от 0,01% до 1% (0,01% - 0,1%)
Альгинат магния	от 0,01% до 10% (0,05% - 0,4%)
Натриевая соль гиалуроновой кислоты	от 0,01% до 10% (0,05% - 0,30%)
Добавки и/или эксципиенты	сколько потребуется до 100

Таблица 4

Компонент	% масса/общая масса (масс./масс.)
Очищенная вода	от 95% до 99%
Пепстатин или пепстатин в EtOH, 1 мг/мл	$1 \times 10^{-8}$ до $1 \times 10^{-3}$ ( $3 \times 10^{-5} \% - 1 \times 10^{-4} \%$ ) от 0,01% до 1% (0,01% - 0,1%)
Альгинат магния	от 0,01% до 10% (0,05% - 0,4%)
Натриевая соль гиалуроновой кислоты	от 0,01% до 10% (0,05% - 0,30%)
Тетраборат натрия	от 0,01% до 5% (0,05% - 0,50%)
Борная кислота	от 0,01% до 5% (0,30% - 1,50%)
Хлорид натрия	от 0,01% до 5% (0,10% - 1,00%)
возможно другие добавки и/или эксципиенты	сколько потребуется до 100

### Экспериментальная часть

#### I. Метод.

Метод, используемый для измерения ферментативной активности пепсина отдельно или вместе с ингибирующим веществом (пепстатином), состоит из адаптации метода Anson [Anson et al., J. Gen. Physiol. 1931, 16, 59], который предусматривает использование денатурированного гемоглобина в качестве субстрата. Ферментативную активность определяли после осаждения с помощью трихлоруксусной кислоты негидролизованного субстрата. Активность фермента определяли спектрофотометрически по концентрации растворимых пептидов, высвобождающихся в результате протеолитического действия.

Исследуемая реакция (гемоглобин + H<sub>2</sub>O) + пепсин → олигопептиды.

#### II. Реагенты.

Соляная кислота 12 М.

Гемоглобин человека (Sigma-Aldrich).

Пепсин (BDH; 1 единица Anson на грамм): фермент.

Раствор трихлоруксусной кислоты 6,1 н. (Sigma-Aldrich).

Пепстатин А: ингибирующее вещество (или ингибитор).

#### III. Условия.

T равна 37°C, pH равен 1,5, A<sub>280nm</sub>, оптический путь 1 см, время реакции 10 мин. При pH, равном 1,5, при котором выполняли эксперименты, имеет место максимум активности пепсина.

Гемоглобин 2%, пепсин 0,02%, ингибитор 0,01%.

#### IV. Приготовление.

Субстрат: 250 мг гемоглобина человека отвешивают в колбу на 10 мл, доводят до объема дистиллированной водой и оставляют при перемешивании на 10 мин на водяной бане при 37°C с получением 2,5%-ного раствора. Раствор пропускают через фильтровальную бумагу для удаления нерастворимых остатков. Отбирают 8 мл фильтрата и доводят объем до 10 мл подкисленной водой так, чтобы конечный pH составлял 1,5, а раствор был 2%-ным (мас./об.).

Фермент: 5 мг пепсина отвешивают в колбу на 5 мл и доводят до объема подкисленной водой (pH равно 1,5).

Фермент вместе с ингибирующим веществом: 5 мг пепсина отвешивают в колбу на 5 мл. Отдельно при pH 1,5 готовят 0,5 мг/мл раствора или суспензии ингибирующего вещества (проверяя pH с помощью pH-метра и корректируя его, если необходимо, соляной кислотой 12 М в таком количестве, чтобы не из-

менять общий объем). Колбу с пепсином доводят до объема раствором или суспензией ингибирующего вещества 0,5 мг/мл и выдерживают все вместе при перемешивании с помощью магнитной мешалки в течение 10 минут до начала эксперимента.

Трихлоруксусная кислота: раствор трихлоруксусной кислоты 6,1 н. разбавляют в 20 раз в дистиллированной воде с получением раствора 5% (мас./об.).

V. Экспериментальная процедура.

0,25 мл субстрата (гемоглобина) пипеткой переносят в подходящий флакон и почти полностью погружают в водяную баню, термостатированную при 37°C. Его оставляют при перемешивании с помощью магнитной мешалки на 10 мин при 37°C. Затем добавляют 50 микролитров раствора фермента (пепсин) или фермента вместе с ингибирующим веществом (пепсин + пепстатин А) и выдерживают систему при инкубировании в течение ровно 10 мин. По истечении этого периода времени добавляют 0,5 мл раствора трихлоруксусной кислоты 5% и оставляют еще на 5 мин.

Во флакон с помощью градуированной пипетки добавляют ровно 3 мл дистиллированной воды с pH 1,5; раствор перемешивают и фильтруют с помощью шприцевого фильтра 0,45 мкм. Спектр поглощения (с поглощением (A) всегда ниже 1) с длинами волн от 300 до 250 нм регистрируют с помощью спектрофотометра, используя величину поглощения при 280 нм в качестве эталона.

Контроль: 0,25 мл субстрата (гемоглобина) пипеткой переносят в подходящий флакон и почти полностью погружают в водяную баню, термостатированную при 37°C. Оставляют при перемешивании с помощью магнитной мешалки на 10 мин. Затем добавляют 50 микролитров 0,5 мг/мл раствора ингибирующего вещества (без фермента) и систему выдерживают при инкубации в течение ровно 10 мин. По истечении этого периода времени добавляют 0,5 мл раствора трихлоруксусной кислоты 5% и оставляют еще на 5 мин. Вносят 50 микролитров раствора 1 мг/мл фермента без ингибирующего вещества. Во флакон с помощью градуированной пипетки добавляют ровно 3 мл дистиллированной воды с pH 1,5, затем раствор перемешивают и фильтруют с помощью шприцевого фильтра 0,45 мкм. Поглощение с длинами волн от 300 до 250 нм регистрируют с помощью спектрофотометра, используя величину поглощения при 280 нм в качестве эталона.

VI. Вычисления.

Каждый эксперимент повторяли по меньшей мере дважды. Конечная величина поглощения (A) при 280 нм представляла собой среднее из полученных значений поглощения (с неопределенностью значений всегда намного меньше 10%).  $\Delta A$  при  $\Delta A_x = A_{280} \text{ вещество } X_{\text{образца}} - A_{280} \text{ вещество } X_{\text{контроля}}$  и  $\Delta A_0 = A_{280} \text{ свободный пепсин образца} - A_{280} \text{ свободный пепсин контроля}$  в случае отсутствия ингибирующего вещества ассоциировано с ингибирующим пепсин веществом. Найденная величина  $\Delta A$  пропорциональна количеству растворимых остатков ароматических аминокислот, высвобождаемых в раствор в результате протеолитического действия пепсина отдельно или в присутствии ингибитора (пепстатина А).

На фиг. 1 представлены спектры поглощения контроля и образца (время реакции составляет 10 мин) без присутствия какого-либо ингибитора.  $\Delta A_0 = 0,40$ .

Максимальная разница в поглощении между образцом и контролем при 280 нм равна 0,34 и это свидетельствует о протеолитическом действии фермента пепсина на субстрат в течение 10-минутного периода времени без присутствия ингибитора в данных экспериментальных условиях.

Остаточную активность в присутствии вещества X вычисляли на основе приведенного ниже уравнения.

Уравнение 1.

Остаточная активность =  $(\Delta A_x / \Delta A_0) \times 100$ .

VII. Результаты и обсуждение.

VII.A. Пепстатин.

Таблица 5

Значения  $\Delta A_x$  при 280 нм для исследуемого вещества и остаточной активности по отношению к измеренной максимальной активности

Вещество	$\Delta A_x$	Остаточная активность
отсутствует	0,340	100%
ПЕПСТАТИН	0	0%

Концентрацию вещества (0,01%) подбирали так, чтобы наблюдалось ингибирование пепсина и чтобы максимально снизить оптическую диффузию, вызванную ингибитором. Используемый метод Anson позволяет нормализовать увеличение поглощения относительно диффузии, что оказывает эквивалентное воздействие как на контроль, так и на образец для каждого вещества. Фактически разницу в поглощении при 280 нм измеряли независимо от явления диффузии.

Пепстатин показал полное снижение остаточной активности ( $\Delta A_x = 0$ ).

Пепстатин не растворим в H<sub>2</sub>O, но суспензия, полученная в лаборатории, была полностью эффективной для искомых целей ( $\Delta A_x = 0$ ).

На фиг. 2 представлены спектры поглощения контроля и образца (время реакции составляло 10 ми-

нут) в присутствии 0,01% пепстатина (суспензия в H<sub>2</sub>O; большая поглощающая способность контроля из-за суспензии пепстатина),  $\Delta A_0 = 0,004$ , и сравнение со спектрами свободного пепсина без присутствия ингибиторов  $\Delta A_x = 0,340$ .

Пепстатин прекрасно растворялся в этаноле (EtOH) в концентрации 1 мг/мл.

Такой раствор можно разводить в воде. Пепстатин сохраняет свою ингибирующую активность даже после разведения в воде из EtOH, и он остается растворимым; это доказывается тем фактом, что он сохраняет свою ингибирующую способность и тем фактом, что не наблюдается эффекта рассеивания в отношении контроля (индекс агрегации молекул в данном случае не обнаружен).

Затем измеряли активность пепсина в присутствии пепстатина 1 мкМ в условиях тестирования, идентичных предыдущим тестам. Пепстатин добавляли к гемоглобину 2% перед добавлением пепсина. В свете вышеизложенного изучали, было ли связывание фермента с ингибитором немедленным или более медленным в масштабе времени эксперимента ( $t$  равно 10 мин) (кинетическое исследование). Готовили растворы гемоглобина 2%, 1 мкМ в пепстатине и измеряли различные активности после добавления фермента. Результаты эксперимента показаны на фиг. 3.

На фиг. 3 представлены спектры поглощения контроля (пепсин без пепстатина) и образца (время реакции составляло 10 мин) при pH 1,5 в присутствии пепстатина (разведенного в H<sub>2</sub>O после растворения в EtOH 1 мг/мл) 1 мкМ.

Фиг. 3 сразу показывает полное снижение активности при концентрации 1 мкМ. С кинетической точки зрения, учитывая, что активность в основном равна нулю, ясно, что это немедленное связывание между ферментом и ингибитором, учитывая, что у фермента нет времени для осуществления своего протеолитического действия, когда ингибитор уже присутствует в гемоглобине 2%.

#### VII.B. Альгинат магния.

Стерильный водный раствор, содержащий альгинат магния 0,2% мас./мас. (иначе, раствор альгината), добавляли к раствору гемоглобина в качестве следующей стадии экспериментов.

Выбранная концентрация указанного раствора альгината в гемоглобине составляла 1%. Такая концентрация позволяет избежать рассеивания и не приводит к полному снижению активности. Показано, что раствор альгината в гемоглобине ингибирует пепсин со снижением активности по отношению к свободному пепсину на 60% при pH 1,5 (фиг. 4). На фиг. 4 показано снижение активности пепсина в присутствии водного раствора альгината магния 1% при pH 1,5.

#### VII.C. Пепстатин + альгинат магния.

Чтобы протестировать синергический эффект пепстатина с альгинатом магния (композиции по изобретению) по полному ингибированию пепсина, готовили растворы гемоглобина с pH 1,5, в которых присутствовал 1% указанного водного раствора, содержащего альгинат магния 0,2% мас./мас. (см. пункт VII.B) и 1 мкМ пепстатина, растворенного в таком растворе (в количестве раствора, содержащего альгинат, добавленного к гемоглобину, было такое количество пепстатина, чтобы получить конечную концентрацию определяемого пепстатина) и измеряли различные активности после добавления фермента (пепсина). Результаты эксперимента показаны на фиг. 5.

Разведение этанольного раствора пепстатина 1 мг/мл в водном растворе альгината магния не ставит под угрозу растворение и ингибирующую способность пепстатина.

На фиг. 5 показан спектр поглощения контроля (пепсин без пепстатина, но с 1% в гемоглобине раствора, содержащего альгинат магния) и образцов (время реакции равно 10 минут) при pH, равном 1,5, в присутствии 1% раствора альгината магния и пепстатина 100 нМ (пепстатин, разведенный в водном растворе альгината магния после растворения в EtOH 1 мг/мл).

Синергический эффект пепстатина вместе с альгинатом магния позволял получить полное снижение активности пепсина за счет концентрации в пепстатине, равной 100 нМ (на порядок меньше по отношению к пепстатину в воде).

#### VIII. Заключение.

Пепсин может присутствовать в слезах у пациентов с гастроэзофагеальным рефлюксом. Такой фермент вызывает повреждение глаза из-за его протеолитического действия, когда он все еще активен. Альгинаты ингибируют пепсин неконкурентным и дозозависимым образом. Пепстатин А, наоборот, ингибирует пепсин в пиколярных концентрациях. Бинарная система пепстатин-альгинат магния имеет синергический ингибирующий эффект, который полностью дезактивирует фермент пепсин прямо из пиколярных концентраций благодаря пепстатину, и она связывает такой фермент посредством неспецифического связывания альгинатом магния, который в то же время оказывает смазывающее действие. Таким образом, такая бинарная система лечит и предупреждает повреждение глаз, вызываемое пепсином.

Пепстатин является нерастворимым в воде; фактически его всегда использовали в виде суспензии, способной ингибировать пепсин в любом случае. Заявитель обнаружил способ, посредством которого такой ингибитор может быть растворен в воде без использования токсичных растворителей. Этанольный раствор пепстатина может быть разведен в воде. Он все еще сохраняет свою ингибирующую активность и остается растворенным после разведения. Пепстатин, растворенный в воде посредством этого способа, способен ингибировать пепсин стехиометрически. В растворе не было обнаружено присутствия суспен-

зий или осадков. Связывание с пепсином в воде является немедленным в человеческом масштабе времени до той степени, при которой пепсин, добавленный к гемоглобину во время экспериментов, не может выполнять свое протеолитическое действие в присутствии ингибитора.

#### IX. Способ изготовления.

Далее описаны стадии изготовления композиции в жидкой форме на водной основе, включающей пепстатин и альгинат магния (композиция по изобретению, табл. 6).

##### Стадия 1:

отмерить воду и налить ее в стакан при перемешивании с помощью магнитной мешалки; отключить перемешивание и нагреть воду до 50°C; добавить буферные соли.

Сырье: деминерализованная вода, тетраборат натрия, борная кислота.

##### Стадия 2:

добавлять ингредиенты в указанной последовательности (1. хлорид натрия, 2. альгинат магния) постепенно, дожидаясь полного растворения;

полученный раствор оставлять при перемешивании на 30 мин.

Стадия фильтрации 1: полученный раствор следует профильтровать с помощью PES (полиэфир-сульфон)-фильтра 0,2 мкм.

##### Стадия 3:

после 1-ой фильтрации отмерить воду и вылить ее в стакан, включить перемешивание и нагреть воду до 50°C;

добавить этанольный раствор пепстатина (например, в концентрации 1 мг/мл);

оставить полученный раствор при перемешивании на 30 мин.

Пепстатин: изовалерил-L-вал-L-вал-статил-L-аланил-статин или изовалерил-L-вал-L-вал-4-(S)-амино-3-(S)-гидрокси-6-метил-гептаноил-2-ала-4-(S)-амино-3-(S)-гидрокси-6-метил-гептаноил-кислота).

Стадия фильтрации 2: полученный раствор следует профильтровать с помощью фильтра PES 0,2 мкм.

Таблица 6

(конечная концентрация в пепстатине примерно 1 мкМ)

Компоненты	Количество	Единицы измерения
ОЧИЩЕННАЯ ВОДА	95,00-99,00	г
ТЕТРАБОРАТ НАТРИЯ	0,050-0,250	г
БОРНАЯ КИСЛОТА	0,250-1,250	г
АЛЬГИНАТ МАГНИЯ	0,050-0,350	г
БЕЗВОДНЫЙ ХЛОРИД НАТРИЯ	0,200-0,760	г
ПЕПСТАТИН в EtOH 1 мг/мл	0,005-0,100	г

Физические характеристики композиции табл. 6:

pH - примерно 7,53;

осмоляльность - примерно 304 мосмоль·кг<sup>-1</sup>;

вязкость - примерно 1,309 cSt (сантистокс);

плотность - примерно 1,003 г·кг<sup>-1</sup>.

Способы измерения указанных физических величин:

осмоляльность: осмометр;

вязкость: вискозиметр Оствальда (измерено при комнатной температуре);

pH: pH-метр;

плотность: пикнометр.

Ожидаемое количество пепстатина в композиции: меньше или равно 1 мкМ.

Пепстатин растворим в этаноле вплоть до 1 мг/мл.

Воплощения E(n) настоящего изобретения проиллюстрированы ниже.

E1. Водная композиция для офтальмологического применения, содержащая

(1) смесь M, содержащую:

(а) пепстатин или его фармацевтически приемлемую соль; и

(б) альгиновую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль; или, альтернативно, состоящую из вышеперечисленного;

(2) по меньшей мере одну офтальмологическую добавку и/или по меньшей мере один офтальмологический эксципиент.

E2. Композиция согласно E1, где указанная смесь M дополнительно содержит (в) гиалуроновую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль.

Е3. Композиция согласно Е2, где указанная (1) смесь (М) содержит:

(а) пепстатин;

(б) альгинат щелочного или щелочно-земельного металла, предпочтительно альгинат магния; и,

(в) гиалуронат щелочного или щелочно-земельного металла, предпочтительно гиалуронат натрия, или, альтернативно, состоит из вышеперечисленного.

Е4. Композиция согласно любому из Е1-Е3, где указанная композиция приготовлена для офтальмологического применения; предпочтительно в жидкой форме для офтальмологического применения, более предпочтительно она представляет собой глазные капли или глазные капли на водной основе; или, альтернативно, полутвердая форма для офтальмологического применения, предпочтительно мазь, бальзам, гель или крем.

Е5. Композиция согласно любому из Е1-Е4 для применения в качестве лекарственного средства.

Е6. Композиция согласно любому из Е1-Е4 для применения в способе превентивного и/или куративного лечения заболевания или симптома глазного яблока и/или периокулярной области, связанного с присутствием пепсина в слезной жидкости у нуждающегося в этом субъекта или являющегося его следствием.

Е7. Композиция для применения согласно Е6, где указанное заболевание или симптом глазного яблока и/или периокулярной области выбраны из группы, включающей синдром слезной дисфункции (LDS) или синдром сухого глаза, конъюнктивит конъюнктивы, конъюнктивит роговицы, внутриглазное воспаление, периокулярное воспаление, блефарит, кератит и увеит, или, альтернативно, состоящей из вышеуказанного; предпочтительно выбраны из группы, включающей синдром слезной дисфункции (LDS) или синдром сухого глаза, конъюнктивит конъюнктивы, конъюнктивит роговицы, внутриглазное воспаление и периокулярное воспаление, или, альтернативно, состоящей из вышеуказанного.

Е8. Композиция для применения согласно Е6 или Е7, где указанная композиция предназначена для применения в способе превентивного и/или куративного лечения заболевания или симптома глазного яблока и/или и/или периокулярной области у: (1) субъекта с желудочным рефлюксом, который происходит из желудка в эзофагеальную и/или экстраэзофагеальную область, (2) субъекта с заболеванием или симптомом, связанным с указанным желудочным рефлюксом или являющимся его следствием.

Е9. Композиция для применения согласно Е8, указанные заболевания или симптомы, связанные с указанным желудочным рефлюксом, который происходит из желудка в эзофагеальную и/или экстраэзофагеальную область, или являющиеся его следствием, выбраны из группы, включающей гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (GERD), эрозивную или неэрозивную, ларингофарингеальный рефлюкс (LPR) или экстраэзофагеальный рефлюкс, эзофагит, эзофагеальные язвы, деэпителизацию эзофагеальной слизистой оболочки, кислотную регургитацию, изжогу, ощущение переполнения желудка, боль в эпигастрии, диспепсию, тошноту, хронический кашель, бронхоспазм, воспаление горла, ларингит, ощущение "комка в горле" или гипофарингеальный болюс, пироз, дисфонию и ринофарингеальный флогоз, или, альтернативно, состоящей из вышеуказанного.

Е10. Способ изготовления композиции согласно любому из пп.Е1-Е4, включающий:

стадию (1) растворения пепстатина в растворителе, предпочтительно в спиртовом растворителе или этаноле при нейтральном рН с получением спиртового раствора пепстатина, затем

стадию (2) разведения спиртового раствора пепстатина в водном растворе, содержащем соль альгиновой кислоты, предпочтительно альгинат щелочного или щелочно-земельного металла, более предпочтительно альгинат магния.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Офтальмологическая композиция, содержащая

(1) смесь М, содержащую

(а) этанольный раствор пепстатина и

(б) 1% водный раствор альгината магния, где смесь М содержит 100 нМ пепстатин; и

(2) по меньшей мере одну офтальмологическую добавку и/или по меньшей мере один офтальмологический эксципиент.

2. Композиция по п.1, где указанная смесь М дополнительно содержит (в) гиалуроновую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль.

3. Композиция по п.2, где указанная (1) смесь (М) содержит

(в) гиалуронат щелочного или щелочно-земельного металла, предпочтительно гиалуронат натрия.

4. Композиция по любому из пп.1-3, где указанная композиция предпочтительно приготовлена в жидкой форме, более предпочтительно она представляет собой глазные капли или глазные капли на водной основе; или, альтернативно, в полутвердой форме, предпочтительно мазь, бальзам, гель или крем.

5. Применение композиции по любому из пп.1-4 в качестве лекарственного средства.

6. Применение композиции по любому из пп.1-4 в способе превентивного и/или куративного лечения заболевания или симптома глазного яблока и/или периокулярной области, связанного с присутстви-

ем пепсина в слезной жидкости или являющегося его следствием, у нуждающегося в этом субъекта.

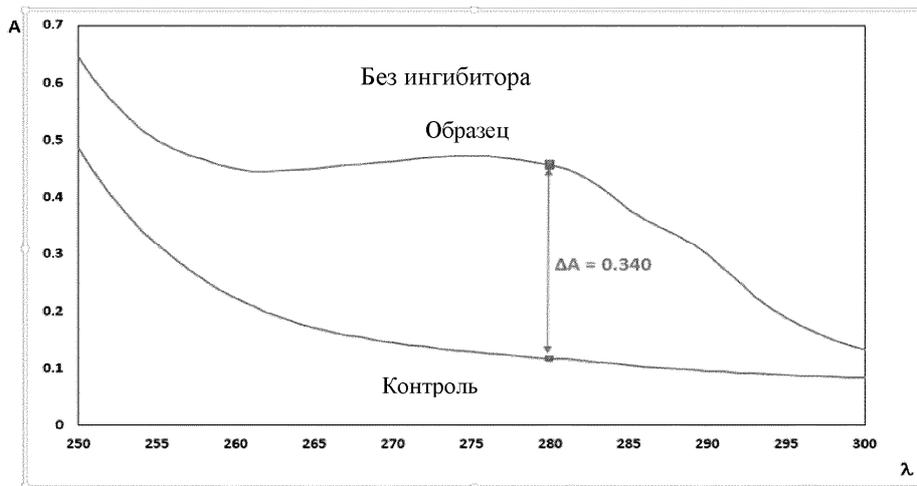
7. Применение по п.6, где указанные заболевание или симптом глазного яблока и/или периокулярной области выбраны из группы, включающей синдром слезной дисфункции (LDS) или синдром сухого глаза, конъюнктивит конъюнктивы, конъюнктивит роговицы, внутриглазное воспаление, периокулярное воспаление, блефарит, кератит и увеит, или, альтернативно, состоящей из вышеуказанного; предпочтительно выбраны из группы, включающей синдром слезной дисфункции (LDS) или синдром сухого глаза, конъюнктивит конъюнктивы, конъюнктивит роговицы, внутриглазное воспаление и периокулярное воспаление, или, альтернативно, состоящей из вышеуказанного.

8. Применение по п.6 или 7, где указанный субъект представляет собой: (1) субъекта с желудочным рефлюксом, который происходит из желудка в эзофагеальную и/или экстраэзофагеальную область, (2) субъекта с заболеванием или симптомом, связанным с указанным желудочным рефлюксом или являющимся его следствием, предпочтительно где указанное заболевание или симптом выбрано из группы, включающей гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (GERD), эрозивную или неэрозивную, ларингофарингеальный рефлюкс (LPR) или экстраэзофагеальный рефлюкс, эзофагит, эзофагеальные язвы, деэпителизацию эзофагеальной слизистой оболочки, кислотную регургитацию, изжогу, ощущение переполнения желудка, боль в эпигастрии, диспепсию, тошноту, хронический кашель, бронхоспазм, воспаление горла, ларингит, ощущение "комка в горле" или гипофарингеальный болнос, пироз, дисфонию и ринофарингеальный флогоз, или, альтернативно, состоящей из вышеуказанного.

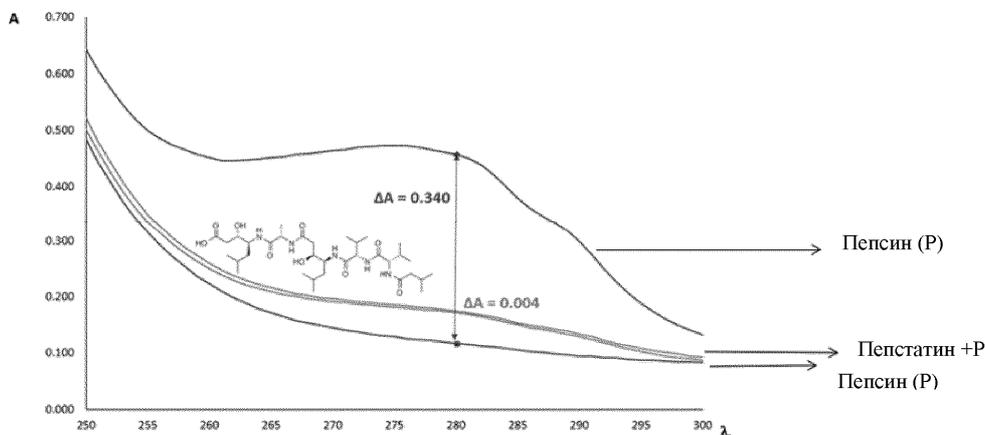
9. Способ изготовления композиции по любому из пп.1-4, включающий:

стадию (1) растворения пепстатина в этаноле при нейтральном pH с получением этанольного раствора пепстатина, затем

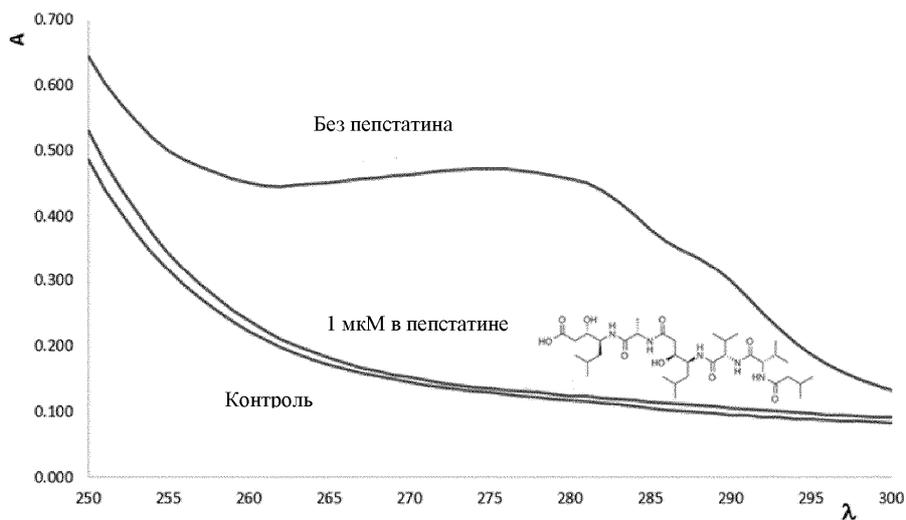
стадию (2) разведения этанольного раствора пепстатина в водном растворе, содержащем альгинат магния.



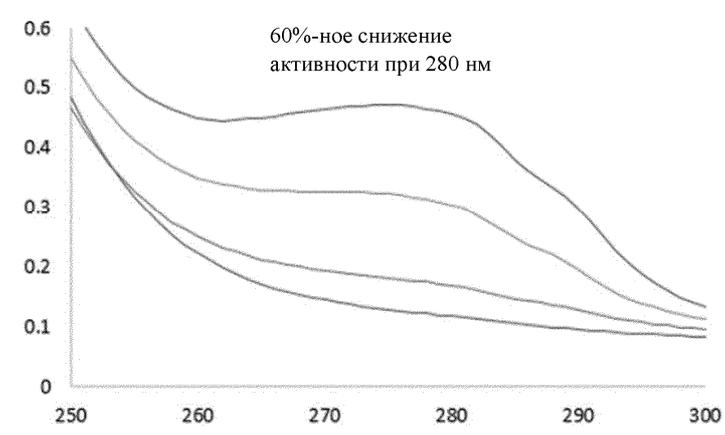
Фиг. 1



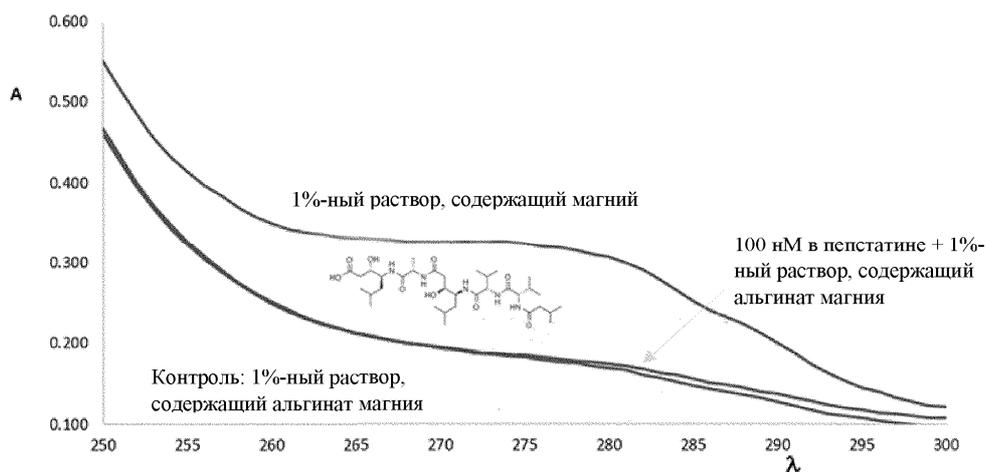
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

