

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202490381** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.07.02

(22) Дата подачи заявки
2022.08.03

(51) Int. Cl. *A61K 31/721* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 33/26 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 47/61 (2017.01)
A61P 7/06 (2006.01)

(54) **СОЕДИНЕНИЯ КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА ДЛЯ ПОДКОЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ТЕРАПИИ ДЕФИЦИТА ЖЕЛЕЗА У ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ**

(31) **21189392.0**

(32) **2021.08.03**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2022/071875**

(87) **WO 2023/012242 2023.02.09**

(71) Заявитель:

**ФАРМАКОСМОС ХОЛДИНГ А/С
(DK)**

(72) Изобретатель:

Андреасен Ханс Б., Кристенсен

Тобиас С., Гульдберг Симон М (DK)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к соединениям комплекса железа для подкожного применения в способе терапии, например, при дефиците железа, в частности железodefицитной анемии, у домашних животных, а также к фармацевтическим композициям для подкожного введения, содержащим соединение комплекса железа и фармацевтически приемлемый носитель. Настоящее изобретение относится, более конкретно, хотя и не исключительно, к комплексам октасахарида железа, фармацевтическим композициям, содержащим комплекс октасахарида железа, и комплексам октасахарида железа для применения в способе терапии дефицита железа, в частности, железodefицитной анемии, у человека или субъекта, не являющегося человеком.

A1

202490381

202490381

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580424EA/061

СОЕДИНЕНИЯ КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА ДЛЯ ПОДКОЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ТЕРАПИИ ДЕФИЦИТА ЖЕЛЕЗА У ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Область техники

Настоящее изобретение относится к соединениям комплекса железа для подкожного применения в способе терапии дефицита железа у домашних животных и к фармацевтическим композициям для подкожного введения, содержащим соединение комплекса железа и фармацевтически приемлемый носитель. Настоящее изобретение более конкретно, хотя и не исключительно, относится к комплексам октасахариды железа, фармацевтическим композициям, содержащим комплекс октасахариды железа, и комплексам октасахариды железа для применения в способе терапии дефицита железа у человека или субъекта, не являющегося человеком.

Уровень техники

Анемия является относительно распространенным клиническим признаком и отклонением лабораторных показателей, наблюдаемым у собак, а также других домашних животных. Из всех собак, поступивших в клинические учреждения в больницы Банфилда, США, в 2005 году, от 3% до 11% страдали анемией (Lund, 2007). Считается, что из этих собак с анемией, определенная часть страдает анемией из-за дефицита железа (железодефицита; ID), в результате чего, по оценкам, распространенность железодефицитной анемии у собак (IDA) составляет 20-110 собак на каждые 10000 собак. Учитывая, что популяция собак в США составляет примерно 90 миллионов (American Pet Products Association, National Pet Owners Survey 2016), это означает, что от 180000 до 990000 собак страдают IDA. Таким образом, IDA у собак так же распространена и важна, как и у людей.

Область клинической гематологии является ключевой для большинства нарушений у домашних животных и включает анемии, вызванные кровопотерей, гемолизом, нарушениями костного мозга, нарушениями свертываемости крови, гемопоетической токсичностью, инфекциями и раком. Она посвящена рутинной и специфической диагностике эритроцитов (RBC), лейкоцитов, тромбоцитов и факторов свертывания крови, и поддерживающей и специфической терапии анемии, включая трансфузионную терапию.

Во время эритропоэза, RBC продуцируются из плюрипотентных стволовых клеток костного мозга, которые подвергаются пролиферации и созреванию в течение 7-10 дней, прежде чем зрелые RBC высвобождаются в кровоток. Эритропоэз в основном регулируется почечным гормоном эритропоэтином, который синтезируется и высвобождается из клеток почек, в которых имеется почечная гипоксия. Гемоглобин синтезируется на более поздних стадиях созревания эритроида из бурстообразующих единиц и (мета-)рубрицитов в ретикулоциты. Для того чтобы произошла гемоглобинизация, железо должно присутствовать в костном мозге.

Например, у здоровой собаки, эритроциты составляют 36-58% объема крови. Они не имеют ядра и митохондрий и поэтому имеют ограниченную продолжительность жизни приблизительно 100 дней, и разрушаются экстравакуляро макрофагами. Основная функция RBC заключается в том, что они служат переносчиком кислорода. Каждая RBC содержит примерно 33% гемоглобина (Hb), который состоит из 4 цепей глобина и одного центрального гема, содержащего железо. Железо в двухвалентной форме (Fe^{2+}) может связывать кислород и, в зависимости от давления кислорода, связывать (легкие) кислород с гемоглобином или высвобождать (периферические ткани) кислород из Hb. Оксигенация тканей необходима для продуцирования энергии и всех клеточных функций.

Термин «анемия» происходит от греческих слов «ан» (без) и «хейма» (кровь). Анемия является клиническим признаком у животных или клиническим симптомом у человека. Низкая концентрация Hb и/или низкий гематокрит (Hct)/объем осажденных клеток (PCV) указывают на наличие анемии. В то время как в медицине предпочитают концентрации Hb, в ветеринарии чаще всего используют Hct/PCV (хотя эти параметры менее точны). Механистически, анемии подразделяют на гемолитические анемии, анемии кровопотери и сниженный или неэффективный эритропоэз. При гемолизе, продукты распада Hb лизированных RBC рециркулируются и обычно становится доступным большое количество железа. Кровопотеря может быть внутренней или наружной, может быть локальной вследствие рваной раны или многоочаговой вследствие нарушений гемостаза; и при хронической внешней кровопотере наступает железная IDA. Кроме того, снижение или неэффективность эритропоэза может иметь множество причин, таких как токсичность, инфекции, рак, заболевания почек и дефицит питательных веществ, такой как дефицит железа и витамина B12 (Giger, 2005; Weiss, 2010).

У собак, например, содержится приблизительно 10-50 мг железа/кг массы тела, и большая его часть находится в эритроцитах в виде Hb; фактически, 1 мг железа содержится в каждых 2 мл крови. Кроме того, миоглобин в мышечных тканях и многие важные ферменты во всех клетках, например, цитохромы, участвующие в энергетическом и лекарственном метаболизме, представляют собой гемовые белки и содержат железо. Железо транспортируется через трансферрин в крови и хранится в виде растворимой подвижной фракции (ферритин) и нерастворимой фракции (гемосидерин), главным образом, в селезенке, печени и костном мозге, в зависимости от количества присутствующего железа (Olver et al., 2010; Cohen-Solal et al., 2014). Трансферрин представляет собой переносчик железа в плазме и обычно на 20-60% насыщен.

В физиологических условиях, потери железа через кишечник, мочу и кожу незначительны и составляют у собак менее 1-2 мг/день. Железо поступает с пищей, при этом собачьи рационы, содержащие мясо, богаты железом. Поскольку слишком много железа может быть токсичным, баланс железа тщательно регулируется путем всасывания в кишечнике. Недавно были выяснены механизмы всасывания железа в двенадцатиперстной кишке, где основным ингибирующим регулятором является печеночный гормон гепсидин. Всасывание железа увеличивается при уменьшении запасов

железа и повышении эритропоэтической активности, и связано с низкими концентрациями гепсидина. При высоких концентрациях железа в сыворотке, гепсидин высвобождается из печени и образует комплекс с ферропортином для снижения всасывания железа в кишечнике (Olver et al., 2010).

Хотя домашним животным с ИДА, таким как собаки, обычно назначают переливание крови и парентеральные и пероральные добавки железа, в дополнение к коррекции причины ИДА, подробных отчетов об эффективности и безопасности лечения в собачьей ветеринарии нет. Надлежащая разработка и одобрение регулирующих органов безопасных и эффективных парентеральных препаратов железа будет иметь большую пользу и ценность для собак и других домашних животных с ИДА.

Что касается пероральных препаратов железа и пищевых добавок железа, можно резюмировать - хотя и с небольшими убедительными доказательствами - что препараты сульфата, глюконата или fumarата железа в дозе 5 мг/фунт в день или от 100 до 300 мг в день на собаку может быть эффективной при условии, что а) усвоение железа в желудочно-кишечном тракте не нарушено, б) побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта отсутствуют или терпимы (например, рвота и диарея), и с) ежедневная дозировка соблюдается в течение нескольких недель или месяцев.

Что касается парентеральных препаратов железа, то в настоящее время нет таких препаратов, одобренных в США и многих других странах, для профилактики, лечения, ведения или контроля ИДА у собак. Несмотря на эту ситуацию, в нескольких источниках описано использование одобренного для человека или поросят продукта с декстраном железа у собак. Разнообразие рекомендаций отражает эту ситуацию:

- Plumb's Veterinary Drug Handbook (Plumb, 2008): «При железодефицитной анемии назначают декстран железа 10-20 мг/кг однократно с последующим пероральным приемом сульфата железа».

- Textbook of Veterinary Internal Medicine (Giger, 2005): «Для пополнения запасов железа в контексте железодефицитной анемии, вторичной по отношению к заболеванию, если пероральная замена железа считается неподходящей или недостаточной, или желудочно-кишечное нарушение препятствует всасыванию железа, можно вводить парентеральное железо. До 2 мл комплекса декстрана железа (50 мг/мл) внутримышечно ежедневно». То есть до 100 мг железа в день или до 20 мг/кг для собак весом 5 кг/11 фунтов, и более низкая удельная доза (мг/кг/день) для более крупных собак.

- Small Animal Internal Medicine (Nelson & Couto, 1998): При железодефицитной анемии «можно также вводить внутримышечно декстран железа в дозе 10 мг/кг один-два раза в неделю. Эта форма терапии железом связана с болью в месте инъекции и возможностью анафилактических реакций».

- Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult (Weiser, 2015): При железодефицитной анемии, «начинайте терапию железом с помощью инъекций железа. Декстран железа - медленно высвобождающаяся форма железа для инъекций; одна инъекция (10-20 мг/кг в/м) с последующим пероральным приемом».

Belfer® (комплекс декстрана железа 100 мг/мл, bela-pharm GmbH & Co. KG) одобрен для применения у различных видов животных, однако безопасность и эффективность Belfer® не изучались у всех видов, для которых он одобрен - в частности, похоже, что он ранее не изучался на кошках и собаках. Тем не менее, в нескольких странах он одобрен для использования у собак. Утвержденная доза и способ введения для собак составляют 1-2 мг железа на кг массы тела (т. е. 0,01-0,02 мл на кг массы тела) в виде внутримышечной инъекции. Это довольно низкая и, вероятно, субтерапевтическая доза для лечения ИДА у собак.

Безопасный парентеральный препарат железа для собак с ИДА, вводимый в правильной дозе и правильным образом, будет иметь ключевое преимущество, заключающееся в том, что терапевтический эффект пополнения запасов железа и повышения концентрации Hb - и, следовательно, также Hct/PCV - происходит очень быстро.

Существует несколько опубликованных сообщений о внутримышечных инъекциях декстрана железа в дозах от 10 до 20 мг/кг собакам для лечения или ведения ИДА. Примеры таких сообщений о случаях:

- Однократная инъекция декстрана железа в дозе 13 мг/кг золотистому ретриверу (Cook & Kvitko-White, 2014).
- Однократная инъекция декстрана железа в дозе 15 мг/кг собаке-метису (Thrall & Gillespie, 2011).
- 3 инъекции декстрана железа по 10 мг/кг в течение одной недели двум собакам (Harvey et al., 1982).
- 1-2 инъекции декстрана железа в дозе 20 мг/кг 7 собакам с интервалом 6-13 дней (Fry & Kirk, 2006).

В другом сообщении описывается введение олигосахарида железа здоровым собакам:

- Инфузия олигосахарида железа-(III)-гидроксида в дозах 7,1 и 21,3 мг/кг (Preusser et al, 2005).

Однако в настоящее время не существует парентеральных препаратов железа, специально разработанных для терапии дефицита железа у домашних животных.

Настоящее изобретение было разработано в свете вышеизложенных соображений.

Сущность изобретения

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к соединению комплекса железа для подкожного применения в способе терапии дефицита железа у домашних животных.

В первом варианте осуществления указанного первого аспекта, домашним животным является собака.

Во втором варианте осуществления указанного первого аспекта, способ включает введение дозы 20 мг элементарного железа на кг массы тела.

Во втором аспекте, настоящее изобретение относится к фармацевтической

композиции для подкожного введения, содержащей соединение комплекса железа и фармацевтически приемлемый носитель.

В первом варианте осуществления указанного второго аспекта, фармацевтическая композиция представляет собой готовую к использованию композицию для инъекций.

Во втором варианте осуществления указанного второго аспекта, фармацевтическая композиция содержит 100 мг/мл элементарного железа.

В дополнительном варианте осуществления указанных первого и второго аспектов, соединение комплекса железа представляет собой комплекс олигоизомальтозы железа или комплекс олигоизомальтозида железа. В конкретном варианте осуществления, соединение комплекса железа представляет собой комплекс олигосахарида железа, включающий железо в комплексе с олигоизомальтозидом, где (i) олигоизомальтозид имеет средневесовую молекулярную массу в диапазоне от 850 до 1150 Да; (ii) содержание моносахарида и дисахарида составляет менее 10,0% от массы олигоизомальтозида; (iii) фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 30% массовых олигоизомальтозида; (iv) по меньшей мере 40% массовых молекул содержат 3-6 моносахаридных единиц; (v) «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) комплекса находится в диапазоне от 130000 до 180000 Да; (vi) дисперсность (M_w/M_n) комплекса находится в диапазоне от 1,05 до 1,4; и (vii) количество восстанавливающего сахара составляет 2,5% или менее от массы олигоизомальтозида. Альтернативно и предпочтительно, если рассматривать его в контексте подкожного введения, соединение комплекса железа представляет собой комплекс октасахарида железа, содержащий железо в комплексе с октасахаридом, где (i) октасахарид имеет средневесовую молекулярную массу в диапазоне от 1150 до 1350 Да; (ii) содержание моносахарида и дисахарида составляет менее 10,0% от массы октасахарида; (iii) фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 40% массовых октасахарида; (iv) по меньшей мере 40% массовых молекул содержат 6-10 моносахаридных единиц; (v) «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) октасахаридного комплекса находится в диапазоне от 125000 до 185000 Да; (vi) дисперсность (M_w/M_n) комплекса находится в диапазоне от 1,05 до 1,4; и (vii) количество восстанавливающего сахара составляет 2,5% или менее массовых октасахарида.

В третьем аспекте, настоящее изобретение относится к указанному октасахариду железа, фармацевтической композиции, содержащей указанный октасахарид железа и фармацевтически приемлемый носитель, и комплексу октасахарида железа для применения в терапевтическом способе, более конкретно, для применения в способе терапии дефицита железа, например, железодефицитной анемии у человека или субъекта, не являющегося человеком.

Изобретение включает комбинацию описанных аспектов и предпочтительных признаков, за исключением случаев, когда такая комбинация явно недопустима или ее явно следует избегать.

Сущность чертежей

Варианты осуществления и эксперименты, иллюстрирующие принципы изобретения, теперь будут обсуждаться со ссылкой на прилагаемые чертежи, на которых:

Фигура 1.

На Фигуре 1 показаны скорректированные по исходному уровню концентрации железа в сыворотке (мкмоль/л; среднее значение +/- СО) после введения внутримышечной (в/м) дозы (20 мг/кг=T4) или подкожной (п/к) дозы (20 мг/кг=T1, 60 мг/кг=T2 и 100 мг/кг=T3) комплекса олигоизомальтозида железа.

Фигура 2.

На Фигуре 2 показано изменение ферритина по сравнению с исходным уровнем (нг/мл; среднее значение +/- СО) после в/м дозы (20 мг/кг=T4) или п/к дозы (20 мг/кг=T1; 60 мг/кг=T2 и 100 мг/кг=T3) комплекса олигоизомальтозида железа.

Подробное описание изобретения

Аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения теперь будут обсуждаться со ссылкой на приложенные чертежи. Дополнительные аспекты и варианты осуществления будут очевидны специалистам в данной области техники. Все документы, упомянутые в этом тексте, включены в настоящий документ посредством ссылки.

Определения

Для того чтобы настоящее описание было более понятным, сначала определены некоторые термины. Дополнительные определения изложены по всему подробному описанию.

«Терапия» относится к любому типу вмешательства или процесса, выполняемого для, или введению активного агента субъекту с целью обратить вспять, облегчить, ослабить, ингибировать, замедлить или предотвратить начало прогрессирования, развития тяжести или рецидив клинического признака или симптома, осложнения, состояния или биохимических признаков, связанных с заболеванием или нарушением. «Терапия», используемая в настоящем документе, в частности, включает профилактику, контроль, лечение или ведение заболевания или нарушения, такого как дефицит железа или железodefицитная анемия. Согласно изобретению, лечение или ведение ID и особенно IDA представляет собой конкретный вариант осуществления.

«Субъект» включает любого человека или животное, не являющееся человеком. Термин «животное, не являющееся человеком», включает, но не ограничен ими, позвоночных, таких как приматы, отличные от человека, домашних животных, в частности, собак, кошек, лошадей и верблюдов, и грызунов, таких как мыши, крысы и морские свинки. Термин «животное, не являющееся человеком» также включает домашний скот, такой как свиньи, козы, овцы и крупный рогатый скот. Термины «субъект» и «пациент» используются в настоящем документе взаимозаменяемо.

Термин «домашнее животное» относится к животному, пригодному в качестве компаньона для человека. В некоторых вариантах осуществления, домашним животным является представитель псовых (например, собака), кошачьих (например, кошка), лошадиных (например, лошадь) или верблюдов. В некоторых вариантах осуществления, вид

домашнего животного представляет собой мелкое млекопитающее, такое как собака, кошка, кролик, хорек, морская свинка, грызун и т. д. В некоторых вариантах осуществления, вид домашнего животного представляет собой сельскохозяйственное животное, такое как лошадь или лама. В некоторых вариантах осуществления, вид домашнего животного представляет собой животное, используемое в соревнованиях, например, скаковое животное, такое как скаковая собака или скаковая лошадь. Домашних животных следует отличать от домашнего скота, такого как свиньи, козы, овцы, крупный рогатый скот и т. д.

«Терапевтически эффективное количество» или «терапевтически эффективная доза» лекарственного средства или терапевтического агента представляет собой любое количество лекарственного средства, которое при использовании отдельно или в комбинации с другим терапевтическим агентом, защищает субъекта от возникновения заболевания или способствует регрессии заболевания, о чем свидетельствует уменьшение выраженности симптомов заболевания, увеличение частоты и продолжительности бессимптомных периодов заболевания или профилактика ухудшения или инвалидности вследствие поражения заболеванием. Способность терапевтического агента способствовать регрессии заболевания может быть оценена с использованием различных способов, известных практикующему специалисту, например, на людях или животных во время клинических испытаний, в модельных системах на животных, прогнозирующих эффективность у людей, или путем анализа активности агента в анализах *in vitro*.

Термины «фармацевтический состав» и «фармацевтическая композиция» относятся к препарату, который находится в такой форме, которая позволяет биологической активности активного(ых) ингредиента(ов) быть эффективной, и которая не содержит дополнительных компонентов, неприемлемо токсичных для субъекта, которому будет вводиться состав.

«Фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу, технологической добавке или носителю, обычному в данной области техники, для использования с терапевтическим агентом, которые вместе составляют «фармацевтическую композицию» для введения субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель нетоксичен для реципиентов в используемых дозах и концентрациях и совместим с другими ингредиентами состава. Фармацевтически приемлемый носитель подходит для используемого состава.

Для целей настоящего текста, при указании дозы соединения комплекса железа в мг или г, в соответствии с практикой, описанной в литературе, значение относится к количеству элементарного железа, выраженному в мг или г.

Терапевтические способы

В настоящем документе описаны терапевтические способы, т.е. терапия дефицита железа, которая включает введение соединения комплекса железа в соответствии с определенными схемами введения и/или конкретным субъектам. Соответственно,

настоящее изобретение также относится к соединению комплекса железа для применения в указанных способах, применению соединения комплекса железа для терапии дефицита железа и/или применению соединения комплекса железа при производстве лекарственного средства для лечения дефицита железа.

Способы по изобретению обычно применяются к субъекту, нуждающемуся в этом. Субъект, нуждающийся в способах по настоящему изобретению, представляет собой субъекта, имеющего, диагностированного, подверженного или имеющего риск развития дефицита железа (ID). В некоторых вариантах осуществления, дефицит железа представляет собой железodefицитную анемию. Железodefицитная анемия (IDA) развивается при истощении запасов железа. Субъекты, страдающие ID, могут иметь IDA; субъекты с IDA обязательно страдают ID. Способы диагностики ID и IDA хорошо известны в данной области техники и широко используются в клинической практике.

Субъектам, имеющим, диагностированным, подозреваемым в наличии или подверженным риску развития ID или IDA, будет вводиться парентеральное железо в форме соединения комплекса железа, если пероральное железо не переносится, неэффективно или не может быть использовано у субъекта, например, субъектам, которые (i) имеют непереносимость перорального железа или (ii) имеют неудовлетворительный ответ на пероральное железо или (iii) когда применение перорального железа практически не завершено в течение необходимого периода времени (т. е. в случае несоблюдения курса лечения/отсутствия комплаентности к курсу лечения пероральным железом). Другой ситуацией, когда показано внутривенное, подкожное или внутримышечное введение железа, является необходимость быстрой доставки железа, т.е. когда существует клиническая необходимость в быстром пополнении запасов железа.

Субъекты, которым назначается терапия - домашние животные

Изобретение относится, в частности, к терапии дефицита железа у домашних животных, таких как представители псовых (например, собака), кошачьих (например, кошка) или лошадиных (например, лошадь), особенно, представителей псовых и кошачьих, таких как собаки и кошки. Предпочтительно, домашнее животное по изобретению представляет собой собаку.

Изобретение также относится к терапии дефицита железа у человека или субъекта, не являющегося человеком.

Дефицит железа и анемия

Состояния железodefицитной анемии возникают, когда железо недоступно в процессе эритропоэза либо из-за неадекватных или истощенных запасов железа в организме - абсолютная IDA - либо из-за неспособности мобилизовать железо из адекватных запасов железа в организме - функциональная IDA.

Функциональная железodefицитная анемия наблюдается при инфекциях, воспалениях и раке (Naigamwalla et al., 2012). При этом, гепсидин вызывает секвестрацию железа в нерастворимой форме гемосидерина в макрофагах печени, селезенки и костного мозга. Следовательно, железо не может быть мобилизовано для эритропоэза (Dignass,

2015), и возникает функциональная IDA.

При абсолютной IDA, запасы железа в организме истощаются в течение нескольких недель либо в результате хронической кровопотери, либо в результате низкого поступления железа с пищей. Хроническая внешняя кровопотеря является основной причиной железодефицитной анемии у собак. Тяжелое паразитарное заболевание, вызванное эктопаразитарным заболеванием, например, блохами и, реже, заражением клещами и личинками, а также эндопаразитарным заболеванием, например, нематодами и, реже, власоглавами, может вызвать значительную кровопотерю. Постоянная и периодическая кровопотеря желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) является частой причиной хронической или рецидивирующей внешней кровопотери, и, следовательно, потеря железа может быть результатом кровоточащих новообразований ЖКТ, таких как лейомиомы/саркомы и лимфомы, а также применения ulcerогенных лекарственных средств (глюкокортикостероидов, нестероидных противовоспалительных средств, химиотерапевтических агентов). Кроме того, хроническое воспалительное заболевание кишечника (IBD) может быть связано со значительной кровопотерей. Поскольку каждый регулярный сбор ~450 мл крови у субъекта-донора крови весом >23 кг удаляет из организма ~200 мг железа, чрезмерное усердие в сдаче крови и частые флеботомии в диагностических целях у субъектов небольшого размера также могут привести к состояниям дефицита железа.

Несмотря на то, что вышеуказанные триггеры могут привести к сильному кровотечению, несмотря на нормальный гемостаз, нарушения гемостаза могут вызвать дальнейшее хроническое и/или рецидивирующее тяжелое кровотечение с возникновением IDA. Они включают наследственные коагулопатии, тромбоцитопении, тромбопатии и болезнь фон Виллебранда.

У новорожденных и субъектов младшего возраста, например, у щенков и молодых собак, количество железа, необходимое для быстрого роста и эритропоэза, может превышать количество железа, доступное из рациона и запасов организма. Фактически, запасы железа у новорожденных, как правило, низкие, и в материнском молоке мало железа. Тем не менее, IDA обычно наблюдается только у щенков вместе с хронической внешней кровопотерей вследствие эндо- и эктопаразитарных заболеваний.

Таким образом, состояния, вызывающие железодефицитную анемию (IDA), включают, но не ограничены ими, кровотечение в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), которое может быть вызвано эндопаразитами (например, анкилостомами и власоглавами), желудочно-кишечными новообразованиями (например, лейомиомой/саркомой), желудочным изъязвлением (например, вызванным приемом лекарственных средств, таких как глюкокортикоиды, нестероидные противовоспалительные средства или химиотерапевтические агенты), воспалительным заболеванием кишечника (IBD) или другими тяжелыми инфильтратами ЖКТ, включая раки; другие внешние кровотечения, такие как носовое кровотечение (опухоль носа, инородное тело, инфекция), геморрагический цистит; новообразования почек/мочевого пузыря, донорство крови

(особенно при частом повторении), эктопаразиты (например, блохи, клещи, личинки), кровотечение из-за поражений кожи, хирургическое вмешательство/травма или маточная и вагинальная кровопотеря; нарушения гемостаза, такие как коагулопатия, тромбоцитопения, тромбоцитопатия, тромбопатия, болезнь фон Виллебранда или васкулопатия; недостаточное содержание железа в рационе, например, у грудных и отнятых от груди щенков из-за обедненной железом диеты (без мяса) или дефектов всасывания железа (например, железорезистентной железодефицитной анемии); и другие состояния, такие как хроническая болезнь почек (СКД).

Состояния, вызывающие IDA, могут быть хроническими или не хроническими. Состояния хронической или продолжающейся внешней кровопотери, которые могут вызвать IDA, могут быть результатом этиологии, которую трудно устранить и вылечить. Примерами являются рак, желудочно-кишечное (ЖК) кровотечение (например, вызванное неоперабельной опухолью) или воспалительное состояние, такое как воспалительные заболевания кишечника (IBD). Такие состояния могут быть управляемыми или контролируемыми только в том смысле, что их последствия могут быть отсрочены или уменьшены за счет применения методов лечения, которые ведут или контролируют заболевание или состояние. Такие заболевания или состояния могут быть описаны как хронические, текущие, периодические и/или неизлечимые. В некоторых вариантах осуществления, IDA, вызванную хроническим заболеванием или состоянием, ведут или контролируют путем введения субъекту более одной дозы соединения комплекса железа (например, путем повторного введения дозы).

IDA также может быть вызвана одним или несколькими основными заболеваниями или состояниями, которые поддаются лечению и не являются хроническими, такими как эктопаразиты (например, блохи, клещи, личинки) и эндопаразиты (например, нематоды и власоглавы), желудочно-кишечные (ЖК) кровотечения (например, вызванные операбельными опухолями и новообразованиями, язвами, рваными ранами, кровотечения, вызванные нестероидными противовоспалительными средствами), нарушение всасывания пищевого железа, недостаточное питание или другие внешние кровотечения (например, мочевое кровотечение, цистит, травма, хирургическая кровопотеря, донорство крови). Такие состояния можно лечить. Такие заболевания или состояния могут быть описаны как острые, не хронические и/или поддающиеся лечению. В некоторых вариантах осуществления, IDA, вызванную не хроническим заболеванием или состоянием, лечат введением субъекту однократной дозы соединения комплекса железа.

Частота возникновения указанных состояний у домашних животных варьируется в зависимости от вида. У кошек, например, СКД можно обнаружить в любом возрасте, но чаще всего она встречается у кошек среднего и пожилого возраста (старше 7 лет), и с возрастом она становится все более распространенной. Следовательно, кошки с СКД представляют собой особую группу субъектов, поддающихся терапии по изобретению. Другие конкретные группы субъектов, которые поддаются терапии по изобретению, будут очевидны специалистам в ветеринарной медицине.

Клинические признаки и симптомы дефицита железа и железodefицитной анемии

Диагноз дефицита железа и железodefицитной анемии основывается на оценке клинического анамнеза субъекта и представлении клинических признаков или симптомов (физическое обследование) в комбинации с гематологическими анализами.

Симптомы дефицита железа у людей могут возникнуть до того, как заболевание перерастет в железodefицитную анемию. Симптомы дефицита железа могут включать, например, усталость, головокружение, бледность, выпадение волос, раздражительность, слабость, извращенный аппетит, ломкость или бороздчатость ногтей, синдром Пламмера-Винсона (болезненную атрофию слизистой оболочки, покрывающей язык, глотку и пищевод), нарушение иммунной функции, пагофагию и синдром беспокойных ног, среди прочих.

У домашних животных, таких как собаки, дефицит железа и железodefицитная анемия развиваются в течение нескольких недель или месяцев и часто протекают незаметно, что позволяет им значительно адаптироваться в животном. За исключением специфических признаков внешнего кровотечения, в том числе из кишечного тракта, клинические признаки довольно неспецифичны и зависят больше от скорости прогрессирования, чем от степени анемии. Общие клинические признаки животных с ID или IDA включают, но не ограничены ими, бледность покровов, непереносимость физической нагрузки, летаргию, учащенный пульс, ритм галопа, систолический шум, извращенный аппетит, кардиомегалию, изменения когтей и снижение мышечной активности. Полезными индикаторами являются кровопотери в анамнезе, экто-/эндопаразитарные заболевания, нарушения ЖКТ, такие как язвы ЖКТ, новообразования, заболевания почек или другая значимая возможная причина ID и IDA.

Субъекты, проходящие терапию в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, могут испытывать улучшение дефицита железа (ID). Субъекты, проходящие терапию в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, могут испытывать улучшение состояния при железodefицитной анемии (IDA). Это улучшение может произойти по мере того, как общее количество железа в организме, концентрация гемоглобина в крови и/или способность крови переносить кислород у субъекта повышаются посредством введения соединения комплекса железа, описанного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, у субъектов, проходящих терапию в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, наблюдается уменьшение одного или нескольких клинических признаков или одного или нескольких симптомов ID или IDA. В некоторых вариантах осуществления, снижение является временным. В предпочтительном варианте осуществления, временное уменьшение одного или нескольких клинических признаков или одного или нескольких симптомов ID или IDA дает субъекту право на получение дополнительной дозы соединения комплекса железа. В других вариантах осуществления, снижение является постоянным. В некоторых вариантах осуществления, у субъектов, проходящих терапию в соответствии со

способами, описанными в настоящем документе, наблюдается исчезновение одного или нескольких клинических признаков или симптомов ID или IDA. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько клинических признаков или симптомов ID или IDA выбраны из бледности покровов, непереносимости физической нагрузки, вялости, учащенного пульса, ритма галопа, систолического шума, извращенного аппетита, кардиомегалии, изменения когтей и сниженной мышечной активности и комбинаций вышеизложенного.

Параметры запасов железа

Субъекты с дефицитом железа могут демонстрировать низкие или неадекватные маркеры системного статуса железа. Это означает, что в организме таких субъектов может не хватать железа для поддержания необходимого уровня железа. Например, у большинства хорошо питающихся и здоровых собак в организме может храниться несколько граммов железа. Часть этого железа содержится в гемоглобине, который переносит кислород через кровь. Большая часть оставшегося железа содержится в железосвязывающих комплексах, которые присутствуют во всех клетках, но более сконцентрированы в костном мозге и таких органах, как печень и селезенка. Запасы железа в печени являются основным физиологическим резервом железа в здоровом организме. Некоторая часть общего содержания железа в организме используется в белках, которые используют железо для клеточных процессов, таких как запасы кислорода (миоглобин) или выполнение окислительно-восстановительных реакций, производящих энергию (цитохромные белки). Помимо запасенного железа, небольшое количество железа циркулирует в плазме крови в связи с белком трансферрином.

Субъекты с дефицитом железа сначала истощают запасы железа в организме. Поскольку большая часть железа, используемого организмом, необходима для гемоглобина, железodefицитная анемия является основным клиническим проявлением дефицита железа. Транспорт кислорода к тканям, включая органы, жизненно важен, а тяжелая анемия вредна и потенциально фатальна из-за системного недостатка кислорода. Субъекты с дефицитом железа будут страдать и в некоторых случаях могут умереть от повреждения органов, вызванного истощением кислорода, задолго до того, как в клетках закончится железо, необходимое для внутриклеточных процессов.

Существует несколько маркеров системного статуса железа, которые можно измерить, чтобы определить, имеет ли субъект достаточные запасы железа для поддержания адекватного здоровья. Этими маркерами могут быть запасы циркулирующего железа, железо, хранящееся в железосвязывающих комплексах, или и то, и другое, и их также обычно называют параметрами запасов железа. Параметры запасов железа могут включать, например, гематокрит (Hct), объем осажденных клеток (PCV), концентрацию гемоглобина (Hb, также называемую уровнем гемоглобина), общую железосвязывающую способность (TIBC), насыщение трансферрина (TSAT), уровни железа в сыворотке, уровни железа в печени, уровни железа в селезенке и уровни ферритина в сыворотке крови. Из них Hct, Hb, TIBC, TSAT и уровни сывороточного

железа широко известны как параметры, измеряющие запасы циркулирующего железа. Уровни железа в печени, уровни железа в селезенке и уровни ферритина в сыворотке обычно называют параметрами, измеряющими накопленное железо или железо, хранящееся в железосвязывающих комплексах.

Следует отметить, что хотя указанные выше параметры крови определяются в сыворотке, их можно аналогичным образом определять и в плазме. Уровни в сыворотке и плазме коррелируют и могут конвертироваться друг в друга.

ID обычно диагностируется до анемии на основании ранних показателей железа, таких как содержание гемоглобина в ретикулоцитах или эквивалент гемоглобина в ретикулоцитах (обозначается CHr и RET-He, соответственно, в зависимости от используемого анализатора). Недавние исследования изучали этот параметр в крови собак и обнаружили хорошую корреляцию между низким уровнем CHr/RET-He и другими доступными показателями дефицита железа и/или железодефицитной анемии (Fry & Kirk, 2006; Prins et al., 2009; Schaefer & Stokol, 2015; Fuchs, et al., 2017; Steinberg & Olver, C.S 2005). В некоторых вариантах осуществления, CHr/RET-He у субъекта с дефицитом железа составляет 20 пг или менее. IDA обычно диагностируется на основании общего анализа крови, взятого из образца крови пациента. Основное внимание уделяется Hb, среднему объему эритроцитов (MCV), средней концентрации гемоглобина в эритроцитах (MCHC) и параметрам эритроида, таким как Hct/PCV и количество эритроцитов (RBC); хотя также могут наблюдаться лейкопения и тромбоцитоз из-за IDA. Отличительным признаком железодефицитной анемии, например, у собак, является низкая концентрация гемоглобина с эритроцитарным микроцитозом и гипохромазией (Bohn, 2013). Для подтверждения гипохромазии используют мазок крови. Анемия вполне может оставаться регенеративной при IDA, но эритропоэз неэффективен. Таким образом, при IDA имеет место как ретикулоцитоз, так и полихромазия.

Удобно использовать автоматические гематологические анализаторы для определения параметров крови, включая общее количество эритроцитов в образце, Hb, Hct, MCV, MCHC и дополнительные параметры крови (например, CHr/RET-He) с помощью проточной цитометрии. Во многих странах, для определения наличия IDA измеряют по меньшей мере один из следующих четырех параметров: MCV, MCHC, Hb, количество RBC. В некоторых странах, CHr/RET-He может использоваться для определения наличия IDA. Были установлены определенные пороговые значения для Hb, так что, когда уровень гемоглобина у субъекта падает ниже этих значений, можно поставить диагноз IDA.

Концентрация или уровень гемоглобина, Hb, представляет собой общее количество гемоглобина в объеме крови. Для здоровых субъектов, типовой диапазон гемоглобина составляет: для женщин, Hb=от 12,0 до 15,5 г/дл; для мужчин, Hb=от 13,5 до 17,5 г/дл; для собак, Hb=от 11,9 до 18,9 г/дл, для кошек, Hb=от 9,8 до 15,4 г/дл; и для лошадей, Hb=от 10,1 до 16,1 г/дл. Однако у субъекта с дефицитом железа концентрация гемоглобина может значительно снизиться. В некоторых вариантах осуществления, уровень Hb у

собаки с дефицитом железа ниже 6 г/дл (указывая на то, что собака страдает тяжелой формой IDA); в диапазоне от 6 до 9 г/дл (указывая на то, что собака страдает умеренной формой IDA) или в диапазоне от 9 до 11 г/дл (указывая на то, что собака страдает легкой формой IDA).

Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, МСНС, является мерой средней концентрации гемоглобина в эритроцитах и определяется количеством белка гемоглобина в данном объеме осажденных эритроцитов. Обычно его рассчитывают путем деления концентрации гемоглобина на гематокрит. Для здоровых субъектов, типовой диапазон МСНС составляет: для женщин, МСНС=от 31 до 35 г/дл; для мужчин, МСНС=от 31 до 35 г/дл; для собак, МСНС=от 32,0 до 36,3 г/дл, для кошек, МСНС=от 30 до 36 г/дл; и для лошадей, МСНС=от 35,3 до 39,3 г/дл. Однако у субъектов с дефицитом железа МСНС может значительно снизиться. В некоторых вариантах осуществления, МСНС у собаки с дефицитом железа составляет менее 30 г/дл.

Средний объем эритроцита, MCV, является мерой среднего объема эритроцита (или красной кровяной клетки). Обычно его рассчитывают путем умножения объема крови на долю клеточной крови (гематокрит) и деления этого произведения на количество эритроцитов (красных клеток крови) в этом объеме. Для здоровых субъектов, типовой диапазон MCV составляет: для женщин, MCV=от 80 до 100 г/дл; для мужчин, MCV=от 80 до 100 фл; для собак, MCV=от 66 до 77 фл, для кошек, MCV=от 39 до 55 фл; и для лошадей, MCV=от 37,3 до 49,0 фл. Однако у субъектов с дефицитом железа MCV может значительно снизиться. В некоторых вариантах осуществления, MCV у собаки с дефицитом железа составляет менее 60 фл (указывая на то, что собака страдает тяжелой формой IDA).

В некоторых вариантах осуществления, у субъектов, проходящих терапию в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, наблюдается повышение концентрации гемоглобина. В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение предлагает способы повышения концентрации гемоглобина у субъекта, нуждающегося в этом, где способы включают введение субъектам соединения комплекса железа, где соединение комплекса железа обеспечивает повышение концентрации гемоглобина у субъектов.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее повышение концентрации гемоглобина более 0,5 г/дл, более 0,6 г/дл, более 0,7 г/дл, более 0,8 г/дл, более 0,9 г/дл, более 01,0 г/дл, более 1,1 г/дл, более 1,2 г/дл, более 1,3 г/дл, более 1,4 г/дл, более 1,5 г/дл, более 1,6 г/дл, более 1,7 г/дл, более 1,8 г/дл или более 1,9 г/дл через 3 недели (21 день) после введения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее повышение концентрации гемоглобина менее 7,0 г/дл, менее 6,0 г/дл, менее 5,0 г/дл, менее 4,5 г/дл, менее 4,0 г/дл или менее 3,5 г/дл через 3 недели (21 день) после введения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа

обеспечивает среднее повышение концентрации гемоглобина от 0,5 до 7,0 г/дл, от 1,0 до 6,0 г/дл, от 1,3 до 5,0 г/дл, от 1,5 до 4,5 г/дл, от 1,7 до 4,0 г/дл или от 1,9 до 3,5 г/дл через 3 недели (21 день) после введения.

Ожидается, что среднее повышение концентрации гемоглобина через 1 неделю будет на от 0,5 до 2,0 г/дл меньше, чем среднее повышение через 3 недели. Ожидается, что среднее повышение концентрации гемоглобина через 4 или 8 недель будет примерно таким же, как и среднее повышение через 3 недели после введения.

Описанное выше среднее повышение концентрации гемоглобина особенно применимо к терапии домашних животных, предпочтительно, собак и кошек, наиболее предпочтительно, собак.

В ветеринарной медицине, в качестве параметра для оценки анемии и ее тяжести традиционно используют Hct или PCV (Tvedten, 2010), вместо концентрации Hb, которая преимущественно используется в медицине человека. Хотя Hct/PCV в целом имеют приемлемую надежность в этом отношении, они менее точны, чем Hb. В то время как PCV, также известный как микрогематокрит, измеряют сразу после центрифугирования капиллярной пробирки, наполненной антикоагулянтной кровью, Hct, полученный гематологическими анализаторами, рассчитывают: $Hct = (MCV \times \text{количество RBC}) \div 10$. Тем не менее, в большинстве случаев, уровень Hb и PCV/Hct будет находиться в тесной взаимосвязи, так что $Hb \text{ (г/дл)} \approx 1/3 \times Hct \text{ (\%)}$. Чтобы исключить любые потенциальные неточности, концентрацию Hb в крови следует рассматривать как основной параметр при оценке анемии у домашних животных.

Hct/PCV, также называемый объемом осажденных клеток или объемной долей эритроцитов, представляет собой объемную долю эритроцитов в крови. Например, у здоровых собак, Hct/PCV обычно составляет 35-57% объема крови. У здоровых кошек Hct/PCV обычно составляет 30-45% объема крови, и у здоровых лошадей он обычно составляет 27-43% объема крови. Однако у субъектов с дефицитом железа, Hct/PCV часто значительно истощается из-за плохого всасывания железа и/или плохой способности запасать железо. В некоторых вариантах осуществления, Hct/PCV у собаки с дефицитом железа составляет менее 18% (указывая на то, что собака страдает тяжелой формой IDA); в диапазоне от 18% до 27% (указывая на то, что собака страдает умеренной формой IDA) или в диапазоне от 27% до 35% (указывая на то, что собака страдает легкой формой IDA).

Соединение комплекса железа, описанное в настоящем документе, может вводиться субъектам для повышения Hct/PCV. Точное время введения обязательно будет варьироваться от субъекта к субъекту в зависимости, например, от тяжести дефицита железа, испытываемого субъектом, уровня всасывания железа, который субъект имеет или не имеет, и от мнения лечащего специалиста в области медицины. В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение предлагает способы повышения Hct/PCV у субъекта, нуждающегося в этом, где способы включают введение субъекту соединения комплекса железа, где соединение комплекса железа обеспечивает повышение Hct/PCV у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, повышение составляет от 1% до 30%, от

1% до 15%, от 1% до 12%, от 1% до 10%, от 1% до 9%, от 1% до 8%, от 1% до 7%, от 1% до 6%, от 1% до 5%, от 1% до 4%, от 1% до 3% или от 1% до 2%.

В дополнение к этим параметрам, измерение сывороточного ферритина может помочь в диагностике ИА. Запасы ферритина в печени являются основным источником запасов железа в организме. Ферритин представляет собой внутриклеточный белок, который хранит железо и высвобождает его контролируемым образом. С медицинской точки зрения, количество ферритина, присутствующего в образце крови и/или образце ткани печени, отражает количество железа, хранящегося в печени (хотя ферритин широко распространен и может быть обнаружен во многих других тканях организма в дополнение к печени). Ферритин служит для хранения железа в печени в нетоксичной форме и транспортировки его в места, где оно необходимо. Низкий уровень ферритина обычно указывает на железодефицитную анемию. Однако нормальный уровень ферритина не исключает ИА, поскольку ферритин также является белком острой фазы и, следовательно, может повышаться вследствие основного воспалительного заболевания. Хотя измерение ферритина полностью стандартизировано в медицине человека, несколько ветеринарных гематологических лабораторий разработали анализы ферритина собаки на основе ELISA, например, Kansas State University, Veterinary Diagnostic Laboratory (<http://www.ksvdl.org/laboratories/comparative-hematology/> - по состоянию на 10 сентября 2019 г. и 6 июля 2021 г.), но стандартизированного эталонного интервала для сывороточного ферритина собаки не существует.

Например, у здорового человека, нормальный уровень ферритина в сыворотке крови, иногда называемый эталонным интервалом, обычно составляет от 15 до 300 нг/мл у взрослых мужчин и обычно от 12 до 250 нг/мл у взрослых женщин. Однако у субъектов с дефицитом железа, уровни ферритина в сыворотке обычно заметно снижены, поскольку количество железа, доступного для связывания ферритином и хранения в печени, уменьшается, что происходит, когда организм теряет способность усваивать и запасать железо.

Термин «сывороточный ферритин» (s-ферритин), используемый в настоящем документе, относится к уровню ферритина в сыворотке крови, измеренному с использованием видоспецифичного двухсайтового иммуноферментного («сэндвич») анализа или другого надежного количественного анализа сывороточного ферритина. Ферритин является основным белком для хранения железа в организме. Концентрация ферритина прямо пропорциональна общим запасам железа в организме, в результате чего уровень ферритина в сыворотке становится распространенным диагностическим инструментом при оценке статуса железа. У субъектов с железодефицитной анемией, уровень ферритина в сыворотке крови составляет приблизительно одну десятую от уровня нормальных субъектов. Уровни ферритина также являются чувствительным средством выявления дефицита железа на ранней стадии.

В некоторых вариантах осуществления, у субъектов, проходящих терапию в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, наблюдается

повышение уровней ферритина в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение предлагает способы повышения ферритина сыворотки у субъекта, нуждающегося в этом, где способы включают введение субъекту соединения комплекса железа, где соединение комплекса железа обеспечивает повышение ферритина сыворотки.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее увеличение сывороточного ферритина, которое составляет более 100 нг/мл, более 110 нг/мл, более 120 нг/мл, более 130 нг/мл, более 140 нг/мл, более 150 нг/мл, более 160 нг/мл, более 170 нг/мл, более 180 нг/мл, более 190 нг/мл или более 200 нг/мл через 4 или 8 недель после лечения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее увеличение сывороточного ферритина, которое выбрано из менее 400 нг/мл, менее 390 нг/мл, менее 380 нг/мл, менее 370 нг/мл, менее 360 нг/мл, менее 350 нг/мл, менее 340 нг/мл, менее 330 нг/мл, менее 320 нг/мл, менее 310 нг/мл, менее 300 нг/мл, менее 290 нг /мл, менее 280 нг/мл, менее 270 нг/мл, менее 260 нг/мл или менее 250 нг/мл через 4 или 8 недель после лечения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее увеличение сывороточного ферритина от 100 до 400 нг/мл, от 100 до 375 нг/мл, от 100 до 350 нг/мл, от 100 до 325 нг/мл, от 100 до 300 нг/мл, от 100 до 275 нг/мл или от 150 до 300 нг/мл через 4 или 8 недель после лечения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее увеличение сывороточного ферритина, которое составляет более 200 нг/мл, более 230 нг/мл, более 260 нг/мл, более 290 нг/мл, более 320 нг/мл, более 350 нг/мл, более 380 нг/мл, более 410 нг/мл или более 440 нг/мл через 1 неделю после лечения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее увеличение сывороточного ферритина, которое выбрано из менее 600 нг/мл, менее 590 нг/мл, менее 580 нг/мл, менее 570 нг/мл, менее 560 нг/мл, менее 550 нг/мл, менее 540 нг/мл, менее 530 нг/мл, менее 520 нг/мл, менее 510 нг/мл, менее 500 нг/мл, менее 490 нг /мл, менее 480 нг/мл, менее 470 нг/мл, менее 460 нг/мл или менее 450 нг/мл через 1 неделю после лечения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее увеличение сывороточного ферритина от 200 до 600 нг/мл, от 250 до 600 нг/мл, от 300 до 600 нг/мл, от 350 до 600 нг/мл или от 400 до 600 нг/мл через 1 неделю после лечения.

Среднее повышение уровня ферритина в сыворотке особенно применимо к лечению людей. Аналогичные значения могут быть применимы к домашним животным, особенно, к собакам и кошкам, наиболее предпочтительно, к собакам.

Помимо запасенного железа, небольшое его количество циркулирует в плазме крови в связанном виде с белком трансферрином. Следовательно, уровни сывороточного железа (*s*-железа) можно представить количеством железа, циркулирующего в крови,

которое связано с белком трансферрином. Трансферрин представляет собой гликопротеин, вырабатываемый печенью, который может связывать один или два иона трехвалентного железа (железо(III) или Fe^{3+}). Это наиболее распространенный и динамичный переносчик железа в крови и, следовательно, важный компонент способности организма транспортировать запасенное железо для использования по всему организму. Насыщение трансферрина (или TSAT) измеряют в долях и рассчитывают как отношение сывороточного железа и общей железосвязывающей способности, умноженное на 100. Это значение сообщает врачу, сколько сывороточного железа фактически связано с общим количеством трансферрина, который доступен для связывания железа. Например, значение TSAT 35% означает, что 35% доступных железосвязывающих сайтов трансферрина в образце крови заняты железом. Например, у здоровой собаки, типовые значения TSAT составляют примерно 15-50%. Однако у субъектов с дефицитом железа, значения TSAT обычно заметно понижены, поскольку уменьшается количество железа, доступного для связывания трансферрином, что происходит, когда организм теряет способность поглощать и запасать железо. В некоторых вариантах осуществления, значение TSAT у субъекта с дефицитом железа составляет менее 20% и/или концентрация ферритина составляет <100 мкг/л.

В некоторых вариантах осуществления, у субъектов, проходящих терапию в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, наблюдается повышение значений TSAT. В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение предлагает способы повышения TSAT у субъекта, нуждающегося в этом, где способы включают введение субъекту соединения комплекса железа, где соединение комплекса железа обеспечивает повышение TSAT у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее повышение TSAT, которое составляет более 1%, более 1,5%, более 2% или более 2,5% через 4 или 8 недель после лечения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее повышение TSAT, которое составляет менее 5%, менее 4% или менее 3% через 4 или 8 недель после лечения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее повышение TSAT от 1 до 5%, от 1,5 до 4% или от 2 до 3% через 4 или 8 недель после лечения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее повышение TSAT, которое составляет более 5%, более 6% или более 7% через 1 неделю после лечения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее повышение TSAT, которое составляет менее 20%, менее 19%, менее 18%, менее 17%, менее 16% или менее 15% через 1 неделю после лечения.

В некоторых вариантах осуществления, соединение комплекса железа обеспечивает среднее повышение TSAT от 5 до 20% или от 5 до 15% через 1 неделю после

лечения.

В сомнительных ситуациях, когда собранная информация не может полностью исключить другие причины анемии, кроме дефицита железа, можно рассмотреть возможность аспирации костного мозга. Отсутствие окрашиваемого железа в костном мозге может указывать на недостаток железа для эритропоэза у собак.

Домашние животные, которые особенно подходят для терапии по настоящему изобретению, представляют собой животных, обладающих одним или несколькими из следующих признаков:

- концентрация гемоглобина (Hb) менее 11 г/дл;
- гематокрит (Hct/PCV) менее 35%;
- средний объем эритроцитов (MCV) менее 60 фл;
- содержание гемоглобина в ретикулоцитах (CHr)/эквивалент гемоглобина в ретикулоцитах (RET-He) 20 пг или менее; и/или
- средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах (MCHC) 30 г/дл или менее.

В некоторых вариантах осуществления, у субъектов, проходящих терапию способами, описанными в настоящем документе, может наблюдаться улучшение состояния дефицита железа и/или железodefицитной анемии, поскольку Hb повышается и/или поддерживается выше порогового уровня. В некоторых вариантах осуществления, описан способ терапии дефицита железа и/или железodefицитной анемии, где способ включает введение субъекту соединения комплекса железа, где соединение комплекса железа обеспечивает одно или более из следующих:

- концентрация гемоглобина (Hb) 11 г/дл или более;
- гематокрит (Hct/PCV) 35% или более;
- средний объем эритроцитов (MCV) 60 фл или более;
- содержание гемоглобина в ретикулоцитах (CHr)/эквивалент гемоглобина в ретикулоцитах (RET-He) более 20 пг; и/или
- средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах (MCHC) более 30 г/дл.

Настоящее описание предлагает способы улучшения одного или нескольких параметров запасов железа у субъекта, нуждающегося в этом. По меньшей мере один параметр запасов железа может быть выбран из уровней ферритина в сыворотке, насыщения трансферрина (TSAT), концентрации гемоглобина, гематокрита, общей железосвязывающей способности, уровней всасывания железа, уровней железа в сыворотке, уровней железа в печени, уровней железа в селезенке и их комбинаций.

В одном варианте осуществления, по меньшей мере одним параметром запасов железа является концентрация гемоглобина, и улучшение включает повышение концентрации гемоглобина у субъекта. В других вариантах осуществления, по меньшей мере одним параметром запасов железа является насыщение трансферрина, и улучшение включает повышение насыщения трансферрина у субъекта. В других вариантах осуществления, по меньшей мере один параметр запасов железа представляет собой уровни ферритина в сыворотке, и улучшение включает повышение уровней ферритина в

сыворотке субъекта.

Соединения комплекса железа

В настоящем документе описаны терапевтические способы, т.е. терапия дефицита железа, которая включает введение соединения комплекса железа и комбинации соединения комплекса железа с дополнительными лекарственными средствами, где соединение комплекса железа обладает определенными свойствами и, таким образом, оказывает определенные эффекты на субъектов, проходящих терапию. Таким образом, способы по изобретению применимы к комплексам, которые обладают указанными свойствами. Например, соединение комплекса железа должно быть относительно стабильным; иметь хорошие свойства всасывания; и показывают низкую экскрецию с мочой.

Если не указано иное, термин «соединение комплекса железа», используемый в настоящем документе, относится к любому комплексу ионов железа или частиц железа, содержащему Fe^{3+} и/или Fe^{2+} и один или несколько лигандов. Атомы железа связаны в координационный комплекс посредством ионно- и ковалентно-координационных связей с лигандом(ами) *или* как часть полиядерной наномолекулы лиганда железа, предпочтительно, наномолекулы углеводного железа.

Лиганды

Целесообразно, чтобы лиганды и соли, используемые в соединениях комплекса железа по изобретению, а также носители и другие ингредиенты их композиций, были физиологически приемлемыми. Термин «физиологически приемлемый», используемый в настоящем документе, означает, что лиганд, соль, носитель или другой ингредиент не вызывает острой токсичности, когда терапевтически эффективное количество соединения комплекса железа или композиции, содержащей лиганд, соль, носитель или другой ингредиент, вводят субъекту.

Углеводы

Согласно одной группе вариантов осуществления, лиганд в соединении комплекса железа представляет собой углевод.

Если не указано иное, термин «углевод», используемый в настоящем документе, включает углеводы, которые восстановлены, окислены, дериватизированы или их комбинацию, как описано в настоящем документе. В частности, углеводы могут быть модифицированы, например, путем образования простых эфиров, амидов, сложных эфиров и аминов с гидроксильными группами углеводов или путем превращения альдегидных групп углеводов в гликолевые группы с образованием гептоновых кислот. Термин «углевод», используемый в настоящем документе, таким образом, не ограничен соединениями, имеющими эмпирическую формулу $C_m(H_2O)_n$, где m и n представляют собой целые числа, которые могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга.

Углеводы, которые можно использовать в качестве лигандов в комплексах углеводного железа по настоящему изобретению, включают, например, моносахариды; дисахариды, например сахарозу, мальтозу или изомальтозу; олигосахариды и

полисахариды, например мальтодекстрин, полиглюкозу, декстран, олигомальтозу, олигоизомальтозу; сахарные спирты, например сорбит и маннит; сахарные кислоты и их соли, например, глюконовую кислоту, глюконат, декстранглюкогептоновую кислоту, декстринглюкогептоновую кислоту, декстранглюкогептонат и декстринглюкогептонат, а также их восстановленные и/или окисленные и/или дериватизированные варианты, например карбоксимальтозу, карбоксиметиловый эфир полиглюкозы и сорбита, гидрогенизированный декстран, окисленный декстран, карбоксиалкилированные олиго- и полисахариды, окисленные олиго- и полисахариды, гидрогенизированный декстрин, окисленный декстрин, гидрогенизированная олигомальтоза, гидрогенизированную олигоизомальтозу, гидрогенизированную олигомальтозу, гидроксиэтилкрахмал, гидроксиэтилкрахмал, несущий фрагменты гептоновой кислоты, или смесь двух или нескольких из них. Когда используются олиго- и полисахариды, они обычно включают смеси олиго- и полисахаридов, имеющих цепи различной длины. Следовательно, эти олиго- и полисахариды можно удобно охарактеризовать средневесовыми или среднечисловыми молекулярными массами и распределением этих молекул в диапазоне молекулярных масс. Для простоты, ссылка на олиго- или полисахарид относится к таким смесям.

Термин «олигосахарид», используемый в настоящем документе, обычно относится к углеводу или его восстановленному, и/или окисленному, и/или дериватизированному варианту, имеющему небольшое количество, обычно 3-10, моносахаридных единиц, или к смеси двух или нескольких углеводов, или их восстановленным, и/или окисленным, и/или дериватизированным вариантам, где большинство (например, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70% или по меньшей мере 80%) молекул имеют небольшое количество, обычно 3-10, моносахаридных единиц.

Термин «мономерный сахарид», используемый в настоящем документе, относится к моносахариду или его восстановленному, и/или окисленному, и/или дериватизированному варианту, или к смеси двух или нескольких моносахаридов и/или их вариантов.

Термин «димерный сахарид», используемый в настоящем документе, относится к углеводу, имеющему две моносахаридные единицы (например, дисахариду) или к его восстановленному, и/или окисленному, и/или дериватизированному варианту, или к смеси двух или нескольких углеводов, или к их восстановленным, и/или окисленным и/или дериватизированным вариантам, где молекулы содержат две моносахаридные единицы.

Сахарные спирты представляют собой производные моно- или дисахаридов, в которых альдегидная группа превращается в гидроксильную группу.

Сахарные кислоты представляют собой производные моносахаридов, содержащие карбоксильную группу. Карбоксильную группу можно получить, например, окислением альдегидной группы альдозы с образованием альдоновой кислоты, окислением 1-гидроксильной группы 2-кетозы с образованием α -кетокислоты (улозоновой кислоты), окисление концевой гидроксильной группы альдозы или кетозы с получением уроновой

кислоты, или окисление обоих концов альдозы с получением алдаровой кислоты.

Предпочтительно, чтобы содержание восстанавливающих альдегидных групп в углеводе было по меньшей мере частично снижено. Этого можно достичь путем гидрогенизирования, окисления, гликозилирования или их комбинации. Соединения комплекса углеводного железа, включающие гидрогенизированные и/или окисленные углеводы, могут быть получены, как описано, например, в WO 99/48533 A1; WO 2010/108493 A1 или WO 2019/048674 A1, все из которых включены посредством ссылки. Количество восстанавливающих углеводов можно определить с помощью реактива Шомоджи.

В частности, альдегидные группы можно превратить в гидроксильные группы путем гидрогенизирования, например, путем реакции углевода с восстанавливающим агентом, таким как боргидрид натрия в водном растворе, или с водородом в присутствии катализатора гидрогенизирования, такого как Pt или Pd.

Альтернативно или в дополнение к гидрогенизации, альдегидные группы могут быть окислены, например, путем окисления углевода с использованием водного раствора гипохлорита, хлорита или гипобромита при pH в щелочном диапазоне, например, в диапазоне от pH 8 до pH 12, в частности, от pH от 9 до pH 11. Подходящие гипохлориты включают, например, гипохлориты щелочных металлов, такие как гипохлорит натрия, и то же самое относится к хлоритам и гипобромитам. Водный раствор гипохлорита, хлорита или гипобромита может иметь концентрацию, например, по меньшей мере 13% масс., в частности, в диапазоне от 13 до 16% масс., в расчете на активный хлор. Реакцию окисления можно проводить при температурах в диапазоне, например, от 15 до 40°C, предпочтительно, от 25 до 35°C. Время реакции составляет, например, в диапазоне от 10 минут до 4 часов, например от 1 до 1,5 часов. Добавление каталитических количеств ионов брома, например, в форме бромидов щелочных металлов, таких как бромид натрия, может способствовать протеканию реакции окисления, но не является обязательным.

Альдегидные группы углеводов можно превращать как гидрогенизацией, так и окислением. Этого можно достичь, например, за счет того, что углевод сначала гидрогенизируют для превращения части альдегидных групп в гидроксильные группы, и затем по существу все оставшиеся альдегидные группы окисляют до карбоксильных групп. Если углевод представляет собой полисахарид, такой как декстран, на среднюю молекулярную массу образующегося с ним комплекса углеводного железа можно влиять путем регулирования соотношения гидрогенизированных альдегидных групп и окисленных альдегидных групп. Для получения стабильного продукта, количество восстанавливающих групп в углеводе (например, декстране) перед окислением не превышает 15% масс.

Углеводы, включая восстановленные и/или окисленные углеводы, могут быть модифицированы путем образования, например, простых эфиров, амидов, сложных эфиров и аминов с гидроксильными группами углеводов. В конкретном варианте осуществления, углевод получают путем образования карбоксиалкилового эфира, в

частности, карбоксиметилового эфира, с гидроксильной группой углевода. Использование карбоксиметилированного углевода в таком продукте, таком как соединение комплекса углеводного железа по изобретению, может снизить токсичность продукта при парентеральном введении субъекту по сравнению с продуктом, содержащим соответствующий не карбоксилированный углевод.

В предпочтительных вариантах осуществления, углевод представляет собой карбоксимальтозу, полиглюкозосорбиткарбоксиметиловый эфир, декстран, гидрогенизированный декстран, декстранглюкогептоновую кислоту, декстранглюкогептонат, декстрин, гидрогенизированный декстрин, декстринглюкогептоновую кислоту, декстринглюкогептонат, олигоизомальтозу, гидрогенизованную олигоизомальтозу, гидроксиэтилкрахмал, гидрогенизированный гидроксиэтиловый крахмал, гидроксиэтилкрахмал, несущий фрагменты гептоновой кислоты, гидроксипропиловый крахмал, гидрирогенизированный гидроксипропилкрахмал, гидроксипропилкрахмал, несущий фрагменты гептоновой кислоты, или смесь двух или нескольких из них.

Такие углеводы обычно имеют средневесовую молекулярную массу (M_w) от 500 до 80000 Да, например, от 800 до 40000 Да или от 800 до 10000 Да, и в частности, от 800 до 3000 Да. В конкретных вариантах осуществления, углевод представляет собой полисахарид или олигосахарид или их смесь, имеющую средневесовую молекулярную массу (M_w) от 500 до 7000 Да, например, от 500 до 3000 Да, от 700 до 1400 Да, и в частности, от 850 Да до 1150 Да, например, примерно 1000 Да, или от 1150 до 1350 Да, например, примерно 1250 Да.

Количество димера (дисахарид) в углеводных препаратах, которые представляют собой (необязательно восстановленные и/или окисленные и/или дериватизированные) препараты олигосахаридов или полисахаридов, считается ключевым фактором в отношении физиологической скорости высвобождения железа из полученных из них комплексных соединений железа и углеводов. См. WO 2010/108493 A1. Следовательно, когда углевод представляет собой (необязательно восстановленный, и/или окисленный, и/или дериватизированный) препарат олигосахаридов или полисахаридов, такой как гидрогенизированные поли-/олигосахариды, описанные в настоящем документе, содержание димерных сахаридов в указанном препарате предпочтительно составляет 2,9% масс. или меньше, в частности, 2,5% масс. или меньше, и особенно, 2,3% масс. или меньше, в расчете на общую массу углевода. Также предпочтительно, чтобы содержание мономерного сахаридов в препарате углевода составляло 0,5% масс. или менее в расчете на общую массу углевода. Это снижает риск токсических эффектов, вызванных свободными ионами железа, высвобождаемыми из соединений после парентерального введения.

Особенно предпочтительные углеводные лиганды описаны ниже.

Олигоизомальтоза

В особенно предпочтительных вариантах осуществления, углевод представляет собой олигоизомальтозу или, даже более предпочтительно, гидрогенизованную

олигоизомальтозу (т.е. олигоизомальтозид).

В конкретных вариантах осуществления, олигоизомальтоза(ид) имеет средневесовую молекулярную массу (M_w) от 700 до 1500 Да. Олигоизомальтоза(ид), имеющая(ий) средневесовую молекулярную массу (M_w) от 850 до 1150 Да; предпочтительно, от 950 до 1050 Да, наиболее предпочтительно, от 975 до 1025 Да, например, примерно 1000 Да, представляет собой один конкретный вариант осуществления. Олигоизомальтоза(ид), имеющая(ий) средневесовую молекулярную массу (M_w) от 1150 до 1350 Да; предпочтительно, от 1200 до 1300 Да, наиболее предпочтительно, от 1225 до 1275 Да; например, примерно 1250 Да (также называемый в настоящем документе «октасахарид»), представляет собой другой конкретный вариант осуществления. Для олигоизомальтозы(ида), имеющей(его) средневесовую молекулярную массу (M_w) от 850 до 1150 Да, предпочтительно, чтобы фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляла менее 30%, предпочтительно, менее 25%, наиболее предпочтительно, менее более 20%; например, от 5% до 15% массовых олигосахарида. Для олигоизомальтоза(ида), имеющей(его) средневесовую молекулярную массу (M_w) от 1150 до 1350 Да, предпочтительно, чтобы фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляла менее 40%, предпочтительно, менее 35%, наиболее предпочтительно, менее более 30%; например, от 20 до 30% массовых олигосахарида. Согласно другому аспекту, содержание мономера и димера (фракции с менее чем 3 моносахаридными единицами) составляет менее 10,0%, предпочтительно, менее 3,0%, наиболее предпочтительно, менее 1,0%; например, от 0,1 до 0,5% массовых олигосахарида.

Олигоизомальтозы(иды), в которых основная доля (например, по меньшей мере 40% или предпочтительно, по меньшей мере 50%, например, от 40 до 70% или от 50 до 70% массовых) молекул имеет 3-6 моносахаридных единиц, представляют собой один предпочтительный вариант осуществления. Это относится, в частности, к олигоизомальтозам(идам), имеющим средневесовую молекулярную массу (M_w) от 850 до 1150. Соответственно, в предпочтительных вариантах осуществления изобретения, лиганд представляет собой олигоизомальтозу(ид), где основная доля (например, по меньшей мере 40% или предпочтительно, по меньшей мере 50%, например, от 40 до 70% или от 50 до 70% массовых) необязательно гидрогенизированных молекул олигоизомальтозы имеют 3-6 моносахаридных единиц. Более конкретно, указанная доля молекул, имеющих 3-6 моносахаридных единиц, выше, чем доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц. Примером такого олигосахарида является изомальтозид 1000 (название INN: дерисомальтоза).

Олигоизомальтозы(иды), в которых основная доля (например, по меньшей мере 40% или предпочтительно, по меньшей мере 45%, например, от 40 до 60% или от 45 до 55% массовых) молекул содержит 6-10 моносахаридных единиц (также называемые в настоящем документе «октасахарид»), представляют собой другой предпочтительный вариант осуществления. Он относится, в частности, к олигоизомальтозам(идам),

имеющим средневесовую молекулярную массу (M_w) от 1150 до 1350. Соответственно, в предпочтительных вариантах осуществления изобретения, лиганд представляет собой олигоизомальтозу(ид), где основная часть (например, по меньшей мере 40%, например, от 40 до 60% массовых) необязательно гидрирогенизированных молекул олигоизомальтозы имеет 6-10 моносахаридные единицы. Более конкретно, указанная доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц, выше по массе, чем доля молекул, содержащих 3-6 моносахаридных единиц. Примером такого олигосахарида является октасахарид, описанный в настоящем документе.

Олигоизомальтозы(иды) по изобретению предпочтительно представляют собой гидрогенизированные олигоизомальтозы (олигоизомальтозиды). Обычно количество восстанавливающего сахара в такой гидрогенизированной олигоизомальтозе (олигоизомальтозиде) составляет 2,5% или менее, предпочтительно, 1,0% или менее, наиболее предпочтительно, 0,5% или менее; например, примерно 0,3% массовых олигосахарида. Перед гидрогенизацией, количество восстанавливающего сахара в олигоизомальтозах составляет по меньшей мере 10%, и обычно по меньшей мере 15% от массы олигосахарида. Однако количество восстанавливающего сахара также зависит от распределения углеводных цепей по молекулярной массе. Более короткая цепь способствует относительно большому количеству восстанавливающего сахара, в то время как более длинная способствует меньшему. Соответственно, конкретным аспектом изобретения является то, что количество восстанавливающего сахара в олигоизомальтозах составляет менее 35%, предпочтительно, не более 30%; например, в диапазоне от 10% до 30%, предпочтительно, в диапазоне от 15 до 25% массовых олигосахарида.

Производные глюконовой кислоты

Другим конкретным углеводным лигандом для использования в настоящем изобретении являются производные глюконовой кислоты углеводов, таких как декстран или декстрин. Примеры включают бепектат или декстранглюкогептоновую кислоту. Термин «бепектат», используемый в настоящем документе, относится к производному гидроксиэтиламилопектина (крахмала). Бепектат также называют полиглюкоферроном. Бепектат описан, например, в WO 2012/175608 A1, все из которых включены посредством ссылки. Такое производное гидроксиэтиламилопектина (крахмала) может нести несколько остатков гептоновой кислоты на молекулу, в зависимости от количества концевых глюкозильных остатков, присутствующих в молекуле крахмала. Этот остаток гептоновой кислоты увеличивает гидрофильность гидроксиэтилкрахмала и повышает стабильность комплексов, образуемых этим гидроксиэтилкрахмалом, с лигандами, такими как, например, ионы металлов, такие как ионы железа. Говоря в более общем плане, гидроксиэтилкрахмал (HES) представляет собой крахмал, в котором некоторые гидроксильные группы отдельных глюкозильных остатков замещены гидроксиэтильным остатком. Модификация остатком гептоновой кислоты происходит путем превращения концевого глюкозильного остатка гидроксиэтилкрахмала в остаток гептоновой кислоты. Предпочтительно, чтобы гидроксиэтилкрахмал, используемый в способе, имел

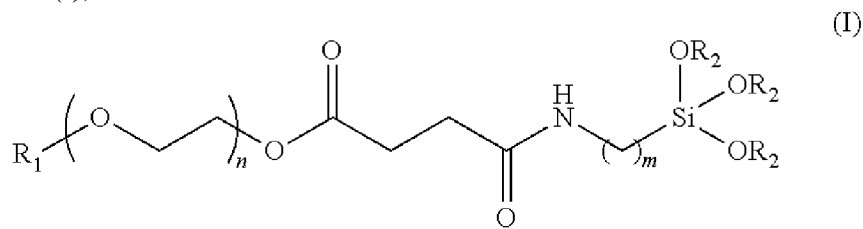
средневесовую молекулярную массу (M_w) менее 200000 г/моль, в частности, менее 130000 г/моль, в частности, менее 100000 г/моль, в частности, менее более 90000 г/моль, в частности, менее 80000 г/моль и особенно менее 75000 г/моль. Очень хорошо подходящая молекулярная масса находится в диапазоне от 55000 г/моль до 85000 г/моль. Такой гидроксиэтилкрахмал имеет сравнительно более низкую молекулярную массу, чем (не модифицированные) гидроксиэтилкрахмалы, используемые в настоящее время в области медицины. Подходящим способом определения молекулярной массы гидроксиэтилкрахмала является эксклюзионная хроматография (SEC). В предпочтительном варианте осуществления, гидроксиэтилкрахмал имеет среднюю степень молярного замещения от 0,4 до 0,6, в частности, от 0,45 до 0,55. Особенно предпочтительна средняя степень молярного замещения примерно 0,50. Средняя степень молярного замещения является мерой количества гидроксильных групп, замещаемых гидроксиэтильным остатком, на один глюкозильный остаток. Поскольку каждая единица глюкозы (или глюкозильный остаток) несет три гидроксильные группы, средняя степень молярного замещения может составлять максимум три. Средняя степень молярного замещения 0,5 означает, что (в среднем или на статистической основе) в каждом втором глюкозильном остатке одна гидроксильная группа замещена гидроксиэтильным остатком. В предпочтительном варианте осуществления, гидроксиэтилкрахмал имеет средневесовую молекулярную массу (M_w) от 55000 до 85000 г/моль, предпочтительно, примерно 70000 г/моль, и среднюю степень молярного замещения от 0,45 до 0,55, в частности, примерно 0,50. Такой гидроксиэтилкрахмал с молекулярной массой 70000 г/моль \pm 15000 г/моль и средней степенью молярного замещения $0,5 \pm 0,05$ также можно называть HES 70/0,5.

Декстранглюкогептоновая кислота, декстранглюкогептонат, декстринглюкогептоновая кислота и декстринглюкогептонат являются дополнительными примерами подходящих углеводных лигандов, в которых сахарид, такой как декстран или декстрин, модифицирован таким образом, чтобы нести остатки гептоновой кислоты.

Полимерные лиганды

Согласно другой группе вариантов осуществления, лиганд представляет собой лиганд, подходящий для лиганд-замещенных оксо-гидроксисоединений комплекса железа. Подходящие лиганды включают, например, карбоновые кислоты, такие как адипиновая кислота, глутаровая кислота, винная кислота, яблочная кислота, янтарная кислота, аспарагиновая кислота, пимелиновая кислота, лимонная кислота, глюконовая кислота, молочная кислота и бензойная кислота; пищевые добавки, такие как мальтол, этилмальтол и ванилин; анионы со свойствами лигандов, такие как бикарбонат, сульфат и фосфат; минеральные лиганды, такие как силикат, борат, молибдат и селенат; аминокислоты, в частности, протеиногенные аминокислоты, такие как триптофан, глутамин, пролин, валин и гистидин; и лиганды на основе питательных веществ, такие как фолат, аскорбат, пиридоксин и ниацин; а также смеси двух или нескольких из них. Конкретным примером подходящих полимерных лигандов являются биосовместимые полимеры на основе

полиэтиленгликоля, описанные в US 8,741,615 B2, т.е. биосовместимый полимер общей формулы (I),



где R_1 представляет собой алкил, арил, карбоксил или амино, R_2 представляет собой алкил или арил, n представляет собой целое число от 5 до 1000 и m представляет собой целое число от 1 до 10. Подходящие алкильные группы для R_1 и R_2 включают C_1 - C_{20} алкильные группы с прямой или разветвленной цепью. В одном варианте осуществления, каждый из R_1 и R_2 независимо представляет собой C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью, такой как метил, этил, пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, трет-пентил, н-гексил и изогексил. Подходящие арильные группы для R_1 и R_2 включают C_6 - C_{12} замещенные или незамещенные арильные группы, такие как фенил, бифенил и нафтил, и примеры их заместителей включают гидроксил, галогеналкил, алкоксил, циано, нитро, амино или алкиламино. Число метиленовых единиц m предпочтительно представляет собой целое число от 1 до 10. Число оксиэтиленовых единиц n предпочтительно представляет собой целое число от 5 до 1000, что эквивалентно молекулярной массе 200-50000 г/моль ПЭГ. В одном варианте осуществления, m равен примерно 3, и n равен примерно 15.

Биосовместимый полимер полезен тем, что он может химически модифицировать поверхность наночастиц оксида железа с получением биосовместимого магнитного материала, содержащего магнитную наночастицу и биосовместимый полимер.

Получение углеводов

Производство большинства углеводов, описанных в настоящем документе, требует их получения из легкодоступных углеводов. Обычными исходными материалами являются декстраны и декстрины, т.е. полиглюкозы с преимущественно α -1,6- или α -1,4-связанными единицами глюкозы, соответственно. Поскольку декстраны и декстрины, которые используют в качестве исходных материалов, обычно представляют собой высокомолекулярные полисахариды, их обычно необходимо гидролизовать, и полученные гидролизаты фракционировать, чтобы отрегулировать молекулярную массу желаемых углеводов.

Типовой процесс получения олигоизомальтоз(идов) по изобретению включает следующие стадии:

- (а) гидролиз декстрана с получением гидролизата;
- (б) фракционирование гидролизата с получением олигоизомальтозы; и необязательно
- (с) гидрогенизирование олигоизомальтозы с получением олигоизомальтозида.

Дальнейшие необязательные стадии включают:

Очистку, например, путем диафильтрации, для снижения уровня моно- и дисахарида в олигоизомальтозиде.

Очистку, например, ионным обменом, для получения очищенной олигоизомальтозы или олигоизомальтозида.

Например, олигоизомальтозы(иды), такие как октасахарид по изобретению, могут быть получены из фракций декстрана, которые объединяют и фракционируют ультрафильтрацией. Фракции декстрана могут быть получены из промежуточных декстранов, имеющих средневесовую молекулярную массу (M_w) в диапазоне от 500 до 2000 кДа, которые гидролизуют с получением M_w в диапазоне от 20000 до 70000 Да. На одной или нескольких стадиях, исходный материал можно гидролизовать до более низкой молекулярной массы, фракционировать и фильтровать до тех пор, пока не будет достигнуто желаемое распределение молекулярной массы. Полученную олигоизомальтозу затем можно гидрогенизировать с получением олигоизомальтозида. Очистка диафильтрацией может помочь снизить уровень моно- и дисахаридов, и полученный продукт можно дополнительно очистить, например, ионным обменом. Например, низкие количества моно- и дисахаридов могут быть достигнуты путем удаления указанных более мелких молекул сахаридов из углеводного препарата путем мембранной фильтрации, например, с использованием мембран, имеющих пороговое значение в диапазоне 340-800 Да. Концентрацию моно- и дисахаридов во фракциях, полученных очисткой, можно контролировать с помощью гель-проникающей хроматографии.

Производство бепектата описано, например, в WO 2012/175608 A1. Коротко, гидроксипропилоккрахмал растворяют в воде. Затем значение pH доводят до значения 8,0-10,0. После этого, к раствору гидроксипропилоккрахмала добавляют соединение цианида. Затем раствор нагревают до температуры 80-99°C и хранят при этой температуре в течение первого периода времени. Наконец, значение pH доводят до значения 2,0-4,0, температуру раствора доводят до 50-90°C и хранят при этой температуре в течение второго периода времени. Производство производных глюконовой кислоты декстрана и декстрина описано, например, в US 3,639,588. Производство полимеров на основе полиэтиленгликоля описано, например, в US 8,741,615.

Получение железа

Препараты железа, которые можно использовать для получения комплексных соединений железа, содержат железо в форме, выбранной из водорастворимой соли железа, гидроксида железа и оксида-гидроксида железа. Препарат железа может содержать смесь двух или нескольких этих форм железа.

В конкретном варианте осуществления, препарат железа содержит водорастворимую соль железа, например бромид, сульфат или хлорид железа, в частности хлорид трехвалентного железа ($FeCl_3$), хлорид двухвалентного железа ($FeCl_2$) или их смесь. Целесообразно, чтобы водорастворимая соль железа представляла собой физиологически приемлемую соль.

В следующем конкретном варианте осуществления, препарат железа содержит

гидроксид железа, например гидроксид трехвалентного железа ($\text{Fe}(\text{OH})_3$), гидроксид двухвалентного железа ($\text{Fe}(\text{OH})_2$) или их смесь.

В другом конкретном варианте осуществления, препарат железа содержит оксид-гидроксид железа. Оксиды-гидроксиды железа также можно назвать оксигидроксидами железа. Оксиды-гидроксиды железа представляют собой соединения, которые состоят из одного или более чем одного иона железа, одной или более чем одной оксогруппы и одной или более чем одной гидроксильной группы. Конкретные оксиды-гидроксиды железа включают, например, оксиды-гидроксиды железа, которые встречаются в безводных ($\text{FeO}(\text{OH})$) формах и гидратированных ($\text{FeO}(\text{OH}) \cdot n\text{H}_2\text{O}$) формах, таких как, например, моногидрат оксида-гидроксида железа ($\text{FeO}(\text{OH}) \cdot \text{H}_2\text{O}$). Оксиды-гидроксиды железа могут быть получены, например, из водных растворов солей железа(III) гидролизом и осаждением, как описано, например, в Roempp Lexicon Chemie, 10. Auflage, 1997. Оксиды-гидроксиды железа могут присутствовать в различных полиморфных формах. Например, полиморфы $\text{FeO}(\text{OH})$ включают α - $\text{FeO}(\text{OH})$ (гетит), β - $\text{FeO}(\text{OH})$ (акагнейт), γ - $\text{FeO}(\text{OH})$ (лепидокроцит) и δ - $\text{FeO}(\text{OH})$ (фероксигит).

Согласно конкретному варианту осуществления, используют препарат железа с низким содержанием примесей металлов, отличных от железа. Соответствующие уровни таких примесей металлов, отличных от железа, описаны в WO 2019/048674 A1. Такой препарат можно получить

- (a) из пентакарбонила железа; или
- (b) путем перекристаллизации соли железа из ее водного раствора; или
- (c) экстракцией водного раствора соли железа органическим растворителем; или
- (d) из железа, осажденного на аноде при электролизе водного раствора соли железа; или
- (e) путем контакта водного раствора соли железа с основанием с образованием осадка гидроксида железа, и отделения осадка от жидкости фильтрованием или центрифугированием; или
- (f) дистилляцией хлорида трехвалентного железа из смеси, содержащей хлорид трехвалентного железа и нелетучие примеси.

Согласно предпочтительному варианту осуществления, препарат железа получают способом, в котором водный раствор соли железа (например, водный раствор соли железа, полученный во время переработки железосодержащей никелевой руды для производства никеля) экстрагируют органическим растворителем.

В соответствии с особенно предпочтительным вариантом осуществления, препарат железа, используемый в способе по изобретению, получают из пентакарбонила железа.

Получение препарата железа, как описано в настоящем документе:

- (a) из пентакарбонила железа; или
- (b) путем перекристаллизации соли железа из ее водного раствора; или
- (c) экстракцией водного раствора соли железа органическим растворителем; или
- (d) из железа, осажденного на аноде при электролизе водного раствора соли

железа; или

(е) путем контакта водного раствора соли железа с основанием с образованием осадка гидроксида железа, и отделения осадка от жидкости фильтрованием или центрифугированием; или

(f) дистилляцией хлорида трехвалентного железа из смеси, содержащей хлорид трехвалентного железа и нелетучие примеси,

может, но не обязательно, быть стадией способа по настоящему изобретению.

Способы получения водорастворимой соли железа, гидроксида железа или оксида-гидроксида железа из пентакарбонила железа известны в данной области техники. Например, на первой стадии, пентакарбонил железа может быть разложен с образованием железа (так называемого карбонильного железа) при повышенной температуре (например, 200°C или более), необязательно в присутствии катализатора, такого как H_2 , NO , PF_3 , PH_3 , NH_3 и/или I_2 , как описано, например, в US 4,056,386. Железо можно подвергнуть реакции с (предпочтительно, избытком) хлористоводородной кислотой с получением $FeCl_2$. $FeCl_2$ можно подвергнуть реакции с хлористоводородной кислотой и (предпочтительно, с небольшим дефицитом) хлоратом натрия с получением $FeCl_3$. $FeCl_2$ можно подвергнуть реакции с хлористоводородной кислотой и окислить, например, перекисью водорода, с образованием $FeCl_3$. Эту реакцию можно использовать для окисления $FeCl_2$, оставшегося от реакции с хлористоводородной кислотой и хлоратом натрия, чтобы добиться более полного превращения $FeCl_2$ в $FeCl_3$. Также в качестве окислителя можно использовать хлор (Cl_2 ; газ).

Карбонильное железо можно получить, например, из пентакарбонила железа, который можно получить, например, путем направления монооксида углерода на горячее железо (например, разогретое до примерно 200°C), предпочтительно, под высоким давлением (например, не менее 15-20 МПа). Такое получение карбонильного железа через пентакарбонил железа описано, например, во французской патентной заявке № 607.134 от Badische Anilin- & Soda-Fabrik, опубликованной 26 июня 1926 г.

Способы получения препарата железа, как описано в настоящем документе, путем перекристаллизации препарата соли железа из его водного раствора известны в данной области техники. С этой целью готовят водный раствор препарата водорастворимой соли железа, соль железа (например, нитрат железа) перекристаллизовывают из раствора (например, путем снижения температуры раствора), кристаллы соли железа отделяют от жидкости, растворяют с образованием их водного раствора и затем снова подвергают перекристаллизации и разделению. Стадии растворения, перекристаллизации и разделения можно повторить один или несколько раз, чтобы повысить чистоту и, в частности, уменьшить количество примесей металлов, отличных от железа, в препарате соли железа. Согласно конкретному примеру, нитрат железа перекристаллизовывают из его водного раствора, содержащего азотную кислоту. В частности, нитрат железа растворяют в 55-65% водной азотной кислоте при температуре 50-60°C. Раствор охлаждают примерно до 15°C или ниже, при этом образуется кристаллический осадок

нитрата железа, который можно отделить от жидкости. Указанные стадии растворения, перекристаллизации и разделения можно повторять еще один или несколько раз.

Способы получения препарата железа, как описано в настоящем документе, путем экстракции водного раствора соли железа органическим растворителем, известны в данной области техники. С этой целью, водный раствор хлорида железа можно обработать органическим растворителем для селективного растворения хлорида трехвалентного железа в органическом растворителе (экстракция), затем селективно растворенный хлорид трехвалентного железа можно извлечь путем отгонки органического растворителя из хлорида трехвалентного железа. Примеры органических растворителей включают спирты, имеющие 4-20 атомов углерода, в частности, спирты, имеющие 6-10 атомов углерода, такие как *n*-октанол, и органические растворы солей амина, такие как гидрохлорид три-*n*-лауриламины в толуоле. Присутствие хлористоводородной кислоты в водном растворе хлорида железа может повысить эффективность экстракции. Предпочтительно повысить концентрацию хлорида трехвалентного железа в исходном водном растворе путем частичного выпаривания перед добавлением органического растворителя, в частности, до концентрации в диапазоне 280-850 г/л хлорида трехвалентного железа. Цикл очистки выпариванием и экстракцией растворителем можно повторять до тех пор, пока не будет получена желаемая чистота препарата хлорида трехвалентного железа. Водные растворы хлорида двухвалентного железа также можно очистить, если хлорид двухвалентного железа предварительно превратить в хлорид трехвалентного железа путем окисления хлором. Конкретные способы экстракции солей железа органическими растворителями описаны, например, в CA 2318 823 A1 и Müller et al. ("Liquid-liquid extraction of ferric chloride by tri-*n*-laurylamine hydrochloride", EUR 2245.e, Euratom report, Transplutonium Elements Program, Euratom Contract No. 003-61-2 TPUB, Presses Academiques Europeennes, Brussels, 1965).

В данной области техники известны способы электролиза водных растворов солей железа, в которых железо осаждается на аноде. См., например, Cain et al. ("Preparation of pure iron and iron-carbon alloy" in Bulletin of the Bureau of Standards, Vol. 13, 1916) и Mostad et al. (Hydrometallurgy, 2008, 90, 213-220). Подходящие растворы железа для электролиза включают растворы хлорида железа, растворы сульфата железа и растворы, содержащие как хлорид железа, так и сульфат железа. Раствор обычно нейтральный или кислый.

Препарат железа, как описано в настоящем документе, может быть дополнительно получен путем контакта водного раствора соли железа с основанием с образованием осадка гидроксида железа и отделения осадка от жидкости путем фильтрации или центрифугирования. Подходящие основания для осаждения гидроксидов железа включают гидроксид натрия или карбонат натрия. Альтернативно, можно использовать бикарбонат натрия. Способы отделения такого осадка от оставшегося раствора фильтрацией или центрифугированием известны в данной области техники.

Препарат железа с низким содержанием примесей металлов, отличных от железа, такой как препарат железа, используемый в способе по изобретению, также может быть

получен дистилляцией смеси, содержащей хлорид трехвалентного железа и нелетучие примеси. Для дистилляции, смесь подвергают воздействию температуры и давления, которые выбраны так, чтобы при выбранных давлении и температуре смесь находилась примерно при температуре ее кипения. В этих условиях смесь разделяется на паровую фазу и взвесь нелетучих примесей в жидком хлориде трехвалентного железа. Пар представляет собой по существу чистый хлорид трехвалентного железа, который можно извлечь путем отделения паров от суспензии. Согласно конкретным вариантам осуществления, температура примерно при температуре кипения смеси означает температуру, которая находится в пределах 10°C от указанной температуры кипения, и предпочтительно, находится при указанной температуре кипения. Дистилляцию можно проводить, например, при температуре в диапазоне от 300°C до 700°C и давлении в диапазоне от 0,1 до 5,1 МПа, предпочтительно, в диапазоне от 0,2 до 0,4 МПа, где при выбранном давлении и температуре смесь достигает примерно температуры ее кипения.

Во время дистилляции, осаждение нелетучих твердых веществ в суспензии можно предотвратить путем механического перемешивания суспензии (например, лопастной мешалкой и подобным) или, что предпочтительнее, барботирования газа (например, азота, гелия, хлора или их смеси) через суспензию.

После отделения паров хлорида трехвалентного железа, оставшаяся суспензия может быть рециркулирована путем нагревания суспензии для испарения хлорида трехвалентного железа, отделения и охлаждения паров, содержащих хлорид трехвалентного железа, и повторного введения его в процесс дистилляции. Предпочтительно, рециркуляцию суспензии осуществляют так, чтобы количество твердых веществ, присутствующих в суспензии во время дистилляции, было ниже примерно 20% масс., в частности, ниже примерно 12% масс.

Смесь, содержащая хлорид трехвалентного железа и нелетучие примеси, которую вводят в процесс дистилляции, можно получить, например, хлорированием железосодержащей руды (например, титанистой руды, такой как ильменит) с получением газовой смеси, содержащей хлорид трехвалентного железа и нелетучие примеси, и охлаждением газа для осаждения твердой смеси хлорида трехвалентного железа и нелетучих примесей. Указанную твердую смесь затем можно ввести в процесс дистилляции. Перед отделением твердой смеси хлорида трехвалентного железа и нелетучих примесей от газовой смеси, газовая смесь может быть необязательно подвергнута воздействию температуры выше температуры конденсации хлорида трехвалентного железа, чтобы удалить нелетучие примеси, которые больше не являются газообразными при этой температуре. Предварительно очищенную таким образом газовую смесь можно затем охладить для осаждения твердой смеси хлорида трехвалентного железа и нелетучих примесей, которую можно ввести в процесс дистилляции. См., например, US 3,906,077, все которые включены посредством ссылки.

Различные способы получения и очистки препаратов железа можно комбинировать, чтобы еще больше повысить чистоту препарата железа. Например,

железо, полученное электролизом водного раствора соли железа, можно превратить в водорастворимую соль железа, которую затем подвергают одному или нескольким циклам

- (1) растворения с образованием водного раствора соли железа,
- (2) перекристаллизации соли железа из водного раствора и
- 3) отделения перекристаллизованной соли железа от оставшегося раствора.

Комплексы

Чтобы ионы железа были пригодны для парентерального введения, они должны образовывать комплексы с лигандами, чтобы количество свободных ионов железа было низким, и железо высвобождалось контролируемым образом после введения. Целесообразно, чтобы общее количество свободного железа, которое поступает с соединением комплекса железа перед введением, составляло 0,01% масс./об. или менее, и предпочтительно, менее 0,003% масс./об. (для соединения комплекса железа, представленного в виде 100 мг/мл раствора). Иными словами, общее количество свободного железа относительно общего содержания железа составляет 0,1% или менее, и предпочтительно, менее 0,03% массовых свободного железа от общего содержания железа (для соединения комплекса железа, представленного в виде 100 мг/мл раствора). Для этого необходимо, чтобы соединение комплекса железа имело физическую стабильность, достаточную для того, чтобы комплекс можно было переработать в конечный лекарственный продукт и хранить до его использования.

Комплексы углеводного железа

Согласно одной группе вариантов осуществления, соединение комплекса железа представляет собой соединение комплекса углеводного железа, т.е. лиганд в соединении комплекса железа представляет собой углевод.

Соединения комплекса углеводного железа по настоящему изобретению включают комплексы с углеводными лигандами, описанными в настоящем документе, например, карбоксимальтозу железа, комплекс полиглюкозы железа, сорбита и карбоксиметилового эфира, комплекс железа и маннита, декстран железа, гидрогенизированный декстран железа, окисленный декстран железа, карбоксиалкилированные восстановленные олиго- и полисахариды железа, сахароза железа, глюконат железа, декстрин железа, гидрогенизированный декстрин железа, окисленный декстрин железа, олигомальтоза железа, гидрогенизированная олигомальтоза железа, гидрогенизированные олигосахариды железа, такие как гидрогенизированная олигоизомальтоза железа, гидроксиэтилкрахмал железа, сорбит железа, глюкогептоновая кислота и декстран железа (например, глептоферрон) и смесь двух или нескольких из них. В соответствии с конкретными вариантами осуществления, соединение комплекса углеводного железа по настоящему изобретению выбрано из карбоксимальтозы железа, комплекса полиглюкозы, сорбита, карбоксиметилового эфира и железа, комплекса железа с маннитом, декстрана железа, гидрогенизированного декстрана железа, сахарозы железа, глюконата железа, декстрина железа, гидрогенизированной олигоизомальтозы железа и смеси двух или нескольких из них. В более предпочтительных вариантах осуществления, комплекс углеводного железа

представляет собой гидрогенизированную олигоизомальтозу железа (олигоизомальтозид железа).

Количество железа в соединении комплекса углеводного железа по изобретению, определенное в пересчете на сухое вещество, обычно находится в диапазоне от 10 до 50%, предпочтительно, от 15 до 35%, наиболее предпочтительно, от 20 до 30%, например от 20 до 25% железа от массы углеводного комплекса.

Соответственно, массовое отношение элементарного железа к углеводу в комплексе обычно составляет от 10:90 до 50:50, предпочтительно, от 15:85 до 45:55, наиболее предпочтительно, от 20:80 до 40:60, например, примерно 70:30.

«Кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) комплексов углеводного железа по изобретению обычно находится в диапазоне от 800 до 800000 Да, например, от 10000 до 500000 Да, или от 20000 до 400000 Да, или от 50000 до 300000 Да, и в частности, от 90000 до 200000 Да. «Кажущаяся» пиковая молекулярная масса M_p может быть определена с помощью гель-проникающей хроматографии с использованием, например, декстрановых стандартов. См., например, способ, описанный Jahn et al., Eur J Pharm Biopharm 2011, 78, 480-491. Для описанных в настоящем документе комплексов олигоизомальтозы(ида) железа, «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) обычно находится в диапазоне от 120000 до 190000 Да, в частности, от 125000 до 185000 Да, или от 130000 до 180000 Да. «Кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) в диапазоне от 135000 до 175000 Да, и особенно, в диапазоне от 140000 до 155000 Да оказалась предпочтительной, особенно в отношении описанного в настоящем документе октасахарида трехвалентного железа. Предпочтительно, «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) находится в диапазоне от 145000 до 155000 Да, особенно в отношении описанного в настоящем документе октасахарида трехвалентного железа. Олигоизомальтозы(иды) железа по изобретению предпочтительно имеют относительно узкое распределение молекулярной массы с дисперсностью (M_w/M_n) в диапазоне от 1,0 до 1,5, предпочтительно, от 1,05 до 1,4, более предпочтительно, от 1,1 до 1,3; например, примерно 1,2.

В некоторых вариантах осуществления, комплексы углеводного железа по изобретению могут содержать стабилизаторы, такие как органические кислоты. Предпочтительно, органическая кислота представляет собой органическую гидроксикислоту. Подходящими примерами органических гидроксикислот являются глюконовая кислота и лимонная кислота. Лимонная кислота является целесообразным примером. Если присутствует, количество лимонной кислоты обычно находится в диапазоне от 3 до 20% массовых от общего количества элементарного железа.

Соответственно, комплексы углеводного железа, которые особенно подходят для использования в настоящем изобретении, представляют собой олигоизомальтозы(иды) железа, такие как изомальтозид железа 1000 (название по INN: деризомальтоза железа) или октасахарид трехвалентного железа, как описано в настоящем документе. Термин «олигоизомальтозиды железа», используемый в настоящем документе, относится к коллоидным комплексам, содержащим железо, например, в виде гидроксида оксида

железа, и олигоизомальтозид в матрицеподобной структуре.

Олигоизомальтозиды железа представляют собой предпочтительные комплексы железа и углеводов для применения по изобретению. В предпочтительном варианте осуществления, комплекс углеводного железа для применения по изобретению содержит гидроксид оксида железа в стабильной ассоциации с октасахаридом. В предпочтительном варианте осуществления, комплекс углеводного железа представляет собой октасахарид трехвалентного железа.

Пример другого олигоизомальтозида железа коммерчески доступен во многих странах под торговым названием Monofer®, Monoferric® или Diafer®.

Было обнаружено, что комплексы олигоизомальтозида железа по изобретению обладают свойствами, которые оказываются выгодными, когда дело доходит до их медицинского применения. В частности, было обнаружено, что общее количество свободного железа составляет менее 0,01% масс./об. и особенно предпочтительно, менее 0,003% масс./об. для 100 мг/мл раствора комплекса олигоизомальтозида железа.

Кроме того, было обнаружено, что сила комплексов олигоизомальтозида железа по изобретению достаточно высока для того, чтобы они могли высвобождать железо в физиологических условиях *in vivo* целесообразным образом после их введения человеку или субъектам, не являющимся человеком. Существуют тесты *in vitro*, позволяющие ускорить оценку прочности. В одном тесте, комплексы подвергают гидролизу хлористоводородной кислотой в определенных условиях (0,24 М HCl; 0,9% NaCl). Затем анализ определяет время, прошедшее до тех пор, пока половина комплекса углеводного железа в растворе не диссоциирует на его составные части; железо и углеводы. Это можно сделать путем измерения оптического поглощения при длине волны 287,3 нм. Продолжительность времени ($T_{1/2}$), измеренная *in vitro*, является суррогатной мерой относительной скорости диссоциации комплекса углеводного железа после введения *in vivo*, т.е. она является мерой прочности комплекса. В этом тесте было обнаружено, что комплексы олигоизомальтозида железа по изобретению имеют период полужизни ($T_{1/2}$) по меньшей мере 20, предпочтительно, по меньшей мере 25, более предпочтительно, по меньшей мере 30 часов. Целесообразно, чтобы комплекс, подходящий для использования в настоящем изобретении, имел такой период полужизни. Это обеспечивает снижение токсичности свободного железа при всасывании железа из соединения комплекса железа. С другой стороны, период полужизни ($T_{1/2}$), составляющий не более 60, предпочтительно, не более 50, более предпочтительно, не более 40 часов, также обеспечивает значительные преимущества, когда речь идет о возможности целесообразного усвоения железа в организме. Периоды полужизни в диапазоне 25-35 часов являются особенно предпочтительными.

Другим конкретным комплексом углевода железа для использования в настоящем изобретении является бепектат железа (FBP). Бепектат железа описан, например, в WO 2012/175608 A1, все из которых включены посредством ссылки. Комплексы железа с декстраном-глюкогептоновой кислотой представляют собой дополнительные конкретные

комплексы углеводного железа для использования в настоящем изобретении. Они также известны как глептоферрон, который представляет собой коммерчески доступный комплекс углеводного железа для употребления в пищу свиньям. Декстран-глюкогептоновая кислота трехвалентного железа, такая как глептоферрон, описана, например, в US 3,639,588.

Согласно другой группе вариантов осуществления, соединение комплекса железа представляет собой полимерное соединение комплекса лиганд-замещенного оксогидрокси железа. Полимерные соединения комплекса лиганд-замещенного оксогидрокси железа содержат или в основном состоят из ионов железа (например, Fe^{3+}), лигандов и оксо и/или гидроксильных групп. Ионы железа, оксо и/или гидроксильные группы образуют полиоксогидрокси частицы железа. Лиганды встраиваются в них путем замены части первоначально присутствующих оксо или гидроксильных групп. Это замещение, как правило, не стехиометрическое, происходит за счет формальных связей и приводит к отчетливым изменениям в химическом составе, кристалличности и свойствах материала оксогидрокси железа. Полимерные соединения комплекса лиганд-замещенного оксогидрокси железа описаны, например, в WO 2008/096130 A1.

Среднее молярное отношение лиганда к железу обычно находится в диапазоне от 10:1 до 1:10, например, в диапазоне от 5:1 до 1:5, от 4:1 до 1:4, от 3:1 до 1:3, от 2:1 до 1:2 или примерно 1:1.

Получение соединений комплекса железа

Соединения комплекса железа по изобретению можно получить путем контакта препарата железа с лигандом в присутствии воды. Препараты железа, содержащие железо в форме гидроксида железа и/или оксида-гидроксида железа, могут быть использованы непосредственно на этой стадии. Например, осадок гидроксида железа (например, гидроксида трехвалентного железа) и/или оксида-гидроксида железа в водном растворе подвергают контакту с лигандом (например, углеводным препаратом) с последующим нагреванием и повышением pH с образованием соединения комплекса железа (например, соединения комплекса железа, содержащего сердцевину $\text{FeO}(\text{OH})$). Альтернативно, гидроксид железа и/или оксид-гидроксид железа препарата железа превращают в водорастворимую соль железа, как описано в настоящем документе, путем контакта препарата железа с кислотой. Целесообразно это превращение проводить в водном растворе, содержащем реагенты (гидроксид железа и/или оксид-гидроксид железа и кислоту). Выбор кислоты зависит от получаемой соли железа. Например, хлорид железа можно получить путем взаимодействия гидроксида железа и/или оксида-гидроксида железа препарата железа с хлористоводородной кислотой. Реагенты, которые в дополнение к получению железа используют на стадии (ii) способа по изобретению для получения соединения комплекса железа, целесообразно по существу не содержат примесей, отличных от железа, таких как мышьяк, хром, свинец, ртуть, кадмий и/или алюминий.

Таким образом, соединения комплекса углевода железа по изобретению могут быть

получены путем

(1) получения водного раствора, который содержит углевод и препарат железа, как описано в настоящем документе, содержащего водорастворимую соль железа (например, хлорид трехвалентного железа),

(2) добавления основания к водному раствору с образованием гидроксида железа, и

(3) последующего нагревания водного раствора с образованием соединения комплекса углеводного железа.

Предпочтительно, чтобы рН водного раствора на стадии (1) был кислым, например, рН раствора составлял 2 или ниже, чтобы предотвратить осаждение гидроксидов железа. Добавление основания на стадии (2) осуществляют предпочтительно медленно или постепенно, чтобы повысить рН, например, до рН 5 или более, например, до рН 11, 12, 13 или 14. Такого постепенного увеличения можно добиться, сначала добавив слабое основание (например, карбонат щелочного металла или карбонат щелочноземельного металла, такой как карбонат натрия, карбонат калия, бикарбонат натрия или бикарбонат калия, или карбонат аммония, или бикарбонат аммония, или аммиак) для увеличения рН, например, до рН 2-4, например, до 2-3, и затем далее повысив рН путем добавления сильного основания (например, гидроксида щелочного металла или гидроксида щелочноземельного металла, такого как гидроксид натрия, гидроксид калия, гидроксид кальция или гидроксид магния).

Альтернативно, соединения комплекса углеводного железа по настоящему изобретению могут быть получены путем

(1) получения водного раствора, который содержит углевод и препарат железа, как описано в настоящем документе, содержащего гидроксид железа, оксид-гидроксид железа или их смесь, и

(2) последующего нагревания водного раствора с образованием соединения комплекса углеводного железа.

Нагревание водного раствора на последней стадии двух вышеописанных способов получения соединений комплекса углеводного железа по настоящему изобретению облегчает образование соединения комплекса углеводного железа. Например, водный раствор может быть нагрет до температуры в диапазоне от 15°C до кипения. Предпочтительно, температуру повышают постепенно, например, на первой стадии, водный раствор нагревают до температуры от 15 до 70°C, и затем постепенно нагревают дальше до кипения. Для завершения реакции, рН можно снизить, например, до рН 5-7, добавив кислоту, такую как, например, HCl или водный раствор хлороводородной кислоты. В одном варианте осуществления, указанное снижение рН осуществляют, когда раствор нагревается примерно до 50°C и перед его дальнейшим нагреванием.

После нагревания, продукт можно дополнительно обработать фильтрованием и довести его рН до нейтрального или слегка кислого значения (например, рН 5-7) путем добавления основания или кислоты, таких как упомянуты выше. Дополнительные необязательные стадии включают очистку, в частности, удаление солей, которая может

быть проведена ультрафильтрацией или диализом, и стерилизацию, которая может быть проведена стерильной фильтрацией и/или термической обработкой (например, при температуре 121°C или выше). Очищенный раствор можно использовать непосредственно для приготовления фармацевтических композиций. Альтернативно, твердый комплекс углеводного железа можно получить осаждением, например, добавлением спирта, такого как этанол, или сушкой, например, распылительной сушкой.

Соединение углеводного комплекса железа можно стабилизировать путем смешивания его с органической гидроксикислотой или ее солью, такой как лимонная кислота, цитрат, глюконовая кислота или глюконат.

Соответственно, типовой процесс получения олигоизомальтоз(идов) железа включает следующие стадии:

- (a) гидролиз декстрана с получением гидролизата;
- (b) фракционирование гидролизата с получением олигоизомальтозы; и
- (c) гидрогенизация олигоизомальтозы с получением олигоизомальтозида
- (d) образование комплекса железа,

где стадия гидрогенизации включается, если способ предназначен для получения олигоизомальтозида железа.

Другие необязательные стадии включают:

Очистку, например диафильтрацию, для снижения уровня моно- и дисахарида в олигоизомальтозиде.

Очистку, например, ионным обменом, с получением очищенного олигоизомальтозида.

Нагревание комплекса.

Фильтрацию нагретого комплекса.

Мембранную фильтрацию для получения очищенного комплекса.

Добавление органической кислоты, такой как цитрат, с получением стабилизированного комплекса.

Распылительную сушку с получением комплекса в виде твердого вещества, например порошка.

Например, олигоизомальтозы(иды) железа, такие как октасахарид железа по изобретению, могут быть получены путем контакта описанных олигоизомальтоз(идов) железа с хлоридом трехвалентного железа в воде. Затем добавляют Na_2CO_3 , и затем NaOH до достижения pH примерно 10,5. Нагревание дает черный или темно-коричневый коллоидный раствор, который затем можно нейтрализовать с применением HCl и отфильтровать. Остатки несвязанного октасахарида, свободного железа и неорганических солей можно удалить мембранной фильтрацией. Для дальнейшей стабилизации комплекса можно добавить моногидрат лимонной кислоты. Доведение pH до нейтрального или слегка кислого приводит к получению раствора, который затем можно будет превратить в твердую форму, например, в порошок. С этой целью, раствор можно подвергнуть распылительной сушке с получением порошка от черного до темно-коричневого цвета.

Олигоизомальтозид железа можно получить, как описано, например, в WO 2010/108493 A1 и WO 2019/048674 A1, все из которых включены посредством ссылки.

Бепектат трехвалентного железа и его производство описаны, например, в WO 2012/175608 A1, все из которых включены посредством ссылки. Коротко, гидроксиэтилкрахмал растворяют в воде. Затем значение pH доводят до значения от 8,0 до 10,0. После этого к раствору гидроксиэтилкрахмала добавляют соединение цианида. Затем раствор нагревают до температуры от 80 до 99°C и выдерживают при этой температуре в течение первого периода времени. Наконец, значение pH доводят до значения от 2,0 до 4,0, температуру раствора доводят до 50-90°C и выдерживают при этой температуре в течение второго периода времени. Процесс производства модифицированного гептоновой кислотой гидроксиэтилкрахмала, HES 70/0,5, описан в Примере 1, и образование комплекса железа описано в Примере 2 из WO 2012/175608 A1, все из которых включены посредством ссылки.

Полимерные соединения комплекса лиганд-замещенного оксогидрокси железа по изобретению можно получить путем контакта препарата железа, как описано в настоящем документе, с лигандом в водном растворе при первом pH(A) и последующего изменения pH(A) до второго pH(B), чтобы вызвать осаждение твердого вещества соединения комплекса полимерного лиганд-замещенного оксогидрокси железа. Твердый осадок может иметь дисперсную, коллоидную или субколлоидную (наночастичную) структуру.

pH(A) отличается от pH(B). Предпочтительно, чтобы pH(A) был более кислым, чем pH(B). Например, pH(A) равен или ниже pH 2, и pH(B) выше pH 2. Начиная с pH, при котором начинается оксогидрокси полимеризация, pH предпочтительно дополнительно повышают для завершения реакции и содействия осаждению образовавшегося полимерного соединения комплекса лиганд-замещенного оксогидрокси железа. Во время указанного изменения pH можно добавлять дополнительные лиганды и/или эксципиенты. Указанное изменение pH предпочтительно осуществляют постепенно или ступенчато, например, в течение примерно 24 часов или в течение примерно 1 часа, в частности, в течение 20 минут. Изменение pH может быть осуществлено путем добавления кислот или оснований. Например, pH можно повысить путем добавления гидроксида натрия, гидроксида калия или бикарбоната натрия.

Полимерные соединения комплекса лиганд-замещенного оксогидрокси железа обычно получают в водных растворах, в которых концентрации ионов железа и лиганда составляют 1 мкМ или выше и, в частности, 1 мМ или выше. Соотношение ионов железа и лиганда выбрано так, чтобы относительное количество ионов железа не было настолько высоким, чтобы скорость оксогидрокси полимеризации происходила слишком быстро, и предотвращалось эффективное включение лиганда, и относительное количество лиганда не было настолько высоким, чтобы предотвратить оксогидрокси полимеризацию железа. Например, концентрация железа находится в диапазоне от 1 мМ до 300 мМ, например, от 20 мМ до 200 мМ и, в частности, примерно 40 мМ.

Лиганды, используемые для образования полимерных соединений комплекса

лиганд-замещенного оксигидрокси железа, могут обладать некоторой буферной способностью, которая помогает стабилизировать диапазон pH во время образования комплекса. Буферизацию можно также обеспечить добавлением неорганического или органического буферного агента, который не будет участвовать в формальном связывании с ионами железа, к водному раствору, содержащему препарат железа и лиганд. Обычно концентрация такого буфера, если он присутствует, составляет менее 500 мМ или менее 200 мМ и, в частности, менее 100 мМ.

Образование полимерных соединений комплекса лиганд-замещенного оксигидрокси железа обычно происходит при температуре в диапазоне от 20°C до 120°C, например, от 20°C до 100°C, в частности, от 20°C до 30°C.

Необязательно, ионная сила в водном растворе, содержащем препарат железа и лиганд, может быть увеличена путем добавления дополнительного электролита, такого как, например, хлорид калия или хлорид натрия, в количестве, например, до 10% масс., например, до 2% масс. и в частности, до 1% масс.

Твердый осадок соединения комплекса лиганд-замещенного оксигидрокси железа можно отделить и необязательно высушить и подвергнуть дальнейшей обработке, например, измельчением, перед дальнейшим использованием или составлением.

Фармацевтические композиции

Изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение комплекса железа по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

Предпочтительными являются фармацевтические композиции для парентерального применения. Это могут быть готовые к использованию жидкости (жидкости для инъекций или инфузий); жидкость для разбавления перед использованием; или твердое вещество для восстановления. В идеале, такие жидкости являются изотоническими, стерильными, апирогенными и сохраняют подходящую физическую и химическую стабильность в течение предполагаемого срока годности. Однако не всегда возможно достичь всех этих целей, и часто необходимо сбалансировать противоположные эффекты, чтобы найти «золотую середину» для того, чтобы фармацевтическая композиция была пригодна для использования по назначению.

Особенно предпочтительными являются готовые к использованию композиции для инъекций.

Соответственно, фармацевтические композиции по изобретению включают жидкую композицию, подходящую для инъекции или инфузии, содержащую соединение комплекса железа, воду для инъекций и необязательно дополнительные целесообразные эксципиенты. Жидкости включают жидкости, которые предпочтительно представлены в виде растворов (т.е. жидкости и особенно жидкости, в которых растворено соединение комплекса железа). Эти жидкости могут иметь концентрацию соединения комплекса железа, которую желательно вводить. Альтернативно, концентрация соединения комплекса железа может быть выше; такой концентрат перед введением потребует разбавления подходящей жидкостью. Фармацевтические композиции по изобретению

также включают твердые вещества, такие как порошки для разведения подходящей жидкостью перед введением. Например, фармацевтическая композиция может храниться в высушенной распылением или лиофилизированной форме и затем может быть восстановлена, обычно в виде водной композиции, предпочтительно, раствора, подходящего для парентерального введения, перед введением субъекту. Такая композиция может быть восстановлена стерильной водой для инъекций (WFI). Могут быть включены бактериостатические реагенты, такие как бензиловый спирт или фенол.

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения, фармацевтическая композиция пригодна для подкожного введения. Соответственно, особенно предпочтительными являются фармацевтические готовые к употреблению инъекционные композиции для подкожного применения. Обычно подкожное введение ограничивается общим объемом вводимой жидкости. Если количество соединения углеводного железа, которое должно быть введено субъекту, относительно велико (например, 10-30 мг железа/кг массы тела в форме соединения комплекса железа), это может потребовать составления жидкости с относительно высокой концентрацией соединения комплекса железа для достижения приемлемого объема инъекции. Как правило, данный объем жидкости должен содержать как можно больше железа, чтобы обеспечить минимально возможный объем инъекции. Но относительно высокие концентрации соединения комплекса железа могут привести к образованию вязких жидкостей, инъекция которых затруднена и/или болезненна. Кроме того, соображения pH и осмоляльности могут потребовать более низкой концентрации железа. Более того, относительно высокие концентрации соединения комплекса железа могут снизить физическую стабильность соединения комплекса железа и, таким образом, привести к сокращению срока годности.

Целесообразно, чтобы фармацевтические композиции по изобретению содержали от 1 до 25%, предпочтительно, от 2,5 до 20%; наиболее предпочтительно, от 2,5 до 7,5%, или от 7,5 до 12,5%, или от 15% до 20%; например, примерно 5%, или примерно 10%, или примерно 20% (масс./об.) элементарного железа. Иными словами, концентрация соединения комплекса железа в жидкой фармацевтической композиции составляет от 25 до 300 мг/мл, предпочтительно, от 50 до 200 мг/мл, наиболее предпочтительно, от 75 до 150 мг/мл, например, примерно 100 мг/мл элементарного железа.

С точки зрения парентерального, и особенно, подкожного введения, pH жидкой фармацевтической композиции целесообразно находится в диапазоне от 5,8 до 7,0, предпочтительно, от 5,9 до 6,8; наиболее предпочтительно, от 5,9 до 6,6, например от 6,0 до 6,4. Обычно предпочтительно выбирать pH на верхнем конце этих диапазонов, т.е. ближе к нейтральному pH. Следовательно, при необходимости, инъекционные и инфузионные композиции должны быть соответствующим образом забуферены. В связи с этим, в свете настоящего изобретения, специалистам в данной области техники будут известны стерильные водные среды, которые можно использовать. Например, одну дозу можно приготовить с использованием определенного объема изотонического раствора

NaCl и стерильной воды перед инъекцией. Для подкожной инъекции, композицию обычно вводят без предварительного разведения (если только размер животного не требует дозы, которая приведет к тому, что объем инъекции будет слишком мал для введения). Типовые объемы подкожных инъекций составляют от 0,5 до 5 мл.

Мутность жидкой фармацевтической композиции целесообразно составляет ниже 2,0 НЕМ, предпочтительно, ниже 1,5 НЕМ, наиболее предпочтительно, ниже 1,0 НЕМ, например, ниже 0,5 НЕМ.

Свойства текучести, такие как возможность введения через шприц и инъекционная способность, являются характеристиками, которые необходимо оценивать и контролировать. Возможность введения через шприц описывает способность композиции легко проходить через иглу для подкожных инъекций при переносе из флакона перед инъекцией. Он включает в себя такие характеристики, как легкость извлечения, склонность к засорению и пенообразованию, а также точность измерения дозы. Увеличение вязкости и плотности снижает возможность введения через шприц композиции.

Инъекционная способность относится к характеристикам композиции во время инъекции и включает такие факторы, как давление или сила, необходимые для инъекции. Равномерность потока, аспирационные качества и отсутствие засоров. Возможность введения через шприц и инъекционная способность композиции тесно связаны с вязкостью композиции. Простой выброс композиции на открытое пространство, если он выполняется очень медленно с прерывистым давлением на поршень, может дать определенную информацию о композиции. Большинство способов, используемых для инъекций, носят качественный характер. Для определения давления выброса и впрыска можно использовать устройство контроля силы, такое как Instron, и результаты тестирования можно записать на X-Y регистраторе. Другой инструмент для оценки инъекционной способности измеряет время, необходимое для плавного введения раствора или суспензии в плоть под заданным давлением из шприца через иглу. При введении тестируемого раствора через стеклянные и пластиковые шприцы различных размеров получают уравнения регрессии для заданного типа и диаметра шприца с использованием игл различного калибра. Эти уравнения позволяют рассчитать ожидаемое время инъекции для данной системы игл шприца и для данного носителя определенной вязкости.

Чтобы получить композиции, имеющую подходящую возможность введения через шприц, жидкие фармацевтические композиции по изобретению целесообразно имеют вязкость не более 60 сПз. В другом варианте осуществления, композиции имеют вязкость не более 50 сПз, или не более 40 сПз, или не более 30 сПз, или не более 20 сПз, или не более 40 сПз, или не более 15 сПз. В некоторых вариантах осуществления, композиции имеют вязкость между 1 сПз и 50 сПз, между 1 сПз и 40 сПз, между 1 сПз и 30 сПз, между 1 сПз и 20 сПз, между 1 сПз и 15 сПз или между 1 сПз и 10 сПз при 25°C. В некоторых вариантах осуществления, композиции имеют вязкость примерно 50 сПз, примерно 45 сПз, примерно 40 сПз, примерно 35 сПз, примерно 30 сПз, примерно 25 сПз, примерно 20

сПз, примерно 15 сПз, или примерно 10 сПз или примерно 5 сПз. В некоторых вариантах осуществления, композиции имеют вязкость от 10 сПз до 50 сПз, от 10 сПз до 30 сПз, от 10 сПз до 20 сПз или от 5 сПз до 15 сПз.

Термин «вязкость», используемый в настоящем документе, может означать «кинематическая вязкость» или «абсолютная вязкость». «Кинематическая вязкость» является мерой резистивного течения жидкости под действием силы тяжести. Когда две жидкости одинакового объема помещают в одинаковые капиллярные вискозиметры и позволяют течь под действием силы тяжести, вязкой жидкости требуется больше времени, чем менее вязкой жидкости, чтобы течь через капилляр. Если одной жидкости требуется 200 секунд, чтобы завершить свое течение, и другой жидкости требуется 400 секунд, вторая жидкость в два раза более вязкая, чем первая, по шкале кинематической вязкости. «Абсолютная вязкость», иногда называемая динамической или простой вязкостью, представляет собой произведение кинематической вязкости и плотности жидкости: Абсолютная вязкость=Кинематическая вязкость x Плотность. Размерность кинематической вязкости равна $L^{2/T}$, где L означает длину, и T означает время. Обычно, кинематическую вязкость выражают в сантистоксах (сСт). Единицей кинематической вязкости в системе СИ является $\text{мм}^2/\text{с}$, что соответствует 1 сСт. Абсолютная вязкость выражается в сантипуазах (сПз). Единицей абсолютной вязкости в системе СИ является миллипаскаль-секунда (мПа-с), где 1 сПз=1 мПа-с.

Что касается хранения, жидкие фармацевтические композиции имеют срок хранения по меньшей мере 1 год при 25°C, предпочтительно, по меньшей мере 2 года при 25°C, более предпочтительно, по меньшей мере 3 года при 25°C.

Комбинированная терапия

Далее в настоящем документе описаны комбинации соединения комплекса железа с одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами. Согласно конкретным вариантам осуществления, дополнительное лекарственное средство выбрано из группы, состоящей из:

(1) агентов, стимулирующих эритропоэз (ESA), такие как Эритропоэтин (Epo), Эпоэтин альфа (Procrit/Epogen), Эпоэтин бета (NeoRecormon), Дарбэпоэтин альфа (Aranesp), метоксиполиэтиленгликоль-эпоэтин бета (Mircera) или те, которые описаны в US20210032305A, все из которых включены посредством ссылки;

(2) модуляторов гепсидина, таких как агонист гепсидина или антагонист гепсидина

(3) противопаразитарных лекарственных средств, таких как паразитициды, эктопаразитицид(ы) и эндопаразитицид(ы);

(4) химиотерапевтических лекарственных средств;

(5) антибиотиков;

(6) противовирусных агентов; и

(7) вакцин.

Те, которые подходят для применения при терапии дефицита железа по изобретению, представляют собой конкретный вариант осуществления этого аспекта

изобретения. Кошкам с СКД, например, показаны средства, стимулирующие эритропоэз, и поэтому их можно вводить в дополнение к соединению комплекса железа по изобретению, если требуется терапия дефицита железа и особенно железodefицитной анемии.

Схемы введения

Способы терапии дефицита железа у субъекта по изобретению включают введение терапевтически эффективного количества соединения комплекса железа субъекту, нуждающемуся в такой терапии. Таким образом, способы по изобретению могут включать и, согласно предпочтительному варианту осуществления, включают, перед указанным введением соединения комплекса железа, определение того, имеет ли указанный субъект дефицит железа, и введение указанного соединения комплекса железа, если указанный субъект страдает дефицитом железа.

Некоторое изменение дозировки обязательно будет происходить в зависимости от веса животного, которого лечат. В любом случае, соответствующую дозу определит лицо, ответственное за введение. Типовая схема лечения соединением комплекса железа будет состоять из дозы 5-100 мг, например, 10-60 мг, в частности, 15-25 мг, например примерно 20 мг элементарного железа на кг массы тела. Альтернативно, эффективное количество соединения комплекса железа представляет собой количество до 50 мг железа/кг массы тела, в частности, до 30 мг железа/кг массы тела, или предпочтительно, до 20 мг железа/кг массы тела. Соответственно, типовая доза соединения комплекса железа может составлять от 10 до 2800 мг элементарного железа для субъекта, такого как собака, весом в диапазоне 0,5-140 кг.

Совокупную потребность в железе можно определить с использованием формулы Ганзони, и согласно одному варианту осуществления, будет введена рассчитанная доза. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления, эффективное терапевтическое количество соединения комплекса железа равно совокупной потребности в железе. Такая совокупная потребность в железе может быть ниже или выше типовой дозы.

Обычно предпочтительно, чтобы доза вводилась за один раз (посещение). Такая (однократная) доза может быть предоставлена в виде однократного (1) введения (например, инъекции) или, альтернативно, в виде 2, 3 или более введений (например, инъекций), в зависимости от объема дозы. Обычно, если объем дозы превышает 5 мл, 7,5 мл или 10 мл, то дозу предпочтительно разделить на 2, 3 или более введений, чтобы снизить объем, вводимый в каждое место введения. Это особенно справедливо для подкожного введения. Важность разделения дозы и снижения вводимого объема варьируется в зависимости от размера субъекта и дряблости кожи субъекта. Специалист в данной области техники знает, как определить объем, который необходимо ввести.

В другом конкретном варианте осуществления, терапевтические способы по изобретению включают введение 2, или 3, или 4, или 5 или более доз в течение периода времени для обеспечения эффективной терапии ID или IDA, например, в случае, когда однократная доза недостаточна, или в ситуации, когда клинические признаки ID или IDA

вновь появляются после исчезновения ранее, и/или когда ID или IDA диагностируются заново у того же субъекта.

В дополнительном конкретном варианте осуществления, терапевтические способы по изобретению включают введение нескольких повторяющихся доз с течением времени для ведения ID или IDA у субъекта с хронической кровопотерей, вызванной основным заболеванием, например, у субъекта с СКД или субъекта с IBD. Такой субъект потенциально будет нуждаться в железе постоянно (в качестве поддерживающей терапии), и, следовательно, терапию необходимо будет повторять регулярно и на постоянной основе.

При повторном дозировании, за первой дозой до 50 мг железа/кг массы тела, в частности, до 30 мг железа/кг массы тела или, предпочтительно, до 20 мг железа/кг массы тела, следует вторая доза до 50 мг железа/кг массы тела, в частности, до 30 мг железа/кг массы тела или, предпочтительно, до 20 мг железа/кг массы тела. Две последовательные дозы можно вводить в течение 1 месяца, 2 недель или, предпочтительно, 1 недели. Предпочтительно, их вводят в течение одной недели. Дополнительные дозы до 50 мг железа/кг массы тела, в частности, до 30 мг железа/кг массы тела или, предпочтительно, до 20 мг железа/кг массы тела. Эту дополнительную, например, третью дозу(ы) можно вводить в течение того же периода времени, т.е. 1 месяц, 2 недели или предпочтительно 1 неделю. Эти многократные дозы предпочтительно вводят с интервалом по меньшей мере 2 и, в частности, 3 дня. Например, если в течение одной недели необходимо ввести 3 дозы, предпочтительно вводить эти дозы в 1, 4 и 7 день.

Согласно изобретению, соединения комплекса железа можно вводить парентерально, например, посредством внутримышечной инъекции, внутривенной (в/в) болюсной инъекции или в/в инфузии. Однако, согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения, парентеральное введение соединения комплекса железа представляет собой подкожное введение. Например, удобное место для подкожного введения определяется относительно рыхлой кожей, как, например, в области латерально выше дорсальной плоскости за лопатками над ребрами домашних животных, таких как собаки. Альтернативно, для инъекции можно использовать дорсальную паралюмбальную область. Другие типовые области для подкожной инъекции известны специалистам в данной области техники.

Введение «в комбинации» с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами включает одновременное (одновременное) и последовательное или последовательное введение в любом порядке. Термин «одновременное» используется в настоящем документе для обозначения введения двух или нескольких терапевтических агентов, где по меньшей мере часть введения перекрывается во времени, или где введение одного терапевтического агента попадает в короткий период времени по сравнению с введением другого терапевтического агента. Например, два или несколько терапевтических агентов вводят с временным интервалом не более примерно определенного количества минут. Термин «последовательно»

используется в настоящем документе для обозначения введения двух или нескольких терапевтических агентов, при котором введение одного или нескольких агентов продолжают после прекращения введения одного или нескольких других агентов, или где введение одного или нескольких агентов начинается до введения одного или нескольких других агентов. Например, введение двух или нескольких терапевтических агентов осуществляется с временным интервалом, превышающим примерно определенное количество минут. В настоящем документе, термин «в сочетании с» относится к применению одного метода лечения в дополнение к другому методу лечения. По существу, «в сочетании с» относится к введению одного метода лечения до, во время или после введения животному другого метода лечения.

Октасахарид трехвалентного железа

В некоторых аспектах, изобретение конкретно относится к комплексам октасахаридов трехвалентного железа и фармацевтическим композициям, содержащим комплекс октасахаридов трехвалентного железа. Комплексы октасахаридов трехвалентного железа особенно полезны в способах терапии, описанных в настоящем документе. Все приведенные ниже ссылки на октасахарид трехвалентного железа по изобретению в равной степени применимы к применению октасахаридов трехвалентного железа в способах терапии, описанных в настоящем документе.

Октасахарид трехвалентного железа содержит железо в комплексе с октасахаридом. Предпочтительно октасахарид трехвалентного железа содержит гидроксид оксида железа в стабильной ассоциации с октасахаридом. В некоторых вариантах осуществления, октасахарид трехвалентного железа содержит стабилизаторы, такие как органические кислоты. Предпочтительно, органическая кислота представляет собой органическую гидроксикислоту. Подходящими примерами органических гидроксикислот являются глюконовая кислота и лимонная кислота. Лимонная кислота является целесообразным примером. Если присутствует, количество лимонной кислоты обычно находится в диапазоне от 3 до 20% массовых от общего количества элементарного железа.

В некоторых вариантах осуществления, октасахарид трехвалентного железа содержит соль, такую как хлорид металла. Хлорид металла может представлять собой хлорид натрия или хлорид калия. Предпочтительно, хлорид металла представляет собой хлорид натрия. Если он присутствует, количество хлорида натрия обычно находится в диапазоне от 3 до 110% массовых от общего количества элементарного железа.

В некоторых вариантах осуществления, октасахарид трехвалентного железа содержит воду. Если она присутствует, то количество воды обычно находится в диапазоне от 3 до 25% массовых от общего количества элементарного железа.

В конкретных вариантах осуществления, октасахарид трехвалентного железа содержит стабилизаторы, соль/соли и воду. В предпочтительном варианте осуществления, октасахарид трехвалентного железа содержит лимонную кислоту, хлорид натрия и воду.

В одном аспекте изобретения, предложен октасахарид трехвалентного железа,

имеющий формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{октасахарид})_Q\}$, который необязательно содержит стабилизатор и/или хлорид металла, и/или H_2O , где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085.

В предпочтительном варианте осуществления, октасахарид трехвалентного железа по изобретению имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{октасахарид})_Q, (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)_R\}$, который необязательно содержит хлорид металла и/или H_2O , где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085; и

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031.

В другом предпочтительном варианте осуществления, октасахарид трехвалентного железа по изобретению имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{октасахарид})_Q, (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)_R\}$, который содержит хлорид металла и H_2O , где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085;

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031; и

хлорид металла представляет собой хлорид натрия или хлорид калия, предпочтительно, хлорид натрия.

В другом предпочтительном варианте осуществления, октасахарид трехвалентного железа по изобретению имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{октасахарид})_Q, (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)_R\}, (\text{H}_2\text{O})_X, (\text{MeCl})_Y$, где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085;

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,15 до 0,55, в частности, от 0,25 до 0,45, предпочтительно, от 0,30 до 0,40, более предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион одновалентного металла, такой как ион натрия или ион калия, и предпочтительно, представляет собой ион натрия.

В другом предпочтительном варианте осуществления, октасахарид трехвалентного железа по изобретению имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{октасахарид})_Q, (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)_R\}, (\text{H}_2\text{O})_X, (\text{MeCl})_Y$, где

Q составляет от 0,08 до 0,09, предпочтительно, примерно 0,085;

R составляет от 0,028 до 0,034, предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,30 до 0,40, предпочтительно, примерно 0,34; и

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион натрия.

В другом предпочтительном варианте осуществления, октасахарид трехвалентного железа по изобретению имеет формулу:

$\{FeOON, (октасахарид)_Q, (C_6H_8O_7)_R\}, (H_2O)_X, (NaCl)_Y$, где

Q составляет примерно 0,085;

R составляет примерно 0,031;

X составляет примерно 0,34; и

Y составляет примерно 0,14.

В особенно предпочтительном варианте осуществления, октасахарид трехвалентного железа по изобретению имеет формулу:

$\{FeOON, (C_6H_{10}O_6)_T - (C_6H_{10}O_5)_Z - (C_6H_{13}O_5)_T, (C_6H_8O_7)_R\}, (H_2O)_X, (MeCl)_Y$, где

T составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085;

Z составляет от 0,25 до 0,75, в частности, от 0,35 до 0,65, предпочтительно, от 0,45 до 0,55, еще более предпочтительно, примерно 0,51;

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,15 до 0,55, в частности, от 0,25 до 0,45, предпочтительно, от 0,30 до 0,40, более предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион одновалентного металла, такой как ион натрия или ион калия, и предпочтительно, представляет собой ион натрия.

В другом особенно предпочтительном варианте осуществления, октасахарид трехвалентного железа по изобретению имеет формулу:

$\{FeOON, (C_6H_{10}O_6)_T - (C_6H_{10}O_5)_Z - (C_6H_{13}O_5)_T, (C_6H_8O_7)_R\}, (H_2O)_X, (NaCl)_Y$, где

T составляет от 0,08 до 0,09, предпочтительно, примерно 0,085;

Z составляет от 0,45 до 0,55, предпочтительно, примерно 0,51;

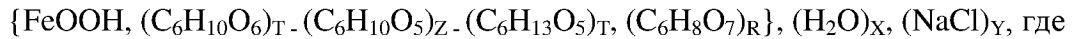
R составляет от 0,028 до 0,034, предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,30 до 0,40, предпочтительно, примерно 0,34; и

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14.

В другом особенно предпочтительном варианте осуществления, октасахарид

трехвалентного железа по изобретению имеет формулу:



T составляет примерно 0,085;

Z составляет примерно 0,51;

R составляет примерно 0,031;

X составляет примерно 0,34; и

Y составляет примерно 0,14.

В конкретных вариантах осуществления, октасахарид трехвалентного железа содержит смесь олигоизомальтозидов, имеющих средневесовую молекулярную массу в диапазоне от 1150 до 1350 Да. В конкретных вариантах осуществления, октасахарид включает смесь олигоизомальтозидов, имеющих средневесовую молекулярную массу в диапазоне от 1200 до 1300 Да, предпочтительно, от 1225 до 1275 Да; например, примерно 1250 Да.

В некоторых вариантах осуществления, октасахарид трехвалентного железа имеет «кажущуюся» пиковую молекулярную массу (M_p , измеренную с помощью гель-проникающей хроматографии) в диапазоне от 125000 до 185000 Да. В конкретных вариантах осуществления, «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p , измеренная с помощью гель-проникающей хроматографии) октасахаридов трехвалентного железа находится в диапазоне от 135000 до 175000 Да, предпочтительно, от 140000 до 155000 Да. В некоторых вариантах осуществления, «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) находится в диапазоне от 145000 до 155000 Да.

В некоторых вариантах осуществления, октасахарид трехвалентного железа имеет содержание моносахарида и дисахаридов менее 10,0% массовых октасахаридов. В конкретных вариантах осуществления, содержание мономера и димера составляет менее 3,0%, предпочтительно, менее 1,0%; например, от 0,1 до 0,5% массовых октасахаридов.

В некоторых вариантах осуществления, фракция октасахаридов трехвалентного железа с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 40% массовых октасахаридов. В конкретных вариантах осуществления, фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 35%, предпочтительно, менее 30%; например, от 20 до 30% массовых октасахаридов.

В некоторых вариантах осуществления октасахаридов трехвалентного железа, по меньшей мере 40% массовых молекул олигоизомальтозида содержат 6-10 моносахаридных единиц. В конкретных вариантах осуществления, доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц, составляет по меньшей мере 45%; например, от 40 до 60% или от 45 до 55% массовых октасахаридов.

В некоторых вариантах осуществления, доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц, выше по массе, чем доля молекул, содержащих 3-6 моносахаридных единиц.

В некоторых вариантах осуществления, дисперсность (M_w/M_n) октасахаридов трехвалентного железа находится в диапазоне от 1,05 до 1,4. В конкретных вариантах

осуществления, дисперсность (M_w/M_n) находится в диапазоне от 1,1 до 1,3; например, примерно 1,2.

В некоторых вариантах осуществления, количество восстанавливающего сахара в октасахариде трехвалентного железа составляет 2,5% или менее от массы октасахарида. В конкретных вариантах осуществления, количество восстанавливающего сахара составляет 2,5% или менее; предпочтительно, 1,0% или менее; более предпочтительно, 0,5% или менее; например, примерно 0,3% массовых октасахарида.

В некоторых вариантах осуществления, количество восстанавливающего сахара в октасахариде трехвалентного железа перед гидрогенизацией составляет (i) по меньшей мере 10% или по меньшей мере 15% и (ii) менее 35%; предпочтительно, не более 30%; например, от 10% до 30% или предпочтительно, от 15 до 25% массовых октасахарида.

В некоторых вариантах осуществления, октасахарид железа содержит от 10 до 50%; предпочтительно, от 15 до 35%; наиболее предпочтительно, от 20 до 30%; например, от 20 до 25% железа массовых октасахарида трехвалентного железа. В некоторых вариантах осуществления, массовое отношение элементарного железа и октасахарида в октасахариде трехвалентного железа составляет от 10:90 до 50:50; предпочтительно, от 15:85 до 45:55; наиболее предпочтительно, от 20:80 до 40:60; например, примерно 70:30.

В некоторых вариантах осуществления, общее количество свободного железа в октасахариде трехвалентного железа составляет 0,01% масс./об. или менее; предпочтительно, менее 0,003% масс./об. для 100 мг/мл раствора.

В другом аспекте изобретения, предложен октасахарид трехвалентного железа, содержащий железо в комплексе с октасахаридом, где (i) октасахарид имеет средневесовую молекулярную массу в диапазоне от 1150 до 1350 Да; (ii) содержание моносахарида и дисахарида составляет менее 10,0% от массы октасахарида; (iii) фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 40% массовых октасахарида; (iv) по меньшей мере 40% массовых молекул содержат 6-10 моносахаридных единиц; (v) «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) октасахаридного комплекса находится в диапазоне от 125000 до 185000 Да; (vi) дисперсность (M_w/M_n) комплекса находится в диапазоне от 1,05 до 1,4; и (vii) количество восстанавливающего сахара составляет 2,5% или менее от массы октасахарида.

Все вышеперечисленные варианты осуществления в равной степени применимы к этому аспекту.

ТИПОВЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

1. Способ терапии дефицита железа у домашнего животного, включающий введение соединения комплекса железа.

2. Способ по варианту осуществления 1, где домашним животным является собака, кошка или лошадь.

3. Способ по варианту осуществления 1, где домашним животным является собака или кошка.

4. Способ по варианту осуществления 1, где домашним животным является собака.

5. Способ по любому из вариантов осуществления 1-4, где содержание ретикулоцитарного гемоглобина (CHr)/эквивалента ретикулоцитарного гемоглобина (RET-He) у домашнего животного составляет 20 пг или менее.

6. Способ по любому из вариантов осуществления 1-4, где дефицит железа представляет собой железодефицитную анемию.

7. Способ по любому из вариантов осуществления 1-6, где домашнее животное, предпочтительно, собака или кошка, имеет гематокрит (HCT/PCV) менее 35%.

8. Способ по любому из вариантов осуществления 1-7, где домашнее животное, предпочтительно, собака или кошка, имеет концентрацию гемоглобина (Hb) менее 12 г/дл.

9. Способ по любому из вариантов осуществления 1-8, где домашнее животное, предпочтительно, собака или кошка, имеет средний объем эритроцитов (MCV) менее 60 фл.

10. Способ по любому из вариантов осуществления 1-9, где домашнее животное, предпочтительно, собака или кошка, имеет среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитах (MCHC) 30 г/дл или менее.

11. Способ по любому из вариантов осуществления 1-10, где доза составляет от 5 до 100 мг на кг массы тела; предпочтительно, от 10 до 60 мг на кг массы тела; наиболее предпочтительно, от 15 до 25 мг на кг массы тела; например, примерно 20 мг на кг массы тела.

12. Способ по любому из вариантов осуществления 1-11, где доза составляет до 50 мг железа/кг массы тела; предпочтительно, до 30 мг железа/кг массы тела; наиболее предпочтительно, до 20 мг железа/кг массы тела.

13. Способ по любому из вариантов осуществления 1-12, где доза представляет собой разовую дозу.

14. Способ по любому из вариантов осуществления 1-13, где доза предложена в виде однократного (1) введения, предпочтительно, инъекции, и особенно, подкожной инъекции.

15. Способ по любому из вариантов осуществления 1-13, где доза предложена в виде 2, 3 или более введений, предпочтительно, инъекций, и особенно, подкожных инъекций.

16. Способ по любому из вариантов осуществления 1-12, где вводят более одной дозы.

17. Способ по варианту осуществления 16, где более чем одна доза представляет собой дозу до 50 мг железа/кг массы тела; предпочтительно, до 30 мг железа/кг массы тела; наиболее предпочтительно, до 20 мг железа/кг массы тела.

18. Способ по варианту осуществления 16 или 17, где две последовательные дозы вводят в течение 1 месяца; предпочтительно, в течение 2 недель; наиболее предпочтительно, в течение 1 недели.

19. Способ по любому из вариантов осуществления 1-18, где введение представляет собой подкожное введение.

20. Способ по варианту осуществления 19, где место подкожного введения находится в области латерально выше дорсальной плоскости за лопатками над ребрами или в дорсальной параллельной области.

21. Способ по любому из вариантов осуществления 1-20, где соединение комплекса железа представляет собой комплекс углеводного железа.

22. Способ по варианту осуществления 21, где углевод представляет собой олигосахарид.

23. Способ по варианту осуществления 22, где олигосахарид представляет собой олигоизомальтозу.

24. Способ по варианту осуществления 23, где олигоизомальтоза представляет собой гидрогенизированную олигоизомальтозу (олигоизомальтозид).

25. Способ по любому из вариантов осуществления 22-24, где олигосахарид имеет средневесовую молекулярную массу (M_w) в диапазоне от 850 до 1150 Да; предпочтительно, от 950 до 1050 Да; наиболее предпочтительно, от 975 до 1025 Да; например, примерно 1000 Да.

26. Способ по варианту осуществления 25, где доля молекул, имеющих 3-6 моносахаридных единиц, выше по массе, чем доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц.

27. Способ по варианту осуществления 25 или 26, где доля молекул, имеющих 3-6 моносахаридных единиц, составляет по меньшей мере 40%; предпочтительно, по меньшей мере 50%; например, от 40 до 70% или от 50 до 70% массовых олигосахарида.

28. Способ по любому из вариантов осуществления 25-27, где фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 30%; предпочтительно, менее 25%; наиболее предпочтительно, менее 20%; например, от 5% до 15% массовых олигосахарида.

29. Способ по любому из вариантов осуществления 22-24, где олигосахарид имеет средневесовую молекулярную массу (M_w) в диапазоне от 1150 до 1350 Да; предпочтительно, от 1200 до 1300 Да; наиболее предпочтительно, от 1225 до 1275 Да; например, примерно 1250 Да.

30. Способ по варианту осуществления 29, где доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц, выше по массе, чем доля молекул, имеющих 3-6 моносахаридных единиц.

31. Способ по варианту осуществления 29 или 30, где доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц, составляет по меньшей мере 40%; предпочтительно, по меньшей мере 45%; например, от 40 до 60% или от 45 до 55% массовых олигосахарида.

32. Способ по любому из вариантов осуществления 29-31, где фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 40%; предпочтительно, менее 35%; наиболее предпочтительно, менее 30%; например, от 20 до 30% массовых олигосахарида.

33. Способ по любому из вариантов осуществления 22-32, где содержание мономера и димера составляет менее 10,0%; предпочтительно, менее 3,0%; наиболее предпочтительно, менее 1,0%; например, от 0,1 до 0,5% массовых олигосахарида.

34. Способ по любому из вариантов осуществления 22-33, где количество восстанавливающего сахара составляет 2,5% или менее; предпочтительно, 1,0% или менее; более предпочтительно, 0,5% или менее; например, примерно 0,3% массовых олигосахарида.

35. Способ по любому из вариантов осуществления 22-33, где количество восстанавливающего сахара составляет (i) по меньшей мере 10% или по меньшей мере 15% и (ii) менее 35%; предпочтительно, не более 30%; например, от 10% до 30% или предпочтительно, от 15 до 25% массовых олигосахарида.

36. Способ по любому из вариантов осуществления 22-35, где комплекс олигосахарида железа содержит от 10 до 50%; предпочтительно, от 15 до 35; наиболее предпочтительно, от 20 до 30%; например, от 20 до 25% железа массовых комплекса олигосахарида железа.

37. Способ по любому из вариантов осуществления 22-36, где массовое отношение элементарного железа к олигосахариду в комплексе олигосахарида железа составляет от 10:90 до 50:50; предпочтительно, от 15:85 до 45:55; наиболее предпочтительно, от 20:80 до 40:60; например, примерно 70:30.

38. Способ по любому из вариантов осуществления 22-37, где «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p , измеренная с помощью гель-проникающей хроматографии) комплекса олигосахарида железа находится в диапазоне от 120000 до 190000 Да; предпочтительно, от 130000 до 180000 Да; или предпочтительно, от 125000 до 185000 Да, более предпочтительно, от 135000 до 175000 Да, наиболее предпочтительно, от 140000 до 155000 Да.

39. Способ по любому из вариантов осуществления 22-38, где «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p , измеренная с помощью гель-проникающей хроматографии) комплекса олигосахарида железа находится в диапазоне от 145000 до 155000 Да.

40. Способ по любому из вариантов осуществления 22-39, где дисперсность (M_w/M_n) находится в диапазоне от 1,0 до 1,5; предпочтительно, от 1,05 до 1,4; более предпочтительно, от 1,1 до 1,3; например, примерно 1,2.

41. Способ по любому из вариантов осуществления 22-40, где комплекс олигосахарида железа содержит лимонную кислоту.

42. Способ по варианту осуществления 41, где количество лимонной кислоты составляет от 3 до 20% массовых от общего количества элементарного железа.

43. Способ по любому из вариантов осуществления 22-42, где общее количество свободного железа составляет 0,01% масс./об. или менее; предпочтительно, менее 0,003% масс./об. для 100 мг/мл раствора комплекса олигосахарида железа.

44. Способ по любому из вариантов осуществления 22-4-3, где комплекс олигосахарида железа содержит хлорид натрия.

45. Способ по любому из вариантов осуществления 22-4-4, где комплекс олигосахарида железа содержит воду.

46. Способ по любому из вариантов осуществления 22-24 или 29-45, где комплекс олигосахарида железа имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{октасахарид})_Q\}$, который необязательно содержит стабилизатор и/или хлорид металла, и/или H_2O , где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085.

47. Способ по варианту осуществления 4-6, где комплекс олигосахарида железа содержит лимонную кислоту.

48. Способ по любому из вариантов осуществления 22-24 или 29-47, где комплекс олигосахарида железа имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{октасахарид})_Q, (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)_R\}$, который необязательно содержит хлорид металла и/или H_2O , где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085; и

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031.

49. Способ по любому из вариантов осуществления 46-48, где комплекс олигосахарида железа содержит хлорид натрия.

50. Способ по любому из вариантов осуществления 46-49, где комплекс олигосахарида железа содержит H_2O .

51. Способ по любому из вариантов осуществления 2, 2-24 или 29-50, где комплекс олигосахарида железа имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{октасахарид})_Q, (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)_R\}, (\text{H}_2\text{O})_X, (\text{MeCl})_Y$

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085;

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,15 до 0,55, в частности, от 0,25 до 0,45, предпочтительно, от 0,30 до 0,40, более предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион одновалентного металла.

52. Способ по варианту осуществления 51, где ион одновалентного металла представляет собой ион натрия или ион калия.

53. Способ по варианту осуществления 5-2, где ион одновалентного металла представляет собой ион натрия.

54. Способ по любому из вариантов осуществления 51-53, где:

Q составляет от 0,08 до 0,09, предпочтительно, примерно 0,085;

R составляет от 0,028 до 0,034, предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,30 до 0,40, предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион натрия.

55. Способ по любому из вариантов осуществления 2, 2-24 или 29-54, где комплекс олигосахарида железа имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6)_T \cdot (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_Z \cdot (\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_5)_T, (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)_R\}, (\text{H}_2\text{O})_X, (\text{MeCl})_Y$, где

T составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085;

Z составляет от 0,25 до 0,75, в частности, от 0,35 до 0,65, предпочтительно, от 0,45 до 0,55, еще более предпочтительно, примерно 0,51;

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,15 до 0,55, в частности, от 0,25 до 0,45, предпочтительно, от 0,30 до 0,40, более предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион одновалентного металла, такой как ион натрия или ион калия, и предпочтительно, представляет собой ион натрия.

56. Способ по любому из вариантов осуществления 22-24 или 29-55, где комплекс олигосахарида железа имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6)_T \cdot (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_Z \cdot (\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_5)_T, (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)_R\}, (\text{H}_2\text{O})_X, (\text{NaCl})_Y$, где

T составляет от 0,08 до 0,09, предпочтительно, примерно 0,085;

Z составляет от 0,45 до 0,55, предпочтительно, примерно 0,51;

R составляет от 0,028 до 0,034, предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,30 до 0,40, предпочтительно, примерно 0,34; и

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14.

57. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение комплекса железа по любому из вариантов осуществления 21-56 и фармацевтически приемлемый носитель.

58. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 57, которая представляет собой твердую форму, предпочтительно, порошок, для восстановления.

59. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 57, которая представляет собой готовую к использованию жидкость или жидкость для разбавления перед применением.

60. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 57-59, подходящая для подкожного введения.

61. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 57-60, которая содержит от 1 до 25%; предпочтительно, от 2 до 15%; наиболее предпочтительно, от 2,5 до 7,5 или от 7,5 до 12,5; например, примерно 5% или примерно 10% (масс./об.) элементарного железа.

62. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 57-61, где концентрация соединения комплекса железа составляет от 25 до 300 мг/мл; предпочтительно, от 50 до 200 мг/мл; наиболее предпочтительно, от 75 до 150 мг/мл; например, примерно 100 мг/мл элементарного железа.

63. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 57-62, где рН составляет от 5,8 до 7,0; предпочтительно, от 5,9 до 6,8; наиболее предпочтительно, от 5,9 до 6,6; например, от 6,0 до 6,4.

64. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 57-63, где мутность составляет ниже 2,0 НЕМ; предпочтительно, ниже 1,5 НЕМ; наиболее предпочтительно, ниже 1,0 НЕМ; например, ниже 0,5.

65. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 57-64, имеющая вязкость не более 60 сПз.

66. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 57-65, срок годности которой составляет по меньшей мере 3 года при 25°C.

67. Октасахарид трехвалентного железа, содержащий железо в комплексе с октасахаридом, где (i) октасахарид имеет средневесовую молекулярную массу в диапазоне от 1150 до 1350 Да; (ii) содержание моносахарида и дисахарида составляет менее 10,0% от массы октасахарида; (iii) фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 40% массовых октасахарида; (iv) по меньшей мере 40% массовых молекул содержат 6-10 моносахаридных единиц; (v) «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) октасахаридного комплекса находится в диапазоне от 125000 до 185000 Да; (vi) дисперсность (M_w/M_n) комплекса находится в диапазоне от 1,05 до 1,4; и (vii) количество восстанавливающего сахара составляет 2,5% или менее от массы октасахарида.

68. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 67, где октасахарид имеет средневесовую молекулярную массу (M_w) в диапазоне от 1200 до 1300 Да; более предпочтительно, от 1225 до 1275 Да; например, примерно 1250 Да.

69. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 67 или 68, где доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц, выше по массе, чем доля молекул, имеющих 3-6 моносахаридных единиц.

70. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-69, где доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц, составляет по меньшей мере 45%; например, от 40 до 60% или от 45 до 55% массовых октасахарида.

71. Октасахарид железа по любому из вариантов осуществления 67-70, где фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 35%; более предпочтительно, менее 30%; например, от 20 до 30% массовых октасахарида.

72. Октасахарид железа по любому из вариантов осуществления 67-71, где

содержание мономера и димера составляет менее 3,0%; более предпочтительно, менее 1,0%; например, от 0,1 до 0,5% массовых октасахарида.

73. Октасахарид железа по любому из вариантов осуществления 67-72, где количество восстанавливающего сахара составляет 2,5% или менее; предпочтительно, 1,0% или менее; более предпочтительно, 0,5% или менее; например, примерно 0,3% массовых октасахарида.

74. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-73, где количество восстанавливающего сахара перед гидрогенизацией составляет (i) по меньшей мере 10% или по меньшей мере 15% и (ii) менее 35%; предпочтительно, не более 30%; например, от 10% до 30% или предпочтительно, от 15 до 25% массовых октасахарида.

75. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-74, где октасахарид трехвалентного железа содержит от 10 до 50%; предпочтительно, от 15 до 35; наиболее предпочтительно, от 20 до 30%; например, от 20 до 25% железа по массе октасахарида трехвалентного железа.

76. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-75, где массовое отношение элементарного железа к октасахариду в октасахариде трехвалентного железа составляет от 10:90 до 50:50; предпочтительно, от 15:85 до 45:55; наиболее предпочтительно, от 20:80 до 40:60; например, примерно 70:30.

77. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-76, где «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p , измеренная с помощью гель-проникающей хроматографии) октасахарида трехвалентного железа находится в диапазоне от 135000 до 175000 Да, более предпочтительно, от 140000 до 155000 Да.

78. Способ по любому из вариантов осуществления 67-77, где «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p , измеренная с помощью гель-проникающей хроматографии) комплекса олигосахарида железа находится в диапазоне от 145000 до 155000 Да.

79. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-78, где дисперсность (M_w/M_n) находится в диапазоне от 1,1 до 1,3; например, примерно 1,2.

80. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-79, где октасахарид железа содержит лимонную кислоту.

81. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 80, где количество лимонной кислоты составляет от 3 до 20% массовых от общего количества элементарного железа.

82. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-81, где общее количество свободного железа составляет 0,01% масс./об. или менее; предпочтительно, менее 0,003% масс./об. для 100 мг/мл раствора.

83. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-82, где октасахарид трехвалентного железа содержит хлорид натрия.

84. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-83, где октасахарид трехвалентного железа содержит воду.

85. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-84, где октасахарид трехвалентного железа имеет формулу:

{FeOОН, (октасахарид)_Q}, который необязательно содержит стабилизатор и/или хлорид металла, и/или H₂O, где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085.

86. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 85, где октасахарид трехвалентного железа содержит лимонную кислоту.

87. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-86, где октасахарид трехвалентного железа имеет формулу:

{FeOОН, (октасахарид)_Q, (C₆H₈O₇)_R}, который необязательно содержит хлорид металла и/или H₂O, где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085; и

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031.

88. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 85-87, где октасахарид трехвалентного железа содержит хлорид натрия.

89. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 85-88, где октасахарид трехвалентного железа содержит H₂O.

90. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-89, где октасахарид трехвалентного железа имеет формулу:

{FeOОН, (октасахарид)_Q, (C₆H₈O₇)_R}, (H₂O)_X, (MeCl)_Y

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085;

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,15 до 0,55, в частности, от 0,25 до 0,45, предпочтительно, от 0,30 до 0,40, более предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион одновалентного металла.

91. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 90, где ион одновалентного металла представляет собой ион натрия или ион калия.

92. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 91, где ион одновалентного металла представляет собой ион натрия.

93. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления

90-92, где:

Q составляет от 0,08 до 0,09, предпочтительно, примерно 0,085;

R составляет от 0,028 до 0,034, предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,30 до 0,40, предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион натрия.

94. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-93, отличающийся тем, что октасахарид трехвалентного железа имеет формулу:

$\{FeOON, (C_6H_{10}O_6)_T - (C_6H_{10}O_5)_Z - (C_6H_{13}O_5)_T, (C_6H_8O_7)_R\}, (H_2O)_X, (MeCl)_Y$, где

T составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085;

Z составляет от 0,25 до 0,75, в частности, от 0,35 до 0,65, предпочтительно, от 0,45 до 0,55, еще более предпочтительно, примерно 0,51;

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,15 до 0,55, в частности, от 0,25 до 0,45, предпочтительно, от 0,30 до 0,40, более предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион одновалентного металла, такой как ион натрия или ион калия, и предпочтительно, представляет собой ион натрия.

95. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-94, где октасахарид трехвалентного железа имеет формулу:

$\{FeOON, (C_6H_{10}O_6)_T - (C_6H_{10}O_5)_Z - (C_6H_{13}O_5)_T, (C_6H_8O_7)_R\}, (H_2O)_X, (NaCl)_Y$, где

T составляет от 0,08 до 0,09, предпочтительно, примерно 0,085;

Z составляет от 0,45 до 0,55, предпочтительно, примерно 0,51;

R составляет от 0,028 до 0,034, предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,30 до 0,40, предпочтительно, примерно 0,34; и

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14.

96. Октасахарид трехвалентного железа, содержащий железо в комплексе с октасахаридом, где октасахарид трехвалентного железа имеет формулу:

$\{FeOON, (октасахарид)_Q\}$, который необязательно содержит стабилизатор и/или хлорид металла, и/или H_2O , где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085.

97. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 96, где Q составляет от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085.

98. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 96 или 97, где октасахарид трехвалентного железа содержит лимонную кислоту.

99. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-98, где октасахарид трехвалентного железа имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{октасахарид})_Q, (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)_R\}$, который необязательно содержит хлорид металла и/или H_2O , где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085; и

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031.

100. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 99, где R составляет от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031.

101. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-100, где октасахарид трехвалентного железа содержит хлорид натрия.

102. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-101, где октасахарид трехвалентного железа содержит воду.

103. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-102, где октасахарид трехвалентного железа имеет формулу:

$\{\text{FeOON}, (\text{октасахарид})_Q, (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)_R\}, (\text{H}_2\text{O})_X, (\text{MeCl})_Y$, где

Q составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085;

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,15 до 0,55, в частности, от 0,25 до 0,45, предпочтительно, от 0,30 до 0,40, более предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион одновалентного металла.

104. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 103, где X составляет от 0,25 до 0,45, предпочтительно, от 0,30 до 0,40, более предпочтительно, примерно 0,34.

105. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 103 или 104, где Y составляет от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14.

106. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 103-105, где ион одновалентного металла представляет собой ион натрия или ион калия.

107. Октасахарид трехвалентного железа по варианту осуществления 106, где ион одновалентного металла представляет собой ион натрия.

108. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 103-107, где:

Q составляет от 0,08 до 0,09, предпочтительно, примерно 0,085;

R составляет от 0,028 до 0,034, предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,30 до 0,40, предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион натрия.

109. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-108, отличающийся тем, что октасахарид трехвалентного железа имеет формулу:

$\{FeOON, (C_6H_{10}O_6)_T - (C_6H_{10}O_5)_Z - (C_6H_{13}O_5)_T, (C_6H_8O_7)_R\}, (H_2O)_X, (MeCl)_Y$, где

T составляет от 0,06 до 0,11, в частности, от 0,07 до 0,10, предпочтительно, от 0,08 до 0,09, более предпочтительно, примерно 0,085;

Z составляет от 0,25 до 0,75, в частности, от 0,35 до 0,65, предпочтительно, от 0,45 до 0,55, еще более предпочтительно, примерно 0,51;

R составляет от 0,02 до 0,04, в частности, от 0,025 до 0,038, предпочтительно, от 0,028 до 0,034, более предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,15 до 0,55, в частности, от 0,25 до 0,45, предпочтительно, от 0,30 до 0,40, более предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион одновалентного металла, такой как ион натрия или ион калия, и предпочтительно, представляет собой ион натрия.

110. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 109, где:

T составляет от 0,08 до 0,09, предпочтительно, примерно 0,085;

Z составляет от 0,45 до 0,55, предпочтительно, примерно 0,51;

R составляет от 0,028 до 0,034, предпочтительно, примерно 0,031;

X составляет от 0,30 до 0,40, предпочтительно, примерно 0,34;

Y составляет от 0,05 до 1, в частности, от 0,05 до 0,50, предпочтительно, от 0,09 до 0,40, предпочтительно, от 0,09 до 0,30, более предпочтительно, от 0,09 до 0,20, еще более предпочтительно, примерно 0,14; и

Me представляет собой ион натрия.

111. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления

96-110, где октасахарид трехвалентного железа имеет средневесовую молекулярную массу в диапазоне от 1150 до 1350 Да, предпочтительно, от 1200 до 1300 Да, более предпочтительно, от 1225 до 1275 Да; например, примерно 1250 Да.

112. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-111, где октасахарид трехвалентного железа имеет «кажущуюся» пиковую молекулярную массу (M_p , измеренную с помощью гель-проникающей хроматографии) в диапазоне от 125000 до 185000 Да, предпочтительно, в диапазоне от 135000 до 175000 Да, более предпочтительно, от 140000 до 155000 Да, например, в диапазоне от 145000 до 155000 Да.

113. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-112, где октасахарид трехвалентного железа имеет содержание моносахарида и дисахарида менее 10,0% массовых октасахарида, предпочтительно, менее 3,0%, более предпочтительно, менее 1,0%; например, от 0,1 до 0,5% массовых октасахарида.

114. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-113, где доля октасахарида трехвалентного железа с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 40% массовых октасахарида, предпочтительно, менее 35%, более предпочтительно, менее 30%; например, от 20 до 30% массовых октасахарида.

115. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-114, где доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц, составляет по меньшей мере 40% от массы молекул олигоизомальтозида, предпочтительно, по меньшей мере 45%; например, от 40 до 60% или от 45 до 55% массовых октасахарида.

116. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-115, в котором доля молекул, имеющих 6-10 моносахаридных единиц, выше по массе, чем доля молекул, имеющих 3-6 моносахаридных единиц.

117. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-116, где дисперсность (M_w/M_n) октасахарида трехвалентного железа находится в диапазоне от 1,05 до 1,4, предпочтительно, в диапазоне от 1,1 до 1,3; например, примерно 1,2.

118. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-117, где количество восстанавливающего сахара в октасахариде трехвалентного железа составляет 2,5% или менее от массы октасахарида, предпочтительно, 2,5% или менее; предпочтительно, 1,0% или менее; более предпочтительно, 0,5% или менее; например, примерно 0,3% массовых октасахарида.

119. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-118, где количество восстанавливающего сахара в октасахариде трехвалентного железа до гидрогенизации составляет (i) по меньшей мере 10% или по меньшей мере 15% и (ii) менее 35%; предпочтительно, не более 30%; например, от 10% до 30% или предпочтительно, от 15 до 25% массовых октасахарида.

120. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-119, где октасахарид трехвалентного железа содержит от 10 до 50%; предпочтительно,

от 15 до 35; наиболее предпочтительно, от 20 до 30%; например, от 20 до 25% железа от массы октасахарида трехвалентного железа.

121. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-120, где массовое отношение элементарного железа к октасахариду в октасахариде трехвалентного железа составляет от 10:90 до 50:50; предпочтительно, от 15:85 до 45:55; наиболее предпочтительно, от 20:80 до 40:60; например, примерно 70:30.

122. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 96-121, где общее количество свободного железа в октасахариде трехвалентного железа составляет 0,01% масс./об. или менее; предпочтительно, менее 0,003% масс./об. для раствора 100 мг/мл.

123. Фармацевтическая композиция, содержащая октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-122 и фармацевтически приемлемый носитель.

124. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 123, которая представляет собой твердую форму, предпочтительно, порошок, для восстановления.

125. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 123, которая представляет собой готовую к использованию жидкость или жидкость для разбавления перед применением.

126. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 123-125, подходящая для подкожного введения.

127. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 123-126, которая содержит от 1 до 25%; предпочтительно, от 2 до 15%; наиболее предпочтительно, от 2,5 до 7,5 или от 7,5 до 12,5; например, примерно 5% или примерно 10% (масс./об.) элементарного железа.

128. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 123-127, где концентрация соединения комплекса железа составляет от 25 до 300 мг/мл; предпочтительно, от 50 до 200 мг/мл; наиболее предпочтительно, от 75 до 150 мг/мл; например, примерно 100 мг/мл элементарного железа.

129. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 123-128, где pH составляет от 5,8 до 7,0; предпочтительно, от 5,9 до 6,8; наиболее предпочтительно, от 5,9 до 6,6; например, от 6,0 до 6,4.

130. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 123-129, где мутность составляет менее 2,0 НЕМ; предпочтительно, ниже 1,5 НЕМ; наиболее предпочтительно, ниже 1,0 НЕМ; например, ниже 0,5.

131. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 123-130, имеющая вязкость не более 60 сПз.

132. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 123-131, срок годности которой составляет по меньшей мере 3 года при 25°C.

133. Октасахарид трехвалентного железа по любому из вариантов осуществления 67-122 или фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 123-

132 для применения в способе терапии дефицита железа у человека или субъекта, не являющегося человеком.

134. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 133, где субъектом, не являющимся человеком, является домашнее животное.

135. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 134, где домашним животным является собака, кошка или лошадь.

136. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 134, где домашним животным является собака или кошка.

137. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 134, где домашним животным является собака.

138. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-137, где у домашнего животного содержание ретикулоцитарного гемоглобина (CHr)/эквивалента ретикулоцитарного гемоглобина (RET-He) составляет 20 пг или менее.

139. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-138, где дефицит железа представляет собой железодефицитную анемию.

140. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-139, где домашнее животное, предпочтительно, собака или кошка, имеет гематокрит (HCT/PCV) менее 35%.

141. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-140, где домашнее животное, предпочтительно, собака или кошка, имеет концентрацию гемоглобина (Hb) менее 12 г/дл.

142. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-141, где домашнее животное, предпочтительно, собака или кошка, имеет средний объем эритроцитов (MCV) менее 60 фл.

143. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-142, где домашнее животное, предпочтительно, собака или кошка, имеет среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитах (MCHC) 30 г/дл или менее.

144. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-143, где доза составляет от 5 до 100 мг на кг массы тела; предпочтительно, от 10 до 60 мг на кг массы тела; наиболее предпочтительно, от 15 до 25 мг на кг массы тела; например, примерно 20 мг на кг массы тела.

145. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для

применения по любому из вариантов осуществления 134-144, где доза составляет до 50 мг железа/кг массы тела; предпочтительно, до 30 мг железа/кг массы тела; наиболее предпочтительно, до 20 мг железа/кг массы тела.

146. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-145, где вводят однократную дозу.

147. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-146, где доза предложена в виде однократного (1) введения, предпочтительно, инъекции, и особенно, подкожной инъекции.

148. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-146, где доза предложена в виде 2, 3 или более введений, предпочтительно, инъекций, и особенно, подкожных инъекций.

149. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-145, где вводят более одной дозы.

150. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 149, где более чем одна доза представляет собой дозу до 50 мг железа/кг массы тела; предпочтительно, до 30 мг железа/кг массы тела; наиболее предпочтительно, до 20 мг железа/кг массы тела.

151. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 149 или 150, где две последовательные дозы вводят в течение 1 месяца; предпочтительно, в течение 2 недель; наиболее предпочтительно, в течение 1 недели.

152. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по любому из вариантов осуществления 134-151, где введение представляет собой подкожное введение.

153. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 152, где место подкожного введения находится в области латерально выше дорсальной плоскости за лопатками над ребрами или в дорсальной паралюмбальной области.

154. Октасахарид трехвалентного железа или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 134, где разовую дозу 20 мг/кг массы тела вводят подкожно собаке или кошке.

Признаки, описанные в предшествующем описании, или в следующей формуле изобретения, или в сопроводительных чертежах, выраженные в их конкретных формах или в терминах средств для выполнения описанной функции, или способа или процесса для получения описанных результатов, в зависимости от обстоятельств, могут, отдельно или в любой комбинации таких признаков, использоваться для осуществления

изобретения в различных его формах.

Хотя изобретение было описано в сочетании с типовыми вариантами осуществления, описанными выше, при ознакомлении с этим описанием специалистам в данной области техники будет очевидно множество эквивалентных модификаций и вариаций. Соответственно, типовые варианты осуществления изобретения, изложенные выше, считаются иллюстративными, а не ограничивающими. Различные изменения в описанных вариантах осуществления могут быть сделаны без отклонения от сути и объема изобретения.

Во избежание каких-либо сомнений, любые теоретические пояснения, представленные в настоящем документе, предназначены для улучшения понимания читателя. Изобретатели не желают быть связанными какими-либо из этих теоретических объяснений.

Любые заголовки разделов, используемые в настоящем документе, предназначены только для организационных целей и не должны истолковываться как ограничение описываемого объекта.

В настоящем описании, включая формулу изобретения, которая следует за ним, если контекст не требует иного, слова «содержать» и «включать», и такие варианты, как «содержит», «содержащий» и «включающий», будут пониматься как подразумевающие включение указанного целого числа, стадии или группы целых чисел или стадий, но не исключение любого другого целого числа, стадии или группы целых чисел или стадий.

Следует отметить, что, как они используются в описании и прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа «a», «an» и «the» включают ссылки на множественное число, если контекст явно не требует иного. В настоящем документе диапазоны могут быть выражены как от одного конкретного значения и/или до другого конкретного значения. Когда выражен такой диапазон, другой вариант осуществления включает от одного конкретного значения и/или до другого конкретного значения. Специалисту в данной области техники будет понятно, что такие значения являются столь же точными, как и способ, используемый для их измерения, и поэтому значения, описанные в настоящем документе, следует понимать как связанные с допуском погрешности. Аналогично, когда значения выражаются как приближения, с использованием антецедента «примерно» будет понятно, что конкретное значение образует другой вариант осуществления. Используемый в настоящем документе термин «примерно» относится к указанному значению переменной и ко всем значениям переменной, которые находятся в пределах экспериментальной ошибки указанного значения (например, в пределах 95% доверительного интервала для среднего значения) или в пределах 10 процентов от указанного значения, в зависимости от того, какое значение больше.

Примеры

ПРИМЕР 1 - Получение олигоизомальтозида трехвалентного железа

Олигоизомальтозиды трехвалентного железа получают из различных фракций

декстрана, которые объединяют и фракционируют ультрафильтрацией. Фракции декстрана получают из промежуточного декстрана. В несколько стадий, исходный материал гидролизуют до более низкой молекулярной массы, фракционируют ультрафильтрацией и фильтруют до достижения желаемого распределения молекулярной массы. Олигоизомальтозы окончательно гидрируют и подвергают ионному обмену, а затем подвергают реакции с хлоридом железа для образования комплекса.

Производство октасахаридов трехвалентного железа

Фракционирование углевода

Предварительно гидролизованную фракцию декстрана со средневесовой молекулярной массой, оцененной примерно от 2 кДа до 5 кДа (4872 кг), гидролизуют добавлением конц. HCl до pH 1,5 и перемешивают при 90°C до тех пор, пока подъем хроматографического пика не будет соответствовать подъему внешнего декстранового стандарта (M_w менее 2 кДа). Раствор охлаждают до 28°C и нейтрализуют NaOH. Раствор очищают диалитической мембраной против воды при 51°C до достижения узкого распределения с молекулярной массой от 1150 до 1350 Да и полидисперсности примерно 1,2. Количество восстанавливающего сахара, определенное реагентом Шомоджи, составляет 21%.

Гидрогенизация углевода

Полученную фракцию (1652 кг) обрабатывают боргидридом натрия при pH 10,2 и 28°C. Уровень восстанавливающего сахара, измеренный реагентом Шомоджи, составляет менее 0,02%. Раствор подкисляют до pH 2,0 конц. HCl и перемешивают в течение 3 часов, и затем pH доводят до 4,6 с помощью NaOH.

Раствор деионизируют ионным обменом с получением раствора продукта, содержащего октасахарид с проводимостью ниже 500 мкС/см.

Средневесовую молекулярную массу (M_w) октасахаридов определяют как 1235 Да.

Комплексообразование железа

Для комплексообразования используют 560 кг октасахаридов и 240 кг элементарного железа из хлорида железа. В реактор комплексообразования добавляют жидкий раствор, содержащий 70 кг октасахаридов. При перемешивании добавляют воду для инъекций (WFI), и затем $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ экв. до 240 кг элементарного железа. 600 кг Na_2CO_3 (водный) добавляют при перемешивании после добавления NaOH до достижения pH примерно 10,5. Раствор нагревают выше 100°C до тех пор, пока он не превратится в черный или темно-коричневый коллоидный раствор. Затем раствор нейтрализуют HCl и фильтруют. Раствор очищают мембранной фильтрацией от остатков несвязанного октасахаридов, свободного железа и неорганических солей. Добавляют моногидрат лимонной кислоты, растворенный в гидроксиде натрия. pH доводят до 5,6, и полученный раствор сушат распылением с получением порошка от черного до темно-коричневого цвета.

«Кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) комплекса октасахаридов железа составляет 147 121 Да, где M_w/M_p (дисперсность) рассчитывают как 1,15. С этой целью, композицию разбавляют до 0,1% железа (1 мг/мл) в элюенте и измеряют хроматограмму

методом ГПХ (плюс эталонные стандарты, декстраны и декстраны железа). По хроматограмме считывают M_r и рассчитывают M_n и M_w с использованием калибровочной кривой.

Прочность комплекса

Поглощение (287,3 нм) после кислотного гидролиза пропорционально количеству связанного в комплексе железа. Поглощение измеряют с течением времени. $T_{1/2}$ представляет собой период времени, в течение которого половина исходного железа, связанного с комплексом, не будет высвобождена. Образец разбавляют до концентрации 0,02%=200 мг/л железа. Разбавленный образец объемом 5 мл гидролизуют в 100 мл 0,25 М HCl с 0,9 г NaCl.

Прочность комплекса полученного октасахарида трехвалентного железа является высокой. При гидролизе хлористоводородной кислотой в условиях испытаний, половина комплекса диссоциирует на составные части, железо и углеводы, за 40 часов. Этот $T_{1/2}$ ниже, чем $T_{1/2}$, который обычно наблюдается для декстрана железа и комплексов глюкогептоновой кислоты декстрана железа (который обычно находится в диапазоне от 70 до 80 часов, в зависимости от типа декстрана и комплекса). В то же время $T_{1/2}$ I выше, чем $T_{1/2}$, который наблюдается для комплексов со слабосвязанным железом, таких как сахара железа или глюконат железа.

Свободное железо

Количество свободного железа в композиции, содержащей комплекс углеводного железа (т.е. коллоидного железа размером менее 12-14 кДа), определяют путем диализа железа до чистой воды и измерения количества железа в диализате методом абсорбционной спектроскопии атома.

3 мл нативной композиции диализируют в диализной пробирке в 20 мл воды в течение 24 часов. Затем определяют количество железа в диализате. % свободного железа рассчитывают как количество железа в диализате относительно общего количества железа в 3 мл композиции.

Установлено, что количество свободного железа в октасахарида трехвалентного железа составляет менее 0,003% масс./об., что указывает на то, что продукт безопасен.

Содержание железа и углеводов

Для определения содержания углеводов, композицию, содержащую комплекс углеводного железа, разбавляют, и всю глюкозу в комплексе высвобождают и связывают с антрон-HCl. Количество глюкозы измеряют спектрофотометрически.

Обнаружено, что содержание углеводов в композиции октасахарида трехвалентного железа с концентрацией железа 10% масс./об. достигает 22% масс./об. Это значительно превышает содержание углеводов, которое обычно наблюдается для декстрана железа и комплексов глюкогептоновой кислоты декстрана железа (которое может составлять всего половину значения для октасахарида трехвалентного железа, в зависимости от типа декстрана и комплекса). Другими словами, соотношение железа и углеводов в октасахарида трехвалентного железа ниже, чем в типовых комплексах

декстрана железа и глюкогептоновой кислоты декстрана железа. Это, в свою очередь, означает, что отдельные частицы железа (частицы акаганеита) лучше защищены единицами глюкозы, что приводит к лучшей физической стабильности.

Производство других олигоизомальтозидов железа

Другие олигоизомальтозиды железа производят с использованием по существу тех же стадий процесса, но с целью получения комплексов железа с олигоизомальтозидами, которые имеют иное распределение молекулярной массы, чем октасахарид трехвалентного железа. Например, в альтернативном процессе, фракционирование проводят так, чтобы полученные олигоизомальтозиды имели более низкую средневесовую молекулярную массу в диапазоне от 850 до 1150 Да (по данным ГПХ). Например, один такой олигоизомальтозид имеет средневесовую молекулярную массу 1047 Да. Обнаружено, что соответствующие комплексы железа имеют прочность комплекса ($T_{1/2}$ =от 33 до 37 часов), сравнимую с таковой у октасахаридов трехвалентного железа, но содержание углеводов (примерно 18% масс./об.) немного, но значительно ниже, чем в октасахариде трехвалентного железа при измерении при той же концентрации железа.

ПРИМЕР 2 - Исследование по оценке переносимости, безопасности, фармакокинетики (ФК) и фармакодинамики (ФД) олигоизомальтозида трехвалентного железа, вводимого подкожно (п/к) и внутримышечно (в/м) здоровым лабораторным собакам (без ID или IDA)

Цели исследования

Это пилотное исследование разработано для изучения лечения собак олигоизомальтозидом трехвалентного железа. Конкретные цели включают определение фармакокинетических профилей железа в сыворотке и моче; определение фармакодинамического профиля гемоглобина, количества ретикулоцитов, кальция, ферритина, ненасыщенной железосвязывающей способности, общей железосвязывающей способности и насыщения трансферрина; оценку реакций в месте инъекции посредством регулярного отслеживания; и определение переносимости собаками инъекции соединения и раннего профиля безопасности соединения на основе клинической патологии.

В этом одноцентровом доклиническом лабораторном исследовании на собаках участвуют четыре группы доз в не слепом, рандомизированном параллельном дизайне. Четырнадцать (14) самцов и 14 самок акклиматизируют к условиям исследования в течение семи дней, в течение которых их подвергают измерению массы тела, физическому осмотру, взятию крови для гематологического и клинического химического анализа, сбору мочи для анализа мочи и клиническим наблюдениям дважды в день.

После акклиматизации, 24 собаки породы бигль (12 самцов и 12 самок; весом от 7,2 до 12,4 кг) рандомизируют в одну из четырех групп со сбалансированной по полу дозой по шесть собак в каждой. Собакам однократно вводят олигоизомальтозид железа согласно следующей таблице (соединение, полученное в соответствии с примером 1; 100 мг/мл элементарного железа; рН=6,3). Предполагаемая однократная доза составляет 20 мг/кг, что соответствует 0,2 мл/кг. В группе Т3, доза составляет 100 мг/кг, что соответствует 1

мл/кг. Например, собаке с массой тела 10,3 кг в группе T2 вводят 6,2 мл олигоизомальтозида трехвалентного железа.

Группа	n	Путь	Доза
T1 (1X)	3M, 3F	п/к	20 мг/кг
	3M, 3F	п/к	60 мг/кг
	3M, 3F	п/к	100 мг/кг
	3M, 3F	в/м	20 мг/кг

Чтобы определить локацию оценки места инъекции, перед днем 0 выбривают тонкий контур левой дорсальной паралюмбальной области, охватывающий как места в/м, так и п/к введения. Этот контур гарантирует что все технические специалисты выполняют оценку места инъекции в пределах единой области. Бритье места инъекции не разрешается. Олигоизомальтозид трехвалентного железа вводят путем п/к (левая дорсальная паралюмбальная область) или в/м (левая дорсальная паралюмбальная эпаксиальная мышца) инъекции.

Для п/к инъекций (группы T1, T2 и T3):

- Дозу набирают в шприц и удаляют весь воздух;
- Собаку удерживают, чтобы предотвратить движение во время инъекции;
- Кожу над левой дорсальной паралюмбальной областью натягивают;
- Иглу вводят в п/к пространство и к поршню прикладывают отрицательное давление, чтобы убедиться, что игла находится в п/к пространстве, а не в сосудистой области;
- Вводят всю намеченную дозу и извлекают иглу из кожи;
- Боль оценивают сразу после установки иглы во время инъекции тестируемого изделия;
- Собаку возвращают в ее загон, и хендлер меняет перчатки перед каждой собакой.

Для в/м инъекций (группа T4):

- Дозу набирают в шприц и удаляют весь воздух;
- Собаку удерживают, чтобы предотвратить движение во время инъекции;
- Идентифицируют левую дорсальную паралюмбальную (эпаксиальную) мышцу;
- Иглу вводят в мышцу и к поршню прикладывают отрицательное давление, чтобы убедиться, что игла находится внутри мышцы, а не в сосудистой области;
- Вводят всю намеченную дозу, и иглу извлекают из мышцы;
- Боль оценивают сразу после установки иглы во время инъекции тестируемого изделия;
- Собаку возвращают в ее загон, и хендлер меняет перчатки перед каждой собакой.

Переменные исследования оценивают следующим образом:

- Переносимость инъекции оценивают во время введения дозы;
- Серийные заборы крови для фармакокинетических и фармакодинамических анализов проводят через 0N1, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 120, 168, 240, 336 и 504 ч после

введения дозы;

- Мочу для фармакокинетического анализа собирают с интервалами от 0 до 8, от 8 до 24, от 24 до 48 и от 48 до 72 ч после введения дозы;
- Клинические наблюдения проводят дважды в день (с интервалом не менее 6 ч) с первого дня акклиматизации до последнего дня исследования;
- Оценку места инъекции проводят в день 0 перед введением дозы, через 1, 2 и 6 ч (все \pm 15 минут), через 24, 48 и 72 ч (\pm 1 ч), и в дни 4, 7, 10, 14 и 21 (\pm 1 ч после введения);
- Физические осмотры проводят один раз во время акклиматизации (день -6) и в день 21;
- Массу тела измеряют один раз во время акклиматизации (день -7), в день 0 (до введения дозы), и в дни 7 и 21;
- Кровь на наличие клинической патологии собирают один раз во время акклиматизации (день -5), и в дни 2, 7 и 21;
- Мочу для анализа собирают один раз во время акклиматизации (день -7 или день -5), в дни 1 или 2 и дни 7 или 8 и дни 20 или 21;
- Потребление пищи измеряют с первого дня акклиматизации до конца исследования.

Результаты

Значительные эффекты в группе дозы, предполагающие фармакокинетическую взаимосвязь доз, идентифицируют после корректировки исходных концентраций железа в сыворотке для определения AUC_{last} и C_{max} . Исходные скорректированные значения AUC_{last} значительно ниже в группах T1 и T4 по сравнению с группами T2 и T3. Исходные скорректированные значения C_{max} значительно ниже в группе T1 по сравнению с группой T3; никакие другие сравнения не являются статистически значимыми.

Основные выводы исследования суммируются следующим образом:

- П/к инъекция (T1) вызывает сравнительно меньшую боль, чем в/м (T4 в дозе 20 мг/кг). П/к инъекция 20 мг/кг (T1) вызывает сравнительно меньшую боль, чем п/к инъекция 100 мг/кг (T3).

Оценка	Количество собак на группу дозирования				Подитог
	T1	T2	T3	T4	
боли 0	3	3	1	1	8
1	0	0	1	1	2
2	2	2	0	1	5
3	1	1	4	3	9

*0: нет боли: собака не испытывает воздействие;

1: слабая боль; вздрагивание кожи;

2: умеренная боль; собака поворачивается к месту инъекции;

3: сильная боль; собака кричит и/или пытается вырваться и/или становится агрессивной

- Ни у одной собаки на протяжении всего исследования не было зарегистрировано случаев повышения температуры, боли или отека в местах инъекции после введения дозы, и не было зарегистрировано никаких других побочных эффектов, связанных с лекарственным средством.

- Но неожиданно, T1 с 20 мг/кг п/к инъекцией имеет по существу тот же фармакокинетический профиль сывороточного железа, что и T4 с 20 мг/кг в/м инъекцией, см. Фигуру 1.

- И неожиданно, наблюдается дозозависимое увеличение ферритина, где профили T1 и T4 в основном дают одинаковый ответ ферритина, и T2 и T3 дают пропорционально больший ответ; см. Фигуру 2.

Выводы

В целом, олигоизомальтозид трехвалентного железа хорошо переносится при всех уровнях дозировки и при обоих путях введения. На протяжении всего исследования собаки остаются в добром здравии.

ФК профили определяют AUC_{last} и C_{max} для концентраций железа как в сыворотке, так и в моче после инъекции олигоизомальтозида трехвалентного железа собакам. В сыворотке, статистически значимое влияние дозы на сывороточное железо обнаружено с использованием параметров AUC_{last} и C_{max} , скорректированных на исходный уровень. AUC_{last} и C_{max} существенно не различаются в группах T4 (1X в/м) и T1 (1X п/к), что указывает на то, что путь введения олигоизомальтозида трехвалентного железа не оказывает существенного влияния на ФК профиль. Путь введения (в/м или п/к) также не влияет ни на один из параметров ФД, поскольку между группами T4 (1X в/м) и T1 (1X п/к) не наблюдается существенных различий. Сопоставимые профили ФД наблюдаются в группах T4 (1X в/м) и T1 (1X п/к).

В моче, суммарная экскреция железа демонстрирует кратковременный эффект дозы, который исчезает к концу периода отбора проб. Путь введения не оказывает значимого влияния на суммарную экскрецию железа с мочой.

Количество ретикулоцитов и кальция, и большинство параметров ФД демонстрируют стойкие, кратковременные, пропорциональные дозе эффекты. Ферритин и TSAT увеличиваются пропорционально дозе. Даже группы лечения T1 (1X п/к) и T4 (1X в/м) демонстрируют влияние на ферритин и TSAT.

Поскольку было обнаружено, что ферритин увеличивается дозозависимым образом, и ожидается, что ферритин будет увеличиваться, когда субъекта с дефицитом железа лечат парентеральным соединением железа, разумно ожидать, что подкожная инъекция олигоизомальтозида трехвалентного железа будет подходящей для лечения дефицита железа и железodefицитной анемии у собак и других домашних животных.

ПРИМЕР 3 - Всасывание октасахарида трехвалентного железа после подкожной (п/к) или внутримышечной (в/м) инъекции кроликам

Цели исследования

0,4 мл/кг массы тела 10% (масс./об.) композиции, содержащей октасахарид

трехвалентного железа, вводят в/м или п/к в ногу кролика, другую ногу используют в качестве контроля. Кролика подвергают эвтаназии либо через 24 часа, либо через 7 дней.

В случае в/м инъекции, всасывание оценивают путем проверки того, сколько железа остается в инъецированной мышце - путем визуальной и количественной оценки. Для количественной оценки, мышцу гомогенизируют и подвергают разрушению NaOH, затем H₂SO₄/HNO₃ с кипячением при 140°C в течение 20 часов. Затем количество железа в разрушенном образце определяют абсорбционной спектрометрией атома (AAS; см. Британскую фармакопею, действующее издание: Инъекция декстрана железа, «Тест на всасывание железа» - модифицированный), и рассчитывают долю железа, оставшуюся в месте инъекции - т.е. железо, не абсорбированное из места инъекции. Таким образом, фракцию абсорбированного железа рассчитывают как 100% минус фракция железа, оставшаяся в месте инъекции.

В случае п/к инъекции, применяют ту же процедуру, что и при в/м инъекции, за одним исключением: анализируют всю мышцу и кожу, т.е. перед анализом с мышцы не снимают кожу.

Результаты

Октасахарид трехвалентного железа хорошо и быстро всасывается из места инъекции как при внутримышечном, так и при подкожном введении. Через 7 дней, 98-99% дозы всасывается из места инъекции, при этом существенной разницы между подкожным и внутримышечным введением не наблюдается. В течение более короткого периода времени 24 часа после инъекции, всасывание железа, введенного внутримышечно, является практически полным (99,4%), в то время как железо, введенное подкожно, еще не абсорбировано полностью (96,3%).

Выводы

Через 7 дней после инъекции, железо в октасахариде трехвалентного железа полностью всасывается из места инъекции. Существенной разницы между подкожным и внутримышечным введением не наблюдается. Удивительно, но всасывание железа в течение первых 24 часов при подкожном введении октасахарида трехвалентного железа почти такое же быстрое, как и при внутримышечном введении (96,3% против 99,4%). Хотя ожидается, что внутримышечное введение приведет к относительно быстрому всасыванию железа, обычно ожидается, что всасывание железа из подкожно введенного соединения комплекса железа будет значительно медленнее.

Ссылки

Ряд публикаций процитирован выше для более полного описания и раскрытия изобретения и уровня техники, к которому относится изобретение. Полные ссылки на эти ссылки приведены ниже. Каждая из этих ссылок полностью включена в настоящий документ.

Bohn, A.A. (2013). Diagnosis of Disorders of Iron Metabolism in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 43(6), 1319-30.

Cohen-Solal, A., Leclercq, C., Deray, G., Lasocki, S., Zambrowski, J. J., Mebazaa, A.,

Groote, P., Damy, T., & Galinier, M. (2014). Iron deficiency: an emerging therapeutic target in heart failure. *Heart*, 100(18), 1414-20.

Cook, A.K. & Kvitko-White, H.L. (2014). DVM360 - Case report June 1st 2014: A 5-year-old golden retriever with IDA, <http://veterinarymedicine.dvm360.com/case-report-5-year-old-golden-retriever-with-ida> (accessed September 3, 2019).

Dignass, A.U., Gasche, C., Bettenworth, D., Birgegård, G., Danese, S., Gisbert, J. P.,... & Vavricka, S. (2015). European consensus on the diagnosis and management of iron deficiency and anaemia in inflammatory bowel diseases. *Journal of Crohn's and Colitis*, 9(3), 211-22.

Fry, M.M. & Kirk, C. A. (2006). Reticulocyte indices in a canine model of nutritional iron deficiency. *Veterinary Clinical Pathology*, 35(2), 172-81.

Fuchs, J., Moritz, A., Grußendorf, E., Lechner, J., Neuerer, F., Nickel, R., Rieker, T., Schwedes, C., DeNicola, D.B., Russell, J., Bauer, N. (2017). Evaluation of reticulocyte hemoglobin content (RET-He) in the diagnosis of iron deficient erythropoiesis in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 46(4), 558-68.

Giger, U. (2005). In Ettinger, S. J. & Feldman, E. C. - *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Chapter 270: Regenerative anemias caused by blood loss or hemolysis, 1888-90. 6th ed. Elsevier.

Giger, U. (2010). In Weiss, D.J. & Wardrop, K, J. - *Schalm's Veterinary Hematology*. Chapter 28: Hereditary Erythrocyte Enzyme Abnormalities, 183-5. 6th ed. Wiley-Blackwell.

Harvey, J.W., French, T.W., & Meyer, D.J. (1982). Chronic iron deficiency anemia in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 18(6), 946-60.

Lund, E. (2007). Population analyses of anemia in Pets - Banfield DataSavant analysis, 2007.

https://www.banfield.com/getmedia/8b7bab32-5503-43f1-aebd-4fdf558e5d0d/3_5-Population-Analysis-of-Anemia-in-Pets (accessed September 3, 2019).

Merck Veterinary Manual, Reference Guides, Hematologic Reference Ranges. <https://www.merckvetmanual.com/special-subjects/reference-guides/hematologic-reference-ranges> (accessed August 29, 2019).

Naigamwalla, D.Z., Webb, J.A., & Giger, U. (2012). Iron deficiency anemia. *The Canadian Veterinary Journal*, 53(3), 250-6.

Nelson, R. W. & Couto, C. G. (1998). *Small Animal Internal Medicine*. Chapter 85, 1171-2. 2nd Ed. Elsevier.

Olver, C.S., Andrews, G.A., Smith, J.E., and Kaneko, J.J. (2010). In Weiss, D.J. & Wardrop, K, J. - *Schalm's Veterinary Hematology*. Chapter 20: Erythrocyte Structure and Function, 123-9. 6th ed. Wiley-Blackwell.

Plumb, D. C. (2008). *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. Pages 382-3 and 493-4. 6th ed. Blackwell Publishing.

Preusser, L. C., Fryer F.M., Gerhardt, A., Yanhui Hu, Delgado-Herrera L., Melnick, J. Z., Williams, L. A., Cox, B. F., and Reinhart, G. A. (2005). *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 32, 1020-1026

Prins, M., van Leeuwen, M.W., Teske, E. (2009). Stability and reproducibility of ADVIA 120-measured red blood cell and platelet parameters in dogs, cats, and horses, and the use of reticulocyte haemoglobin content (CHr) in the diagnosis of iron deficiency. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde (Journal of Veterinary Medicine)*, 134(7), 272-8.

Schaefer, D.M.W. & Stokol, T. (2015). The utility of reticulocyte indices in distinguishing iron deficiency anemia from anemia of inflammatory disease, portosystemic shunting, and breed-associated microcytosis in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 44(1), 109-19.

Steinberg, J.D. & Olver, C.S. (2005). Hematologic and biochemical abnormalities indicating iron deficiency are associated with decreased reticulocyte hemoglobin content (CHr) and reticulocyte volume (rMCV) in dogs - *Veterinary Clinical Pathology*, 34(1), 23-7.

Thrall, M.A. & Gillespie, B. 9 (2011). Diagnosis of Iron Deficiency Anemia, *VetCom Winter 2011*

Tvedten, H. (2010). In Weiss, D.J. & Wardrop, K, J. - *Schalm's Veterinary Hematology. Chapter 24: Laboratory and Clinical Diagnosis of Anemia*, 152-9. 6th ed. Wiley-Blackwell.

Weiser, G. (2015). In Tilley, L. P. & Smith Jr, F. W. - *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Canine and feline. Anemia: Iron-Deficiency*, page 83. 6th ed. John Wiley & Sons.

Weiss, D.J. (2010). In Weiss, D.J. & Wardrop, K, J. - *Schalm's Veterinary Hematology. Chapter 26: Iron and Copper Deficiencies and Disorders of Iron Metabolism*, 167-71. 6th ed. Wiley-Blackwell.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение комплекса железа для подкожного применения в способе терапии дефицита железа у домашнего животного.
2. Соединение комплекса железа для применения по п. 1, отличающееся тем, что дефицит железа представляет собой железодефицитную анемию.
3. Соединение комплекса железа для применения по п. 1 или 2, отличающееся тем, что домашним животным является собака.
4. Соединение комплекса железа для применения по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что способ включает введение дозы элементарного железа 20 мг/кг массы тела.
5. Соединение комплекса железа для применения по любому из пп. 1-4, отличающееся тем, что соединение комплекса железа представляет собой комплекс олигоизомальтозы железа или комплекс олигоизомальтозида железа.
6. Соединение комплекса железа для применения по любому из пп. 1-5, отличающееся тем, что соединение комплекса железа представляет собой комплекс октасахарида железа, содержащий железо в комплексе с октасахаридом, где (i) октасахарид имеет средневесовую молекулярную массу в диапазоне 1150 до 1350 Да; (ii) содержание моносахарида и дисахарида составляет менее 10,0% от массы октасахарида; (iii) фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 40% массовых октасахарида; (iv) по меньшей мере 40% массовых молекул содержат 6-10 моносахаридных единиц; (v) «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) октасахаридного комплекса находится в диапазоне от 125000 до 185000 Да; (vi) дисперсность (M_w/M_n) комплекса находится в диапазоне от 1,05 до 1,4; и (vii) количество восстанавливающего сахара составляет 2,5% или менее массовых октасахарида.
7. Фармацевтическая композиция для подкожного введения, содержащая соединение комплекса железа и фармацевтически приемлемый носитель.
8. Фармацевтическая композиция по п. 7, которая представляет собой готовую к использованию композицию для инъекций.
9. Фармацевтическая композиция по п. 7 или 8, которая содержит 100 мг/мл элементарного железа.
10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 7-9, отличающаяся тем, что соединение комплекса железа представляет собой комплекс олигоизомальтозы железа или комплекс олигоизомальтозида железа.
11. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 7-10, отличающаяся тем, что соединение комплекса железа представляет собой комплекс октасахарида железа, содержащий железо в комплексе с октасахаридом, где (i) октасахарид имеет средневесовую молекулярную массу в диапазоне от 1150 до 1350 Да; (ii) содержание моносахарида и дисахарида составляет менее 10,0% от массы октасахарида; (iii) фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 40% массовых октасахарида; (iv) по меньшей мере 40% массовых молекул содержат 6-10 моносахаридных единиц; (v)

«кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) октасахаридного комплекса находится в диапазоне от 125000 до 185000 Да; (vi) дисперсность (M_w/M_n) комплекса находится в диапазоне от 1,05 до 1,4; и (vii) количество восстанавливающего сахара составляет 2,5% или менее массовых октасахаридов.

12. Комплекс октасахаридов железа, содержащий железо в комплексе с октасахаридом, где (i) октасахарид имеет средневесовую молекулярную массу в диапазоне от 1150 до 1350 Да; (ii) содержание моносахарида и дисахаридов составляет менее 10,0% от массы октасахаридов; (iii) фракция с более чем 9 моносахаридными единицами составляет менее 40% массовых октасахаридов; (iv) по меньшей мере 40% массовых молекул содержат 6-10 моносахаридных единиц; (v) «кажущаяся» пиковая молекулярная масса (M_p) октасахаридного комплекса находится в диапазоне от 125000 до 185000 Да; (vi) дисперсность (M_w/M_n) комплекса находится в диапазоне от 1,05 до 1,4; и (vii) количество восстанавливающего сахара составляет 2,5% или менее массовых октасахаридов.

13. Фармацевтическая композиция, содержащая комплекс октасахаридов железа по п. 12 и фармацевтически приемлемый носитель.

14. Комплекс октасахаридов железа по п. 12 для применения в способе терапии дефицита железа у человека или субъекта, не являющегося человеком.

15. Комплекс октасахаридов железа для применения по п. 14, отличающийся тем, что дефицит железа представляет собой железодефицитную анемию.

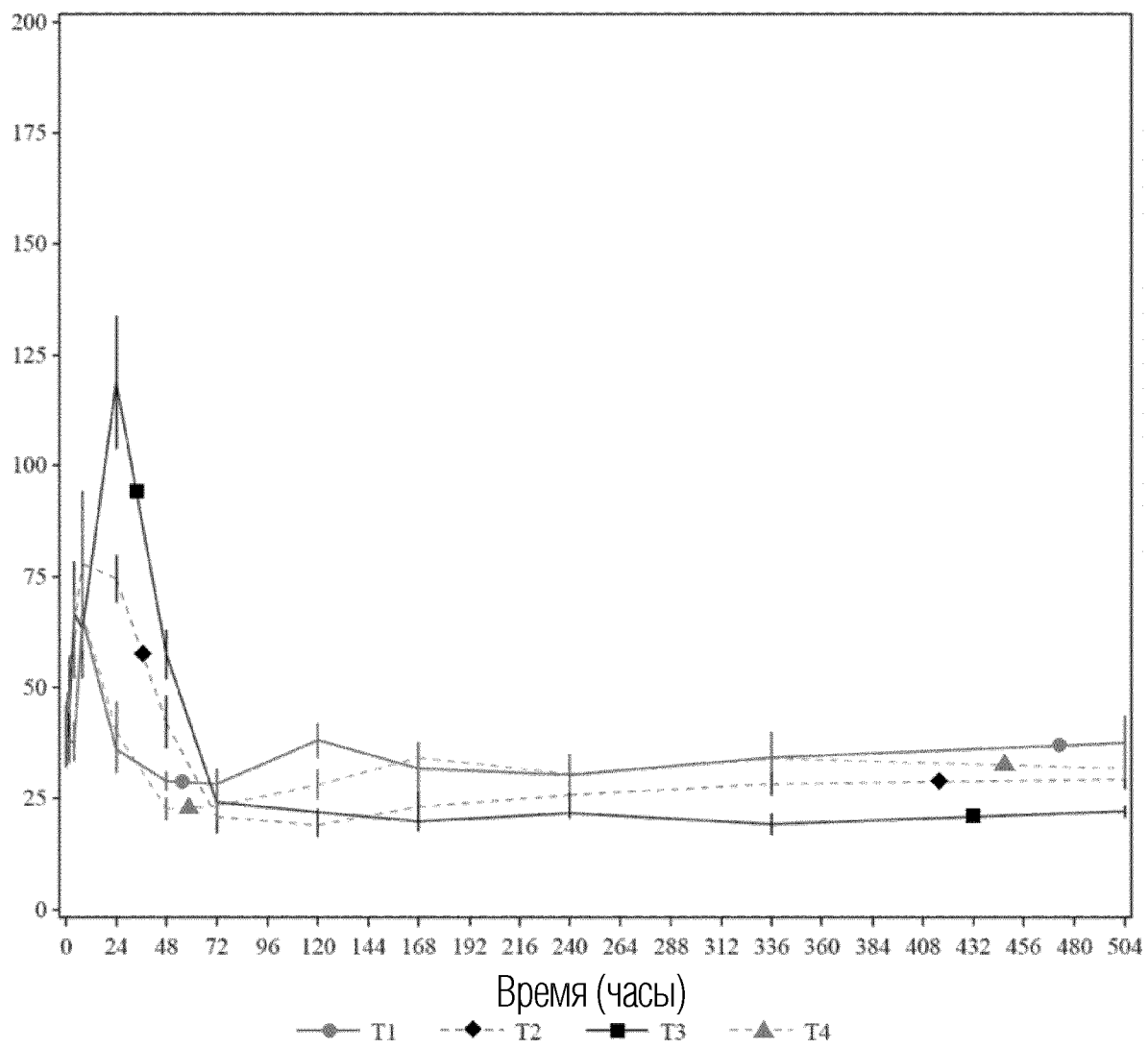
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ (ст. 34(2)(b) РСТ)

1. Соединение комплекса железа для подкожного применения в способе терапии дефицита железа у собаки.
2. Соединение комплекса железа для применения по п. 1, где дефицит железа представляет собой железодефицитную анемию.
3. Соединение комплекса железа для применения по п. 1 или п. 2, где способ включает введение дозы элементарного железа от 5 до 100 мг/кг массы тела, предпочтительно от 10 до 60 мг/кг массы тела, наиболее предпочтительно от 15 до 25 мг/кг массы тела.
4. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-3, где способ включает введение элементарного железа в дозе 20 мг/кг массы тела.
5. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-4, где соединение комплекса железа представляет собой железо-углеводный комплекс.
6. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-5, где соединение комплекса железа представляет собой комплекс олигоизомальтозы железа или комплекс олигоизомальтозида железа.
7. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-6, где место подкожного введения находится в дорсальной паралюмбальной области.
8. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-7, где гематокрит (HCT/PCV) у собаки составляет менее 35%.
9. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-8, где собака имеет концентрацию гемоглобина (Hb) менее 12 г/дл.
10. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-9, где собака имеет средний объем клеток (MCV) менее 60 фл.
11. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-10, где у собаки средняя концентрация корпускулярного гемоглобина (MCHC) составляет 30 г/дл или менее.
12. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-11, где содержание ретикулоцитарного гемоглобина (CHr)/эквивалент ретикулоцитарного гемоглобина (RET-He) у собаки составляет 20 мкг или менее.
13. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-12, где способ включает введение дозы комплексного соединения железа, и эта доза предоставляется в виде однократной подкожной инъекции.
14. Соединение комплекса железа для применения по любому из п.п. 1-13, где способ включает введение жидкой фармацевтической композиции, содержащей соединение комплекса железа и фармацевтически приемлемый носитель, при этом концентрация комплексного соединения железа в жидкой фармацевтической композиции составляет от 25 до 300 мг/мл, предпочтительно от 50 до 200 мг/мл, наиболее предпочтительно от 75 до 150 мг/мл, например, приблизительно 100 мг/мл элементарного железа.

15. Соединение комплекса железа для применения по п. 14, где объем подкожной инъекции составляет от 0,5 до 5 мл.

1/2

ФИГ. 1



ФИГ. 2

