

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491694 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.10.04(22) Дата подачи заявки
2023.01.24(51) Int. Cl. *A61K 31/58* (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61K 9/28 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ БУДЕСОНИД, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕФРОПАТИИ IgA

(31) 63/302,226; 63/302,216; 2217150.8;
2217146.6(32) 2022.01.24; 2022.01.24; 2022.11.16;
2022.11.16

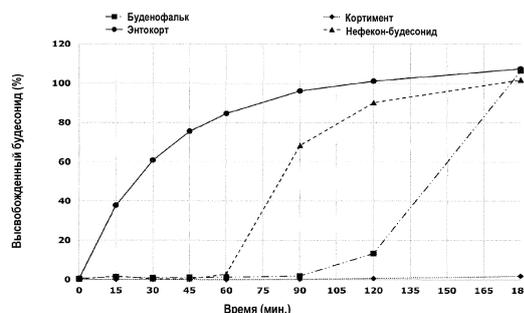
(33) US; US; GB; GB

(86) PCT/EP2023/051680

(87) WO 2023/139285 2023.07.27

(71) Заявитель:
КАЛЛИДИТАС ТЕРАПЬЮТИКС АБ
(SE)(72) Изобретатель:
Ризель Ева Кристина, Пересветофф-
Морат Лена Маргарета, Сандвольд
Кари, Педерсен Кристиан Олле
Андреас (SE)(74) Представитель:
Билык А.В., Поликарпов А.В.,
Соколова М.В., Путинцев А.И.,
Черкас Д.А., Игнатъев А.В., Дмитриев
А.В., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) В данном изобретении предложен способ лечения нефропатии IgA, который включает: (i) идентификацию фармацевтически приемлемой композиции, предназначенной для лечения нефропатии IgA, содержащей будесонид и одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом данная композиция отвечает следующим требованиям в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания; (a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 мин, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2; (b) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 30 мин, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8; и (c) композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 70% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 мин, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8; (ii) при этом способ включает стадию введения указанной композиции пациенту с нефропатией IgA, нуждающемуся в указанном лечении.



A1

202491694

202491694

A1

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ БУДЕСОНИД, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕФРОПАТИИ IgA

Изобретение относится к способу лечения нефропатии IgA и способу определения того, способна ли фармацевтическая композиция безопасно и эффективно лечить нефропатию IgA. Изобретение также относится к композициям для применения при лечении нефропатии IgA и способам получения этих композиций.

Предыдущий уровень техники

Перечень или обсуждение очевидно ранее опубликованного документа в этой спецификации не обязательно следует воспринимать как подтверждение того, что документ является частью уровня техники или общих знаний.

Нефропатия IgA (IgAN), иногда называемая болезнью Бергера, является серьезным прогрессирующим аутоиммунным заболеванием почек, при котором до 50% пациентов имеют риск развития терминальной стадии почечной недостаточности (ESRD) в течение десяти-двадцати лет.

IgAN является орфанным заболеванием, и по оценкам от примерно 130000 до 150000 человек поражены этим заболеванием в Соединенных Штатах и примерно 200000 человек поражены в Европе. Значительно большая распространенность наблюдалась в Азии, в том числе в Великом Китае, где IgAN исторически являлся основной причиной ESRD. По оценкам IgAN поражает примерно два миллиона человек в Великом Китае.

Хотя IgAN проявляется в почках, большинство научных исследований обнаружили, что патогенез IgAN начинается в подвздошной кишке, которая является конечной частью тонкого кишечника перед толстым. Массы лимфатической ткани, известные как Пейеровые пятна, предпочтительно находятся в подвздошной кишке, где они производят секреторные антитела IgA. Антитела IgA играют ключевую роль в иммунной системе, защищая организм от посторонних веществ, таких как пищевые факторы, бактерии и вирусы.

Пациенты с IgAN имеют повышенные уровни подкласса производимых в кишечнике антител IgA, у которых отсутствуют единицы галактозы в шарнирной области. Шарнирный участок представляет собой гибкий участок аминокислот в центральной части тяжелых цепей антитела IgA. Предполагается, что у пациентов с IgAN комбинация генетической предрасположенности и факторов окружающей среды, бактерий или рациона приводит к увеличению производства этих антител IgA с дефицитом галактозы, потенциально в сочетании с повышенной проницаемостью кишечника, что приводит к появлению этих антител в крови. Антитела IgA с дефицитом галактозы (здесь также упоминаются как слабо О-галактозилированный IgA1) являются иммуногенными, если их обнаруживают в

кровотоке, запускающем аутоантитела или антитела, созданные организмом в ответ на составляющую его собственной ткани. Это, в свою очередь, приводит к образованию патогенных иммунных комплексов или кластеров антител, которые откладываются в мембранах клубочков — фильтрационного аппарата почек. Эти захваченные иммунные комплексы инициируют воспалительный каскад, повреждающий мембраны, что приводит к утечке белка и крови в мочу. В конце концов, клубочки разрушаются, снижая способность почек удалять отходы из крови. По мере прогрессирования заболевания отходы, обычно выводимые из крови, накапливаются, что приводит к потенциально опасным для жизни осложнениям, которые у многих пациентов приводят к необходимости диализа или трансплантации почки.

Стандартом лечения ESRD является диализ или трансплантация почки, что составляет значительное экономическое бремя системы здравоохранения, а также существенное влияние на качество жизни пациентов.

Несмотря на потребность в новых методах лечения, в течение последнего десятилетия было разработано только несколько новых препаратов для лечения хронических заболеваний почек, и до недавнего времени не было утвержденной терапии для непосредственного лечения IgAN как такового. Пациентам с IgAN обычно вначале назначают антигипертензивные препараты. Эта схема лечения сначала пытается справиться с симптомами IgAN путем снижения артериального давления и протеинурии, но не было доказано, что она справляется с основной причиной IgAN. Со временем врачи пытаются контролировать прогрессирование заболевания с помощью различных нерекомендованных препаратов, таких как статины, омега-3-кислоты и диуретики, но значительная часть пациентов испытывает постоянное ухудшение функции почек, и до недавнего времени не было утвержденных вариантов лечения.

Для пациентов с IgAN, у которых прогрессировало заболевание, клиницисты могут лечить пациентов системными иммунодепрессантами, которые состоят прежде всего из высоких доз системных кортикостероидов, таких как преднизон, преднизолон и метилпреднизолон. Хотя некоторые опубликованные отчеты показывают, что эти агенты могут снизить протеинурию, столь высокая доза системных кортикостероидов также связана с широким спектром побочных эффектов, включая высокое кровяное давление, увеличение веса, диабет, серьезные инфекции и остеопороз. Кроме того, любое потенциальное влияние на основное заболевание с точки зрения функции почек, измеренное оцениваемой скоростью клубочковой фильтрации (eGFR), еще не доказано.

Таким образом, пытаясь удовлетворить текущую клиническую потребность в эффективном лечении IgAN, существует очевидная потребность в новых и/или

усовершенствованных способах лечения IgAN, при которых обеспечивается эффективное местное лечение иммуносупрессивным агентом без таких нежелательных побочных эффектов.

Пейеровые пятна (агрегированные лимфоидные узелки) представляют собой небольшие образования лимфатической ткани, расположенные по всему подвздошному участку тонкой кишки. Они являются важной частью иммунной системы, поскольку контролируют популяцию кишечных бактерий и предотвращают рост патогенных бактерий в кишечнике.

Поскольку пейеровые пятна отвечают за синтез основной массы IgA в организме, целенаправленная доза местного иммуносупрессивного агента в подвздошную кишку (и особенно в концевую/дистальную подвздошную кишку), где преимущественно находятся пейеровые пятна, может уменьшить образование молекул IgA, которые в итоге стимулируют образование иммунного комплекса при IgAN, путем уменьшения образования секреторных галактозодефицитных антител IgA и их появления в крови. Такое целенаправленное высвобождение также, возможно, ограничит системное влияние иммунодепрессантов местного действия, таких как определенные кортикостероиды, чтобы избежать нежелательных побочных эффектов.

Пейеровые пятна являются местами интенсивной активации В-клеток в организме человека. Поэтому вполне понятно, что мониторинг факторов выживаемости, связанных с активацией В-клеток, обеспечит указание на эффективность лечения местными иммуносупрессивными агентами.

Фактор некроза опухолей (ФНО), фактор активации В-клеток (BAFF) и его гомолог лиганд, индуцирующий пролиферацию (APRIL), представляют собой ключевые факторы выживаемости периферических В-клеток и экспрессируются клетками, включая моноциты, дендритные клетки, нейтрофилы, базофилы стромальные клетки, активированные Т-клетки, клетки слизистой оболочки кишечника, активированные и злокачественные В-клетки и эпителиальные клетки (Mackay and Schneider, 2009. *Nat. Rev. Immunol.*, 9:491-502; Schneider *et al*, 1999. *J. Exp. Med.*, 189:1747-1756; Yu *et al*, 2000. *Nat. Immunol.*, 1:252-256).

BAFF представляет собой лиганд для рецепторов трансмембранного активатора и интерактора CAML (TACI) (также известный как член сверхсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 13В (TNFRSF13B)); антиген созревания В-клеток (BCMA) (также известный как член сверхсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 17 (TNFRSF17)); и рецептор фактора активации В-клеток (BAFF-R) (также известный как член сверхсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 13С (TNFRSF13C)). BAFF-R является

специфичным для BAFF, тогда как TACI и BCMA также связываются с APRIL (Mackay and Schneider, 2009. *Nat. Rev. Immunol.*, 9:491-502).

BAFF является мощным активатором В-клеток и имеет решающее значение для гомеостаза В-клеток и регуляции селекции В-клеток. На животных моделях было показано, что избыток BAFF связан с развитием аутоиммунных расстройств, таких как IgAN, и высокие уровни BAFF были обнаружены в сыворотке крови пациентов с различными аутоиммунными заболеваниями. Повышение уровня BAFF было связано с активацией гуморального иммунитета из-за повышения уровня В-клеток и иммуноглобулинов (Steri *et al.*, 2017. *N. Engl. J. Med.*, 376:1615-1626).

Повышенные сывороточные уровни BAFF и APRIL обнаружены у пациентов, страдающих IgAN, и это привело к разработке лекарственных средств, которые могут ингибировать эти молекулы. Основной целью этих препаратов является блокирование взаимодействия между BAFF и APRIL и их рецепторами. Например, но не ограничиваясь этим, ингибитор BAFF блисибимод (Anthera Pharmaceuticals, прекращено) представляет собой слитый белок, состоящий из четырех связывающих доменов BAFF, слитых с N-концом участка Fc антитела человека, связывающегося с BAFF и ингибирующего взаимодействие с рецепторами BAFF. Подобным образом, комбинированный антагонист BAFF/APRIL атацисепт (Merck Serono, лицензированный Vera Therapeutics) также является рекомбинантным слитым белком, сочетающим домены связывания BAFF и APRIL с участком Fc антитела и блокирующим взаимодействие с TACI. Антагонист APRIL VIS649 (Visterra, дочерняя компания Otsuka) и ингибитор BAFF белимумаб (GlaxoSmithKline) являются моноклональными антителами, непосредственно связывающимися с APRIL и BAFF, соответственно, и блокирующими взаимодействие с их рецепторами. Следовательно, лекарственные средства, нацеленные на BAFF и APRIL, могут блокировать активность эндогенных молекул BAFF/APRIL, чтобы уменьшить активацию и пролиферацию В-клеток и связанные с этим иммунологические эффекты.

Современное понимание патогенеза и современных методов лечения IgAN обобщено в J. Barratt *et al.*, Treatment of IgA Nephropathy: Evolution Over Half a Century, *Seminars in Nephrology*, 2018, 38(5), 531-540, см. также Boyd *et al.*, *Kidney International*, 2012, 81, 833-843. Современное понимание патогенеза IgAN также изложено в Seikrit *et al.*, The Immune Landscape of IgA Induction in the Gut, *Seminars in Immunopathology*, 2021, 43, 627-637.

Неожиданно мы обнаружили, что пероральное введение будесонида с четким профилем высвобождения *in vitro* приводит к выраженному снижению уровня BAFF в сыворотке крови у этих субъектов относительно уровня, который наблюдался до введения

будесонида. Кроме того, наблюдаемое снижение уровня BAFF в сыворотке крови может происходить одновременно со снижением уровня биомаркеров, связанных с активацией и пролиферацией В-клеток. Соответственно профиль высвобождения *in vitro* указывает на успешное целенаправленное высвобождение в кишечнике (т.е. успешное целенаправленное высвобождение в дистальный отдел подвздошной кишки) субъектов.

Кроме того, особенно интересным является то, что было показано, что лечение IgAN системными глюкокортикоидами снижает как общий сывороточный IgA, так и слабо О-галактозилированный IgA1 (Kosztu P et al.,: Glucocorticoids Reduce A aberrant O-Glycosylation of IgA1 in IgA Nephropathy Patients. *Kidney Blood Press Res* 2018;43:350-359). Однако при текущем лечении пероральным введением препарата будесонида, как определено в данном документе, не наблюдалось различий в общих уровнях функциональных антител IgA, включая IgA1 и IgG, при лечении капсулами будесонида, но уровни галактозодефицитного IgA (слабо О-галактозилированного IgA) в сыворотке снизились. Этот факт привел к выводу, что эффект местного лечения подвздошной кишки капсулами будесонида был селективным в отношении патогенных антител, но неэффективным в отношении общего пула IgA, IgA1 и IgG.

Эти результаты показывают, что лечение препаратом будесонида, как определено в данном документе, поддерживает непосредственное влияние на лежащие в основе патогенные пути IgAN и что будесонид имеет преимущественно местный эффект, а не системный эффект, что приводит к уменьшению побочных эффектов у пациентов во время лечения нефекон-будесонидом.

Для того чтобы подтвердить это, моделирование *in silico* состава будесонида с четким профилем высвобождения *in vitro* показывает, что полезная нагрузка высвобождается преимущественно в подвздошную кишку, в частности в дистальный отдел подвздошной кишки. С будесонидом, имеющим высокую частоту первого прохождения, главным образом из-за метаболизма кишечной стенкой в тонкой кишке (Seidegård J et al., *Presystemic elimination of budesonide in man when administered locally at different levels in the gut, with and without local inhibition by ketoconazole*. *Eur J Pharm Sci*. 2008 Nov 15;35(4):264-70; Raje et al. *Evaluation of separate role of intestine and liver in first pass metabolism of budesonide in rat* *Xenobiotica*. 2018 Dec;48(12):1206-1214)), эти результаты дополнительно указывают на то, что препарат будесонида имеет местный, а не системный эффект.

В совокупности результаты, описанные в данном документе, показывают, что препараты будесонида, демонстрирующие четкий профиль высвобождения *in vitro*, как определено в данном документе, являются эффективным вариантом лечения IgAN.

Благодаря целенаправленному местному высвобождению и эффекту местного кортикостероида достигается меньший уровень нежелательных побочных эффектов.

Препараты кортикостероида будесонида ранее были описаны в международной патентной заявке WO 2009/138716 A1.

Описание изобретение

Согласно первому аспекту изобретения предложен способ лечения нефропатии IgA, причем способ включает:

(i) идентификацию фармацевтически приемлемой композиции, предназначенной для лечения нефропатии IgA, содержащей будесонид и одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом данная композиция отвечает следующим требованиям в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания (как описано ниже);

(a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2;

(b) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 30 минут; и

(c) композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 70% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 120 минут, после чего

(ii) введение указанной композиции пациенту с нефропатией IgA, нуждающемуся в указанном лечении,

причем данный способ называют далее как «способ по изобретению».

Под термином «фармацевтически подходящая среда для растворения» мы понимаем среду, подходящую для использования в анализе растворения *in vitro*, результаты которого указывают на высвобождение *in vivo* в соответствующей части кишечного тракта. Например, фармацевтически подходящая среда для растворения может альтернативно называться «энтерально фармацевтически подходящей средой для растворения» или «фармацевтически подходящей средой для растворения в кишечнике» может быть любой

такой средой, которая имитирует растворение и высвобождение в тонком кишечнике или соответствующей его части.

Фармацевтически подходящая среда для растворения предпочтительно является водной.

Фармацевтически подходящая среда для растворения может иметь уровень pH от около 6,2 до около 7,5, например, от около 6,5 до около 6,8.

Фармацевтически подходящая среда для растворения может представлять собой фосфатную буферную среду с уровнем pH около 6,2, моделированную кишечную жидкость натошак 1 уровня (FaSSIF) с уровнем pH около 6,5 (например, буфер FaSSIF, как определено ниже под заголовком «Высвобождение в моделированную кишечную жидкость натошак 1 уровня при уровне pH около 6,5»), фосфатную буферную среду с уровнем pH около 6,8 (например, фосфатный буфер, определенный ниже под заголовком «Высвобождение в среду при уровне pH 6,8»), или фосфатную буферную среду при уровне pH около 7,2 или около 7,5.

Способ по изобретению может включать (I) объединение будесонида с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, обеспечивающими модифицированное высвобождение указанного будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, чтобы получить фармацевтически приемлемую композицию, предназначенную для лечения нефропатии IgA, а потом (II) тестирование композиции в стандартном *in vitro* тесте на растворение USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3, как определено выше, и если композиция отвечает требованиям (a)-(c), как указано выше, введение указанной композиции пациенту с нефропатией IgA, нуждающемуся в указанном лечении.

В качестве альтернативного варианта осуществления изобретения предложена композиция, содержащая комбинацию будесонида с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, обеспечивающими модифицированное высвобождение указанного будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, где указанная композиция соответствует профилю растворения стадии (i), приведенному выше, для использования в лечении нефропатии IgA.

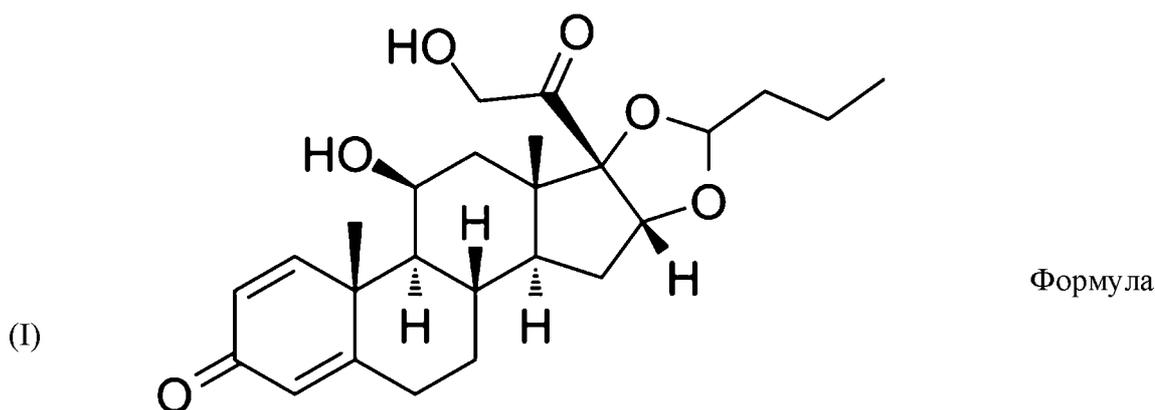
В качестве дополнительного альтернативного варианта осуществления изобретения предложено использование композиции, содержащей комбинацию будесонида с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, обеспечивающими модифицированное высвобождение указанного будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, где указанная композиция соответствует профилю растворения стадии (i), приведенному выше, для изготовления лекарственного препарата для лечения нефропатии IgA.

Как упоминается в данном документе, в термин «лечение» нефропатии IgA мы дополнительно включаем профилактику или диагностику соответствующего состояния в дополнение к терапевтическому, симптоматическому и/или паллиативному лечению.

Для того чтобы избежать сомнений, ссылаясь на USP<711>, мы ссылаемся на тест, опубликованный 1 мая 2016 года, а ссылаясь на Ph.Eur. 2.9.3 мы ссылаемся на раздел 2.9.3 Европейской фармакопеи 10.0. Следует понимать, что юрисдикции за пределами США и Европы могут иметь эквивалентную Фармакопею, отражающую тот же или подобный тест, как описано в USP и Ph.Eur., например Китайская Фармакопея.

Для того чтобы избежать сомнений, стадия (ii) введения композиции пациенту состоится, только если среднее (усредненное) испытываемых композиций отвечает каждому и всем критериям (a), (b) и (c) стадии (i).

При использовании в данном документе термин «будесонид» относится к соединению согласно формуле I:



Будесонид также обычно известен под названием IUPAC (16 α ,17-[(1R,S)-бутилиденбис(окси)]-11 β ,21-дигидроксипрегна-1,4-диен-3,20-дион).

Хотя композиция по изобретению содержит будесонид, понятно, что композиция альтернативно может содержать другой кортикостероид, способный оказывать местное действие подобно будесониду. Такие соответствующие альтернативные кортикостероиды включают, но не ограничиваясь ими, аклометазон, беклометазон, бетаметазон, клобетазол, гидрокортизон, дексаметазон, флунизол, метилпреднизолон, мометазон, преднизолон, триамцинолон, флутиказон, циклесонид, флудрокортизон и их смеси, включая смеси, содержащие будесонид.

Лопастная мешалка устройства 2 может работать со скоростью около 50 оборотов в минуту (об/мин), около 75 об/мин или около 100 об/мин. Предпочтительно, лопастная мешалка устройства 2 работает при около 100 об/мин или около 50 об/мин.

Фармацевтически приемлемая среда для растворения по критерию b) и критерию c) может содержать поверхностно-активное вещество в количестве около 0,5 мг/мл (0,05% мас./об.). Поверхностно-активное вещество может представлять собой полисорбат, при этом предпочтительно поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80 (например, Твин 80).

По критерию a) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять не более 5%, например не более 2,5%, за около 120 минут.

По критерию a) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5% за около 120 минут.

По критерию b) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять не более 5%, например не более 2,5%, за около 30 минут.

По критерию b) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5% за около 30 минут.

По критерию c) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять по меньшей мере около 75%, например около 80%, например около 84% или около 85%, за около 120 минут.

По критерию c) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять от около 70% до около 100%, например, от около 75% до около 100%, например от около 84% до около 100%, например от около 85% до 100%, за около 120 минут.

По критерию b) стадии (i) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что не более около 10% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 37,5 минут, например, не более чем около 5%, например, не более чем около 2,5% будесонида высвобождается в течение около 37,5 минут. Например, количество будесонида, высвобожденного в фармацевтически подходящую среду для растворения, может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5%, за около 37,5 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 37,5 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50 об/мин.

По критерию b) стадии (i) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что по меньшей мере около 20% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 75 минут, например, по меньшей мере около 21%, например, по меньшей мере около 22% или 23%

будесонида высвобождается в течение около 75 минут. Например, количество будесонида, высвобожденного в фармацевтически подходящую среду для растворения, может составлять от около 23% до около 74% за около 75 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 75 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50 об/мин.

По критерию с) способа, композиция может дополнительно соответствовать требованию, что по меньшей мере около 75% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 150 минут, например, по меньшей мере около 76%, например, по меньшей мере около 77% будесонида высвобождается в течение около 150 минут. Например, количество будесонида, высвобожденного в фармацевтически подходящую среду для растворения, может составлять от около 77% до около 100% за около 150 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 150 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50 об/мин.

По критерию b) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что не более около 10% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 45 минут, например, не более чем около 5%, например, не более чем около 2,5% будесонида высвобождается в течение около 45 минут. Например, количество будесонида, высвобожденного в фармацевтически подходящую среду для растворения, может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5%, за около 45 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 45 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в фармацевтически соответствующей среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50, 75 или 100 об/мин.

По критерию b) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что не более около 10% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 60 минут, например, не более чем около 5%, например, не более чем около 2,5% будесонида высвобождается в течение около 60 минут. Например, количество будесонида, высвобожденного в фармацевтически подходящую среду для растворения, может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5%, за около 60 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 60 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в фармацевтически соответствующей среде

для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50, 75 или 100 об/мин.

По критерию b) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что от 50 до 90% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 90 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 90 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в фармацевтически соответствующей среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50, 75 или 100 об/мин.

По критерию c) способа, композиция может дополнительно отвечать требованию, что по меньшей мере около 80% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 180 минут, например, по меньшей мере около 85%, например, от около 80% до около 100% или от около 85% до около 100% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 180 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 180 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в фармацевтически соответствующей среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50, 75 или 100 об/мин.

По критерию c) способа, композиция может дополнительно соответствовать требованию, что по меньшей мере около 85% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 240 минут, например, по меньшей мере около 90%, например от около 90% до около 100% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 240 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 240 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в фармацевтически соответствующей среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50, 75 или 100 об/мин.

По критерию c) способа, композиция может дополнительно соответствовать требованию, что по меньшей мере около 90% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 360 минут, например, по меньшей мере около 95%, например от около 95% до около 100% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 360 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 360 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в фармацевтически соответствующей среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50, 75 или 100 об/мин.

По критерию с) способа, композиция может дополнительно соответствовать требованию, что по меньшей мере около 90% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 480 минут, например, по меньшей мере около 95%, например от около 95% до около 100% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 480 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 480 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в фармацевтически соответствующей среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50, 75 или 100 об/мин.

По критерию с) способа, композиция может дополнительно соответствовать требованию, что по меньшей мере около 90% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 600 минут, например, по меньшей мере около 95%, например от около 95% до около 100% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 600 минут. Необязательно, высвобождение в течение около 600 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в фармацевтически соответствующей среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50, 75 или 100 об/мин.

В варианте осуществления по критерию а) стадии (i) способа растворение в кислотоустойчивой среде можно оценить в соответствии с критериями приемлемости в Таблице приемлемости 2 и/или Таблице приемлемости 3 USP<711>/Таблице 2.9.3-2 и/или Таблице 2.9.3.-3 Ph.Eur. 2.9.3.

В варианте осуществления по критерию b) стадии (i) способа растворение в фармацевтически подходящей среде для растворения можно оценить в соответствии с критериями приемлемости в Таблице приемлемости 2 и/или Таблице приемлемости 3 USP<711>/Таблице 2.9.3-2 и/или Таблице 2.9.3.-3 Ph.Eur. 2.9.3.

В варианте осуществления по критерию с) стадии (i) способа растворение в фармацевтически приемлемой среде для растворения можно оценить в соответствии с критериями приемлемости в Таблице приемлемости 2 и/или Таблице приемлемости 4 USP<711>/Таблице 2.9.3-2 и/или Таблице 2.9.3.-4 Ph.Eur. 2.9.3.

Для того чтобы избежать сомнений, количество будесонида, высвобождающегося по критерию b) через 30 минут и критерию с) через 120 минут, достигается в присутствии и при отсутствии добавленного поверхностно-активного вещества, такого как добавленный полисорбат 80 (например, Твин 80) при концентрации около 0,5 мг/мл в фармацевтически подходящей среде для растворения. Кроме того, количество будесонида,

высвобождающегося через 37,5 минут, 60 минут, 75 минут, 90 минут и 150 минут, достигается при наличии и при отсутствии добавленного поверхностно-активного вещества, такого как добавленный полисорбат 80 (например, Твин 80) в концентрации около 0,5 мг/мл в фармацевтически подходящей среде для растворения.

В варианте осуществления способ включает:

(i) идентификацию фармацевтически приемлемой композиции, предназначенной для лечения нефропатии IgA, содержащей будесонид и одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом данная композиция отвечает следующим требованиям в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания (как описано ниже), который работает при 50 об/мин;

(a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2;

(b) композиция соответствует требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 30 минут; при этом фармацевтически подходящая среда для растворения не содержит поверхностно-активного вещества;

(c) композиция соответствует требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 37,5 минут, при этом фармацевтически подходящая среда для растворения не содержит поверхностно-активного вещества;

(d) композиция соответствует требованию, что от около 23% до около 74% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 75 минут, при этом фармацевтически подходящая среда для растворения не содержит поверхностно-активного вещества;

(e) композиция соответствует требованию, что по меньшей мере около 77% будесонида высвобождается в фармацевтически

подходящую среду для растворения в течение около 150 минут; при этом фармацевтически подходящая среда для растворения не содержит поверхностно-активного вещества; необязательно

(f) при этом композиция соответствует требованию, что по меньшей мере около 70% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 120 минут, при этом фармацевтически подходящая среда для растворения не содержит поверхностно-активного вещества.

В другом варианте осуществления способ включает:

(i) идентификацию фармацевтически приемлемой композиции, предназначенной для лечения нефропатии IgA, содержащей будесонид и одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом данная композиция отвечает следующим требованиям в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания (как описано ниже), который работает при 100 об/мин;

(a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2;

(b) композиция соответствует требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 30 минут; при этом фармацевтически подходящая среда для растворения не содержит поверхностно-активного вещества;

(c) композиция соответствует требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 60 минут, при этом фармацевтически подходящая среда для растворения не содержит поверхностно-активного вещества;

(d) композиция соответствует требованию, что от около 50% до около 90% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 90 минут, при этом

фармацевтически подходящая среда для растворения не содержит поверхностно-активного вещества; и

(е) композиция соответствует требованию, что по меньшей мере около 70%, например по меньшей мере 75% будесонида высвобождается в фармацевтически подходящую среду для растворения в течение около 120 минут, при этом фармацевтически подходящая среда для растворения не содержит поверхностно-активного вещества.

Из фармакокинетических исследований всасывания лекарства натоцак известно, что при приеме 200-250 мл воды вместе с лекарственной формой максимальный общий объем около 300-500 мл будет доступен в проксимальном отделе тонкого кишечника (см. Klein, *AAPS J.*, **12**, 397, (2010)). Следовательно, тесты на растворение, используемые в способе по изобретению, должны использовать объем среды для растворения, по меньшей мере, около 500 мл (например, около 900 мл). Первоначальный объем среды для растворения, используемой в условиях а), b) и с), может составлять около 900 мл.

Процедура, используемая для испытания композиции, может по существу соответствовать Методу В для твердых лекарственных форм с отсроченным высвобождением, согласно USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Температуру среды для растворения по критериям а), b) и с) можно поддерживать равной около $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Количество испытываемых композиций может быть 6 или более 6, например 12 или 24.

В каждый момент времени по критериям (а), (b) и (с) количество объема, отобранного из среды для растворения, может составлять 10 мл или 15 мл, необязательно отобранный объем не заменяется. Отбор среды для растворения не влияет на общий профиль растворения композиции. Следовательно, желательно, чтобы тест на растворение проводился в условиях поглощения и чтобы количество растворителя преобладало над количеством растворенного вещества, что означает, что отбор небольшого количества с целью анализа не влияет на растворение.

Высвобождение в среду при уровне pH 6,8

Согласно альтернативному аспекту изобретения предложен способ лечения нефропатии IgA, причем способ включает:

(i) идентификацию фармацевтически приемлемой композиции, предназначенной для лечения нефропатии IgA, содержащей будесонид и одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом данная композиция отвечает

следующим требованиям в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания (как описано ниже);

(a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2;

(b) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 30 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8; и

(c) композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 70% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8; потом

(ii) введение указанной композиции пациенту с нефропатией IgA, нуждающемуся в указанном лечении, при этом данный способ называют далее в данном документе «способом по изобретению».

Способ по изобретению может включать (I) сочетание будесонида с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, обеспечивающими модифицированное высвобождение указанного будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, чтобы получить фармацевтически приемлемую композицию, предназначенную для лечения нефропатии IgA, а потом (II) тестирование композиции в стандартном *in vitro* тесте на растворение USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3, как определено выше, и если композиция отвечает требованиям (a)-(c), как указано выше (т.е. относительно высвобождения в среду с уровнем pH 6,8), введение указанной композиции пациенту с нефропатией IgA, нуждающемуся в указанном лечении.

В качестве альтернативного варианта осуществления изобретения предложена композиция, содержащая комбинацию будесонида с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, обеспечивающими модифицированное высвобождение указанного будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, где указанная композиция соответствует профилю растворения стадии (i), приведенному выше (т.е. относительно высвобождения в вышеуказанную фармацевтически подходящую среду с уровнем pH 6,8), для использования в лечении нефропатии IgA.

В качестве дополнительного альтернативного варианта осуществления изобретения предложено использование композиции, содержащей комбинацию будесонида с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, обеспечивающими модифицированное высвобождение указанного будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, где указанная композиция соответствует профилю растворения стадии (i), приведенному выше (т.е. относительно высвобождения в фармацевтически подходящую среду при уровне pH 6,8), для изготовления лекарственного препарата для лечения нефропатии IgA.

Для того чтобы избежать сомнений, стадия (ii) введения композиции пациенту состоится, только если среднее (усредненное) испытываемых композиций отвечает всем критериям (a), (b) и (c) стадии (i).

Лопастная мешалка устройства 2 может работать со скоростью около 50 оборотов в минуту (об/мин), около 75 об/мин или около 100 об/мин. Предпочтительно, лопастная мешалка устройства 2 работает при около 100 об/мин или около 50 об/мин.

Водная среда для растворения по критерию b) и критерию c) может содержать поверхностно-активное вещество в количестве около 0,5 мг/мл (0,05% мас./об.). Поверхностно-активное вещество может представлять собой полисорбат, при этом предпочтительно поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80 (например, Твин 80).

Водная среда для растворения по критерию b) и критерию c) может представлять собой фосфатную буферную среду, например фосфатный буферный раствор с концентрацией около 50 мМ.

Фосфатная буферная среда при уровне pH около 6,8 может быть приготовлена приготовлением сначала 0,2 М раствора трехосновного фосфата натрия, затем добавлением одной части 0,2 М раствора трехосновного фосфата натрия к трем частям 0,1 н. раствора хлороводородной кислоты. После смешивания двух растворов вместе pH может быть проверено и доведено, если необходимо, до уровня pH около 6,8 путем добавления либо хлороводородной кислоты, либо гидроксида натрия.

По критерию a) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять не более 5%, например не более 2,5%, за около 120 минут.

По критерию a) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5% за около 120 минут.

По критерию b) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять не более 5%, например не более 2,5%, за около 30 минут.

По критерию b) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5% за около 30 минут.

По критерию c) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять по меньшей мере около 75%, например около 80%, например около 84% или около 85%, за около 120 минут.

По критерию c) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять от около 70% до около 100%, например, от около 75% до около 100%, например от около 84% до около 100%, например от около 85% до 100%, за около 120 минут.

По критерию b) стадии (i) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что не более около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 37,5 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8, например, не более чем около 5%, например, не более чем около 2,5% будесонида высвобождается в течение около 37,5 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8. Например, количество высвобожденного будесонида может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5%, в течение около 37,5 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8. Необязательно, высвобождение в течение около 37,5 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50 об/мин.

По критерию b) стадии (i) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что по меньшей мере около 20% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 75 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8, например, по меньшей мере около 21%, например, по меньшей мере около 22% или 23% будесонида высвобождается в течение около 75 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8. Например, количество высвобожденного будесонида может составлять от около 23% до около 74% в течение около 75 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8. Необязательно, высвобождение в течение около 75 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50 об/мин.

По критерию c) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что по меньшей мере около 75% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 150 минут, когда среда для растворения является водной и

имеет уровень pH около 6,8, например, по меньшей мере около 76%, например, по меньшей мере около 77% будесонида высвобождается в течение около 150 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8. Например, количество высвобожденного будесонида может составлять от около 77% до около 100% в течение около 150 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8. Необязательно, высвобождение в течение около 150 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 50 об/мин.

По критерию b) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что не более около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 60 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8, например, не более чем около 5%, например, не более чем около 2,5% будесонида высвобождается в течение около 60 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8. Например, количество высвобожденного будесонида может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5%, в течение около 60 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8. Необязательно, высвобождение в течение около 60 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 100 об/мин.

По критерию b) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что от 50 до 90% будесонида высвобождается в течение около 90 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8. Необязательно, высвобождение в течение около 90 минут происходит при отсутствии поверхностно-активного вещества в среде для растворения и при скорости вращения лопасти лопастной мешалки 2 100 об/мин.

В варианте осуществления по критерию a) стадии (i) способа растворение в кислотоустойчивой среде можно оценить в соответствии с критериями приемлемости в Таблице приемлемости 2 и/или Таблице приемлемости 3 USP<711>/Таблице 2.9.3-2 и/или Таблице 2.9.3.-3 Ph.Eur. 2.9.3.

В варианте осуществления по критерию b) стадии (i) способа, растворение в буферной среде можно оценить в соответствии с критериями приемлемости в Таблице приемлемости 2 и/или Таблице приемлемости 3 USP<711>/Таблице 2.9.3-2 и/или Таблице 2.9.3.-3 Ph.Eur. 2.9.3.

В варианте осуществления по критерию c) стадии (i) способа растворение в буферной среде можно оценить в соответствии с критериями приемлемости в Таблице

приемлемости 2 и/или Таблице приемлемости 4 USP<711>/Таблице 2.9.3-2 и/или Таблице 2.9.3.-4 Ph.Eur. 2.9.3.

Для того чтобы избежать сомнений, количество будесонида, высвобождающегося по критерию b) через 30 минут и критерию c) через 120 минут, достигается в присутствии и при отсутствии добавленного поверхностно-активного вещества, такого как добавленный полисорбат 80 (например, Твин 80) при концентрации около 0,5 мг/мл в среде для растворения. Кроме того, количество будесонида, высвобождающегося через 37,5 минут, 60 минут, 75 минут, 90 минут и 150 минут, достигается при наличии и при отсутствии добавленного поверхностно-активного вещества, такого как добавленный полисорбат 80 (например, Твин 80) в концентрации около 0,5 мг/мл в среде для растворения.

В варианте осуществления способ включает:

(i) идентификацию фармацевтически приемлемой композиции, предназначенной для лечения нефропатии IgA, содержащей будесонид и одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом данная композиция отвечает следующим требованиям в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания (как описано ниже), который работает при 50 об/мин;

(a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2;

(b) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 30 минут, когда среда для растворения является водной, не содержит поверхностно-активного вещества и имеет уровень pH около 6,8;

(c) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 37,5 минут, когда среда для растворения является водной, не содержит поверхностно-активного вещества и имеет уровень pH около 6,8;

(d) композиция отвечает требованию, что от около 23% до около 74% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение

около 75 минут, когда среда для растворения является водной, не содержит поверхностно-активного вещества и имеет уровень pH около 6,8;

(e) композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 77% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 150 минут, когда среда для растворения является водной, не содержит поверхностно-активного вещества и имеет уровень pH около 6,8; необязательно

(f) при этом композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 70% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной, не содержит поверхностно-активного вещества и имеет уровень pH около 6,8.

В другом варианте осуществления способ включает:

(i) идентификацию фармацевтически приемлемой композиции, предназначенной для лечения нефропатии IgA, содержащей будесонид и одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом данная композиция отвечает следующим требованиям в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания (как описано ниже), который работает при 100 об/мин;

(a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2;

(b) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 30 минут, когда среда для растворения является водной, не содержит поверхностно-активного вещества и имеет уровень pH около 6,8;

(c) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 60 минут, когда среда для растворения является водной, не содержит поверхностно-активного вещества и имеет уровень pH около 6,8;

(d) композиция отвечает требованию, что от около 50% до около 90% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 90 минут, когда среда для растворения является водной, не содержит поверхностно-активного вещества и имеет уровень pH около 6,8; и

(e) композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 70%, например по меньшей мере 75%, будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной, не содержит поверхностно-активного вещества и имеет уровень pH около 6,8.

Из фармакокинетических исследований всасывания лекарства натошак известно, что при приеме 200-250 мл воды вместе с лекарственной формой максимальный общий объем около 300-500 мл будет доступен в проксимальном отделе тонкого кишечника (см. Klein, *AAPS J.*, **12**, 397, (2010)). Следовательно, тесты на растворение, используемые в способе по изобретению, должны использовать объем среды для растворения, по меньшей мере, около 500 мл (например, около 900 мл). Первоначальный объем среды для растворения, используемой в условиях а), b) и с), может составлять около 900 мл.

Процедура, используемая для испытания композиции, может по существу соответствовать Методу В для твердых лекарственных форм с пролонгированным высвобождением и/или отсроченным высвобождением, согласно USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Температуру среды для растворения по критериям а), b) и с) можно поддерживать равной около $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Количество испытываемых композиций может быть 6 или более 6, например 12 или 24.

В каждый момент времени по критериям (a), (b) и (c) количество объема, отобранного из среды для растворения, может составлять 10 мл или 15 мл, необязательно отобранный объем не заменяется. Отбор среды для растворения не влияет на общий профиль растворения композиции. То есть, желательно, чтобы тест на растворение проводился в условиях поглощения и чтобы количество растворителя преобладало над количеством растворенного вещества, что означает, что отбор небольшого количества с целью анализа не влияет на растворение.

Высвобождение в моделированной кишечной жидкости натошак уровня 1 при уровне pH около 6,5

Согласно дополнительному альтернативному аспекту изобретения предложен способ лечения нефропатии IgA, причем способ включает:

(i) идентификацию фармацевтически приемлемой композиции, предназначенной для лечения нефропатии IgA, содержащей

будесонид и одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом данная композиция отвечает следующим требованиям в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания;

(a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2; и

(b) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида выделяется в среду для растворения, содержащую моделированную кишечную жидкость натошак уровня 1 при уровне pH около 6,5 в течение около 30 минут; и

(c) композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 70% будесонида выделяется в среду для растворения, содержащую моделированную кишечную жидкость натошак уровня 1 при уровне pH около 6,5 в течение около 120 минут; потом

(ii) введение указанной композиции пациенту с нефропатией IgA, нуждающемуся в указанном лечении,

причем данный способ называют далее в данном документе как «способ по изобретению».

Способ по изобретению может включать (I) объединение будесонида с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, обеспечивающими модифицированное высвобождение указанного будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, чтобы получить фармацевтически приемлемую композицию, предназначенную для лечения нефропатии IgA, а потом (II) тестирование композиции в стандартном *in vitro* тесте на растворение USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3, как определено выше, и если композиция отвечает требованиям (a)-(c), как указано выше (т.е. касательно высвобождения в моделированную кишечную жидкость натошак уровня 1 с уровнем pH около 6,5), введение указанной композиции пациенту с нефропатией IgA, требующему указанного лечения.

В качестве альтернативного варианта осуществления изобретения предложена композиция, содержащая комбинацию будесонида с одним или более фармацевтически

приемлемыми вспомогательными веществами, обеспечивающими модифицированное высвобождение указанного будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, где указанная композиция соответствует профилю растворения стадии (i), приведенному выше (т.е. касательно высвобождения в моделированную кишечную жидкость натошак уровня 1 при уровне pH около 6,5), для использования в лечении нефропатии IgA.

В качестве дополнительного альтернативного варианта осуществления изобретения предложено использование композиции, содержащей комбинацию будесонида с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, обеспечивающими модифицированное высвобождение указанного будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, где указанная композиция соответствует профилю растворения стадии (i), приведенному выше (т.е. касательно высвобождения в моделированную кишечную жидкость натошак уровня 1 при уровне pH около 6,5), для изготовления лекарственного препарата для лечения нефропатии IgA.

Как упоминается в данном документе, в термин «лечение» нефропатии IgA мы дополнительно включаем профилактику или диагностику соответствующего состояния в дополнение к терапевтическому, симптоматическому и/или паллиативному лечению.

Термин «моделируемая кишечная жидкость натошак 1 уровня» (уровень 1 FaSSIF-V1) будет понятен специалистам в этой области как включающий биорелевантную среду для растворения, имеющую более низкий уровень pH и буферную емкость, чем стандартная моделируемая кишечная жидкость (среда, которая обычно используется в стандартных тестах USP/Ph.Eur; pH 6,8), которая была разработана специально для моделирования условий голодания в проксимальном отделе тонкой кишки (см., например, Markopoulos *et al*, *In-vitro* simulation of luminal conditions for evaluation of performance of oral drug products: Choosing the appropriate test media, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 93, 2015, 173-182).

FaSSIF-V1 1 уровня содержит фосфатную буферную систему, содержащую NaH_2PO_4 (в концентрации около 28,5 мМ), NaOH (в концентрации около 13,8 мМ), HCl (qs) и деионизированную воду (qs), которая дает среду с осмоляльностью около 270 мОсмоль/кг и буферной емкостью около 12 мэкв/pH/л.

В этом способе изобретения к среде FaSSIF может быть добавлено поверхностно-активное вещество. Поверхностно-активное вещество может представлять собой полисорбат, такой как полисорбат 80 (например, Твин 80). Поверхностно-активное вещество может присутствовать в концентрации около 0,05% мас./об. (0,5 мг/мл) для облегчения анализа.

Таким образом, дополнительно предложено:

- способ изобретения, как определено выше;
- композицию, соответствующую профилю растворения стадии (i), приведенному выше, для применения в лечении нефропатии IgA; и
- использование композиции, соответствующей профилю растворения стадии (i), указанному выше, для производства лекарственного препарата для лечения нефропатии IgA, при условии, что в каждом случае среда FaSSIF, используемая на стадии (i), содержит поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат, включая полисорбат 80 (например, Твин 80), необязательно присутствующий в концентрации около 0,05% мас./об. (0,5 мг/мл) для облегчения анализа.

Для того чтобы избежать сомнений, стадия (ii) введения композиции пациенту состоится, только если среднее (усредненное) испытываемых композиций отвечает всем критериям (a), (b) и (c) стадии (i).

По критерию a) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять не более 5%, например не более 2,5%, за около 120 минут.

По критерию a) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5% за около 120 минут.

По критерию b) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять не более 5%, например не более 2,5%, за около 30 минут.

По критерию b) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5% за около 30 минут.

По критерию c) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять по меньшей мере около 75%, например около 80%, например около 84% или около 85%, за около 120 минут.

По критерию c) стадии (i) способа количество высвобожденного будесонида может составлять от около 70% до около 99%, например от около 70% до около 90%, за около 120 минут.

Для того чтобы избежать сомнений, количество будесонида, высвобождающегося по критерию b) через 30 минут и критерию c) через 120 минут, достигается в присутствии и при отсутствии добавленного полисорбата 80 (например, Твин 80) при концентрации около 0,05 мас./об. (около 0,5 мг/мл) в среде FaSSIF.

По критерию b) стадии (i) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что не более около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 60 минут, например, не более чем около 5%, например, не более чем около 2,5% будесонида высвобождается в течение около 60 минут. Например, количество высвобожденного будесонида может составлять от около 0% до около 10%, например, от около 0% до около 5%, например, от около 0% до около 2,5% за около 60 минут. Количество будесонида, высвобождающегося через 60 минут, достигается в присутствии и при отсутствии добавленного полисорбата 80 (например, Твин 80) при концентрации около 0,05 мас./об. (около 0,5 мг/мл) в среде FaSSIF.

Согласно критерию c) стадии (i) способа в присутствии добавленного полисорбата 80 (например, Твин 80) в концентрации около 0,05% мас./об. (около 0,5 мг/мл) в среде FaSSIF, композиция может дополнительно отвечать требованию, что по меньшей мере около 20%, например 25% или 30%, например 35% будесонида, высвобождается в среду для растворения, например, высвобождается по меньшей мере около 40% будесонида, например, высвобождается от около 30 до около 65% будесонида, например, высвобождается от около 35% до около 65% будесонида, в частности высвобождается от около 40% до около 60% будесонида, например, высвобождается от около 45% до около 55% будесонида, в среду для растворения в течение около 90 минут.

В соответствии с критерием c) стадии (i) способа, при отсутствии добавленного полисорбата 80 (например, Твин 80) в концентрации около 0,05% (около 0,5 мг/мл) мас./об. в среде FaSSIF, композиция может дополнительно отвечать требованию, что по меньшей мере около 10%, например высвобождается по меньшей мере около 15% будесонида, например, высвобождается от около 10 до около 50% будесонида, например, высвобождается от около 10% до около 40% будесонида, в частности высвобождается от около 10% до около 30% будесонида, например, высвобождается от около 15% до около 30% будесонида, в среду для растворения в течение около 90 минут.

По критерию c) стадии (i) способа композиция может дополнительно соответствовать требованию, что по меньшей мере около 90% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 180 минут, например, по меньшей мере около 95% будесонида высвобождается в течение около 180 минут. Количество будесонида, высвобождающегося через 180 минут, достигается в присутствии и при отсутствии добавленного полисорбата 80 (например, Твин 80) при концентрации около 0,05 мас./об. (около 0,5 мг/мл) в среде FaSSIF.

Лопастная мешалка устройства 2 может работать со скоростью около 50 об/мин, около 75 об/мин или около 100 об/мин. Предпочтительно, лопастная мешалка устройства 2 работает при около 100 об/мин.

Из фармакокинетических исследований всасывания лекарства натошак известно, что при приеме 200-250 мл воды вместе с лекарственной формой максимальный общий объем около 300-500 мл будет доступен в проксимальном отделе тонкого кишечника (см. Klein, *AAPS J.*, **12**, 397, (2010)). Следовательно, тесты на растворение, используемые в способе по изобретению, должны использовать объем среды для растворения (в частности FaSSIF) по меньшей мере около 500 мл (например, около 900 мл). Предпочтительно, начальный объем среды для растворения, используемой в условиях а), b) и с), составляет около 900 мл.

Процедура, используемая для испытания композиции, может по существу соответствовать Методу В для твердых лекарственных форм с отсроченным высвобождением, согласно USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Температуру среды для растворения по критериям а), b) и с) можно поддерживать равной около $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Количество испытываемых композиций может составлять по меньшей мере 3, например 6 или более 6, например 12 или 24.

В каждый момент времени по критериям (а), (b) и (с) количество объема, отобранного из среды для растворения, может составлять 10 мл или 15 мл, необязательно отобранный объем не заменяется. Отбор среды для растворения не влияет на общий профиль растворения композиции. То есть, желательно, чтобы тест на растворение проводился в условиях поглощения и чтобы количество растворителя преобладало над количеством растворенного вещества, что означает, что отбор небольшого количества с целью анализа не влияет на растворение.

В частности, но не исключительно, когда композиция по изобретению является композицией ядро-оболочка, как определено ниже, способ по изобретению, как определено в данном документе, может включать дополнительные стадии:

(1) об
еспечение будесонида с теми же вспомогательными веществами с пролонгированным высвобождением, но при отсутствии вспомогательных веществ с отсроченным высвобождением, как описано в данном документе; и

(2) оп
ределение того, что композиция в стандартном *in vitro* испытании на растворение USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3 с использованием устройства для растворения в

соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного теста, отвечает требованиям, что от около 20 до около 60%, например от около 25 до около 50%, будесонида высвобождается в среду для растворения, содержащую моделированную кишечную жидкость уровня 1 натошак при уровне pH около 6,5 в течение около 15 минут.

В варианте осуществления изобретения от около 70 до около 90% будесонида высвобождается в среду для растворения уровня 1 FaSSIF-V1, определенную в данном документе, в течение около 30 минут при отсутствии покрытия с отсроченным высвобождением (например, без кишечнорастворимого покрытия) и предпочтительно от около 75 до около 85% будесонида высвобождается в эту среду для растворения в течение около 45 минут.

При отсутствии покрытия с отсроченным высвобождением (например, кишечнорастворимого) от около 80 до около 90% будесонида может высвободиться в среду для растворения FaSSIF-V1 уровня 1, как определено в данном документе, в течение около 60 минут, в частности, от около 90% (например, около 95% (включая около 97% и около 100%)) будесонида может быть высвобождено в эту среду для растворения в течение около 90 минут, например в течение около 120 минут, в том числе в течение около 180 минут.

Композиция будесонида при отсутствии вспомогательных веществ с отсроченным высвобождением, имеющих профиль растворения, как описано выше, является дополнительным подтверждением того, что основная часть будесонида будет высвобождаться *in vivo* в подвздошную кишку.

Эффекты биомаркеров

Способ по изобретению во всех аспектах, изложенных выше, может привести к статистически значимому снижению уровня сывороточного фактора активации В-клеток (BAFF) (также известного как член сверхсемейства лигандов фактора некроза опухоли 13В (TNFSF13B)) у субъекта относительно исходного уровня сывороточного BAFF у субъекта до лечения.

Под «статистически значимым снижением» мы понимаем значение уменьшения, которое является статистически значимым для значения $p < 0,05$ после использования одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) при сравнении изменения, наблюдаемого в группе пациентов, получавших лечение, с изменением, наблюдаемым у пациентов, получавших плацебо.

Под термином «относительно исходного уровня» мы понимаем, что измеренный уровень молекулы (например, BAFF) ниже уровня, измеренного в начале исследования (т.е.

до введения лекарственного средства). Исходный уровень представляет собой уровень непосредственно перед началом лечения, который используется в качестве сравнительного показателя для последующих измерений уровней (например, сразу после курса лечения или в момент завершения курса лечения). Таким образом, такое сокращение специфично для исследуемого субъекта или группы субъектов и не является абсолютной величиной.

Снижение уровня ВАFF в сыворотке крови у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% относительно исходного уровня ВАFF в сыворотке у субъекта до лечения. Например, снижение сывороточного уровня ВАFF у субъекта может составлять по меньшей мере около 5%. В частности, снижение уровня сывороточного ВАFF у субъекта может составлять по меньшей мере около 10%, например снижение сывороточного уровня ВАFF у субъекта может составлять по меньшей мере около 14%.

Снижение сывороточного уровня ВАFF у субъекта может составлять от около 1% до около 70%. Например, снижение сывороточного уровня ВАFF у субъекта может составлять от около 5% до около 50%. В частности, снижение сывороточного уровня ВАFF у субъекта может составлять от около 5% до около 25%, например, снижение сывороточного уровня ВАFF у субъекта может составлять от около 10% до около 25%. Например, снижение сывороточного уровня ВАFF у субъекта может составлять от около 14% до около 23%.

Статистически значимое снижение уровня ВАFF в сыворотке крови, наблюдаемое после применения способа по изобретению, может быть связано со статистически значимым снижением уровня в сыворотке крови одного или нескольких биомаркеров, связанных с активацией и/или пролиферацией В-клеток, относительно исходного уровня одного или нескольких биомаркеров в сыворотке у субъекта до лечения. Снижение уровней одного или нескольких биомаркеров, связанных с активацией и/или пролиферацией В-клеток, в сыворотке крови будет указывать на благоприятный эффект при лечении заболеваний, при которых чрезмерная активность, избыток и/или чрезмерная пролиферация В-клеток связаны с патогенностью. Например, снижение сывороточного уровня биомаркера, производимого активной и/или пролиферирующей В-клеткой, может указывать на то, что активность/пролиферация В-клеток снижена и может быть индикатором благоприятного эффекта при лечении заболеваний, таких как IgAN, у которых чрезмерная активность, избыток и/или чрезмерная пролиферация В-клеток связана с патогенностью.

Один или более биомаркеров могут включать: трансмембранный активатор и интерактор САМЛ (ТАСІ) (также известный как член сверхсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 13В (TNFRSF13B)); антиген созревания В-клеток (BCMA) (также известен как член сверхсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 17 (TNFRSF17)); BAFF-R (также известный как член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 13С (TNFRSF13C)); CD27; CD30; хемокин 12 с мотивом С-Х-С (CXCL12); хемокин 13 с мотивом С-Х-С (CXCL13); лиганд 19 хемокина (С-С мотив) (CCL19); интерлейкин 2 (ИЛ-2); интерлейкин 6 (ИЛ-6); лиганд 3 хемокина (С-С мотив) (CCL3); лиганд 4 хемокина (С-С мотив) (CCL4); растворимый CD23 (sCD23); секреторный IgA; иммунные комплексы IgA-IgG; слабо О-галактозилированный IgA1; или их комбинации.

Под термином «биомаркер» (также известный как «биологический маркер») мы понимаем измеряемый показатель определенного биологического или патологического состояния. Часто биомаркеры являются природными биологическими молекулами, например белками, аминокислотами, антителами, нуклеиновыми кислотами (например, РНК или ДНК), нуклеотидами, липидами, углеводами/сахарами, первичными или вторичными метаболитами. Такие биомаркеры могут быть связаны с определенным патологическим или физиологическим процессом, заболеванием, фармакологической реакцией на лекарственное средство и могут использоваться для прогнозирования частоты и распространенности заболевания или для прогнозирования результатов заболевания и терапевтического вмешательства и т.д.

Снижение уровня биомаркера в сыворотке крови у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% относительно исходного уровня биомаркера в сыворотке у субъекта до лечения. Например, снижение уровня биомаркера в сыворотке крови может составлять от около 1% до около 90%, или от около 5 до около 70%, или от около 10 до около 50%.

Снижение уровня ТАСІ в сыворотке крови у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70% или 75% относительно исходного уровня ТАСІ в сыворотке у субъекта до лечения. Например, снижение сывороточного уровня ТАСІ у субъекта может составлять по меньшей мере около 5%. В частности, снижение сывороточного уровня ТАСІ у субъекта может составлять по меньшей мере около 11%.

Снижение сывороточного уровня ТАСІ у субъекта может составлять от около 1% до около 70%. Например, снижение сывороточного уровня ТАСІ у субъекта может составлять от около 5% до около 50%. В частности, снижение сывороточного уровня ТАСІ у субъекта может составлять от около 5% до около 20%, например, снижение сывороточного уровня ТАСІ у субъекта может составлять от около 10% до около 20%. Например, снижение сывороточного уровня ТАСІ у субъекта может составлять от около 11% до около 17%.

Снижение уровня ВСМА в сыворотке крови у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% относительно исходного уровня ВСМА в сыворотке у субъекта до лечения. Например, снижение сывороточного уровня ВСМА у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%. В частности, снижение сывороточного уровня ВСМА у субъекта может составлять по меньшей мере около 6%.

Дополнительно, снижение сывороточного уровня ВСМА у субъекта может составлять от около 1% до около 60%. Например, снижение сывороточного уровня ВСМА у субъекта может составлять от около 1% до около 20%. В частности, снижение сывороточного уровня ВСМА у субъекта может составлять от около 1% до около 10%, например, снижение сывороточного уровня ВСМА у субъекта может составлять от около 5% до около 10%. Например, снижение сывороточного уровня ВСМА у субъекта может составлять от около 6% до около 7%.

Снижение уровня ВАFF-R в сыворотке крови у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% относительно исходного уровня ВАFF-R в сыворотке у субъекта до лечения.

Снижение уровня CD27 в сыворотке крови у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% или 65% относительно исходного уровня CD27 в сыворотке у субъекта до лечения. Например, снижение сывороточного уровня CD27 у субъекта может составлять по меньшей мере около 5%. В частности, снижение сывороточного уровня CD27 у субъекта может составлять по меньшей мере около 10%, например снижение сывороточного уровня CD27 у субъекта может составлять по меньшей мере около 15%.

Снижение сывороточного уровня CD27 у субъекта может составлять от около 1% до около 60%. Например, снижение сывороточного уровня CD27 у субъекта может составлять

от около 1% до около 25%. В частности, снижение сывороточного уровня CD27 у субъекта может составлять от около 5% до около 25%, например, снижение сывороточного уровня CD27 у субъекта может составлять от около 10% до около 20%. Например, снижение сывороточного уровня CD27 у субъекта может составлять от около 15% до около 19%.

Снижение уровня CD30 в сыворотке крови у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% или 75% относительно исходного уровня CD30 в сыворотке у субъекта до лечения. Например, снижение сывороточного уровня CD30 у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%. В частности, снижение сывороточного уровня CD30 у субъекта может составлять по меньшей мере около 3%, например снижение сывороточного уровня CD30 у субъекта может составлять по меньшей мере около 5%.

Снижение сывороточного уровня CD30 у субъекта может составлять от около 1% до около 75%. Например, снижение сывороточного уровня CD30 у субъекта может составлять от около 1% до около 25%. В частности, снижение сывороточного уровня CD30 у субъекта может составлять от около 1% до около 10%, например, снижение сывороточного уровня CD30 у субъекта может составлять от около 5% до около 10%. Например, снижение сывороточного уровня CD30 у субъекта может составлять от около 5% до около 8%.

Снижение уровня секреторного IgA в сыворотке крови у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% или 75% относительно исходного уровня секреторного IgA в сыворотке у субъекта до лечения. Например, снижение сывороточного уровня секреторного IgA у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%. В частности, снижение сывороточного уровня секреторного IgA у субъекта может составлять по меньшей мере около 2%, например снижение сывороточного уровня секреторного IgA у субъекта может составлять по меньшей мере около 3%.

Снижение сывороточного уровня секреторного IgA у субъекта может составлять от около 1% до около 75%. Например, снижение сывороточного уровня секреторного IgA у субъекта может составлять от около 1% до около 25%. В частности, снижение сывороточного уровня секреторного IgA у субъекта может составлять от около 1% до около 10%, например, снижение сывороточного уровня секреторного IgA у субъекта может составлять от около 1% до около 5%. Например, снижение сывороточного уровня секреторного IgA у субъекта может составлять от около 1% до около 3%.

Снижение уровня секреторного иммунных комплексов IgA-IgG в сыворотке крови у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% или 75% относительно исходного уровня иммунных комплексов IgA-IgG в сыворотке у субъекта до лечения. Например, снижение сывороточного уровня иммунных комплексов IgA-IgG у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%. В частности, снижение сывороточного уровня иммунных комплексов IgA-IgG у субъекта может составлять по меньшей мере около 5%, например снижение сывороточного уровня иммунных комплексов IgA-IgG у субъекта может составлять по меньшей мере около 8%.

Снижение сывороточного уровня иммунных комплексов IgA-IgG у субъекта может составлять от около 1% до около 75%. Например, снижение сывороточного уровня иммунных комплексов IgA-IgG у субъекта может составлять от по меньшей мере около 1% до около 25%. В частности, снижение сывороточного уровня иммунных комплексов IgA-IgG у субъекта может составлять от около 1% до около 20%, например, снижение сывороточного уровня иммунных комплексов IgA-IgG у субъекта может составлять от около 2% до около 20%. Например, снижение сывороточного уровня иммунных комплексов IgA-IgG у субъекта может составлять от по меньшей мере около 2% до около 15%.

Снижение уровня слабо О-галактозилированного IgA1 в сыворотке крови у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% или 75% относительно исходного уровня слабо О-галактозилированного IgA1 в сыворотке у субъекта до лечения. Например, снижение сывороточного уровня слабо О-галактозилированного IgA1 у субъекта может составлять по меньшей мере около 1%. В частности, снижение сывороточного уровня слабо О-галактозилированного IgA1 у субъекта может составлять по меньшей мере около 5%, например снижение сывороточного уровня слабо О-галактозилированного IgA1 у субъекта может составлять по меньшей мере около 8%.

Снижение сывороточного уровня слабо О-галактозилированного IgA1 у субъекта может составлять от около 1% до около 75%. Например, снижение сывороточного уровня слабо О-галактозилированного IgA1 у субъекта может составлять от около 1% до около 25%. В частности, снижение сывороточного уровня слабо О-галактозилированного IgA1 у субъекта может составлять от около 1% до около 20%, например, снижение сывороточного уровня слабо О-галактозилированного IgA1 у субъекта может составлять от около 2% до

около 20%. Например, снижение сывороточного уровня слабо О-галактозилированного IgA1 у субъекта может составлять от около 2% до около 15%.

Вышеуказанное снижение биомаркеров связано со способом по изобретению, который требует, чтобы композиция, содержащая будесонид, демонстрировала определенный профиль высвобождения *in vitro* и была предназначена для лечения и/или способна лечить IgAN.

Поскольку мы обнаружили, что композиции, демонстрирующие профиль высвобождения *in vitro*, также демонстрируют должное снижение соответствующих биомаркеров, это указывает на то, что:

- будесонид высвобождается в участок желудочно-кишечного тракта, в котором преимущественно расположены пейеровые пятна (например, подвздошная кишка); и
- такие композиции, соответственно, способны безопасно и эффективно лечить IgAN при соответствующей дозе будесонида.

Композиции, содержащие будесонид

Композиции, которые можно применять в способе по изобретению, могут включать любую комбинацию будесонида и одного или более вспомогательных веществ, что обеспечивает желаемый профиль высвобождения *in vitro* во всех аспектах, как описано в данном документе. Это может быть комбинация покрытий с пролонгированным и/или отсроченным высвобождением, которые могут быть применены по разным рецептурным принципам, как описано далее в данном документе.

В любом случае мы предпочитаем, чтобы композиции содержали по меньшей мере одно покрытие с отсроченным высвобождением, предпочтительно расположенное на внешней стороне композиции, чтобы гарантировать, что активный ингредиент не высвобождается в желудке и/или до достижения тонкой кишки.

Таким образом, такое покрытие с отсроченным высвобождением может содержать так называемое «кишечнорастворимое покрытие», которое относится к материалу, обладающему гастрорезистентными свойствами, т.е. материал предотвращает растворение или дезинтеграцию в среде желудка, таким образом позволяя композиции проходить через желудок в подвздошный участок тонкой кишки.

Кишечнорастворимое покрытие может содержать азополимеры, дисульфидные полимеры, ацетат целлюлозы, сукцинат целлюлозы, ацетат-фталат целлюлозы, тетрагидрофталат-ацетат целлюлозы, поливинилацетатфталат, фталат гидроксипропилцеллюлозы, сополимеры метакриловой кислоты, сополимеры полиметакриловой кислоты/акриловой кислоты, сополимеры стирола и малеиновой

кислоты, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, акриловые смолы, тримелитат ацетата целлюлозы, тримелитат гидроксипропилметилцеллюлозы, шелак, фталат гидроксиэтилэтилцеллюлозы, ацетат-сукцинат карбоксиметилцеллюлозы и гидроксипропилметилцеллюлозы.

Конкретные вещества для кишечнорастворимого покрытия включают азополимеры, дисульфидные полимеры, ацетат целлюлозы, сукцинат целлюлозы, ацетат-фталат целлюлозы, тетрагидрофталат-ацетат целлюлозы, поливинилацетатфталат, фталат гидроксиэтилцеллюлозы, сополимеры метакриловой кислоты, сополимеры полиметакриловой кислоты/акриловой кислоты, сополимеры стирола и малеиновой кислоты, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, акриловые смолы, тримелитат ацетата целлюлозы, тримелитат гидроксипропилметилцеллюлозы, шелак, фталат гидроксиэтилэтилцеллюлозы, ацетат-сукцинат карбоксиметилцеллюлозы и гидроксипропилметилцеллюлозы.

Предпочтительные вещества для кишечнорастворимого покрытия включают поливинилацетатфталат и, в частности, сополимеры метакриловой кислоты.

Специалист в этой области поймет, что кишечнорастворимое покрытие может содержать другие обычно используемые материалы, такие как тальк (как пластификатор), дибутилсебацинат (как пластификатор) и смесь ГМПЦ и ПЭГ в качестве агентов подпокрытия.

Композиция может включать одно или более ядер, содержащих будесонид, которые инкапсулированы комбинацией вспомогательных веществ с отсроченным и пролонгированным высвобождением, чтобы в значительной степени предотвратить высвобождение содержания указанной композиции в дистальный отдел тонкой кишки (например, подвздошная кишка, например дистальный отдел подвздошной кишки). Такие композиции в дальнейшем называют «композициями ядро-оболочка по изобретению», которые охватывают «гранулы» и «инкапсулированные ядра».

Ядра, содержащие будесонид, могут быть помещены в капсулу. При использовании капсулы покрытие с отсроченным высвобождением (например, кишечнорастворимое покрытие) может быть на капсуле, а не непосредственно на ядрах.

Когда кишечнорастворимая оболочка находится на капсуле, такой как капсула размера 1, кишечнорастворимая оболочка может присутствовать в количестве от около 34 до около 46 мг на капсулу, например от около 34 до около 42 мг на капсулу, например от около 36 до около 40 мг на капсулу.

Для того чтобы в таких композициях ядро-оболочка по изобретению обеспечить высвобождение основной массы будесонида в дистальную область тонкой кишки

(например, подвздошную кишку, такую как дистальная подвздошная кишка), они могут быть (или могут дополнительно быть) отдельно покрыты полимерным покрытием пролонгированного действия.

Для того чтобы избежать сомнений, полимерное покрытие с пролонгированным высвобождением отличается от покрытия с отсроченным высвобождением.

Такое покрытие с пролонгированным высвобождением может обеспечивать значительное высвобождение основной массы будесонида по всей подвздошной кишке, а в комбинации с покрытием с отсроченным высвобождением (например, кишечнорастворимым покрытием) может дополнительно обеспечивать, чтобы такое высвобождение происходило в значительной степени и/или предпочтительно в подвздошной области тонкой кишки.

Термин «в значительной степени высвобождается в область подвздошной кишки» включает то, что по меньшей мере около 51%, например по меньшей мере около 60%, в частности по меньшей мере около 70% или по меньшей мере около 75%, например по меньшей мере около 80%, в частности по меньшей мере около 90% исходного содержания активного ингредиента в композиции высвобождается в эту область.

Специалист поймет, что любую фармацевтическую композицию следует принимать в соответствии с инструкциями по применению, и если ее принимать образом, отличающимся от информации о применении, желаемый эффект может не быть достигнут. В контексте настоящего изобретения предпочтительно, чтобы композицию принимали перорально минимум за час до еды, и лучше, чтобы композицию принимали перорально утром минимум за час до первого приема пищи за день.

Покрытие с пролонгированным высвобождением может включать фармацевтически приемлемую полимерную смесь, содержащую нерастворимый в воде полимер и порообразующий полимер, который наносится непосредственно на ядра, содержащие будесонид. Полученные ядра или композицию, содержащую множество ядер, можно затем инкапсулировать в покрытие с отсроченным высвобождением, при этом комбинация вспомогательных веществ в значительной степени предотвращает высвобождение содержания упомянутой композиции, пока не будет достигнут подвздошный отдел тонкой кишки.

При использовании в данном документе термин «нерастворимый в воде полимер» относится к полимеру, имеющему растворимость в водных растворителях, таких как вода, при около 25°C, менее чем около 0,1 мг мл⁻¹. Наличие водонерастворимого полимера позволяет контролировать скорость высвобождения будесонида в композиции.

Водонерастворимый полимер может быть алкилцеллюлозой или ее производным, например водонерастворимый полимер может быть этилцеллюлозой (или ее производным).

Под термином «алкилцеллюлоза или ее производное» мы имеем в виду химические соединения, полученные из целлюлозы, в которых протон по меньшей мере на некоторых гидроксигруппах целлюлозы заменен алкильной группой.

При использовании в данном документе термин «порообразующий полимер» относится к полимерам, имеющим более высокую растворимость в воде, чем водонерастворимый полимер, и, следовательно, способным растворять первые исходные поры в покрытии, таким образом позволяя определенному количеству воды проникать в ядро.

Следовательно, порообразующий полимер можно определить как «водорастворимый». Следовательно, порообразующий полимер имеет растворимость в водных растворителях, таких как вода, при 25°C, по меньшей мере, около 10 мг мл⁻¹.

Порообразующий полимер может иметь номинальную вязкость от около 1 до около 300 мПа*с, например, от около 1 до около 50 мПа*с, например, от около 1 до около 30 мПа*с, например, от около 1 до около 20 мПа*с, например, от около 2 до около 9 мПа*с, например, от около 2 до около 7 мПа*с, предпочтительно от около 2 до около 6 мПа*с. Номинальную вязкость порообразующего полимера можно измерить при 20°C в виде 2 мас.% раствора полимера в воде по стандарту Ph.Eur. 2.2.9, капиллярный вискозиметрический метод.

Дополнительно, порообразующий полимер может иметь температуру гелеобразования от около 35 до около 65°C, например от около 55 до около 65°C, например от около 58 до около 64°C.

Порообразующий полимер может содержать полимер, выбранный из списка, состоящего из полиэтиленгликоля (ПЭГ), гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ) и гидроксипропилцеллюлозы (ГПЦ). Предпочтительно, порообразующий полимер является гидроксипропилметилцеллюлозой.

Степень замещения ГПМЦ метоксигруппами может составлять от около 15 до около 35% мас., например от около 25 до около 35% мас. или от около 27 до около 31% мас., например, от около 27 до около 30% мас. Дополнительно, степень замещения ГПМЦ гидроксипропильными группами может составлять от около 4 до около 32% мас., например от около 4 до около 20% мас. или от около 5 до около 15% мас., например, от около 7 до около 12% мас.

Термин «степень замещения ГПМЦ» означает средний уровень замещения гидроксильных групп в целлюлозной цепи и выражается в этом документе в процентах, то есть процент гидроксильных групп, замещенных указанным фрагментом.

Водонерастворимый полимер может находиться в количестве от около 45% мас. до около 90% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением, а порообразующий полимер может присутствовать в количестве от около 35% мас. до около 5% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением. Следовательно, водонерастворимый полимер может находиться в количестве от около 45% мас. до около 65% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением, а порообразующий полимер может присутствовать в количестве от около 35% мас. до около 15% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением. Например, водонерастворимый полимер может находиться в количестве от около 47% мас. до около 56% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением, а порообразующий полимер может присутствовать в количестве от около 32% мас. до около 22% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением.

Фармацевтически приемлемая полимерная смесь покрытия с пролонгированным высвобождением может содержать жирную кислоту в количестве около 2% мас. до около 8% мас., например, от около 3% мас. до около 7% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением.

Жирная кислота может быть ненасыщенной жирной кислотой, например C₄-C₂₈ ненасыщенной жирной кислотой, такой как C₁₃-C₂₂ ненасыщенная жирная кислота. Например, ненасыщенная жирная кислота может быть выбрана из группы, состоящей из миристолеиновой кислоты, пальмитолеиновой кислоты, сапиеновой кислоты, олеиновой кислоты, элаиновой кислоты, вакценовой кислоты и эруковой кислоты. Предпочтительно, ненасыщенная жирная кислота является олеиновой кислотой.

Фармацевтически приемлемая полимерная смесь покрытия с пролонгированным высвобождением может содержать триглицерид со средней цепью в количестве от около 3% мас. до около 12% мас., например от около 5% мас. до около 12% мас., например, от около 5 до около 8% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением.

Под термином «триглицериды со средней цепью» подразумевают триглицериды, имеющие алифатический хвост из от 6 до 12 атомов углерода. Например, триглицерид со средней цепью может быть выбран из списка, состоящего из капроновой кислоты, каприловой кислоты, каприновой кислоты и лауриновой кислоты.

Фармацевтически приемлемая полимерная смесь покрытия с пролонгированным высвобождением может содержать дополнительный водорастворимый полимер в количестве около 1% мас. до около 5% мас., например, от около 2% мас. до около 3% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением. Для того чтобы избежать сомнений, дополнительный водорастворимый полимер отличается от порообразующего полимера. Предпочтительно, дополнительным водорастворимым полимером является поли(этиленгликоль), имеющий молекулярную массу в диапазоне от около 200 до около 1000 г/моль.

Полимерная смесь, покрывающая одно или более ядер, может быть способна к коалесценции. Под термином «способный к коалесценции», когда речь идет о полимерной смеси с пролонгированным высвобождением, понимают полимеры смеси с пролонгированным высвобождением, которые способны смешиваться с образованием единого полимерного фазового покрытия.

Следовательно, полимерная смесь с пролонгированным высвобождением, покрывающая одно или более ядер, может содержать один или более полимеров, способных к коалесценции. Один или более полимеров, способных к коалесценции, могут содержать нерастворимый в воде полимер.

Полимерная смесь с пролонгированным высвобождением может присутствовать в количестве от около 5 до около 18% мас. от общего количества гранулы/ядра, например, от около 6 до около 16% мас. от общего количества гранулы/ядра, например, от около 6 до около 13% мас., например, от около 6 до около 12% мас. от общего количества гранулы/ядра.

Было обнаружено, что в полимерной смеси покрытие с пролонгированным высвобождением сначала растворяется порообразующий полимер, перед водонерастворимым полимером, в водном растворе, оставляя поры в покрытии, таким образом позволяя определенному количеству воды проникать в ядро в контролируемом режиме.

Ядра могут иметь средний размер в диапазоне от около 0,5 до около 3 мм, например от около 0,5 до около 2 мм, например, от около 0,8 до около 1,5 мм.

Композиции ядро-оболочка по изобретению могут быть изготовлены с помощью процесса, включающего:

(a) обеспечение одного или более ядер, содержащих будесонид;

(b) при этом одно или более ядер отдельно покрыто фармацевтически приемлемой полимерной смесью с пролонгированным

высвобождением, содержащей нерастворимый в воде полимер в количестве от около 45% мас. до около 90% мас. и порообразующий полимер в количестве от около 35% мас. до около 5% мас.; и

композиция инкапсулирована внутри покрытия с отсроченным высвобождением, таким образом, чтобы в значительной степени предотвратить высвобождение содержимого указанной композиции, пока не будет достигнута подвздошная область тонкой кишки.

Композиции ядро-оболочка вышеописанного процесса могут содержать какие-либо признаки, описанные выше относительно способа по изобретению.

Ядра могут быть изготовлены путем обеспечения инертных (например, сахарных) гранул и покрытия их водной суспензией будесонида. Инертные гранулы могут иметь размер от около 1 до около 2 мм, например от около 1 до около 1,5 мм, например, от около 1 до около 1,2 мм.

Как упоминается в данном документе, термин «инертная гранула» включает одну фармацевтически инертную гранулу, являющуюся исходным материалом для приготовления композиций ядро-оболочка по изобретению.

Инертная гранула в основном является коммерчески доступной сахарной сферой (часто ее называют нонпарель). Сахарные сферы предпочтительно содержат сахарозу с меньшим количеством других добавленных материалов, таких как крахмал. Поставщики сахарных сфер включают Paulaur Corporation (США), Chr. Hansen (Дания), NP Pharm (Франция), Emilio Castelli (Италия) и JRS Pharma (Германия).

Перед добавлением полимерной смеси с пролонгированным высвобождением ядра могут быть покрыты герметизирующим покрытием, содержащим стабилизированный и водорастворимый полимер. Стабилизатором может быть кислота, при этом кислота предпочтительно представляет собой лимонную кислоту, а растворимый полимер является тем же полимером, который используется как порообразующий полимер в полимерной смеси. Альтернативные стабилизаторы для включения в герметизирующее покрытие включают поли(винилпирролидон) (ПВП), причем растворимый полимер является тем же полимером, который используется как порообразующий полимер в полимерной смеси.

Полимерную смесь с пролонгированным высвобождением можно наносить на ядра в виде водной полимерной суспензии и распылять суспензию на ядра. Водная полимерная смесь может быть распылена на ядра при температуре от около 30°C до около 65°C, например, от около 30°C до около 50°C.

При распылении при температуре до верхнего края этой области, такой как от около 50 до около 65°C, можно избежать необходимости в отдельной стадии отверждения/коалесценции, как описано ниже.

Композиции ядро-оболочка по изобретению можно получить путем нанесения покрытия на ядра в приборе с псевдооживленным слоем, как определено выше. Следовательно, покрытие полимерной смесью с пролонгированным высвобождением может производиться в приборе с псевдооживленным слоем. Подходящие приборы с псевдооживленным слоем легко доступны от таких поставщиков, как Glatt GmbH.

После покрытия полимерной смесью полимеры могут коалесцировать, причем коалесценция может быть осуществлена путем отверждения.

Отверждение можно проводить при температуре от около 55°C до около 75°C, например от около 60°C до около 70°C, например от около 63°C до около 66°C. Кроме того, отверждение можно проводить в течение от около 1 до около 10 часов, например, от около 1 до около 5 часов, например, от около 2 до около 4 часов.

Было обнаружено, что смесь полимерных покрытий с пролонгированным высвобождением позволила экономно подготовить сердцевины будесонида с использованием прибора с псевдооживленным слоем и получить композиции с желаемыми профилями высвобождения.

Следовательно, кроме того, отверждение композиций ядро-оболочка по изобретению можно проводить в приборе с псевдооживленным слоем.

Согласно дополнительному аспекту изобретения предложена композиция, которая обеспечивает желаемый профиль высвобождения *in vitro* во всех аспектах, как описано в данном документе, содержащая большое количество гранул, содержащих:

(a) ядра, содержащие будесонид, в которых будесонид присутствует в виде покрытия на одном из более инертных субстратов ядра (например, сахарные шарики), как описано в данном документе;

(b) покрытие с пролонгированным высвобождением, нанесенное на указанные ядра, содержащие будесонид, в количестве от около 6 до около 12% мас. от общей массы гранулы, и такое покрытие содержит объединенную смесь по меньшей мере двух полимеров (i) и (ii):

(i) любой из водонерастворимых полимеров, описанных в данном документе (например, этилцеллюлоза), и

(ii) любой из описанных в этом документе порообразующих полимеров (например, гидроксипропилметилцеллюлоза со степенью замещения метоксигруппами от около 27 до около 30% мас. и/или степенью замещения гидроксипропильными группами от около 7 до около 12% мас.), причем смесь полимеров (i) и (ii) находится в любой из пропорций, упомянутых выше в данном документе (например, нерастворимый в воде полимер

(i) в количестве от около 47% мас. до около 56% мас., и порообразующий полимер (ii) в количестве от около 32% мас. до около 22% мас., каждого от общего покрытия с пролонгированным высвобождением),

при этом гранулы затем помещают в капсулу, покрытую покрытием с отсроченным высвобождением (например, любым из кишечнорастворимых покрытий, описанных в данном документе, таким как поливинилацетатфталат или, в частности, сополимеры метакриловой кислоты).

Вышеуказанная композиция может содержать один или более других предпочтительных признаков, описанных в отношении композиций ядро-оболочка и/или гранул, как описано в данном документе, например:

- любую из жирных кислот, описанных в данном документе, например в количестве от около 3% мас. до около 7% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением;
- любой из триглицеридов со средней цепью, описанных в данном документе, например, в количестве от около 5 до около 8% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением;
- один или более дополнительных водорастворимых полимеров, таких как поли(этиленгликоль), имеющие молекулярную массу в диапазоне от около 200 до около 1000 г/моль, в количестве от 2% мас. до около 3% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением.

Вышеуказанная композиция также может включать раствор подходящей кислоты (например, лимонной кислоты), являющейся герметизирующим покрытием, расположенным между ядрами, содержащими будесонид, и покрытием с пролонгированным высвобождением.

Каждая капсула может содержать около 4 мг будесонида, и при введении пациенту в общей сложности около 16 мг может быть доставлено перорально путем приема пациентом четырех капсул.

Объединенную смесь по меньшей мере двух полимеров (i) и (ii), получаемую перед помещением покрытых гранул в капсулу, предпочтительно получают путем нанесения покрытия на ядра, содержащие будесонид, в приборе с псевдооживленным слоем путем применения водной дисперсии, содержащей полимеры (i) и (ii), как определено выше, при температуре, находящейся между около 30°C и около 65°C, например, от около 30°C до около 50°C, в частности, от около 50 до около 65°C, а затем, если необходимо, дальнейшее объединение нанесенного таким образом полимерного покрытия с пролонгированным высвобождением в приборе с псевдооживленным слоем путем применения температуры от

около 60°C до около 70°C (например, от около 63°C до около 66°C) в течение соответствующего времени (например, от около 2 до около 4 часов), чтобы оно затвердело.

В качестве альтернативы полимерную смесь можно распылять как органический раствор. В этом варианте осуществления нет необходимости проводить дальнейшую стадию отверждения.

Как упоминалось выше, ядро(а), покрытое вышеупомянутой полимерной смесью с пролонгированным высвобождением, может быть загружено в капсулу, и капсула может быть покрыта упомянутым покрытием с отсроченным высвобождением.

Несмотря на их изготовление, композиции, которые можно использовать в способах по изобретению, могут быть полезны для лечения IgAN, поскольку они соответствуют характеристикам высвобождения *in vitro*, определенным выше.

Соответственно, дополнительно предложено:

- любую из композиций, как определено в данном документе, для применения в лечении IgAN;
- применение любой одной из композиций, как определено в данном документе, для производства лекарственного средства для лечения IgAN; и
- способ лечения IgAN, включающий введение любой из композиций, как определено в данном документе, пациенту, нуждающемуся в таком лечении.

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложена композиция ядро-оболочка по изобретению, как описано выше.

В качестве альтернативы композиции ядро-оболочка, композиция может включать таблетку, содержащую будесонид, при этом таблетка инкапсулирована в одно или более вспомогательных веществ, которые в значительной степени предотвращают высвобождение содержания указанной композиции до достижения подвздошной области тонкой кишки. Такие композиции в дальнейшем называют в данном документе «инкапсулированными таблетированными композициями по изобретению».

Одно или более вспомогательных веществ, инкапсулирующих таблетку, чтобы в значительной степени предотвратить высвобождение содержания указанной композиции до достижения подвздошной области тонкой кишки, может быть кишечнорастворимым покрытием, как определено выше.

Кишечнорастворимое покрытие в таблетированной композиции может присутствовать в количестве от около 5% мас. до около 15% мас., например, от около 7% мас. до около 13% мас., например, от около 8% мас. до около 12% мас. от общей массы таблеток.

Таблетированные композиции по изобретению могут содержать влажный гранулят будесонида вместе с наполнителем. Необязательно, наполнитель содержит дикальция фосфат, микрокристаллическую целлюлозу, маннит или их смесь.

Наполнитель может присутствовать в количестве от около 50% мас. до около 80% мас., например, от около 60% мас. до около 75% мас., например, от около 65% мас. до около 75% мас. от общей массы таблеток.

Таблетированные композиции по изобретению могут быть спрессованными таблетками, дополнительно содержащими смазочное вещество, необязательно при этом смазочное вещество представляет собой стеарат магния, стеарат алюминия, стеарат кальция, стеарат натрия, стеарат цинка, стеариновую кислоту, декановую кислоту, додекановую кислоту, стеарилфумарат натрия или их смесь.

Смазочное вещество может присутствовать в количестве от около 0,1% мас. до около 2% мас., например, от около 0,1% мас. до около 1% мас. от общей массы таблеток.

Таблетированные композиции по изобретению могут дополнительно содержать разрыхляющее вещество, необязательно, при этом разрыхляющее вещество выбрано из кросповидона, кроскармелозы натрия или гликолята крахмала натрия. Альтернативно, таблетка может не содержать разрыхляющее вещество.

Разрыхляющее вещество может присутствовать в количестве от около 0,5% мас. до около 5% мас., например, от около 0,5% мас. до около 4% мас., например, от около 0,8% мас. до около 3,5% мас. от общей массы таблетки.

Таблетированные композиции по изобретению могут дополнительно содержать связующее, необязательно при этом связующее выбирают из гидроксипропилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, коповедона или их смесей.

Связывающее вещество может присутствовать в количестве от около 5% мас. до около 10% мас., например, от около 6% мас. до около 9% мас., например, от около 7% мас. до около 9% мас. от общей массы таблетки.

Такие таблетированные композиции по изобретению могут быть таблетками с гелеобразующей матрицей, дополнительно содержащими материал гелеобразующей матрицы, такой как ГПМЦ с низкой молекулярной массой (например, гипромелоза).

Гелеобразующий матричный материал может присутствовать в количестве от около 10 до около 25% мас., например от около 10 до около 20% мас., например, от около 15 до около 20% мас. от общей массы таблетки.

Гелеобразующий матричный материал может быть разбавлен водорастворимым наполнителем, при этом водорастворимый наполнитель может содержать лактозу, декстрозу, маннит и их комбинации.

Таблетка может содержать кишечнорастворимую оболочку, содержащую любой из материалов, как указано выше. Кишечнорастворимое покрытие может присутствовать в количестве от около 5 до около 15% мас. от общей массы таблетки, например от около 8 до около 12% мас. от общего количества таблетки.

Каждая таблетка может содержать от около 2 до около 20 мг будесонида, например, от около 4 до около 16 мг будесонида. Предпочтительно, каждая таблетка содержит около 4 мг будесонида.

Композиции, охарактеризованные способом изобретения (во всех аспектах), являются полезными, поскольку они являются более эффективными средствами лечения IgAN. Такие композиции, фармацевтические препараты, применение и способы, описанные в данном документе, также могут иметь преимущество в том, что при лечении IgAN они могут быть более удобными для врача и/или пациента, быть более эффективными, быть менее токсичными, иметь более широкий диапазон действия, быть более мощным, вызывать меньше побочных эффектов, иметь меньшую вариабельность между пациентами или иметь другие полезные фармакологические свойства по сравнению с подобными рецептурами или методами (лечениями), известными в предыдущем уровне техники, независимо от того, предназначены для применения при лечении IgAN или иным образом.

Везде, где слово «близко» используется в этом документе в контексте количеств, например абсолютных количеств, таких как массы, объемы, размеры, диаметры и т.п., или относительных количеств (например, проценты) отдельных компонентов в композиции или компоненте композиции (включая концентрации и соотношения), временных границ и параметров, таких как температуры и т.п., следует понимать, что такие переменные являются приблизительными и, как таковые, могут изменяться на $\pm 10\%$, например $\pm 5\%$ и предпочтительно $\pm 2\%$ (например, $\pm 1\%$) от фактических чисел, указанных в данном документе. Это так, даже если такие числа первоначально представлены в процентах (например, «около 10%» может означать $\pm 10\%$ по отношению к числу 10, то есть любое между 9% и 11%).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фиг. 1 представляет собой блок-схему, подробно описывающую приготовление гранул с затвердевшим полимерным покрытием.

Фиг. 2 иллюстрирует профили растворения *in vitro* капсул с модифицированным высвобождением будесонида в присутствии добавленного поверхностно-активного вещества в буферной среде при уровне pH 6,8 при скорости вращения лопасти 100 об/мин; данные, приведенные для разных серий капсул, изготовленных согласно изобретению.

Фиг. 3 является повторением профиля растворения *in vitro*, показанного на Фиг. 2, сосредотачиваясь только на растворении при уровне pH 6,8.

Фиг. 4: относительно показан профиль растворения *in vitro* для семи отдельных партий капсул с модифицированным высвобождением будесонида в соответствии с данным изобретением с растворением в буферной среде с уровнем pH 6,8 при отсутствии поверхностно-активного вещества и со скоростью вращения лопасти 50 об/мин.

Фиг. 5: иллюстрирует профили растворения *in vitro* капсул с модифицированным высвобождением будесонида согласно данному изобретению вместе с тремя другими имеющимися в продаже препаратами, содержащими будесонид, в буферной среде с уровнем pH 6,8 в присутствии добавленного поверхностно-активного вещества и при скорости вращения лопасти 100 об/мин.

Фиг. 6: иллюстрирует профили растворения *in vitro* капсул с модифицированным высвобождением будесонида согласно данному изобретению и трех других имеющихся в продаже препаратов, содержащих будесонид, в буферной среде с уровнем pH 6,8 в отсутствие добавленного поверхностно-активного вещества и при скорости вращения лопасти 100 об/мин.

Фиг. 7: Изменение в процентах уровня ВАФФ относительно исходного уровня после лечения. Изменения в процентах ВАФФ по отношению к исходным уровням измеряли у пациентов после 9 месяцев лечения: (а) плацебо; (b) нефекон-будесонид (8 мг/сутки); и (с) нефекон-будесонид (16 мг/сутки). Пунктирная линия указывает на отсутствие изменений в процентах после применения плацебо или нефекона-будесонида.

Фиг. 8: Изменение в процентах от уровня ВАФФ относительно уровня окончания лечения после фазы наблюдения. Изменения в процентах ВАФФ измеряли у пациентов, получавших нефекон-будесонид (16 мг/сутки) в течение 9 месяцев через: (а) 9 месяцев в конце фазы лечения по сравнению с исходным уровнем; и (b) 12 месяцев после начала фазы наблюдения по сравнению с окончанием лечения. Пунктирная линия указывает на отсутствие изменений в процентах после применения плацебо или нефекона-будесонида.

Фиг. 9: Изменение в процентах уровня АРПIL относительно исходного уровня после лечения. Изменения в процентах уровней АРПIL по отношению к исходным уровням измеряли у пациентов после 9 месяцев лечения: (а) плацебо; (b) нефекон-будесонид (8 мг/сутки); и (с) нефекон-будесонид (16 мг/сутки). Пунктирная линия указывает на отсутствие изменений в процентах после применения плацебо или нефекона-будесонида.

Фиг. 10: Изменение в процентах уровня ТАСI относительно исходного уровня после лечения. Изменения в процентах уровней ТАСI по отношению к исходным уровням измеряли у пациентов после 9 месяцев лечения: (а) плацебо; (b) нефекон-будесонид (8

мг/сутки); и (с) нефекон-будесонид (16 мг/сутки). Пунктирная линия указывает на отсутствие изменений в процентах после применения плацебо или нефекона-будесонида.

Фиг. 11: Изменение в процентах уровня ВСМА относительно исходного уровня после лечения. Изменения в процентах уровней ВСМА по отношению к исходным уровням измеряли у пациентов после 9 месяцев лечения: (а) плацебо; (b) нефекон-будесонид (8 мг/сутки); и (с) нефекон-будесонид (16 мг/сутки). Пунктирная линия указывает на отсутствие изменений в процентах после применения плацебо или нефекона-будесонида.

Фиг. 12: Изменение в процентах уровня CD27 относительно исходного уровня после лечения. Изменения в процентах уровней CD27 по отношению к исходным уровням измеряли у пациентов после 9 месяцев лечения: (а) плацебо; (b) нефекон-будесонид (8 мг/сутки); и (с) нефекон-будесонид (16 мг/сутки). Пунктирная линия указывает на отсутствие изменений в процентах после применения плацебо или нефекона-будесонида.

Фиг. 13: Изменение в процентах от уровня CD27 относительно уровня окончания лечения после фазы наблюдения. Изменения в процентах CD27 измеряли у пациентов, получавших нефекон-будесонид (16 мг/сутки) в течение 9 месяцев через: (а) 9 месяцев в конце фазы лечения по сравнению с исходным уровнем; и (b) 12 месяцев после фазы наблюдения по сравнению с окончанием лечения. Пунктирная линия указывает на отсутствие % изменений после применения плацебо или нефекона-будесонида.

Фиг. 14: Изменение в процентах уровня CD30 относительно исходного уровня после лечения. Изменения в процентах уровней CD30 по отношению к исходным уровням измеряли у пациентов после 9 месяцев лечения: (а) плацебо; (b) нефекон-будесонид (8 мг/сутки); и (с) нефекон-будесонид (16 мг/сутки). Пунктирная линия указывает на отсутствие изменений в процентах после применения плацебо или нефекона-будесонида.

Фиг. 15: иллюстрирует, что наблюдалось значительное ($p < 0,05$) зависимое от дозы будесонида в капсуле снижение уровней секреторного IgA в сыворотке крови. В то же время сывороточные уровни IgA не изменились.

Фиг. 16: иллюстрирует, что наблюдалось значительное ($p < 0,05$) зависимое от дозы будесонида в капсуле снижение уровней иммунных комплексов IgA-IgG в сыворотке крови.

Фиг. 17: иллюстрирует, что наблюдалось значительное ($p < 0,05$) зависимое от дозы будесонида в капсуле снижение уровней слабо О-галактизилированного IgA1.

Фиг. 18: иллюстрирует, что не наблюдалось различий в общих уровнях IgA, IgA1 и IgG при лечении капсулами будесонида.

Фиг. 19: иллюстрирует профиль растворения *in vitro* капсул будесонида с модифицированным высвобождением в присутствии добавленного поверхностно-

активного вещества в моделируемой кишечной жидкости уровня 1 натошак при уровне рН около 6,5.

Фиг. 20: иллюстрирует профиль растворения *in vitro* капсул будесонида с модифицированным высвобождением в FaSSiF в присутствии добавленного поверхностно-активного вещества в моделированной кишечной жидкости уровня 1 натошак при уровне рН около 6,5 по сравнению с тремя другими имеющимися на рынке препаратами, содержащими будесонид.

Фиг. 21: иллюстрирует профили растворения *in vitro* композиций гранул «ядро-оболочка», содержащих будесонид, при отсутствии капсулы с кишечнорастворимым покрытием.

Фиг. 22: иллюстрирует профиль растворения *in vitro* капсул будесонида с модифицированным высвобождением в FaSSiF в отсутствие добавленного поверхностно-активного вещества в моделированной кишечной жидкости уровня 1 натошак при уровне рН около 6,5 по сравнению с тремя другими имеющимися на рынке препаратами, содержащими будесонид.

Фиг. 23: (a) иллюстрирует результаты модели РВРК на основе растворения капсул с модифицированным высвобождением; (b) иллюстрирует результаты модели РВРК на основе растворения сравнительного продукта Entocort®.

Фиг. 24: МРТ-изображение коры головного мозга T2*/T1-взвешенных TRUF1 с обнаружением капсул, наполненных оксидом железа, через 15 и 90 минут, а также дисперсии оксида железа в подвздошной кишке через 270 минут.

Примеры

Пример 1: Изготовление композиций ядро-оболочка

Oradry OY-7240, как указано ниже, представляет собой смесь сухих порошковых полимеров, содержащую такие компоненты:

%мас./мас.	Ингредиенты/фармакопейная ссылка	Класс/Стойкость красителя	Е-номер	Ссылка CFR
90,910	ГПМЦ 2910/Гипромеллоза (USP, Ph.Eur., JP, FCC)	5 мПас	E464	172,874
9,090	Макрогол/ПЕГ (NF, FCC, Ph.Eur., JECFA, JP)	MW 400	E1521	172,820

Surelease представляет собой полимерную дисперсию, содержащую такие компоненты:

Тест	Минимум	Максимум
Олеиновая кислота, %	1,6	2,2
Этилцеллюлоза, %	17,0	20,0
Отношение олеиновой кислоты к этилцеллюлозе	0,00	0,14
Среднецепочечные триглицериды, %	0,80	4,00
Отношение МСТ к этилцеллюлозе	0,00	0,24
Глицерин, %	0,0	0,6
Твердые вещества, %	23,0	26,0
Ph	9,5	11,5
Вязкость по Брукфилду, сПз	400,00	1500,00

Для того чтобы избежать сомнений, минимальные и максимальные значения в таблице выше касаются минимального и максимального количества этих компонентов в разных партиях Surelease.

Блок-схема, подробно описывающая приготовление гранул будесонида в соответствии с композицией «ядро-оболочка» по изобретению, приведена на Фиг. 1 и объясняется более подробно ниже.

Суспензию будесонидного покрытия готовили путем растворения Opadry OY-7240 Clear (2,29 кг) в очищенной воде (26,5 кг), а затем добавления микронизированного будесонида (0,640 кг) к раствору при непрерывном перемешивании.

Сахарные сферы (40,3 кг) с размером от 16 до 18 меш загружали в предварительно нагретую чашу для продукта для нанесения покрытия в псевдооживленном слое. Когда температура продукта достигла целевой 45°C, суспензию активного покрытия распыляли на сахарные сферы/инертное ядро. За процедурой наблюдали и контролировали с помощью технологического компьютера. После завершения распыления необходимого количества суспензии активного покрытия гранулы с активным покрытием высушивали и охлаждали.

Раствор для герметизирующего покрытия готовили путем растворения моногидрата лимонной кислоты (0,093 кг) и Opadry OY-7240 Clear (2,26 кг) в очищенной воде (21,8 кг) при непрерывном перемешивании.

Раствор герметизирующего покрытия наносили на предварительно нагретые гранулы с активным покрытием. За процедурой наблюдали и контролировали с помощью технологического компьютера. Нанесение покрытия прекращали, когда необходимое

количество раствора было распылено, и гранулы с герметизирующим покрытием высушивали и охлаждали. Псевдооживленный слой опустошили, и гранулы просеяли с помощью сит размером 1,4 мм (14 меш) и 0,5 мм (35 меш), чтобы удалить какие-либо слишком большие и маленькие частицы. Гранулы взвешивали и рассчитывали выход принятой фракции.

Раствор для покрытия с пролонгированным высвобождением готовили путем добавления Opadry OY-7240 (1,37 кг) в очищенную воду (16,3 кг) при непрерывном перемешивании. Дисперсию суспензии этилцеллюлозы типа В (Surelease, 12,8 кг) добавляли к раствору Opadry при постоянном перемешивании.

Принятую фракцию гранул с герметизирующим покрытием загружали в предварительно нагретую чашу для продукта для нанесения покрытия в псевдооживленном слое с колонками Wurster. Когда температура продукта достигла целевой температуры, на гранулы наносили суспензию полимерного покрытия с пролонгированным высвобождением. За процедурой наблюдали и контролировали с помощью технологического компьютера. Распыленное количество рассчитывали по количеству принятой фракции гранул с герметизирующим покрытием из предыдущей стадии.

Полученная полимерная смесь покрытия с пролонгированным высвобождением на гранулах содержала около 27,3% мас. ГПМЦ от общей смеси и около 51,8 мас.% этилцеллюлозы от общей смеси. Этилцеллюлоза является водонерастворимым полимером, как определено выше, и ГПМЦ действует как порообразующий полимер.

После завершения распыления гранулы высушивали и охлаждали. Псевдооживленный слой опустошали, и гранулы просеивали с помощью сит размером 1,4 мм (14 меш) и 0,5 мм (35 меш), чтобы удалить какие-либо слишком большие и маленькие частицы. Гранулы взвешивали и рассчитывали выход принятой фракции.

Принятую фракцию гранул с полимерным покрытием загружали в предварительно нагретую сушильную чашу оборудования для нанесения покрытия в псевдооживленном слое. Гранулы затвердевали при целевой температуре 65°C в течение 3 часов. За процедурой наблюдали и контролировали с помощью технологического компьютера. Псевдооживленный слой опорожняли, и отбирали образец затвердевших гранул для анализа и тестирования на растворение. Затвердевшие гранулы взвешивали и рассчитывали выход. Гранулы засыпали в бункер из нержавеющей стали.

Затем затвердевшими гранулами заполняли капсулы размером 1 с помощью автоматического инкапсулятора, а затем капсулы покрывали кишечнорастворимым покрытием. Кишечнорастворимое покрытие используемых капсул представляло собой смесь сополимеров метакриловой кислоты и метилметакрилата 1:1 и 1:2. Количество

кишечнорастворимого покрытия, нанесенного на каждую капсулу, находилось в диапазоне от около 34 до около 42 мг на капсулу. Общее количество будесонида в каждой капсуле составляло около 4 мг.

Пример 2: Общий процесс для стандартного теста на растворение *in vitro* согласно USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3 в присутствии поверхностно-активного вещества на стадии буфера и при скорости вращения мешалки 100 об/мин

Растворение *in vitro* инкапсулированных гранул будесонида ядро-оболочка Примера 1 анализировали, как описано в Ph.Eur. 2.9.3 Тест на растворение для твердых лекарственных форм (с использованием устройства 2) и как описано в USP <711> Растворение (с использованием устройства 2). Измерения производили, как описано ниже.

Конфигурация устройства для растворения

Устройство:	USP <711>/Ph. Eur. 2.9.3, Устройство 2
Размер/тип сосуда	1000 мл / прозрачное стекло, круглодонный
Скорость вращения	100 об/мин
Объем среды:	900 мл – устойчивость к кислоте 900 мл – профиль растворения в буфере
Температура проведения исследования:	37,0 ± 0,5 °C
Объем пробы:	15 мл
Замещение:	Нет
Отброшенный объем:	5 мл
Момент времени пробоотбора:	Стадия устойчивости к кислоте: 2 часа Буферная стадия: Указанные моменты времени 0,5 и 2 часа

Высвобождение будесонида измеряли с помощью ультраэффективной жидкостной хроматографии (UPLC).

Реагенты и стандарты

Стандарты и эталонные материалы:

Будесонид, Ph. Eur. CSR или подходящий вторичный стандарт.

Другие реагенты:

Твин 80, (полиоксиэтилен (20), полисорбат (80), Fisher Scientific или эквивалент.

Среда для растворения и разбавители

Стадия устойчивости к кислоте

0,1 н. раствор HCl. Для того чтобы приготовить 6 л кислотостойкой среды, 50 мл концентрированной HCl объединяли с 6000 мл воды и полученный раствор тщательно перемешивали.

0,2 М буферный раствор трехосновного фосфата натрия

Для приготовления 1 л 0,2 М буферного раствора трехосновного фосфата натрия добавляли около 76,02 г трехосновного фосфата натрия и растворяли в 1000 мл воды с последующим перемешиванием.

Буферная среда для растворения: 50 мМ буфер фосфата натрия, рН 6,8, с Твин 80.

Для того чтобы получить 6 л буферной среды для растворения, 4500 мл кислотостойкой среды объединили с 1500 мл 0,2 М буферного раствора трехосновного фосфата натрия и 3 г Твин 80 с последующим перемешиванием. Проверяли уровень рН и при необходимости доводили уровень рН до $6,8 \pm 0,05$ с помощью хлороводородной кислоты или гидроксида натрия.

Аналитическая процедура

Стадия устойчивости к кислоте

Примечание: Следует соблюдать осторожность, чтобы не поцарапать и не повредить капсулы, помещая их в грузило.

900 мл предварительно нагретой дегазированной кислотостойкой среды помещали в каждый из 6 сосудов для растворения. Среду выдерживали при температуре $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Устройство работало в соответствии с USP<711>/фармакопейный тест № 2.9.3 Метод устройства с вращающимися лопастями при 100 об/мин.

Затем по 6 капсул помещали в отдельные спиральные грузила, а затем в отдельные сосуды.

Через 2 часа аликвоту 15 мл раствора для определения кислотостойкости отбирали с помощью шприца.

Испытуемый раствор фильтровали с помощью Whatman GF/F с фильтром GMF, при этом первые 5 мл отбрасывали, а оставшийся раствор собирали в пробирку.

Нижеследующие две стадии были выполнены после того, как была начата буферная стадия растворения.

5,0 мл отфильтрованного раствора образца для определения кислотостойкости вносили пипеткой в мерную колбу на 10 мл и разбавляли до объема ацетонитрилом.

Раствор хорошо перемешивали и аликвоту переносили во флакон для HPLC и анализировали.

Высвобождение будесонида на стадии определения кислотостойкости оценивали на основе критериев приемлемости в USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Процедура растворения на буферной стадии

После того, как образцы для определения кислотостойкости были отобраны, использовали щипцы, чтобы переместить каждую спираль, содержащую капсулу будесонида, в другой набор сосудов для растворения, содержащих 900 мл буферной среды для растворения при температуре $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Устройство работало в соответствии с USP<711>/фармакопейный тест № 2.9.3. Метод устройства с вращающимися лопастями при 100 об/мин.

Выбор определенного момента времени: Через 0,5 и 2 ч аликвоту 15- мл раствора для растворения отбирали с помощью шприца. Отобранную жидкость не заменяли.

Испытуемый раствор фильтровали с помощью Whatman GF/F с фильтром GMF, при этом первые 5 мл отбрасывали, а оставшийся раствор собирали в пробирку.

5,0 мл отфильтрованного раствора образца растворения вносили пипеткой в мерную колбу на 10 мл и разбавляли до объема ацетонитрилом.

Раствор хорошо перемешивали и аликвоту переносили во флакон для ВЭЖХ.

Высвобождение будесонида на буферной стадии оценивали на основе критериев приемлемости в USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Пример 3: Анализ профиля растворения *in vitro* в соответствии с USP<711>/фармакопейного теста № 2.9.3 при наличии поверхностно-активного вещества в буферной стадии и при скорости вращения лопасти 100 об/мин

Капсулы, приготовленные в примере 1 («капсулы будесонида» или «нефекон будесонид»), тестировали в условиях растворения, описанных в Примере 2.

Общий профиль растворения для трех отдельных партий можно увидеть на Фиг. 2, где время от 0 до 2 часов соответствует кислотному уровню pH (pH 1,2), а время от 2 до 4 часов соответствует буферному уровню pH 6,8. Фиг. 3 является повторением Фиг. 2, показывая только растворение при буферном уровне pH 6,8, при этом время от 0 до 120 минут на Фиг. 3 отвечает времени от 2 до 4 часов на Фиг. 2. Были протестированы двенадцать капсул на партию.

Количественные результаты растворения будесонида в различных средах в моменты времени 2 часа при уровне pH 1,2, 0,5 часа при уровне pH 6,8 и 2 часа при уровне pH 6,8 приведены в Таблице 1 ниже.

Таблица 1

			Партия 1	Партия 2	Партия 3
Растворение (%)	pH 1,2, 2,0 ч	Среднее	0	0	0
		SD	0	0	0
	pH 6,8, 0,5 ч	Среднее	0	0	0
		SD	0	0	0
	pH 6,8, 2,0 ч	Среднее	88	87	84
		SD	2,2	2,6	3,5

*SD = стандартное отклонение

Высвобождение будесонида на стадии определения кислотостойкости оценивали на основе критериев приемлемости в <711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Пример 4: Общий процесс для стандартного теста на растворение *in vitro* согласно USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3 в отсутствие поверхностно-активного вещества на стадии буфера и при скорости вращения мешалки 50 об/мин

Растворение *in vitro* инкапсулированных гранул будесонида ядро-оболочка Примера 1 анализировали, как описано в Ph.Eur. 2.9.3 Тест на растворение для твердых лекарственных форм (с использованием устройства 2) и как описано в USP <711> Растворение (с использованием устройства 2). Измерения производили, как описано ниже.

Конфигурация устройства для растворения

Устройство:	USP <711>/Ph. Eur. 2.9.3, Устройство 2
Размер/тип сосуда:	1000 мл / прозрачное стекло, круглодонный
Скорость вращения	50 об/мин
Объем среды:	900 мл – устойчивость к кислоте 900 мл – профиль растворения в буфере
Температура проведения исследования:	37,0 ± 0,5 °C
Объем пробы:	15 мл
Замещение:	Нет
Отброшенный объем:	5 мл
Момент времени пробоотбора:	Стадия устойчивости к кислоте: 2 часа

	Буферная стадия: Указанные моменты времени 0,625, 1,25 и 2,5 часа.
--	--

Высвобождение будесонида измеряли с помощью ультраэффективной жидкостной хроматографии (UPLC).

Реагенты и стандарты

Стандарты и эталонные материалы:

Будесонид, Ph. Eur. CSR или подходящий вторичный стандарт.

Среда для растворения и разбавители

Стадия устойчивости к кислоте

0,1 н. раствор HCl. Для того чтобы приготовить 6 л кислотостойкой среды, 50 мл концентрированной HCl объединяли с 6000 мл воды и полученный раствор тщательно перемешивали.

0,2 М буферный раствор трехосновного фосфата натрия

Для приготовления 1 л 0,2 М буферного раствора трехосновного фосфата натрия добавляли около 76,02 г трехосновного фосфата натрия и растворяли в 1000 мл воды с последующим перемешиванием.

Буферная среда для растворения: 50 мМ буфер фосфата натрия, рН 6,8, с Твин 80.

Для того чтобы получить 6 л буферной среды для растворения, 4500 мл кислотостойкой среды объединили с 1500 мл 0,2 М буферного раствора трехосновного фосфата натрия. Проверяли уровень рН и при необходимости доводили уровень рН до $6,8 \pm 0,05$ с помощью хлороводородной кислоты или гидроксида натрия.

Аналитическая процедура

Стадия устойчивости к кислоте

Примечание: Следует соблюдать осторожность, чтобы не поцарапать и не повредить капсулы, помещая их в грузило.

900 мл предварительно нагретой дегазированной кислотостойкой среды помещали в каждый из 6 сосудов для растворения. Среду выдерживали при температуре $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Устройство работало в соответствии с USP<711>/фармакопейный тест № 2.9.3 Метод устройства с вращающимися лопастями при 50 об/мин.

Затем по 6 капсул помещали в отдельные спиральные грузила, а затем в отдельные сосуды.

Через 2 часа аликвоту 15 мл раствора для определения кислотостойкости отбирали с помощью шприца.

Испытуемый раствор фильтровали с помощью Whatman GF/F с фильтром GMF, при этом первые 5 мл отбрасывали, а оставшийся раствор собирали в пробирку.

Нижеследующие две стадии были выполнены после того, как была начата буферная стадия растворения.

5,0 мл отфильтрованного раствора образца для определения кислотостойкости вносили пипеткой в мерную колбу на 10 мл и разбавляли до объема ацетонитрилом.

Раствор хорошо перемешивали и аликвоту переносили во флакон для HPPLC и анализировали.

Высвобождение будесонида на стадии определения кислотостойкости оценивали на основе критериев приемлемости в USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Капсулы, приготовленные в примере 1 («капсулы будесонида» или «нефекон будесонид»), тестировали в условиях растворения, описанных в этом примере.

Общий профиль растворения для семи отдельных партий можно увидеть на Фиг. 4, где время от 0 до 2 часов соответствует кислотному уровню pH (pH 1,2), а время от 2 до 4,5 часов соответствует буферному уровню pH 6,8.

Для всех образцов не более 10% будесонида было высвобождено в момент времени 0,625 часа.

Количественные результаты растворения будесонида в момент времени 1,25 ч (75 мин) при уровне pH 6,8 приведено в таблице ниже.

№ партии капсул	Среднее (%)	Мин. (%)	Макс. (%)	SD
3160733R	71	66	74	3,2
3166190R	48	43	53	4,1
3181645R	34	23	39	5,6
3197634R	61	57	71	5,1
3197635R	56	46	63	5,7
3197636R	55	49	60	3,9
3197637R	51	48	53	1,7

*SD = стандартное отклонение

Через 1,25 ч (75 минут) высвобождается от 23 до 74% будесонида.

Количественные результаты растворения будесонида в момент времени 2,5 ч (150 мин) при уровне pH 6,8 приведено в таблице ниже.

№ партии капсул	Среднее (%)	Мин. (%)	Макс. (%)	SD
3160733R	101	99	103	1,5
3166190R	90	87	93	2,2
3181645R	80	77	83	2,1
3197634R	93	90	95	2,1
3197635R	93	88	98	3,9
3197636R	92	88	95	2,4
3197637R	89	87	92	1,7

Самая низкая степень высвобождения, которая наблюдается через 2,5 ч, составляла 77%.

Пример 5: Сравнительный тест в соответствии с USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3 в присутствии поверхностно-активного вещества на стадии буфера и при скорости вращения мешалки 100 об/мин

Ниже приведен вариант теста *in vitro* Примера 2. В этом тесте капсулы будесонида с модифицированным высвобождением согласно данному изобретению анализировали вместе с тремя другими имеющимися на рынке препаратами, содержащими будесонид. Три препарата: Entocort® (Tillotts Pharma), Budenofalk® (Dr Falk Pharma GmbH) и Cortiment® (Ferring Pharmaceuticals, CH).

Устройство для растворения	USP <711>/Ph. Eur. 2.9.3
Устройство:	Устройство 2
Размер/тип сосуда:	1000 мл / прозрачное стекло, круглодонный
Скорость вращения:	100 об/мин
Объем среды:	900 мл – устойчивость к кислоте 900 мл – профиль растворения в буфере
Температура проведения исследования:	37,0 ± 0,5 °C
Объем пробы:	10 мл
Замещение:	Нет
	Стадия устойчивости к кислоте:

Моменты времени пробоотбора	2 часа
Проверка pH	Буферная стадия: 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 минут Проверьте уровень pH раствора после приготовления и снова в каждом сосуде после каждого теста и запишите результат (только буферная среда для растворения).

Стандарты и эталонные материалы

Будесонид, Ph. Eur. CSR.

Другие реагенты:

Твин 80, (полисорбат (80)), Fisher Scientific или эквивалент.

Среда для растворения, подвижная фаза и разбавители

Стадия устойчивости к кислоте

0,1 н. раствор HCl. Например, чтобы приготовить 10 л, объединяют 82 мл концентрированной HCl с 10000 мл воды и хорошо перемешивают.

Буферная среда для растворения

Среду для растворения фосфат натрия, pH 6,80, готовили путем разведения одной бутылки (961,5 мл) концентрата Reagecon DBC09-960 до общего объема 25 л.

См. раздел дополнительную информацию для Среда для растворения фосфат натрия, pH 6,80, 6 x 961,5 мл (reagecon.com).

После приготовления проверяли уровень pH буферного раствора.

После того как образцы для определения кислотостойкости были отобраны, капсулы извлекли из раствора с помощью клещей и отложили, пока сосуды опорожняли, очищали и заполняли предварительно нагретой буферной средой. 0,05% Твин 80 (или эквивалент) добавляли к каждому сосуду для растворения; например, 450 мг Твин 80 было добавлено в сосуды для растворения после того, как они были заполнены 900 мл предварительно нагретого буфера, чтобы получить концентрацию поверхностно-активного вещества 0,05% мас./об.

После того, как все сосуды достигли целевой температуры, эксперимент начали, добавив капсулу в каждый сосуд.

Модификация процедуры для буденофалька

Когда капсула разрушалась во время кислотной стадии, была использована другая процедура. Большую часть кислотной фазы осторожно декантировали, а затем остальную кислоту осторожно удаляли пипеткой, чтобы удалить как можно меньше гранул из сосуда. Буферную стадию начинали добавлением 900 мл предварительно нагретой буферной среды с последующим добавлением Твина.

Отбор проб для обеих стадий

10 мл аспирируют, 8 мл отбрасывают (через фильтр Ватмана (0,7 мкм)), 1 мл отбирают во флакон для ВЭЖХ.

Вариации в этом тесте по сравнению с Примером 2 не влияют на общие профили растворения исследуемых продуктов, и сравнительные профили растворения трех других представленных на рынке препаратов, содержащих будесонид, можно увидеть на Фиг. 5.

Пример 6: Сравнительный тест в соответствии с USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3 в отсутствие поверхностно-активного вещества на стадии буфера и при скорости вращения мешалки 100 об/мин

Ниже приведен вариант теста *in vitro* Примера 2 и Примера 5. В этом тесте капсулы с кишечнорастворимым покрытием, наполненные гранулами ядро-оболочка из Примера 1, анализировали вместе с тремя другими имеющимися на рынке содержащими будесонид препаратами в буферном растворе при уровне pH 6,8 и скорости вращения лопасти 100 об/мин. Три препарата: Entocort® (Tillotts Pharma), Budenofalk® (Dr Falk Pharma GmbH) и Cortiment® (Ferring Pharmaceuticals, CH).

Устройство для растворения	USP <711>/Ph. Eur. 2.9.3
Устройство:	Устройство 2
Размер/тип сосуда:	1000 мл / прозрачное стекло, круглодонный
Скорость вращения:	100 об/мин
Объем среды:	900 мл – устойчивость к кислоте 900 мл – профиль растворения в буфере
Температура проведения исследования:	37,0 ± 0,5 °C
Объем пробы:	10 мл
Замещение:	Нет
	Стадия устойчивости к кислоте:

<p>Моменты времени пробоотбора</p> <p>Проверка pH</p>	<p>2 часа</p> <p>Буферная стадия:</p> <p>15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 минут</p> <p>Проверьте уровень pH раствора после приготовления и снова в каждом сосуде после каждого теста и запишите результат (только буферная среда для растворения).</p>
---	--

Стандарты и эталонные материалы

Будесонид, Ph. Eur. CSR.

Среда для растворения, подвижная фаза и разбавители

Стадия устойчивости к кислоте

0,1 н. раствор HCl. Например, чтобы приготовить 10 л, объединяют 82 мл концентрированной HCl с 10000 мл воды и хорошо перемешивают.

Буферная среда для растворения

Среду для растворения фосфат натрия, pH 6,80, готовили путем разведения одной бутылки (961,5 мл) концентрата Reagecon DBC09-960 до общего объема 25 л.

См. раздел дополнительную информацию для Среда для растворения фосфат натрия, pH 6,80, 6 x 961,5 мл (reagecon.com).

После приготовления проверяли уровень pH буферного раствора.

После того как образцы для определения кислотостойкости были отобраны, капсулы извлекли из раствора с помощью клещей и отложили, пока сосуды опорожняли, очищали и заполняли 900 мл предварительно нагретой буферной среды.

После того, как все сосуды достигли целевой температуры, эксперимент начали, добавив капсулу в каждый сосуд.

Модификация процедуры для буденофалька

Когда капсула разрушалась во время кислотной стадии, была использована другая процедура. Большую часть кислотной фазы осторожно декантировали, а затем остальную кислоту осторожно удаляли пипеткой, чтобы удалить как можно меньше гранул из сосуда. Буферную стадию начинали добавлением 900 мл предварительно нагретой буферной среды.

Отбор проб для обеих стадий

10 мл аспирируют, 8 мл отбрасывают (через фильтр Ватмана (0,7 мкм)), 1 мл отбирают во флакон для ВЭЖХ.

Профили растворения исследуемых продуктов и сравнительные профили растворения гранул будесонида ядро-оболочка из Примера 1 и трех других имеющихся на рынке препаратов, содержащих будесонид, можно увидеть на Фиг. 6.

Таблица ниже показывает, что величины f_2 для сравнения капсул будесонида согласно изобретению, протестированных с использованием этого метода, с каждым из других имеющихся в продаже продуктов. Величины f_2 50 или выше необходимы для демонстрации подобия профилей (FDA SUPAC Guidances 1995, 1997).

Нефекон	Энтокорт ЕС	Буденофальк	Кортимент
Величина F2 (USP)	18,1	16,0	15,8

Ясно, что профили высвобождения будесонида в значительной степени отличаются среди четырех имеющихся в продаже продуктов. Ни одно из сравнений f_2 между нефеконом и другими продуктами не продемонстрировало сходства, требующего величины f_2 50 или выше. Действительно, на основании оценки f_2 , а также визуального обзора графических профилей, их профили высвобождения должны считаться в значительной степени непохожими.

Пример 7: Введение капсул, наполненных гранулами, и измерение биомаркеров

Для исследования, описанного в примерах 7-16, использовали капсулы с кишечнорастворимым покрытием, наполненные затвердевшими гранулами, как описано в Примере 1. Далее капсулы взаимозаменяемо называют «капсулы будесонида» или «нефекон-будесонид».

Дизайн исследования

Был проведен рандомизированный, двойной слепой, плацебо-контролируемый эксперимент, в котором субъекты с первичной нефропатией IgA, подтвержденной биопсией, и явной протеинурией, получали капсулы будесонида, и измеряли уровни различных биомаркеров в крови этих пациентов: перед началом лечения; по завершении лечения; и в определенный момент времени после завершения лечения.

Пациенты

Мужчины и женщины от 18 лет с подтвержденной биопсией первичной нефропатией IgA и явной протеинурией были выбраны для вводной фазы. Все пациенты дали письменное информированное согласие перед зачислением. Критерии включения для рандомизации лечения включали расчетную GFR (eGFR) по меньшей мере 45 мл/мин на 1,73 м² и соотношение белка к креатинину в моче (UPCR) более 0,5 г/г или общий белок в моче по меньшей мере 0,75 г/сутки - уровни, которые, как считают, увеличивают риск

прогрессирования к терминальной стадии почечной недостаточности. Либо выведение белка за 24 часа, либо UPCR для 24-часового сбора мочи использовали для определения пригодности для преодоления возможных ошибок сбора и отклонений от нормального выведения креатинина (например, физически активных и мускулистых мужчин), таким образом минимизируя риск непреднамеренного исключения пациентов.

Методики

Лекарственный препарат представлял собой пероральный капсульный препарат, как описано в Примере 1 (капсула будесонида), или плацебо, разработанный с профилем растворения *in vitro*, как описано выше, чтобы обеспечить длительное высвобождение активного соединения, которое было отложено до момента, пока капсула не достигла подвздошной кишки, в частности дистального отдела подвздошной кишки, нацеливаясь на сайт с высокой плотностью пятен Пейера.

После скрининга соответствующие пациенты были включены в 6-месячную вводную фазу, 9-месячную фазу лечения и 3-месячную фазу наблюдения; соответствие пациента оценивали перед вводной фазой и фазой лечения. При поступлении блокада RAS была оптимизирована путем повышения дозы ингибиторов ACE (ACEI) и блокаторов рецепторов ангиотензина II (ARB) до максимальной рекомендуемой дозы или максимально переносимой дозы (в соответствии с установленной клинической практикой) до целевого артериального давления менее 130/80 мм рт. ст., UPCR менее 0,5 г/г и белка в моче менее 0,75 г/сут. В конце поступления пациенты со стойкой протеинурией (UPCR \geq 0,5 г/г или протеинурия \geq 0,75 г/сутки), несмотря на оптимизированную блокаду RAS, eGFR (оценено по уравнению для креатинина в сыворотке крови по формуле сотрудничества с эпидемиологией хронических болезней почек [CKD-EPI] \geq 45 мл/мин) или измеренной GFR \geq 45 мл/мин на 1,73 м² и артериальным давлением 160/100 мм рт.ст. или менее отвечали критериям для рандомизации на лечение.

Независимый совет по мониторингу данных и безопасности (DSMB) отслеживал все вопросы безопасности и просматривал данные во время промежуточного анализа.

Рандомизация и маскирование

Пациенты были стратифицированы в соответствии с исходным уровнем UPCR (\leq 0,9 г/г и $>$ 0,9 г/г) в месяц 0 (исходный уровень). Пациенты были случайно распределены по группам лечения с помощью метода переставленных блоков компьютерного алгоритма. В каждом блоке пациентов распределяли в соотношении 1:1:1 на капсулы будесонида 16 мг/день, капсулы будесонида 8 мг/день или плацебо. Все пациенты продолжали оптимизированное лечение блокадой RAS в течение фазы лечения.

В общей сложности 50 пациентов получали плацебо, 51 пациент получал капсулы будесонида по 8 мг/день и 48 пациентов получали капсулы будесонида по 16 мг/день. Рандомизацию проводила Pharma Consulting Group AB (Упсала, Швеция). Демографические и исходные характеристики избранных пациентов приведены в Таблице 2.

Эксперимент был двойным слепым. Таким образом, во время эксперимента и анализов распределение по группам лечения было неизвестно для каждого пациента, всего экспериментального персонала (включая исследователей и другой персонал, который проводил рандомизацию и анализ), спонсора и DSMB (DSMB просмотрела замаскированные данные о безопасности и незамаскированные данные были доступны, если возникнет беспокойство).

Для того чтобы обеспечить маскировку, капсулы плацебо, предоставленные спонсором, имели такой же внешний вид и путь введения, как и активные капсулы. Пациенты самостоятельно принимали маскированные капсулы один раз в день за 1 час до завтрака во время фазы лечения. Во время наблюдения (9-12 месяцев) пациентам, получавшим капсулы будесонида 16 мг/сутки в течение месяцев 0-9, было снижено до 8 мг/день в течение 2 недель, тогда как все остальные пациенты (т.е. те, кто получал капсулы будесонида 8 мг/день или плацебо в течение месяцев 0-9) получали плацебо для поддержания маскировки. Никаких других экспериментальных препаратов не вводили после сокращения дозы.

Параметр	Плацебо (n=50)	Капсулы будесонида 8 мг/сутки (n=51)	Капсулы будесонида 16 мг/сутки (n=48)	Всего (n=149)
Возраст	38,9 (12,0)	40,6 (13,0)	37,5 (11,9)	39,0 (12,3)
Пол				
<i>Мужчины</i>	35 (70%)	37 (73%)	33 (69%)	105 (71%)
<i>Женщины</i>	15 (30%)	14 (27%)	15 (31%)	44 (29%)
ИМТ (кг/м²)	27,5 (5,4)	26,5 (4,4)	27,8 (5,2)	27,3 (5,0)
Масса	85,2 (18,9)	80,9 (14,5)	86,7 (16,9)	84,2 (16,9)
Раса				
<i>Азиаты</i>	1 (2%)	0 (0%)	1 (2%)	2 (1%)
<i>Европеоиды</i>	48 (96%)	49 (96%)	47 (98%)	144 (97%)

Параметр	Плацебо (n=50)	Капсулы будесонида 8 мг/сутки (n=51)	Капсулы будесонида 16 мг/сутки (n=48)	Всего (n=149)
<i>Другое</i>	1 (2%)	2 (4%)	0 (0%)	3 (2%)
Этничность				
<i>Испанцы/латиноамериканцы</i>	3 (6%)	11 (22%)	7 (15%)	21 (14%)
<i>Отличная от испанцев/ латиноамериканцев</i>	47 (94%)	40 (78,4%)	41 (85,4%)	128 (85,9%)
Кровяное давление (мм Hg)				
<i>Систолическое</i>	128,1 (11,9)	127,7 (13,6)	126,7 (11,6)	127,5 (12,3)
<i>Диастолическое</i>	80,2 (10,1)	80,3 (9,7)	78,1 (9,6)	79,6 (9,8)
UPCR (г/г)	0,8 (0,5-1,6)	0,8 (0,5-1,2)	0,8 (0,5-1,3)	0,8 (0,5-1,3)
Выведение белка 24 ч (г)	1,2 (1,0-3,2)	1,1 (0,9-1,8)	1,3 (0,9-2,1)	1,2 (0,9-2,01)
UACR (г/г)	0,7 (0,4-1,3)	0,7 (0,5-1,0)	0,7 (0,4-1,2)	0,7 (0,4-1,1)
Выведение альбумина 24 ч (г)	1,1 (0,8-2,2)	1,0 (0,7-1,6)	1,1 (0,8-1,8)	1,0 (0,8-1,8)
eGFR СКD-EPI (формула креатинина; мл/мин на 1,73 м²)	76,5 (23,2)	74,1 (25,8)	83,8 (25,9)	78,3 (25,1)
Время от установления диагноза до начала лечения (дни)	1101 (294-2870)	1972 (623-4188)	1219 (498-2573)	1499 (496-3162)

Таблица 2. Демографические показатели пациентов и исходные характеристики Данные представляют собой n(%), среднее (SD) или медиану (IQR). Сокращения: ИМТ = индекс массы тела; СКD-EPI = уравнение сотрудничества по эпидемиологии хронических заболеваний почек; eGFR = рассчитанная скорость клубочковой фильтрации; UACR = отношение альбумина к креатинину в моче; UPCR = отношение белков к креатинину в моче.

Образцы крови принимали у пациентов в начале фазы лечения (месяц 0, перед любым лечением), в конце фазы лечения (месяц 9) и в конце фазы наблюдения (месяц 12). Полученные образцы были проверены на уровне ряда биомаркеров, включая: BAFF; APRIL; TACI; BCMA; CD27, CD30; секреторный IgA; иммунный комплекс IgA-IgG; и слабо О-галактозилированный IgA1.

Для каждого рандомизированного пациента были предоставлены конверты с кодами лечения. В случае чрезвычайной ситуации конверт с кодами можно открыть. Любого немаскированного пациента необходимо изъять из эксперимента.

Пример 8: Лечение пациентов капсулами будесонида приводит к снижению уровня BAFF в сыворотке крови

Материалы и методы

Биомаркеры измеряли с помощью специально разработанного мультиплексного анализа Luminex® на основе шариков (R&D Systems) в соответствии с инструкциями производителя.

Концепция анализа Luminex® основана на флуоресцентных меченых микросферах, которые избирательно связываются с интересующими молекулами, таким образом позволяя выявлять и количественно определять несколько биомаркеров одновременно в очень малом объеме сыворотки.

В этом исследовании биомаркеры были отобраны и разделены на наборы (**набор 1**: BAFF; APRIL; **набор 2**: TACI; BCMA; CD27; CD30) в соответствии с динамическим диапазоном анализа.

Смесь меченых микрочастиц, специфичных для набора 1, или смесь меченых микрочастиц, специфических для набора 2, разбавляли 1:10 растворителем для реагента (предоставляется R&D Systems вместе с микрочастицами), образцы сыворотки разбавляли 1:2 в растворителе для реагента, а для создания стандартной кривой использовали серийные разведения стандартного раствора (предоставленного R&D Systems вместе с микрочастицами).

50 мкл смеси микрочастиц наносили на планшет для анализа Luminex®, а затем 50 мкл стандарта или образца. Планшет инкубировали на шейкере для микропланшетов при 800 об/мин при комнатной температуре в течение 2 часов. Белки, не связанные с микрочастицами, удаляли промывкой промывным буфером (предоставляется вместе с микрочастицами R&D Systems).

Смесь биотинилированных антител (предоставленный R&D Systems вместе с микрочастицами) добавляли к каждой лунке и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. Планшет промывали промывным буфером (предоставленным R&D Systems вместе с микрочастицами), а затем инкубировали с 50 мкл на лунку стрептавидина-фикоэритрина (предоставленным с микрочастицами R&D Systems) в течение 30 минут, с последующей окончательной стадией промывания.

Микрочастицы ресуспендировали в 100 мкл промывного буфера и в течение 90 минут считывали флуоресценцию в каждой лунке на приборе MAGPIX® Luminex.

Сравнение отличий в уровнях биомаркеров проводили с помощью статистического теста одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) со значением $p < 0,05$.

Результаты

Как видно из Фиг. 7 и таблицы 3, лечение пациентов капсулами будесонида в дозах 8 мг/сутки и 16 мг/сутки привело к статистически значимому снижению уровня BAFF в сыворотке крови по сравнению с пациентами, получавшими плацебо, в образцах, взятых в конце 9-месячной фазы лечения.

Измеренный биомаркер	Плацебо	Капсулы будесонида (8 мг/сутки)	Капсулы будесонида (16 мг/сутки)	Комбинированные результаты относительно будесонида
BAFF	+0% (от +48% до -36%)	-14% (от +57% до -69%)	-23% (от +38% до -66%)	-18% (от +57% до -69%)

Таблица 3. Процентное изменение уровней BAFF в сыворотке крови от начала до конца лечения. Средние значения (плацебо, n=50; капсулы будесонида 8 мг/сутки, n=51; капсулы будесонида 16 мг/сутки, n=48; капсулы будесонида 8 мг/сутки и 16 мг/сутки, n=99) и показан диапазон значений.

Кроме того, на Фиг. 8 и в таблице 4 показано, что в образцах сыворотки, взятых после завершения фазы последующего наблюдения (т.е. через 3 месяца после окончания фазы лечения), уровень BAFF в сыворотке крови у пациентов, ранее получавших капсулы будесонида 16 мг/сутки, повышается снова, указывая на то, что наблюдаемое понижение зависело от воздействия капсул будесонида.

Измеренный биомаркер	Плацебо	Капсулы будесонида (8 мг/сутки)	Капсулы будесонида (16 мг/сутки)	Комбинированные результаты относительно будесонида
BAFF	+70% (от -4% до -129%)	+29% (от -9% до +82%)	+152% (от -4% до +442%)	+87% (от -9% до +442%)

Таблица 4. Процентное изменение уровней BAFF в сыворотке крови от конца лечения до конца фазы последующего наблюдения. Средние значения (плацебо, n=50;

капсулы будесонида 8 мг/сутки, n=51; капсулы будесонида 16 мг/сутки, n=48; капсулы будесонида 8 мг/сутки и 16 мг/сутки, n=99) и показан диапазон значений.

Снижение уровней ВАФФ в сыворотке крови после лечения нефекон-будесонидом сочетается с модифицирующим действием на заболевание при IgAN.

Пример 9: Лечение пациентов капсулами будесонида не приводит к снижению уровней APRIL в сыворотке крови

Материалы и методы

Использовали такие же материалы и способы, как описано в Примере 8 выше.

Сравнение отличий в уровнях APRIL проводили с помощью статистического теста одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) со значением $p < 0,05$.

Результаты

Как можно увидеть на Фиг. 9 и в Таблице 5, лечение пациентов капсулами будесонида в дозах 8 мг/сутки и 16 мг/сутки не привело к заметным изменениям уровня APRIL в сыворотке крови в образцах, взятых в конце фазы 9-месячного лечения, что свидетельствует о том, что эффект, вызванный лечением капсулами будесонида, является специфичным для ВАФФ. Аналогично, не наблюдалось изменений в группе плацебо.

Измеренный биомаркер	Плацебо	Капсулы будесонида (8 мг/сутки)	Капсулы будесонида (16 мг/сутки)	Комбинированные результаты относительно будесонида
APRIL	(-2%) (от +79% до -43%)	+2% (от +148% до -72%)	+3% (от +41% до -66%)	+3% (от +148% до -72%)

Таблица 5. Процентное изменение уровней APRIL в сыворотке крови от начала до конца лечения. Средние значения (плацебо, n=50; капсулы будесонида 8 мг/сутки, n=51; капсулы будесонида 16 мг/сутки, n=48; капсулы будесонида 8 мг/сутки и 16 мг/сутки, n=99) и показан диапазон значений.

Пример 10: Снижение уровней ВАФФ в сыворотке крови после лечения будесонидом в капсулах связано со снижением уровней TACI в сыворотке крови

Материалы и методы

Использовали такие же материалы и способы, как описано в Примере 8 выше.

Сравнение отличий в уровнях TACI проводили с помощью статистического теста одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) со значением $p < 0,05$.

Результаты

Как видно из Фиг. 10 и таблицы 6, лечение пациентов капсулами будесонида в дозах 8 мг/сутки и 16 мг/сутки привело к статистически значимому снижению уровня ТАСІ в сыворотке крови по сравнению с пациентами, получавшими плацебо, в образцах, взятых в конце 9-месячной фазы лечения. В группе плацебо было отмечено, что уровень ТАСІ несколько повысился по сравнению с исходным уровнем.

Измеренный биомаркер	Плацебо	Капсулы будесонида (8 мг/сутки)	Капсулы будесонида (16 мг/сутки)	Комбинированные результаты относительно будесонида
ТАСІ	(+16%) (от +143% до -61%)	-17% (от +26% до -54%)	-11% (от +60% до -65%)	-14% (от +60% до -65%)

Таблица 6. Процентное изменение уровней ТАСІ в сыворотке крови от начала до конца лечения. Средние значения (плацебо, n=50; капсулы будесонида 8 мг/сутки, n=51; капсулы будесонида 16 мг/сутки, n=48; капсулы будесонида 8 мг/сутки и 16 мг/сутки, n=99) и показан диапазон значений.

Пример 11: Снижение уровней ВАFF в сыворотке крови после лечения будесонидом в капсулах связано со снижением уровней ВСМА в сыворотке крови

Материалы и методы

Использовали такие же материалы и способы, как описано в Примере 6 выше.

Сравнение отличий в уровнях ВСМА проводили с помощью статистического теста одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) со значением $p < 0,05$.

Результаты

Как видно из Фиг. 11 и Таблицы 7, лечение пациентов капсулами будесонида в дозах 8 мг/сутки и 16 мг/сутки привело к статистически значимому снижению уровня ВСМА в сыворотке крови по сравнению с пациентами, получавшими плацебо, в образцах, взятых в конце 9-месячной фазы лечения. В группе плацебо было отмечено, что уровень ВСМА незначительно повысился по сравнению с исходным уровнем.

Измеренный биомаркер	Плацебо	Капсулы будесонида (8 мг/сутки)	Капсулы будесонида (16 мг/сутки)	Комбинированные результаты относительно будесонида
ВСМА	(+3%) (от +68% до -27%)	-7% (от +8% до -53%)	-6% (от +16% до -39%)	-7% (от +16% до -53%)

Таблица 7. Процентное изменение уровней ВСМА в сыворотке крови от начала до конца лечения. Средние значения (плацебо, n=50; капсулы будесонида 8 мг/сутки, n=51; капсулы будесонида 16 мг/сутки, n=48; капсулы будесонида 8 мг/сутки и 16 мг/сутки, n=99) и показан диапазон значений.

Пример 12: Снижение уровней BAFF в сыворотке крови после лечения будесонидом в капсулах связано со снижением уровней CD27 в сыворотке крови

Поскольку исследование ограничивалось оценкой изменений уровней каждого биомаркера в кровотоке, а не в тканях, и, следовательно, не было определено фактическое место, где произошла модуляция, был проведен анализ путей, чтобы определить, связаны ли биомаркеры, которые нефекон-будесонид модулировал в значительной степени, в том числе те суррогатные биомаркеры активации иммунных клеток (включая sCD27 и sCD30 (см. пример 13)) с любыми конкретными биологическими процессами и путями.

Материалы и методы

Использовали такие же материалы и способы, как описано в Примере 8 выше.

Сравнение отличий в уровнях CD27 проводили с помощью статистического теста одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) со значением $p < 0,05$.

Результаты

Как видно из Фиг. 12 и таблицы 8, лечение пациентов капсулами будесонида в дозах 8 мг/сутки и 16 мг/сутки привело к статистически значимому снижению уровня CD27 в сыворотке крови по сравнению с пациентами, получавшими плацебо, в образцах, взятых в конце 9-месячной фазы лечения. В группе плацебо было отмечено, что уровень CD27 несколько повысился по сравнению с исходным уровнем.

Измеренный биомаркер	Плацебо	Капсулы будесонида (8 мг/сутки)	Капсулы будесонида (16 мг/сутки)	Комбинированные результаты относительно будесонида
CD27	+6% (от +84% до -30%)	-15% (от +10% до -56%)	-19% (от +4% до -44%)	-17% (от +10% до -56%)

Таблица 8. Процентное изменение уровней CD27 в сыворотке крови от начала до конца лечения. Средние значения (плацебо, n=50; капсулы будесонида 8 мг/сутки, n=51; капсулы будесонида 16 мг/сутки, n=48; капсулы будесонида 8 мг/сутки и 16 мг/сутки, n=99) и показан диапазон значений.

Кроме того, на Фиг. 13 и в таблице 9 показано, что в образцах, взятых после завершения фазы последующего наблюдения (т.е. через 3 месяца после окончания фазы

лечения), уровень CD27 в сыворотке крови у пациентов, ранее получавших капсулы будесонида 16 мг/сутки, повышается снова, указывая на то, что наблюдаемое понижение зависело от воздействия капсул будесонида.

Измеренный биомаркер	Плацебо	Капсулы будесонида (8 мг/сутки)	Капсулы будесонида (16 мг/сутки)	Комбинированные результаты относительно будесонида
CD27	+16% (от -14% до +65%)	+20% (от -2% до +183%)	+36% (от 0% до +132%)	+28% (от -2% до +183%)

Таблица 9. Процентное изменение уровней CD27 в сыворотке крови от конца лечения до конца фазы последующего наблюдения. Средние значения (плацебо, n=50; капсулы будесонида 8 мг/сутки, n=51; капсулы будесонида 16 мг/сутки, n=48; капсулы будесонида 8 мг/сутки и 16 мг/сутки, n=99) и показан диапазон значений.

Пример 13: Снижение уровней BAFF в сыворотке крови после лечения будесонидом в капсулах связано со снижением уровней CD30 в сыворотке крови

Материалы и методы

Использовали такие же материалы и способы, как описано в Примере 8 выше.

Сравнение отличий в уровнях CD30 проводили с помощью статистического теста одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) со значением $p < 0,05$.

Результаты

Как видно из Фиг. 14 и таблицы 10, лечение пациентов капсулами будесонида в дозах 8 мг/сутки и 16 мг/сутки привело к небольшому, но статистически значимому снижению уровня CD30 в сыворотке крови по сравнению с пациентами, получавшими плацебо, в образцах, взятых в конце 9-месячной фазы лечения. В группе плацебо было отмечено, что уровень CD30 несколько повысился по сравнению с исходным уровнем.

Измеренный биомаркер	Плацебо	Капсулы будесонида (8 мг/сутки)	Капсулы будесонида (16 мг/сутки)	Комбинированные результаты относительно будесонида
CD30	+11% (от +88% до -46%)	-8% (от +80% до -72%)	-5% (от +92% до -67%)	-6% (от +92% до -72%)

Таблица 10. Процентное изменение уровней CD30 в сыворотке крови от начала до конца лечения. Средние значения (плацебо, n=50; капсулы будесонида 8 мг/сутки, n=51;

капсулы будесонида 16 мг/сутки, n=48; капсулы будесонида 8 мг/сутки и 16 мг/сутки, n=99) и показан диапазон значений.

Согласно обширному мета-анализу исследований общегеномных ассоциаций (GWA) (Gesualdo L, Di Leo V, Coppo R. The mucosal immune system and IgA nephropathy. *Semin Immunopathol.* 2021;43:657–668; Coppo R. The gut-renal connection in IgA nephropathy. *Semin Nephrol.* 2018;38:504–512.), это исследование определило кишечную иммунную сеть для продуцирования IgA как один из наиболее обогащенных путей Киотской энциклопедии генов и геномов (KEGG), что указывает на то, что механизм действия нефрона-будесонида, по меньшей мере частично, вызван воздействием на лимфоидную ткань подвздошной кишки (GALT).

Пример 14: – Анализ секреторных уровней IgA после лечения будесонидом в капсулах

Материалы и методы

Моноклональный мышинный секреторный компонент против антител человека (Sigma), разведенный 1:10000 в буфере для покрытия, наносили на лунки иммунопланшета и инкубировали при 4°C в течение ночи. Затем планшет промывали и блокировали 2% БСА в течение 1 часа при комнатной температуре. Образцы сыворотки и стандарты (высокий, средний и низкий) разводили 1:10 в ФСБ и наносили на планшет после промывки и инкубировали при 4°C в течение ночи. После этого планшет промывали и в каждую лунку добавляли поликлональные кроличьи антитела против HRP IgA человека (Sigma, 1:2000) и инкубировали планшет при комнатной температуре в течение 90 минут. Затем планшет снова промывали, и уровни секреторного IgA визуализировали с помощью субстрата дигидрохлорида о-фенилендиамина. OD492 высокого, среднего и низкого стандартов на каждом планшете использовали для нормализации значений планшетов к стандартному планшету.

Результаты

Наблюдалось значительное ($p < 0,05$) зависимое от дозы будесонида в капсуле снижение уровней секреторного IgA в сыворотке крови. Уровни секреторного IgA в сыворотке крови не изменились (Фиг. 15). Это указывает на местное высвобождение и локальное действие в кишечнике целевого высвобождения капсул будесонида, а не на системное действие будесонида.

Пример 15: Анализ уровней иммунного комплекса IgA-IgG и слабо O-галактозилированного IgA1 после лечения будесонидом в капсулах

Материалы и способы

Иммунные комплексы IgA-IgG: Лунки из 96-луночного иммунопланшета покрывали фрагментом AffiniPure F(ab')₂ козьего антитела против сывороточного IgA человека (специфического для цепи α) (Jackson Immunology), разведенного до 5 мкг/мл в буфере для покрытия. После инкубации в течение ночи при 4°C планшет промывают и неспецифическое связывание белка блокируют 2% БСА в ФСБ в течение 1 часа при комнатной температуре. Исследуемые образцы сыворотки и стандарты (высокий, средний и низкий) разводили 1:500 в ФСБ, добавляли к дублирующим лункам и инкубировали при 4°C в течение ночи. Потом планшет промывали и инкубировали в течение 90 минут с поликлональными кроличьими антителами против IgG-HRP человека (Dako), разбавленными 1:2000 в ФСБ. Планшет снова промывали в течение 4 циклов и уровни IC IgA/IgG в образцах сыворотки визуализировали с помощью субстрата дигидрохлорида офенилендиамина. OD492 высокого, среднего и низкого стандартов на каждом планшете использовали для нормализации значений планшетов к стандартному планшету.

Слабогалактозилированный IgA: Уровни слабо O-галактозилированного IgA1 измеряли с помощью имеющегося в продаже ELISA KM55 (кат. № 27600, Immunobiological Laboratories, Inc. Миннеаполис, MN 55432, США)

Результаты

В конце лечения наблюдалось значительное ($p < 0,05$) зависимое от дозы будесонида в капсуле снижение уровней иммунных комплексов IgA-IgG в сыворотке крови. Уровни иммунного комплекса IgA-IgG вернулись к исходному уровню в течение 3 месяцев после прекращения лечения капсулами будесонида (Фиг. 16). Наблюдалось подобное, хотя и менее выраженное, изменение уровней слабо O-галактозилированного IgA1 (Фиг. 17).

Особенно интересно то, что было показано, что лечение IgAN системными глюкокортикоидами снижает как общий сывороточный IgA, так и O-галактозилированный IgA1 (Kosztu P et al.,: Glucocorticoids Reduce Aberrant O-Glycosylation of IgA1 in IgA Nephropathy Patients. *Kidney Blood Press Res* 2018;43:350-359). Однако, при текущем лечении не наблюдалось различий в общих уровнях IgA, IgA1 и IgG при лечении капсулами будесонида (Фиг. 18), что позволило нам заключить, что эффект местного лечения подвздошной кишки капсулами будесонида был селективным относительно патогенных антител, но не эффективен относительно общего пула IgA, IgA1 и IgG.

Эти результаты показывают, что лечение нефекон-будесонидом поддерживает прямое влияние нефекон-будесонида на лежащие в основе патогенные пути IgAN, и что полезная нагрузка будесонида имеет преимущественно местный эффект, а не системный эффект, что приводит к уменьшению побочных эффектов у пациентов при лечении нефекон-будесонид.

Пример 16: Сравнение времени задержки для инициирования профилей в плазме между капсулами будесонида и эталонным коммерческим продуктом

Испытуемый продукт в виде капсул будесонида (полученных в соответствии с Примером 1 выше) и эталонный коммерческий продукт (Entocort® EC; AstraZeneca), содержащий тот же активный ингредиент, вводили 24 субъектам натошак во время рандомизированного перекрестного клинического исследования.

Время задержки в часах для достижения уровней в крови для каждого субъекта после введения исследуемого препарата в двух отдельных случаях и для введения эталонного (REF) продукта (с соответствующим периодом вымывания от 7 до 14 дней), приведено в Таблице 11 ниже.

№ субъекта	Введение исследуемого препарата 1 (F1)	Введение исследуемого препарата 2 (F2)	Продукт REF
14	8	4	0,67
38	3,5	3	0,67
40	4	4,5	1
41	4,5	4	0,67
19	1	2,5	0,67
28	2,5	6	0,67
29	4	4	0,67
36	3	3,5	1,5
01	4,5	6	1,5
03	4	4,5	1
15	3,5	3,5	1
20	4	4	0,67
04	4,5	3,5	1
08	2,5	3	0,67
10	4	3,5	1
12	4,5	5	1
06	5,5	/	/
17	5	4	1
22	4	3,5	0,33
34	3,5	4	1
09	3	4	2

№ субъекта	Введение исследуемого препарата 1 (F1)	Введение исследуемого препарата 2 (F2)	Продукт REF
11	2,5	3,5	0,67
16	4	4,5	0,67
42	3	6	1,5

Таблица 11. Время задержки для инициирования профилей в плазме

Статистический анализ

Данные были проанализированы с помощью Sigmaplot для Windows версии 11.0.

Описательная статистика

Медианные значения были рассчитаны для времени задержки до достижения уровня в плазме для каждой группы исследования и представлены в Таблице 12 ниже. (Сообщаются медианные значения, а не средние значения, поскольку это дискретные данные, т.е. время задержки может соответствовать только времени отбора образца в исследовании).

Группа	N	Медиана	25-й процентиль	75-й процентиль
F1	24	4,000	3,000	4,500
F2	24	4,000	3,500	4,500
REF	24	1,000	0,670	1,000

Таблица 12. Средние значения времени задержки

Был сделан вывод, что медианное значение (50-ый процентиль) времени задержки до достижения уровней в плазме составляло 4 часа для обоих введений тестового препарата и 1 час для эталонного коммерческого препарата.

Для того чтобы определить, отличалось ли статистически время задержки, которое наблюдалось для исследуемого препарата, от времен задержки для эталонного продукта, к данным были применены два теста дисперсионного анализа повторных измерений (ANOVA) – один предполагал, что данные распределены нормально, а второй – без предположения о том, как данные распределены.

Дисперсионный анализ повторных измерений, предполагая, что набор данных нормально распределен, дал значение F 51,815 и значение $P < 0,001$, что является статистически значимым. Апостериорное сравнение с использованием теста Тьюки для определения того, какие группы исследования отличались друг от друга, дало результаты, представленные в Таблице 13 ниже:

Сравнение	Разница средних	q-статистика	P-величина	P < 0,050
F2 в сравнении с REF	3,151	18,005	<0,001	Да
F2 в сравнении с F1	0,261	1,517	0,820	Нет
F1 в сравнении с REF	2,890	16,770	<0,001	Да

Таблица 13: Апостериорное сравнение между группами исследования

Это показало, что, несмотря на отсутствие разницы во времени задержки до достижения уровней в плазме каждый раз, когда испытуемый препарат вводили в отдельных случаях, время задержки до наступления уровней в плазме после введения исследуемого препарата статистически значимо отличается ($P < 0,001$) по сравнению с тем, когда вводится коммерческий эталонный продукт.

Дисперсионный анализ повторных измерений также применялся для ранжирования отдельных значений времени задержки с помощью критерия Фридмана (см., например, Stanton. A Glanz, Primer of Biostatistics, 5th Edition, McGraw Hill 2002, ISBN 0-07-137946-0, pages 370 – 380).

С помощью этого теста значение хи-квадрат составляло 52,950, что дало значение $P < 0,001$, которое является статистически значимым. Апостериорное сравнение с использованием теста Тьюки для определения того, какие группы исследования отличались друг от друга, дало результаты, представленные в Таблице 14 ниже:

Сравнение	Разница рангов	q-статистика	P < 0,05
F2 в сравнении с REF	68,500	9,237	Да
F2 в сравнении с F1	9,500	1,281	Нет
F1 в сравнении с REF	59,000	7,956	Да

Таблица 14: Апостериорное сравнение между группами исследования

Этот тест показывает (снова), что, хотя нет разницы во времени задержки до инициирования уровней в плазме, когда исследуемый препарат вводят в отдельных случаях, время задержки до инициирования уровней в плазме при введении исследуемого препарата является статистически различным ($P < 0,05$) в сравнении с введением коммерческого эталонного препарата.

Подытоживая, исследуемая композиция имеет в значительной степени другое время задержки до инициирования уровней в плазме по сравнению с коммерческим эталонным препаратом Entocort® ЕС, независимо от типа применяемого статистического анализа. Медианное время задержки до инициирования уровней в плазме крови составляло

4 часа в каждой из групп исследований, в которых применяли Нефекон F, тогда как медианное время задержки для Entocort® ЕС составляло 1 час.

Этот анализ ясно демонстрирует, что, в отличие от эталонного продукта, исследуемый препарат, как описано и заявлено в данном документе, не высвобождает основную часть своего активного ингредиента, пока не будет достигнут дистальный отдел тонкой кишки (например, подвздошная кишка, например дистальный отдел подвздошной кишки).

Пример 17: Общий процесс для стандартного теста на растворение *in vitro* согласно USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3 при наличии добавленного поверхностно-активного вещества Твин 80

Растворение *in vitro* инкапсулированных гранул будесонида ядро-оболочка Примера 1 анализировали, как описано в Ph.Eur. 2.9.3 Тест на растворение для твердых лекарственных форм (с использованием устройства 2) и как описано в USP <711> Растворение (с использованием устройства 2). Измерения производили, как описано ниже.

В этом тесте также были проанализированы три имеющихся в продаже препарата, содержащие будесонид. Три препарата: Entocort® (Tillotts Pharma), Budenofalk® (Dr Falk Pharma GmbH) и Cortiment® (Ferring Pharmaceuticals, CH).

Конфигурация устройства для растворения

Устройство для растворения:	USP <711>/Ph. Eur. 2.9.3, Устройство 2
Размер/тип сосуда:	1000 мл / прозрачное стекло, круглодонный
Скорость вращения:	100 об/мин
Объем среды:	900 мл – устойчивость к кислоте 900 мл – профиль растворения в буфере
Температура проведения исследования:	37,0 ± 0,5 °C
Объем пробы:	15 мл
Замещение:	Нет
Момент времени пробоотбора:	Стадия устойчивости к кислоте: 2 часа Буферная стадия: 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 минут

Проверка pH	Проверьте уровень pH среды растворения до и в каждом сосуде после каждого теста и запишите результат (только буферная среда для растворения)
-------------	--

Высвобождение будесонида измеряли с помощью ультраэффективной жидкостной хроматографии (UPLC).

Реагенты и стандарты

Стандарты и эталонные материалы:

Будесонид, Ph. Eur. CSR или подходящий вторичный стандарт.

Другие реагенты:

Твин 80, (полисорбат (80)), Fisher Scientific или эквивалент.

Среда для растворения и разбавители

Стадия устойчивости к кислоте

0,1 н. раствор HCl. Для того чтобы приготовить 6 л кислотостойкой среды, 50 мл концентрированной HCl объединяли с 6000 мл воды и полученный раствор тщательно перемешивали.

Буферная среда для растворения

Буферный концентрат FaSSIF (от Biorelevant.com, код продукта FASBUF01) использовали для приготовления буферного раствора.

0,05 мас./об.% (0,5 мг/мл) Твин 80 к буферному раствору: например, чтобы получить 6 л буферной среды для растворения, 3 г Твин 80 добавляют к 6 л буферного раствора, чтобы получить концентрацию Твин 80 0,05 мас./об.%.

Полученный раствор хорошо перемешивали и проверяли уровень pH. При необходимости уровень pH доводили до $6,5 \pm 0,05$ с помощью хлороводородной кислоты или гидроксида натрия.

Высвобождение будесонида оценивали на основе критериев приемлемости в USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Пример 18: Анализ профиля растворения капсул будесонида в соответствии с *in vitro* USP<711>/фармакопейным тестом № 2.9.3 при наличии добавленного поверхностно-активного вещества Твин 80

Капсулы с кишечнорастворимым покрытием, наполненные затвердевшими гранулами («капсулы будесонида»), изготовленные, как описано в Примере 1 выше, были протестированы в условиях растворения, описанных в Примере 17.

Общий средний профиль растворения для трех образцов на буферной стадии можно увидеть на Фиг. 19. Не наблюдалось высвобождения будесонида на стадии стойкости к кислоте в момент отбора пробы 2 часа.

Количественные результаты растворения будесонида в различных средах в моменты времени 2 ч при уровне рН 1,2 и 15, 30, 45, 60, 90, 120 и 180 минут на буферной стадии при уровне рН 6,5 приведены в таблице ниже.

	Высвобождение будесонида в кислоте (%)	Высвобождение будесонида на буферной стадии (%)						
		15	30	45	60	90	120	180
Время (мин)	120							
Сосуд 1	0	0	0	0	0	56,9	85,0	97,6
Сосуд 2	0	0	0	0	0	50,0	83,7	97,5
Сосуд 3	0	0	0	0	0	45,8	85,0	101,4
Среднее	0	0	0	0	0	50,9	84,6	98,8
Диапазон	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	46-57	84-85	97-101
SD	0	0	0	0	0	5,6	0,8	2,3

*SD = стандартное отклонение

Высвобождение будесонида оценивали на основе критериев приемлемости в USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Для сравнения профили растворения капсул будесонида и трех других препаратов, содержащих будесонид, были получены согласно протоколу, описанному ниже. Три других препарата, содержащие будесонид, представляют собой Entocort® (Tillots Pharma), Budenofalk® (Dr Falk Pharma GmbH) и Cortiment® (Ferring Pharmaceuticals, CH).

Метод для капсул

Устройство для растворения	USP <711>/Ph. Eur. 2.9.3
Устройство:	Устройство 2
Размер/тип сосуда:	1000 мл / прозрачное стекло, круглодонный
Скорость вращения:	100 об/мин
Объем среды:	900 мл – устойчивость к кислоте 900 мл – профиль растворения в буфере
Температура проведения исследования:	37,0 ± 0,5 °C
Объем пробы:	10 мл

Замещение:	Нет
Моменты времени пробоотбора	Стадия устойчивости к кислоте: 2 часа
Проверка pH	Буферная стадия: 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 минут Проверьте уровень pH раствора после приготовления и снова в каждом сосуде после каждого теста и запишите результат (только буферная среда для растворения).

Стандарты и эталонные материалы

Будесонид, Ph. Eur. CSR.

Другие реагенты:

Твин 80 (полисорбат (80)), Fisher Scientific или эквивалент.

Среда для растворения, подвижная фаза и разбавители

Стадия устойчивости к кислоте

0,1 н. раствор HCl. Например, чтобы приготовить 10 л, 82 мл концентрированной HCl объединяли с 10000 мл воды и хорошо перемешивали.

Буферная среда для растворения

Буферный концентрат FaSSIF от *Biorelevant.com* использовали для приготовления буферного раствора в соответствии с предоставленными инструкциями. Полученный раствор хорошо перемешивали. После приготовления проверяли уровень pH буферного раствора. При необходимости уровень pH доводили до $6,5 \pm 0,05$ с помощью хлороводородной кислоты или гидроксида натрия.

После того как образцы для определения кислотостойкости были отобраны, капсулы извлекли из раствора с помощью клещей и отложили, пока сосуды опорожняли, очищали и заполняли предварительно нагретой буферной средой. 0,05 мас./об.% Твин 80 (или эквивалент) добавляли к каждому сосуду для растворения; например, 450 мг Твин 80 было добавлено в сосуды для растворения после того, как они были заполнены 900 мл предварительно нагретого буфера, чтобы получить концентрацию поверхностно-активного вещества 0,05%.

После того, как все сосуды достигли целевой температуры, эксперимент начали, добавив капсулу в каждый сосуд.

Модификация процедуры для буденофалька

Когда капсула разрушалась во время кислотной стадии, была использована другая процедура. Большую часть кислотной фазы осторожно декантировали, а затем остальную кислоту осторожно удаляли пипеткой, чтобы удалить как можно меньше гранул из сосуда. Буферную стадию начинали добавлением 900 мл предварительно нагретой буферной среды с последующим добавлением Твина.

Отбор проб для обеих стадий

10 мл аспирируют, 8 мл отбрасывают (через фильтр Ватмана), 1 мл отбирают во флакон для ВЭЖХ.

Для того чтобы избежать сомнений, вариации в этом тесте по сравнению с Примером 2 не влияют на общие профили растворения исследуемых продуктов.

Фиг. 20 иллюстрирует профиль растворения капсул будесонида по сравнению с тремя другими препаратами, содержащими будесонид. На этой фигуре ясно видно, что в среде FaSSiF, имитирующей среду в тонкой кишке, капсулы будесонида имеют профиль высвобождения, отличающийся от всех других представленных на рынке препаратов, содержащих будесонид.

Пример 19: Анализ профиля растворения гранул ядро-оболочка при отсутствии капсул, покрытых кишечнорастворимой оболочкой, согласно *in vitro* USP<711>/фармакопейному тесту № 2.9.3

Отвердевшие гранулы ядро-оболочка, полученные в Примере 1 при отсутствии капсулы с кишечнорастворимым покрытием, также тестировали в условиях растворения на буферной стадии (только), как описано в Примере 17.

Общий средний профиль растворения для трех образцов на буферной стадии можно увидеть на Фиг. 21.

Количественные результаты растворения будесонида из гранул ядро-оболочка на буферной стадии при уровне pH 6,5 в моменты времени 15, 30, 45, 60, 90, 120 та 180 минут приведены в таблице ниже.

Время (мин)	Высвобождение будесонида на буферной стадии (%)						
	15	30	45	60	90	120	180
Сосуд 1	43,7	72,0	81,5	88,9	96,6	99,9	101,6
Сосуд 2	29,3	64,9	78,0	84,9	93,1	96,8	99,1
Сосуд 3	47,6	68,2	79,6	86,4	93,9	97,7	99,9

	Высвобождение будесонида на буферной стадии (%)						
Среднее	40,2	68,3	79,7	86,7	94,5	98,1	100,2
Диапазон	29-48	65-72	78-82	85-89	93-97	97-100	99-102
SD	9,7	3,6	1,8	2,0	1,8	1,6	1,3

*SD = стандартное отклонение

Профиль высвобождения гранул ядро-оболочка при отсутствии капсул с кишечнорастворимым покрытием в буферном концентрате FaSSIF дополнительно подтверждает, что основная часть будесонида будет высвобождаться *in vivo* в подвздошную кишку. Следовательно, большая часть высвобождения из гранул происходит в течение 90-минутного окна, и в сочетании с задержкой высвобождения из кишечнорастворимой оболочки для достижения желаемого профиля растворения всей композиции основная часть будесонида будет высвобождена *in vivo* в подвздошную кишку, что подтверждено полученными данными биомаркеров и результатами моделирования, приведенным ниже в Примере 25.

Пример 20: Общий процесс для стандартного теста на растворение *in vitro* согласно USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3 в отсутствие добавленного поверхностно-активного вещества Твин 80

Растворение *in vitro* инкапсулированных гранул будесонида ядро-оболочка Примера 1 анализировали, как описано в Ph.Eur. 2.9.3 Тест на растворение для твердых лекарственных форм (с использованием устройства 2) и как описано в USP <711> Растворение (с использованием устройства 2). Измерения производили, как описано ниже.

В этом тесте также были проанализированы три имеющихся в продаже препарата, содержащие будесонид. Три препарата: Entocort® (Tillotts Pharma), Budenofalk® (Dr Falk Pharma GmbH) и Cortiment® (Ferring Pharmaceuticals, CH).

Конфигурация устройства для растворения

Устройство для растворения:	USP <711>/Ph. Eur. 2.9.3, Устройство 2
Размер/тип сосуда:	1000 мл / прозрачное стекло, круглодонный
Скорость вращения:	100 об/мин
Объем среды:	900 мл – устойчивость к кислоте 900 мл – профиль растворения в буфере
Температура проведения исследования:	37,0 ± 0,5 °C

Объем пробы:	10 мл
Замещение:	Нет
Момент времени пробоотбора:	Стадия устойчивости к кислоте: 2 часа Буферная стадия: 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 минут
Проверка pH	Проверьте уровень pH раствора после приготовления и снова в каждом сосуде после каждого теста и запишите результат (только буферная среда для растворения)

Высвобождение будесонида измеряли с помощью ультраэффективной жидкостной хроматографии (UPLC).

Реагенты и стандарты

Стандарты и эталонные материалы:

Будесонид, Ph. Eur. CSR или подходящий вторичный стандарт.

Среда для растворения и разбавители

Стадия устойчивости к кислоте

0,1 н. раствор HCl. Для того чтобы приготовить 10 л кислотостойкой среды, 82 мл концентрированной HCl объединяли с 10000 мл воды и полученный раствор тщательно перемешивали.

Буферная среда для растворения

Буферный концентрат FaSSIF от *Biorelevant.com* использовали для приготовления буферного раствора в соответствии с предоставленными инструкциями. Полученный раствор хорошо перемешивали. После приготовления проверяли уровень pH буферного раствора. При необходимости уровень pH доводили до $6,5 \pm 0,05$ с помощью хлороводородной кислоты или гидроксида натрия.

После того как образцы для определения кислотостойкости были отобраны, капсулы извлекли из раствора с помощью клещей и отложили, пока сосуды опорожняли, очищали и заполняли 900 мл предварительно нагретой буферной среды.

После того, как все сосуды достигли целевой температуры, эксперимент начали, добавив капсулу в каждый сосуд.

Модификация процедуры для буденофалька

Когда капсула разрушалась во время кислотной стадии, была использована другая процедура. Большую часть кислотной фазы осторожно декантировали, а затем остальную кислоту осторожно удаляли пипеткой, чтобы удалить как можно меньше гранул из сосуда. Буферную стадию начинали добавлением 900 мл предварительно нагретой буферной среды.

Отбор проб для обеих стадий

10 мл аспирируют, 8 мл отбрасывают (через фильтр Ватмана), 1 мл отбирают во флакон для ВЭЖХ.

Высвобождение будесонида оценивали на основе критериев приемлемости в USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Пример 21: Анализ профиля растворения капсул будесонида в соответствии с *in vitro* USP<711>/фармакопейным тестом № 2.9.3 в отсутствие добавленного поверхностно-активного вещества Твин 80

Капсулы с кишечнорастворимым покрытием, наполненные затвердевшими гранулами («капсулы будесонида»), изготовленные, как описано в Примере 1 выше, были протестированы в условиях растворения, описанных в Примере 20.

Общий средний профиль растворения для капсул будесонида можно увидеть на Фиг. 22. Фиг. 22 также содержит профили растворения трех других препаратов, содержащих будесонид, с использованием того же теста, что и препарат сравнения. На этой фигуре ясно видно, что в среде FaSSIF, имитирующей среду в тонкой кишке, капсулы будесонида имеют профиль высвобождения, отличающийся от всех других представленных на рынке препаратов, содержащих будесонид.

Для капсул будесонида и кортимента не наблюдалось высвобождения будесонида на стадии стойкости к кислоте в момент отбора пробы 2 часа. Для энтোকорта наблюдалось высвобождение будесонида в количестве до 0,8%, а для буденофалька наблюдалось высвобождение будесонида в количестве до 0,6% на стадии определения кислотостойкости в момент времени пробоотбора 2 часа.

Количественные результаты растворения будесонида в различных средах в моменты времени 2 часа при уровне рН 1,2 и 15, 30, 45, 60, 90, 120 и 180 минут на буферной стадии при уровне рН 6,5 приведены в таблице ниже как для капсул будесонида, так и для трех препаратов сравнения.

	Высвобожден ие будесонида в кислоте (%)	Высвобождение будесонида на буферной стадии (%)						
Капсулы будесонида								
Время (мин)	120	15	30	45	60	90	120	180
Среднее	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	19,4	77,7	100,1
Диапазон	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	1-44	72-87	98-103
SD	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	14,9	5,5	1,8
Энтокорт								
Среднее	0,8	34,2	55,4	69,4	78,4	89,3	95,5	102,8
Диапазон	1-1	32- 37	53- 57	66-71	75-82	85- 92	91-98	96-109
SD	0,3	1,5	1,7	2,0	2,1	2,5	2,7	4,1
Буденофальк								
Среднее	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8	0,8	1,9
Диапазон	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1	1-1	1-1	2-3
SD	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4
Кортимент								
Среднее	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5
Диапазон	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-1
SD	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2

*SD = стандартное отклонение

Высвобождение будесонида оценивали на основе критериев приемлемости в USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3.

Таблица ниже показывает, что величины f2 для сравнения капсул будесонида согласно изобретению, протестированных с использованием этого метода, с каждым из других имеющихся в продаже продуктов. Величины f2 50 или выше необходимы для демонстрации подобия профилей (FDA SUPAC Guidances 1995, 1997).

Нефекон	Энтокорт ЕС	Буденофальк	Кортимент
Величина F2 (биорелевантная)	11,7	16,1	15,8

Ясно, что профили высвобождения будесонида в значительной степени отличаются среди четырех имеющихся в продаже продуктов. Ни одно из сравнений f_2 между нефеконом и другими продуктами не продемонстрировало сходства, требующего величины f_2 50 или выше. Действительно, на основании оценки f_2 , а также визуального обзора графических профилей, их профили высвобождения должны считаться в значительной степени непохожими.

Пример 22: Первый таблетированный препарат

Таблетки изготавливают путем следующих стадий процесса:

1. *Влажная грануляция.* Смешивают будесонид, маннит, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу и натрий крахмалгликолят. Затем во время смешивания на порошок распыляют смесь этанол-вода. Полученные гранулы затем высушивают.

2. *Окончательное смешивание.* Высушенные гранулы смешивают со стеарилфумаратом натрия.

3. *Таблетирование.* Таблетки прессуют с помощью таблетировающей машины.

4. *Кишечнорастворимая оболочка.* Сополимеры метакриловой кислоты и метилметакрилата, тальк и дибутилсебацинат диспергируют в смеси изопропилового спирта и воды при перемешивании. После этого дисперсию покрытия распыляют на таблетки с помощью аппарата с псевдооживленным слоем.

Пример таблетированной композиции согласно данному изобретению приведен в таблице ниже.

Композиция таблетки.

<u>Компонент</u>	<u>Количество</u> <u>(мг)</u>	<u>Функция</u>
<u>Будесонид</u>	<u>4,00</u>	<u>АФИ (внутригранулярный)</u>
<u>Маннит</u>	<u>81,50</u>	<u>Наполнитель</u> <u>(внутригранулярный)</u>
<u>Гидроксипропилцеллюлоза</u>	<u>5,00</u>	<u>Связывающее вещество</u> <u>(внутригранулярный)</u>
<u>Гидроксипропилцеллюлоза</u>	<u>5,00</u>	<u>Связывающее вещество</u> <u>(внутригранулярный)</u>
<u>Крахмалгликолят натрия</u>	<u>4,00</u>	<u>Разрыхлитель</u> <u>(внутригранулярный)</u>

<u>Компонент</u>	<u>Количество</u> <u>(мг)</u>	<u>Функция</u>
<u>Очищенная вода</u>	* —	<u>Растворитель для влажной</u> <u>грануляции</u>
<u>Этанол</u>	* —	<u>Растворитель для влажной</u> <u>грануляции</u>
<u>Стеарилфумарат натрия</u>	<u>0,50</u>	<u>Смазывающее вещество</u> <u>(экстрагранулярное)</u>
<u>Всего (непокрытая</u> <u>таблетка)</u>	<u>100,00 мг</u>	
Сополимер метакриловой кислоты и метилметакрилата (1:1)	<u>9,85</u>	<u>Полимер</u> <u>кишечнорастворимого</u> <u>покрытия</u>
Сополимер метакриловой кислоты и метилметакрилата (1:2)	<u>3,31</u>	<u>Полимер</u> <u>кишечнорастворимого</u> <u>покрытия</u>
Тальк	<u>3,31</u>	<u>Глидант, однородность</u> <u>покрытия</u>
Дибутилсебацат	<u>2,55</u>	<u>Пластификатор</u>
Изопропиловый спирт	* —	<u>Растворитель для покрытия</u>
Очищенная вода	* —	<u>Растворитель для покрытия</u>
<u>Всего (непокрытая</u> <u>таблетка)</u>	<u>119,02 мг</u>	

*Удаляются в процессе.

Пример 23: Второй таблетированный препарат

Таблетки изготавливают путем следующих стадий процесса:

1. *Влажная грануляция.* Будесонид сначала смешивают с коллоидным кремнеземом. Затем добавляют микрокристаллическую целлюлозу и двухосновный фосфат кальция с последующим дополнительным перемешиванием. Затем раствор гидроксипропилцеллюлозы в смеси этанол-вода распыляют на порошок во время перемешивания. Полученные гранулы затем высушивают.

2. *Перемешивание.* Высушенные гранулы смешивают с микрокристаллической целлюлозой, крахмалгликолятом натрия и коповидоном. На

последней стадии смешивания к смеси добавляют стеарат магния с последующим окончательным перемешиванием.

3. *Таблетирование.* Таблетки прессуют с помощью таблетировающей машины.

4. *Кишечнорастворимая оболочка.* Сополимеры метакриловой кислоты и метилметакрилата, тальк и дибутилсебацинат диспергируют в смеси изопропилового спирта и воды при перемешивании. После этого дисперсию покрытия распыляют на таблетки с помощью дражировочного котла.

Пример таблетированной композиции согласно данному изобретению приведен в таблице ниже.

Композиция таблетки.

<u>Компонент</u>	<u>Количество</u> <u>(мг)</u>	<u>Функция</u>
<u>Будесонид,</u> <u>микронизированный</u>	<u>4,00</u>	<u>АФИ (внутригранулярный)</u>
<u>Коллоидный диоксид</u> <u>кремния</u>	<u>0,50</u>	<u>Глидант (внутригранулярный)</u>
<u>Двухосновный фосфат</u> <u>кальция</u>	<u>16,00</u>	<u>Наполнитель</u> <u>(внутригранулярный)</u>
<u>Микрокристаллическая</u> <u>целлюлоза</u>	<u>15,50</u>	<u>Наполнитель</u> <u>(внутригранулярный)</u>
<u>Гидроксипропилцеллюлоза</u>	<u>4,00</u>	<u>Связывающее вещество</u> <u>(внутригранулярный)</u>
<u>Этанол</u>	<u>*</u> <u>—</u>	<u>Растворитель для влажной</u> <u>грануляции</u>
<u>Очищенная вода</u>	<u>*</u> <u>—</u>	<u>Растворитель для влажной</u> <u>грануляции</u>
<u>Микрокристаллическая</u> <u>целлюлоза</u>	<u>53,50</u>	<u>Наполнитель</u> <u>(экстрагранулярный)</u>
<u>Коповидон</u>	<u>5,00</u>	<u>Связывающее вещество</u> <u>(экстрагранулярное)</u>
<u>Крахмалгликолят натрия</u>	<u>1,00</u>	<u>Разрыхлитель</u> <u>(экстрагранулярный)</u>

<u>Компонент</u>	<u>Количество</u> <u>(мг)</u>	<u>Функция</u>
Стеарат магния	0,50	Смазывающее вещество (экстрагранулярное)
<u>Всего (непокрытая таблетка)</u>	<u>100,00 мг</u>	
Сополимер метакриловой кислоты и метилметакрилата (1:1)	9,85	Полимер кишечнорастворимого покрытия
Сополимер метакриловой кислоты и метилметакрилата (1:2)	3,31	Полимер кишечнорастворимого покрытия
Тальк	3,31	Глидант, однородность покрытия
Дибутилсебацат	2,55	Пластификатор
Изопропиловый спирт	* –	Растворитель для покрытия
Очищенная вода	* –	Растворитель для покрытия
<u>Всего (непокрытая таблетка)</u>	<u>119,02 мг</u>	

*Удаляются в процессе.

Пример 24: Третий таблетированный препарат

Компоненты таблетки:

Компонент	Количество (мг)	Функция
Будесонид, микронизированный	4	Активный фармацевтический ингредиент (АФИ)
Микрокристаллическая целлюлоза	61,5	Наполнитель
Дигидрат гидрофосфата кальция	10	Наполнитель
Гипромеллоза, 100 мПас	10	Наполнитель/гелеобразующий агент
Гипромеллоза, 4000 мПас	10	Наполнитель/гелеобразующий агент

Компонент	Количество (мг)	Функция
Кросповидон	4	Разрыхлитель
Очищенная вода	*	Растворитель для влажной грануляции
Стеарилфумарат натрия	0,5	Смазывающее вещество
Всего, непокрытая таблетка	100	
Сополимер метакриловой кислоты и метилметакрилата (1:1)	8,7	Полимер кишечнорастворимого покрытия
Сополимер метакриловой кислоты и метилметакрилата (1:2)	2,9	Полимер кишечнорастворимого покрытия
Тальк	2,9	Глидант, однородность покрытия
Дибутилсебацинат	2,2	Пластификатор
Изопропиловый спирт	*	Растворитель для покрытия
Очищенная вода	*	Растворитель для покрытия
Всего, непокрытая таблетка	117	

*Удаляются в процессе изготовления.

Производство таблеток без оболочки (размер партии 200 г)

1. Будесонид и все вспомогательные вещества, кроме стеарилфумарата натрия, смешивали с помощью миксера Turbula (перемешивание при 46 об/мин в течение 75 мин).
2. Порошковую смесь гранулировали распылением воды на порошок во время перемешивания. Количество распыленной воды составляло 15% от массы сухого порошка.
3. Гранулы сушили в течение ночи при 50°C.
4. Высушенные гранулы смешивали со стеарилфумаратом натрия (смазочное вещество) в течение 10 минут при 46 об/мин, используя смеситель Turbula.
5. Таблетки прессовали до массы таблетки без оболочки 100 мг.

Приготовление дисперсии покрытия

Дисперсию покрытия готовили с композицией, приведенной в таблице ниже.

Дисперсию готовили в соответствии со следующими стадиями:

1. Смесь растворителей готовили путем смешивания изопропилового спирта, воды и дибутилсебацата в сосуде (сосуд А).
2. Суспензию Eudragit готовили переносом примерно половины смеси растворителей (в сосуде А) в другой сосуд (сосуд В). После этого Eudragit L100 и Eudragit S100 медленно добавляли в сосуд В во время перемешивания. После этого суспензию Eudragit в сосуде В перемешивали еще 30-60 мин.
3. Тальк медленно добавляли к смеси оставшихся в сосуде А растворителей во время перемешивания миксером с высоким усилием сдвига. После этого суспензию талька перемешивали в течение дополнительных 10 минут с помощью миксера с высоким усилием сдвига.
4. Потом суспензию талька в сосуде А медленно выливали в суспензию Eudragit (сосуд В) во время перемешивания.
5. После этого смесь в сосуде В перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре.
6. Смесь пропускали через сито 0,5 мм.
7. После этого готовую дисперсию покрытия хранили при комнатной температуре при непрерывном перемешивании до и во время нанесения покрытия.

Товарное название	Количество (г)	Поставщик
Eudragit L100 (Сополимер метакриловой кислоты типа А)	39,4	Evonik
Eudragit S100 (Сополимер метакриловой кислоты типа В)	13,22	Evonik
Тальк, степень чистоты Pharma М	13,22	Imerys
Дибутилсебацат USP/NF	10,18	Merck
Изопропиловый спирт	594,36	-
Очищенная вода	20,44	-
Всего	690,82	

Нанесение покрытия на таблетки (размер партии 50 г)

Таблетки покрывали, используя дражировочный котел из нержавеющей стали диаметром 12 см и стандартную распылительную насадку. Увеличение массы покрытия

определяли путем взвешивания образцов таблеток после разной продолжительности нанесения покрытия. Использовали следующие параметры распыления:

- Скорость вращения дражировочного котла: 20-30 об/мин.
- Температура продукта: 24-27°C.
- Скорость насоса: 250-260 мкл/мин.
- Давление воздуха в насадке-распылителе: 0,25 бар

In vitro растворение таблеток

Профили растворения таблеток *in vitro* анализировали согласно протоколу, изложенному в Примере 6 выше (сравнительный тест согласно USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3 в отсутствие поверхностно-активного вещества на стадии фосфатного буфера и при скорости вращения лопасти 100 об/мин) и протоколу, описанному в Примере 20 выше (Общий процесс для стандартного испытания растворения *in vitro* согласно USP<711>/Ph.Eur. 2.9.3 в буфере FaSSIF в отсутствие добавленного поверхностно-активного вещества Твин 80 при 100 об/мин). Значение растворения в определенные моменты времени можно увидеть ниже.

		Растворение (%)				
		НСI 2 ч	буфер 15 мин	буфер 30 мин	буфер 60 мин	буфер 120 мин
Фосфат буфер рН 6,8	Таблетка 1	0	0	0	14,3	75,8
	Таблетка 2	0	0	0	44,9	87,0
	Среднее	0	0	0	29,6	81,4
FaSSIF	Таблетка 1	0	0	0	36,1	75,7
	Таблетка 2	0	0	0	30,3	72,2
	Среднее	0	0	0	33,2	73,9

Высвобождение будесонида из этих таблеток соответствует профилю растворения, необходимому для достижения высвобождения большей части агента в подвздошную кишку. Особенно удивительно то, что комбинация гелеобразователя (гипромеллозы) с разрыхлителем (кросповидоном) позволила добиться правильного профиля растворения *in vitro*. В то же время ожидается, что можно добиться желаемого профиля высвобождения с помощью других таблетированных препаратов.

Пример 25: *In silico* моделирование сайта высвобождения капсул будесонида

Физиологическую фармакокинетическую (PBPK) модель капсул, полученных в Примере 1 («капсулы будесонида» или «нефекон-будесонид»), запускали с помощью программного обеспечения GastroPlus® (Simulations Plus, Калифорния; версия 9.8.3002).

Высвобождение *in vitro* капсул будесонида на кислотной стадии (первые 2 часа) с последующей буферной стадией согласно протоколу, изложенному в Примере 2, было загружено в программное обеспечение РВРК. IVIVC (корреляция *in vitro in vivo*) была получена для корреляции прогноза модели РВРК с измеренными фармакокинетическими результатами. Прогнозируемая *S*_{тах} достигалась быстрее и была выше, чем наблюдалась. Однако известно, что будесонид подвергается метаболизму в кишечной стенке в тонкой кишке (Seidegård J et al., *Presystemic elimination of budesonide in man when administered locally at different levels in the gut, with and without local inhibition by ketoconazole*. Eur J Pharm Sci. 2008 Nov 15;35(4):264-70; Raje et al. *Evaluation of separate role of intestine and liver in first pass metabolism of budesonide in rat* Xenobiotica. 2018 Dec;48(12):1206-1214). После введения метаболизма кишечной стенки в модель РВРК было достигнуто хорошее соответствие данным.

Как можно увидеть на Фиг. 23(a), модель IVIVC РВРК подтвердила, что капсулы будесонида начали высвобождать будесонид только после достижения подвздошной кишки, и по меньшей мере около 90% будесонида высвобождалось по всей подвздошной кишке, а небольшой остаток высвобождался в отделе кишечника после подвздошной кишки (то есть слепая кишка). Следовательно, эта модель подтверждает, что композиция, имеющая профиль высвобождения *in vitro*, как определено в изобретении, обеспечивает высвобождение полезной нагрузки будесонида к месту наивысшей концентрации пятен Пейера в кишечном тракте, которым является подвздошная кишка, и, следовательно, любая композиция, которая соответствует этому профилю высвобождения будет эффективной при лечении нефропатии IgA.

Высвобождение будесонида из Entocort® (Tillotts Pharma) также было смоделировано с помощью программного обеспечения GastroPlus®, и результаты показали, что весь будесонид высвобождался до того, как препарат попал в отдел подвздошной кишки тонкой кишки (см. Фиг. 23(b)).

Пример 26: Исследование высвобождения содержимого капсулы *in vivo*

Было проведено исследование, чтобы оценить, где и когда капсулы, покрытые тем же кишечнорастворимым покрытием, что и капсулы, описанные в Примере 1, высвобождают свое содержимое в желудочно-кишечном тракте.

В этом исследовании капсулы VCaps большого размера 1 ГПМЦ были заполнены 75 мг кофеина, 10 мг черного оксида железа и 87,5 мг дегидрата глюконата марганца. Было добавлено 140,9 мг сахарных шариков (также называют пеллетами), чтобы воспроизвести общую массу ядер в капсулах, описанных в Примере 1. Затем на капсулы наносили такое

же кишечнорастворимое покрытие, используя тот же процесс нанесения покрытия и то же оборудование и средства, что и для капсул, описанных в Примере 1.

Кофеин помещали внутрь капсул, чтобы использовать его в качестве маркера для определения момента высвобождения содержимого капсулы путем измерения появления кофеина в слюне в разные моменты времени. Кофеин быстро всасывается после высвобождения в кишечнике, поэтому появление кофеина в слюне является чувствительным маркером открытия капсулы (Sager et al. Low dose caffeine as a salivary tracer for the determination of gastric water emptying in fed and fasted state: A MRI validation study. *Eur J Pharm Biopharm* 127:443-452 (2018)). Оксид железа поместили внутрь капсулы, чтобы с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) можно было определить положения капсулы во время ее движения через желудочно-кишечный тракт путем визуализации оксида железа.

Исследование проводили в университетской клинике в Грайфсвальде, Германия, как открытое, одноцентровое исследование с участием 12 здоровых молодых людей. За три дня до участия в исследовании субъекты прекратили употреблять еду и напитки, содержащие кофеин, и голодали в течение ночи перед исследованием по меньшей мере 10 часов.

Перед тем, как каждый участник проглотил кишечнорастворимую капсулу со стаканом воды, было проведено МРТ-сканирование и взят образец слюны. Затем МРТ-сканирование проводили каждые 15 минут в течение первых четырех часов, а затем каждые 30 минут до завершения исследования. Образцы слюны отбирали через одну минуту после каждого МРТ-сканирования. МРТ-визуализацию проводили с помощью МР-сканера Siemens MAGNETOM Avanto (Siemens Healthcare, Эрланген, Германия) с напряженностью поля 1,5 Тесла, а данные изображения анализировали с помощью Horos 2.2.0 (The Horos Project). Все измерения у субъекта проводили в положении лежа (лежа на спине, голова поднята). Образцы слюны анализировали с помощью LCMS 8060 (Shimadzu Corporation, Киото, Япония) и соответствующим образом готовили с этой целью.

Фиг. 24 иллюстрирует изображение МРТ для разных мест в желудочно-кишечном тракте. Через 15 и 90 минут капсула невредима и находится в желудке и пустой кишке соответственно, тогда как через 270 минут содержимое капсулы высвобождается, а оксид железа диспергируется в подвздошной кишке.

Среднее время опорожнения желудка для капсул (время, за которое капсула вышла из желудка) составляло 58 ± 30 мин (наибольшее наблюдаемое время опорожнения желудка составляло 112,5 мин). Эти значения соответствуют обычному времени опорожнения желудка для крупных нераспадающихся лекарственных форм (Wilson et al. Chapter 3. *Gastrointestinal Transit and Drug Absorption* (pages 41 to 65) в "Oral Drug Absorption: Prediction

and Assessment" Edited by J. Dressman and C. Reppas - 2nd. Edition Drug and the Pharmaceutical Sciences Vol. 193 Marcel Dekker, NY, NY ISBN-13: 978-1-4200-7733-9 (2010)). Ни одна из капсул не распалась в желудке.

Первый момент времени с измеренной концентрацией ≥ 10 нг/мл кофеина в неразбавленной слюне считался «появлением кофеина в слюне». Как показано в таблице ниже, среднее время первого появления кофеина в слюне составляло 238 минут после приема капсулы со стандартным отклонением 47 минут и диапазоном 158-345 минут. После вычитания времени опорожнения желудка индивида из времени, когда кофеин впервые появился в его слюне, время высвобождения кофеина после попадания в тонкий кишечник было рассчитано как 181 ± 31 минута (диапазон 120-233 минуты). Эти значения указывают на то, что открытие капсулы, покрытой кишечнорастворимой оболочкой, и высвобождение кофеина находились в пределах обычного диапазона времени прохождения тонким кишечником (3,5-4,5 часа (210-270 минут)) (Wilson et al. Chapter 3. Gastrointestinal Transit and Drug Absorption (pages 41 to 65) в "Oral Drug Absorption: Prediction and Assessment" Edited by J. Dressman and C. Reppas - 2nd. Edition Drug and the Pharmaceutical Sciences Vol. 193 Marcel Dekker, NY, NY ISBN-13: 978-1-4200-7733-9 (2010)).

В таблице приведены индивидуальные и средние результаты времени опорожнения желудка (как определено с помощью МРТ), времени появления кофеина в слюне и времени появления кофеина в слюне после опорожнения желудка.

Субъект	Время опорожнения желудка (мин)	Время появления кофеина в слюне после принятия капсулы (мин)	Время появления кофеина в слюне после опорожнения желудка (мин)
001	53	203	150
002	83	255	173
003	68	255	188
004	23	218	195
005	38	218	180
006	113	345	233
007	8	218	210
008	53	218	165
009	68	285	218
010	53	233	180
011	98	255	158

Субъект	Время опорожнения желудка (мин)	Время появления кофеина в слюне после принятия капсулы (мин)	Время появления кофеина в слюне после опорожнения желудка (мин)
012	38	158	120
среднее	58	238	181
SD	30	47	31

Исходя из первого появления кофеина в слюне и расположения оксида железа на соответствующем МРТ-изображении, капсулы с кишечнорастворимой оболочкой открылись и высвободили свое содержание в подвздошную кишку у 11 из 12 субъектов. Таким образом, исследование подтверждает, что кишечнорастворимое покрытие и капсула, описанные в Примере 1, всегда приводят к высвобождению содержимого капсулы в подвздошную кишку. Гранулы, содержащиеся в Примере 1, начинают высвобождать будесонид после открытия капсулы, причем большая часть высвобождения происходит в течение одного часа. Сравнивая среднее время прохождения гранул через тонкую кишку от 3,5 до 4,5 часов (Wilson et al. Chapter 3. Gastrointestinal Transit and Drug Absorption (pages 41 to 65) в "Oral Drug Absorption: Prediction and Assessment" Edited by J. Dressman and C. Reppas - 2nd. Edition Drug and the Pharmaceutical Sciences Vol. 193 Marcel Dekker, NY, NY ISBN-13: 978-1-4200-7733-9 (2010)) со средним временем открытия капсул после того, как они достигнут тонкой кишки (181 минута в данном исследовании), плюс время, необходимое для высвобождения большей части будесонида из гранул (около одного часа), можно сделать вывод, что большая часть будесонида будет высвобождена из гранул в дистальный отдел подвздошной кишки и, таким образом, будет направлена к расположенным там пятнам Пейера.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения нефропатии IgA, включающий:
 - (i) идентификацию фармацевтически приемлемой композиции, предназначенной для лечения нефропатии IgA, содержащей будесонид и одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом данная композиция отвечает следующим требованиям в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания;
 - (a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2;
 - (b) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 30 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8; и
 - (c) композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 70% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8;
 - (ii) при этом способ включает стадию введения указанной композиции пациенту с нефропатией IgA, нуждающемуся в указанном лечении.

2. Применение композиции, содержащей комбинацию будесонида и одного или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом композиция отвечает следующим требованиям:
 - (i) в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания;
 - (a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2;

(b) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 30 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8; и

(c) композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 70% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8;

для изготовления лекарственного препарата для лечения нефропатии IgA.

3. Композиция, содержащая комбинацию будесонида и одного или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом композиция отвечает следующим требованиям:

(i) в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания;

(a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 1,2;

(b) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 30 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8; и

(c) композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 70% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень pH около 6,8;

для применения в лечении нефропатии IgA.

4. Композиция, содержащая комбинацию будесонида и одного или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, обеспечивающих модифицированное высвобождение упомянутого будесонида после введения в желудочно-кишечный тракт, при этом композиция отвечает следующим требованиям в стандартном *in vitro* испытании на растворение в соответствии с USP<711>/Ph.Eur 2.9.3 с использованием устройства для растворения в соответствии с Устройством 2 (лопастная мешалка) указанного испытания;

- (a) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень рН около 1,2;
 - (b) композиция отвечает требованию, что не более чем около 10% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 30 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень рН около 6,8; и
 - (c) композиция отвечает требованию, что по меньшей мере около 70% будесонида высвобождается в среду для растворения в течение около 120 минут, когда среда для растворения является водной и имеет уровень рН около 6,8.
5. Способ по п. 1, применение по п. 2, композиция для применения по п. 3 или композиция по п. 4, отличающиеся тем, что композиция содержит одно или более ядер, содержащих будесонид, при этом ядра покрыты фармацевтически приемлемой полимерной смесью с пролонгированным высвобождением, содержащей нерастворимый в воде полимер и порообразующий полимер.
6. Способ, применение, композиция для применения или композиция по п. 5, отличающиеся тем, что ядра инкапсулированы в покрытие с отсроченным высвобождением.
7. Способ, применение, композиция для применения или композиция по п. 5 или 6, отличающиеся тем, что инкапсулированные ядра расположены в капсуле, а покрытие с отсроченным высвобождением нанесено на капсулу.
8. Способ, применение, композиция для применения или композиция по п. 6 или 7, отличающиеся тем, что покрытие полимерной смеси с пролонгированным высвобождением и покрытие с отсроченным высвобождением позволяет в значительной степени предотвратить высвобождение содержимого указанной композиции до достижения участка подвздошной кишки тонкого кишечника.
9. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 5-8, отличающиеся тем, что нерастворимый в воде полимер находится в количестве от около 45% мас. до около 90% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением, а порообразующий полимер присутствует в количестве от около 35% мас. до около 5% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным

высвобождением, например нерастворимый в воде полимер присутствует в количестве от около 45% мас. до около 65% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением, а порообразующий полимер присутствует в количестве от около 35% мас. до около 15% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением, при этом, например, нерастворимый в воде полимер присутствует в количестве около 47% мас. до около 55% мас., а порообразующий полимер присутствует в количестве от около 32% мас. до около 22% мас. от общего количества покрытия с пролонгированным высвобождением.

10. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 5-9, отличающиеся тем, что порообразующий полимер растворим в воде.

11. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 5-10, отличающиеся тем, что полимерная смесь с пролонгированным высвобождением, наносимая на одно или более ядер, способна к коалесценции.

12. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 5-11, отличающиеся тем, что полимерная смесь с пролонгированным высвобождением, наносимая на одно или более ядер, содержит один или более полимеров, способных к коалесценции.

13. Способ, применение, композиция для применения или композиция по п. 11 или 12, отличающиеся тем, что один или более способных к коалесценции полимеров включают нерастворимый в воде полимер.

14. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 5-13, отличающиеся тем, что полимерная смесь с пролонгированным высвобождением содержит нерастворимый в воде полимер в количестве между около 45% мас. и около 65% мас., например от около 47% мас. до около 56% мас.

15. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 5-14, отличающиеся тем, что полимерная смесь с пролонгированным высвобождением содержит порообразующий полимер в количестве между около 35% мас. и около 15% мас., например от около 32% мас. до около 22% мас.

16. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 5-15, отличающиеся тем, что нерастворимый в воде полимер представляет собой этилцеллюлозу.

17. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 5-16, отличающиеся тем, что порообразующий полимер имеет номинальную вязкость от около 1 до около 300 мПа*с, например, от около 1 до около 50 мПа*с, например от около 1 до около 30 мПа*с, например, от около 1 до около 20 мПа*с, например, от около 1 до около 10 мПа*с, например, от около 2 до около 9 мПа*с, например, от около 2 до около 7 мПа*с, предпочтительно от около 2 до около 6 мПа*с.

18. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 5-17, отличающиеся тем, что порообразующий полимер имеет температуру гелеобразования от около 35 до около 65°C, например от около 55 до около 65°C, например от около 58 до около 64°C.

19. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 5-18, отличающиеся тем, что порообразующий полимер включает гидроксипропилметилцеллюлозу (ГПМЦ).

20. Способ, применение, композиция для применения или композиция по п. 19, отличающиеся тем, что степень замещения ГПМЦ метоксигруппами составляет от около 15 до около 35% мас., например от около 25 до около 35% мас. или от около 27 до около 31% мас., например, от около 27 до около 30% мас.

21. Способ, применение, композиция для применения или композиция по п. 19 или 20, отличающиеся тем, что степень замещения ГПМЦ гидроксипропокси-группами составляет от около 4 до около 32% мас., например, от около 4 до около 20% мас. или от около 5 до около 15% мас., например, от около 7 до около 12% мас.

22. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пунктов 5-21, отличающиеся тем, что полимерная смесь с пролонгированным высвобождением присутствует в количестве от около 5 до около 18% мас. от общего количества композиции гранул, например, от около 6 до около 16% мас. от общего

количества композиции гранул, например, от около 6 до около 12% мас. от общего количества композиции гранул.

23. Способ приготовления композиции, как определено в любом из пп. 5-22, отличающийся тем, что ядра покрывают в устройстве с псевдооживленным слоем.

24. Способ по п. 23 (в зависимости от любого из пп. 11-22), отличающийся тем, что коалесценция полимерного материала также осуществляется в устройстве с псевдооживленным слоем.

25. Композиция, которую можно получить с помощью способа по п. 23 или 24.

26. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из пп. 6-22, отличающиеся тем, что указанное покрытие с отсроченным высвобождением представляет собой кишечнорастворимое покрытие.

27. Способ, применение, композиция для применения или композиция по п. 26, отличающиеся тем, что кишечнорастворимое покрытие содержит полимер, выбранный из списка, который состоит из азополимеров, дисульфидных полимеров, ацетата целлюлозы, ацетата-сукцината целлюлозы, ацетата-фталата целлюлозы, тетрагидрофталата-ацетата целлюлозы, поливинилацетатфталата, фталата гидроксиэтилцеллюлозы, сополимеров метакриловой кислоты, сополимеров полиметакриловой кислоты/акриловой кислоты, сополимеров стирола и малеиновой кислоты, фталата гидроксипропилметилцеллюлозы, акриловых смол, тримелитата ацетата целлюлозы, тримелитата гидроксипропилметилцеллюлозы, шелака, фталата гидроксиэтилэтилцеллюлозы, ацетата-сукцината карбоксиметилцеллюлозы и гидроксипропилметилцеллюлозы.

28. Способ, применение, композиция для применения или композиция по любому из предыдущих пунктов, отличающиеся тем, что лечение нефропатии IgA выявляют по статистически значимому снижению уровня одного или более биомаркеров, связанных с активацией и/или пролиферацией В-клеток, относительно исходного уровня одного или нескольких биомаркеров в сыворотке у субъекта до лечения.

29. Способ, применение, композиция для применения или композиция по п. 28, отличающиеся тем, что один или более биомаркеров являются сывороточным фактором

активации В-клеток или иммуноглобулином или иммуноглобулиновым комплексом, связанным с патогенезом нефропатии IgA.

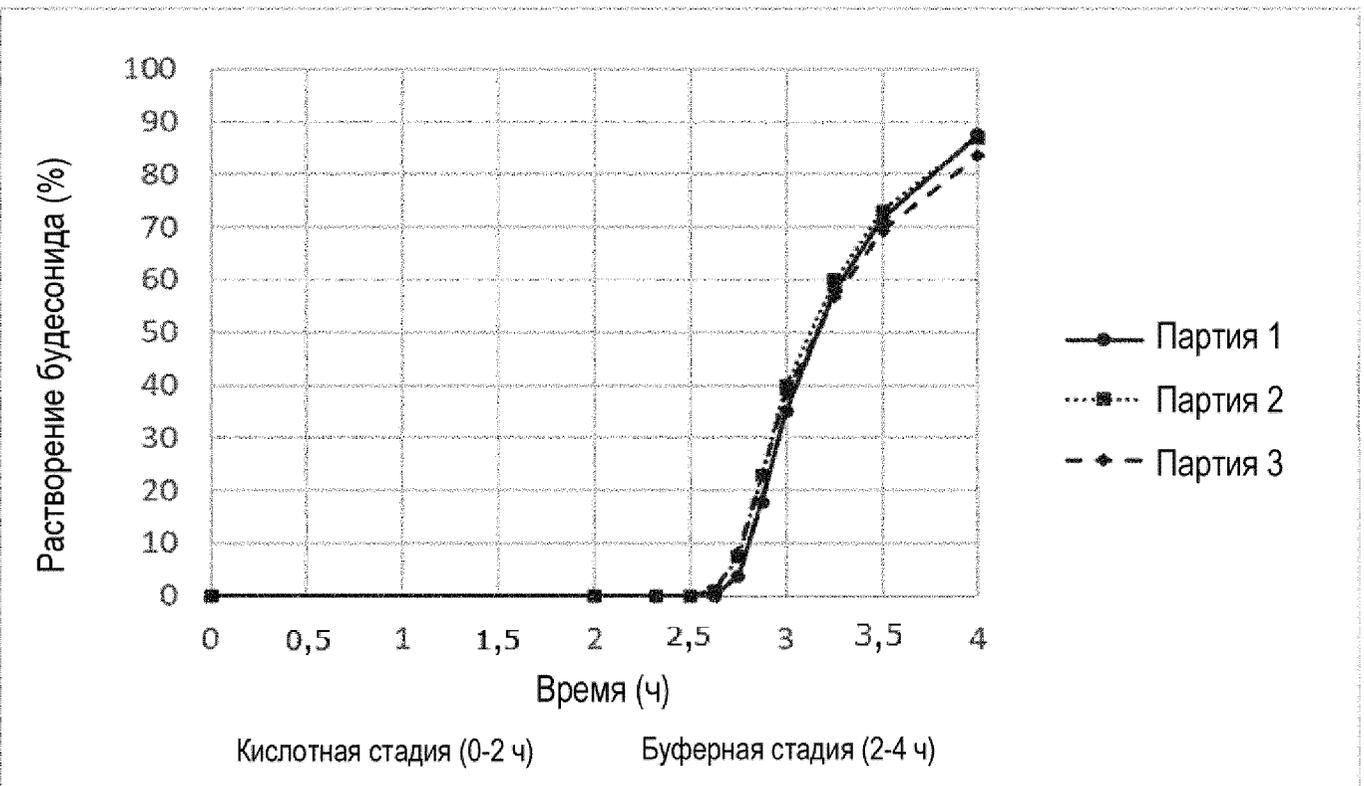
30. Способ, применение, композиция для применения или композиция по п. 28, отличающиеся тем, что снижение исходного уровня в сыворотке составляет по меньшей мере 5%, например по меньшей мере 10%.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ
БУДЕСНИД, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕФРОПАТИИ IgA

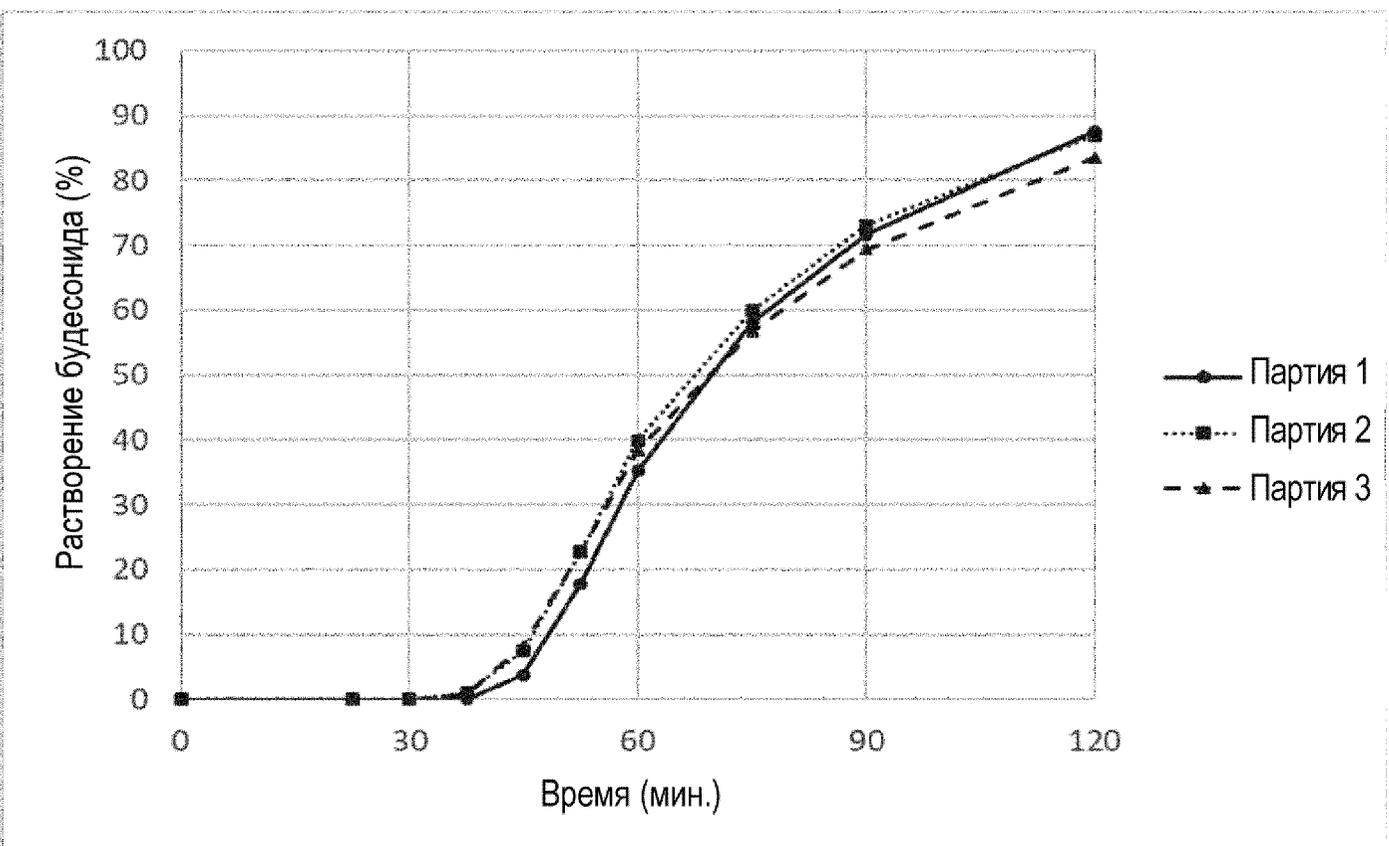
1/24



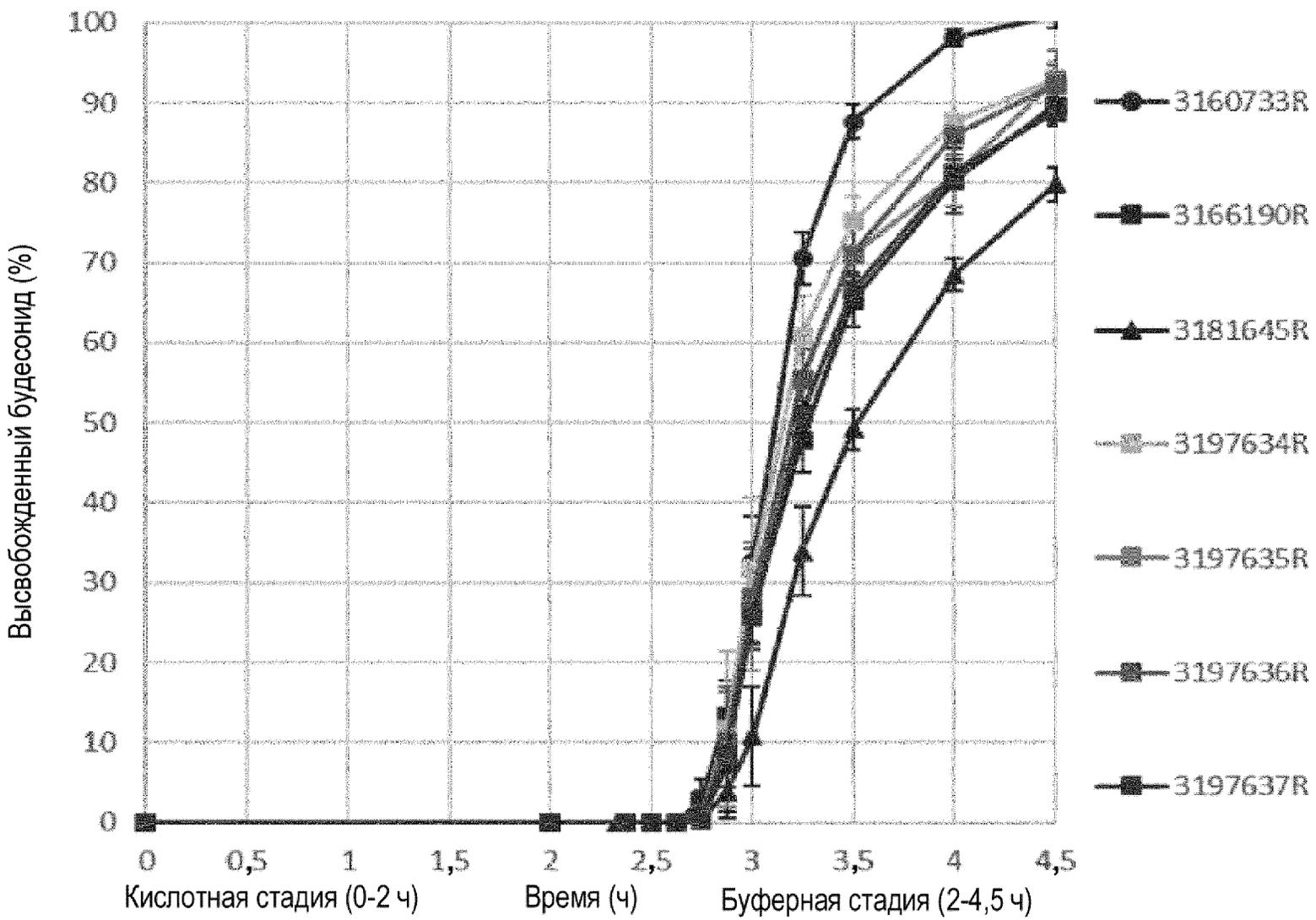
Фиг. 1



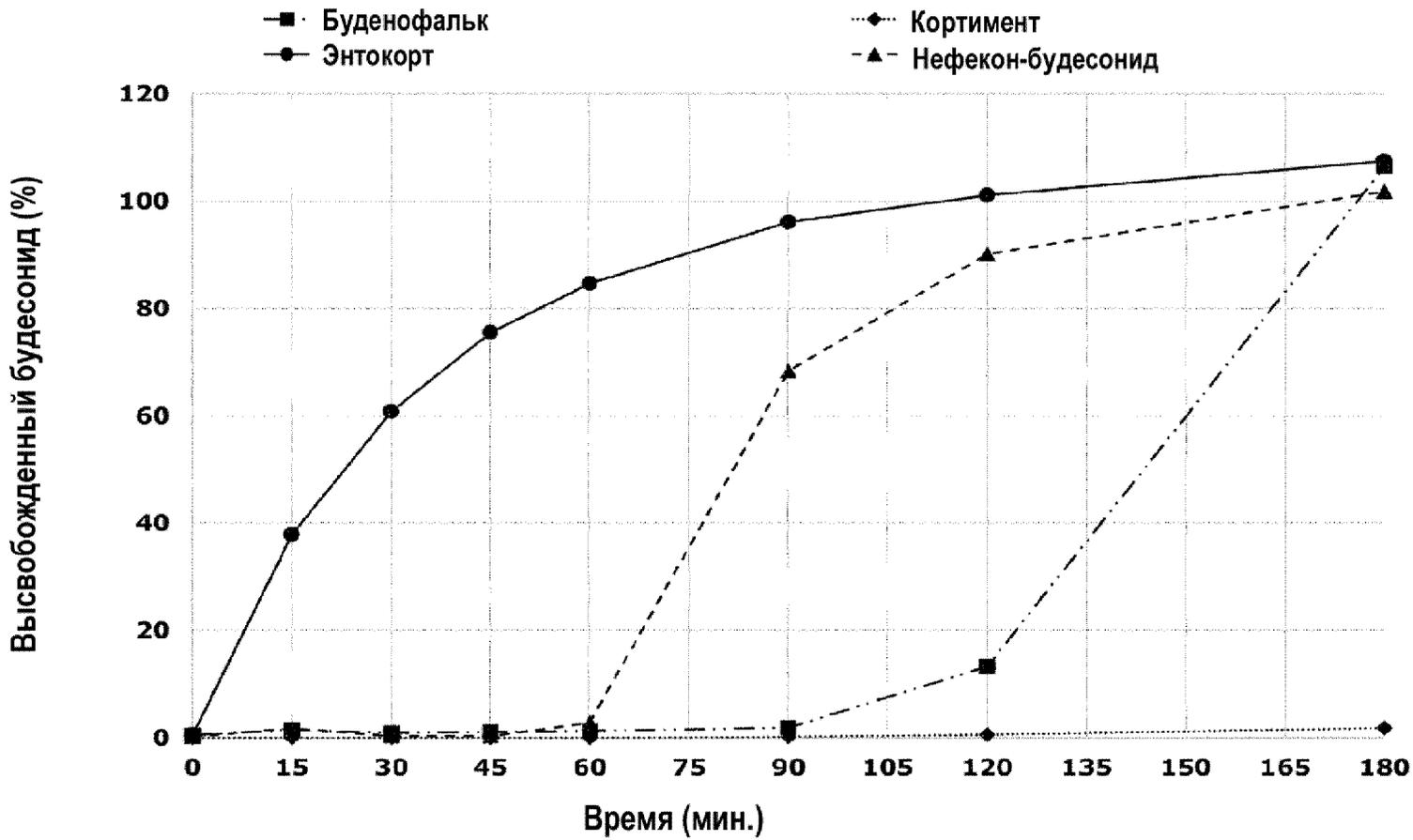
ФИГ. 2



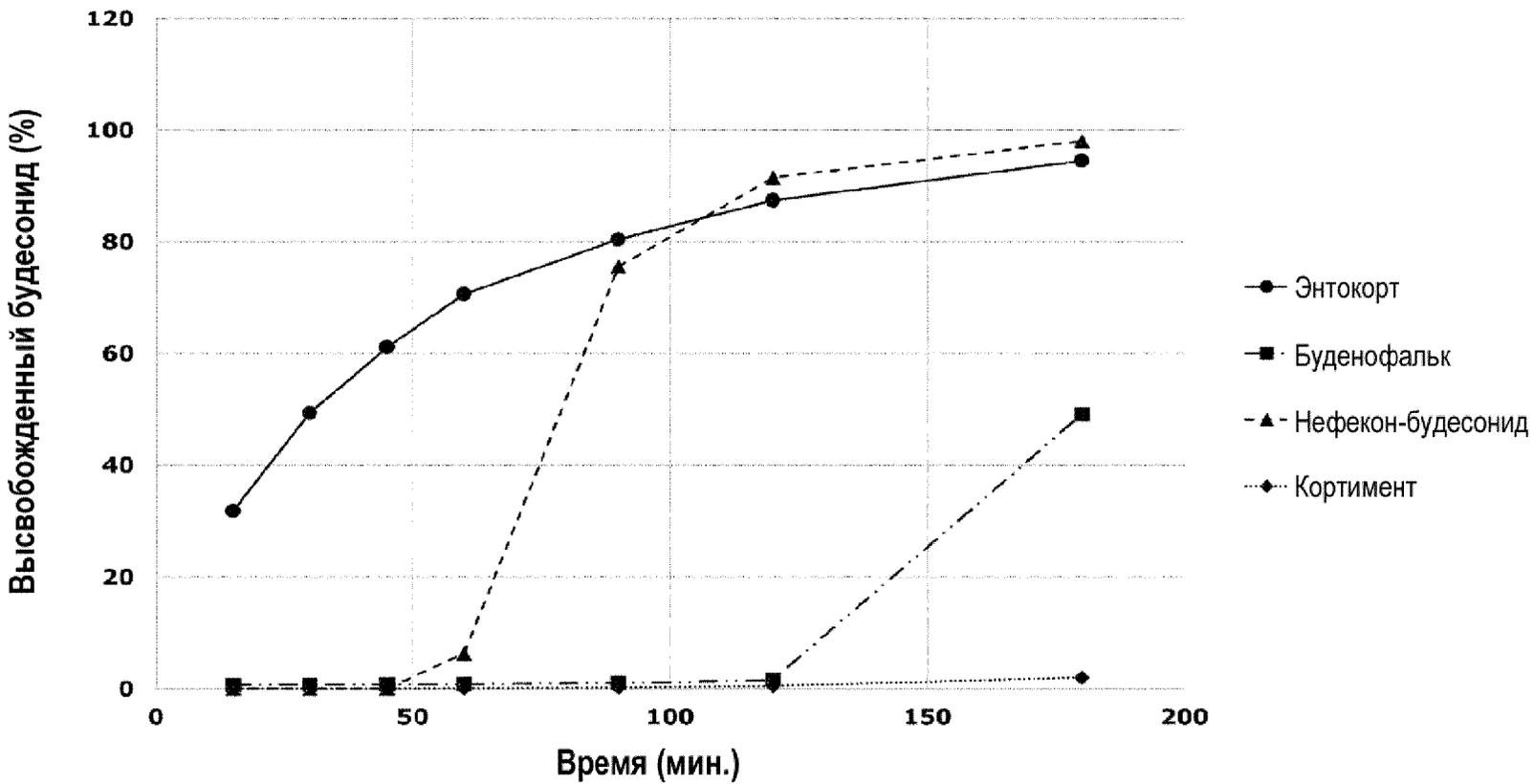
ФИГ. 3



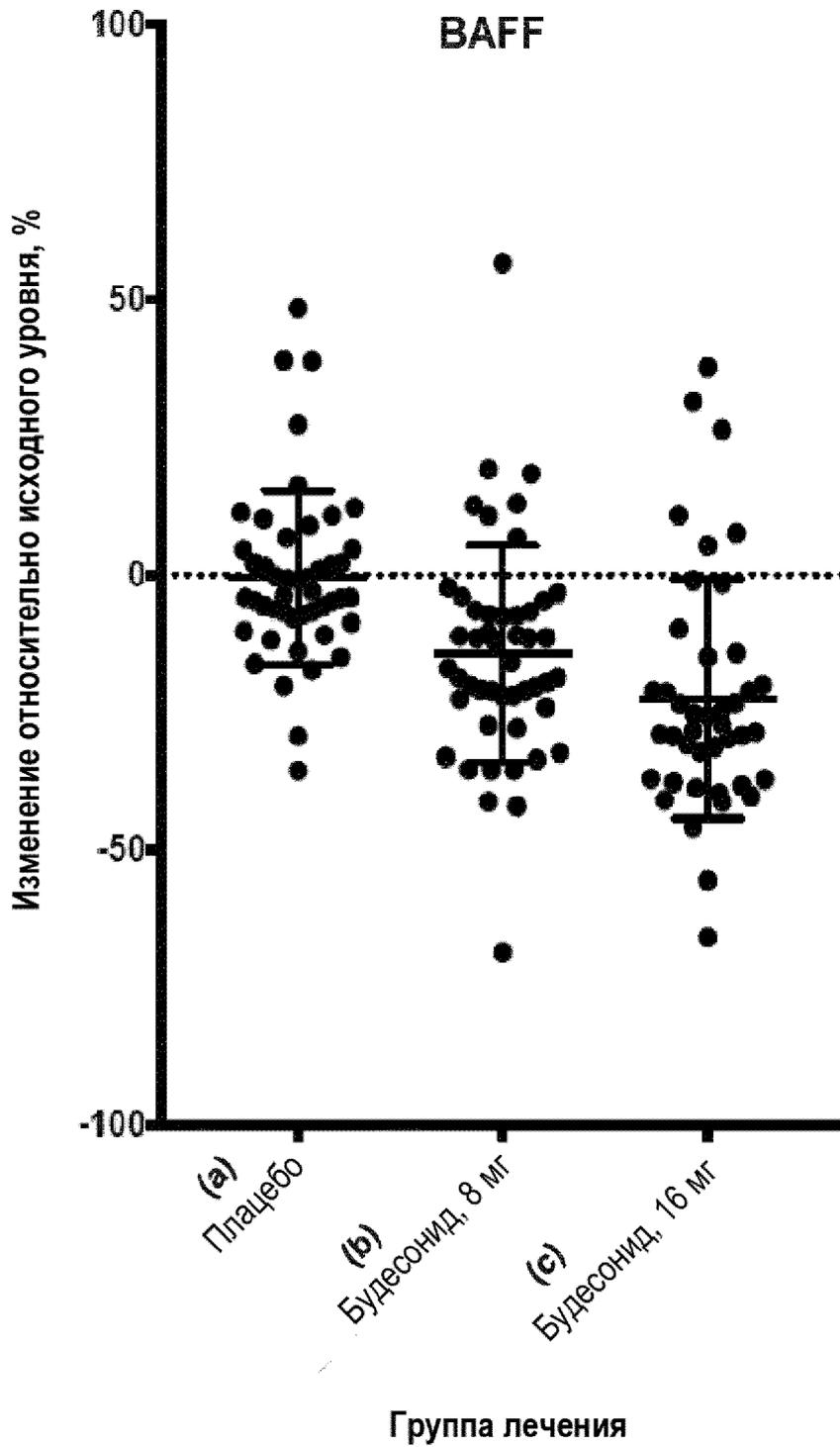
ФИГ. 4



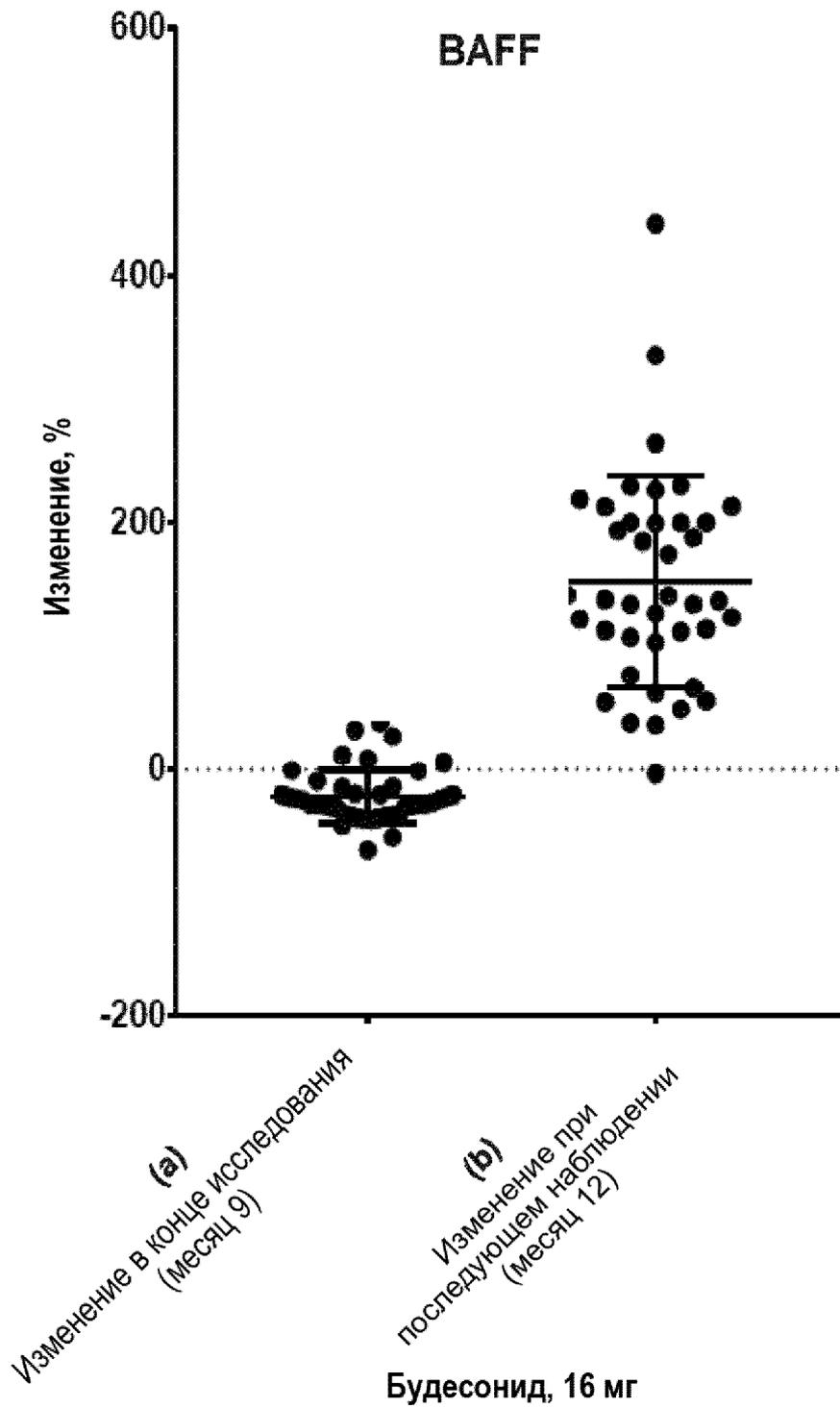
ФИГ. 5



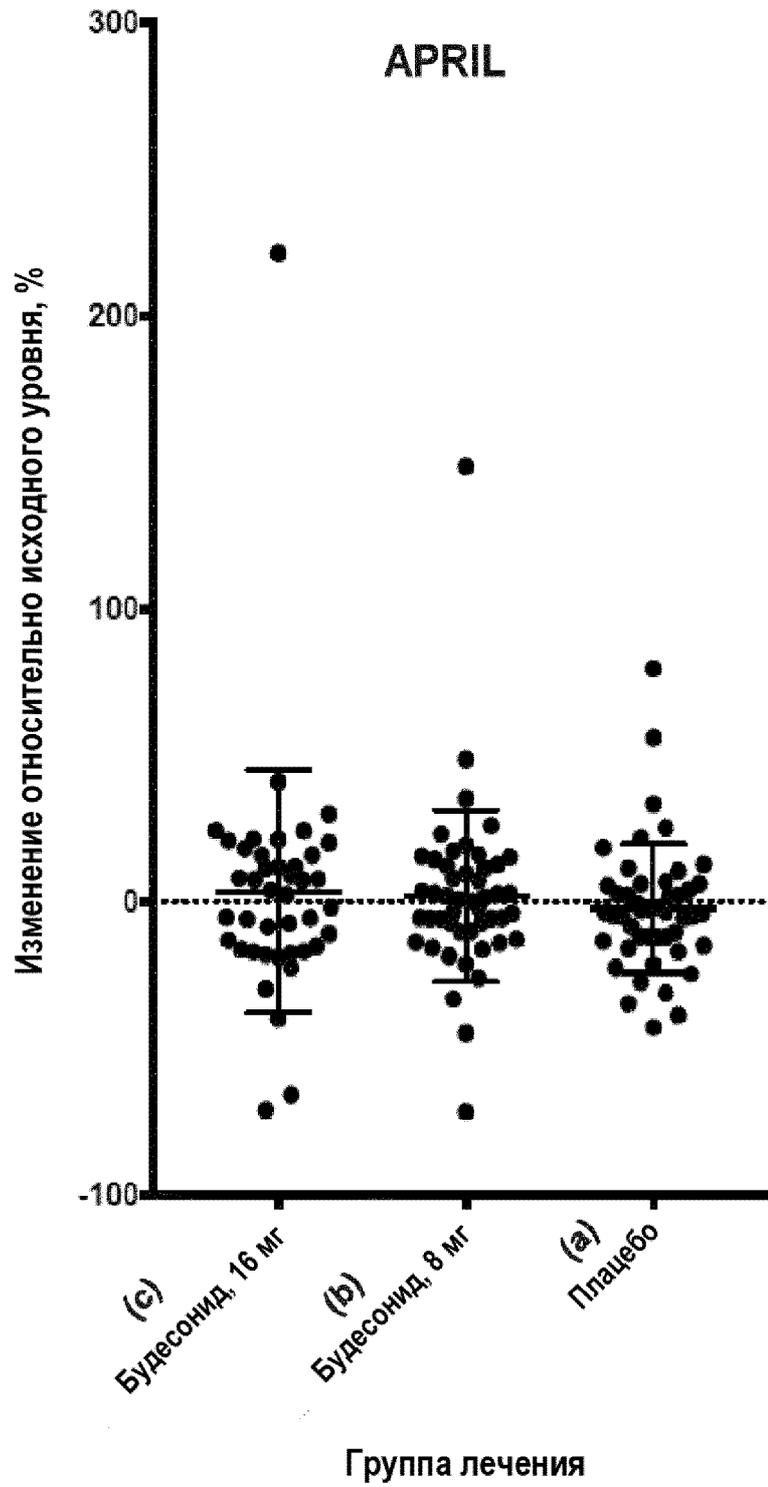
ФИГ. 6



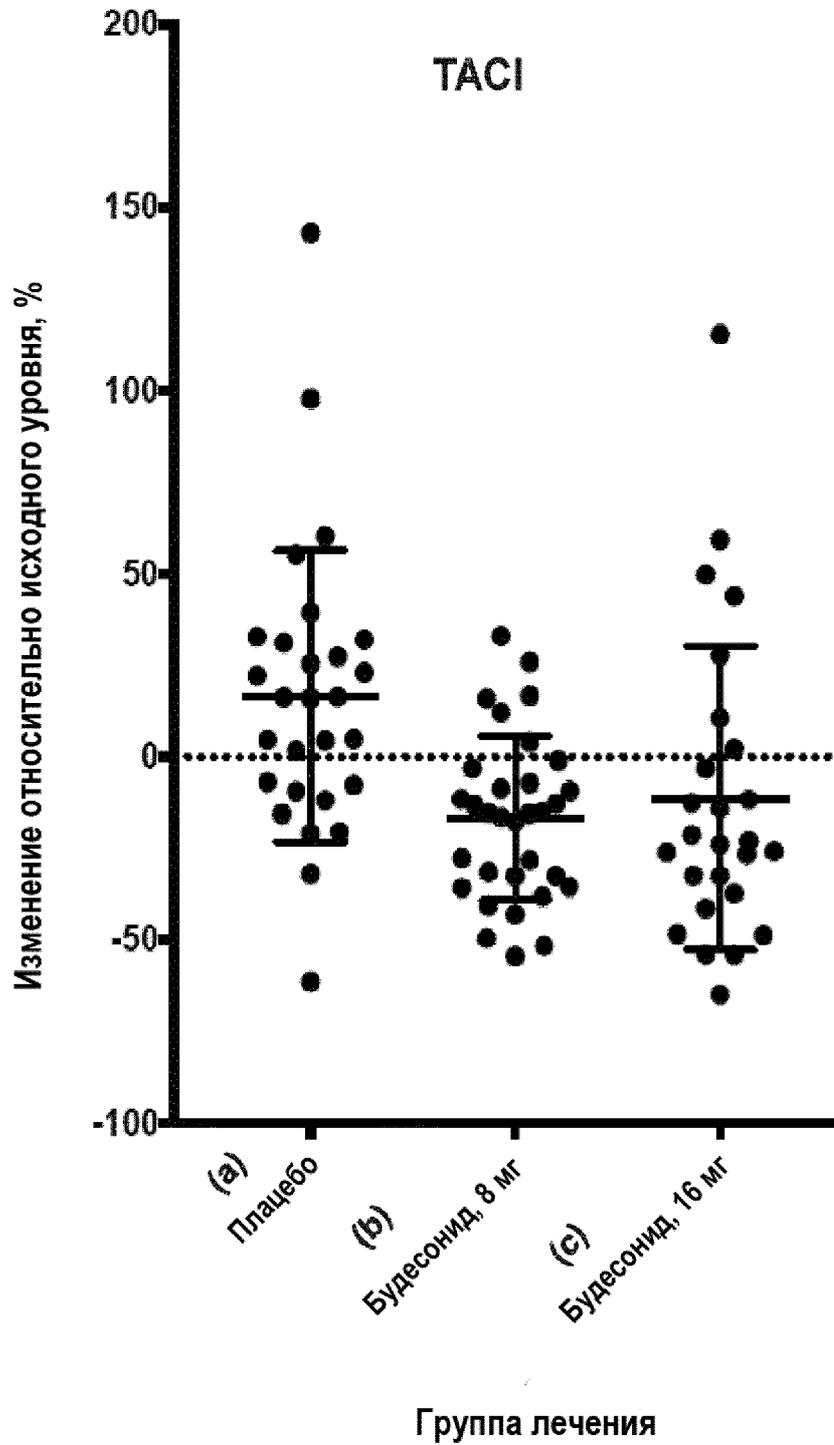
Фиг. 7



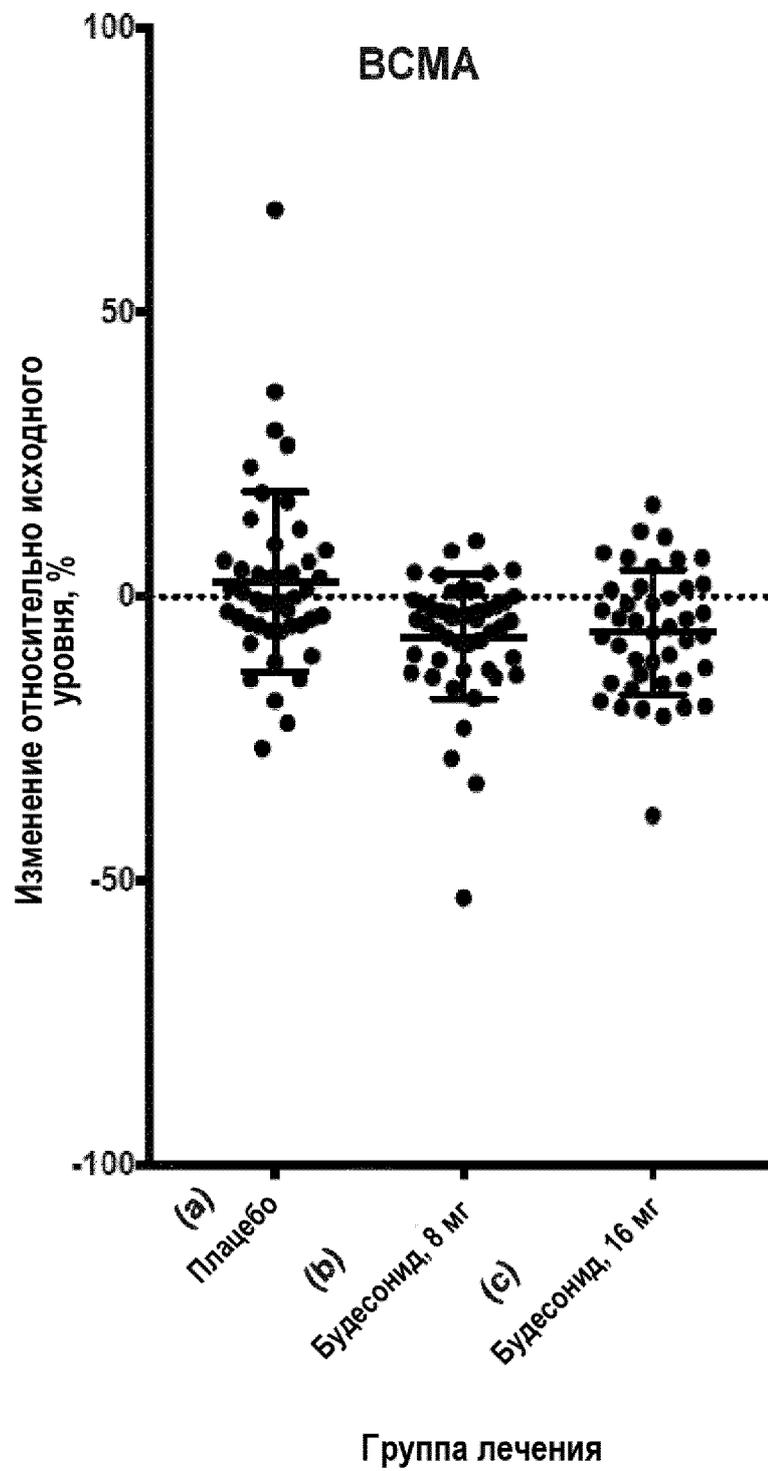
Фиг. 8



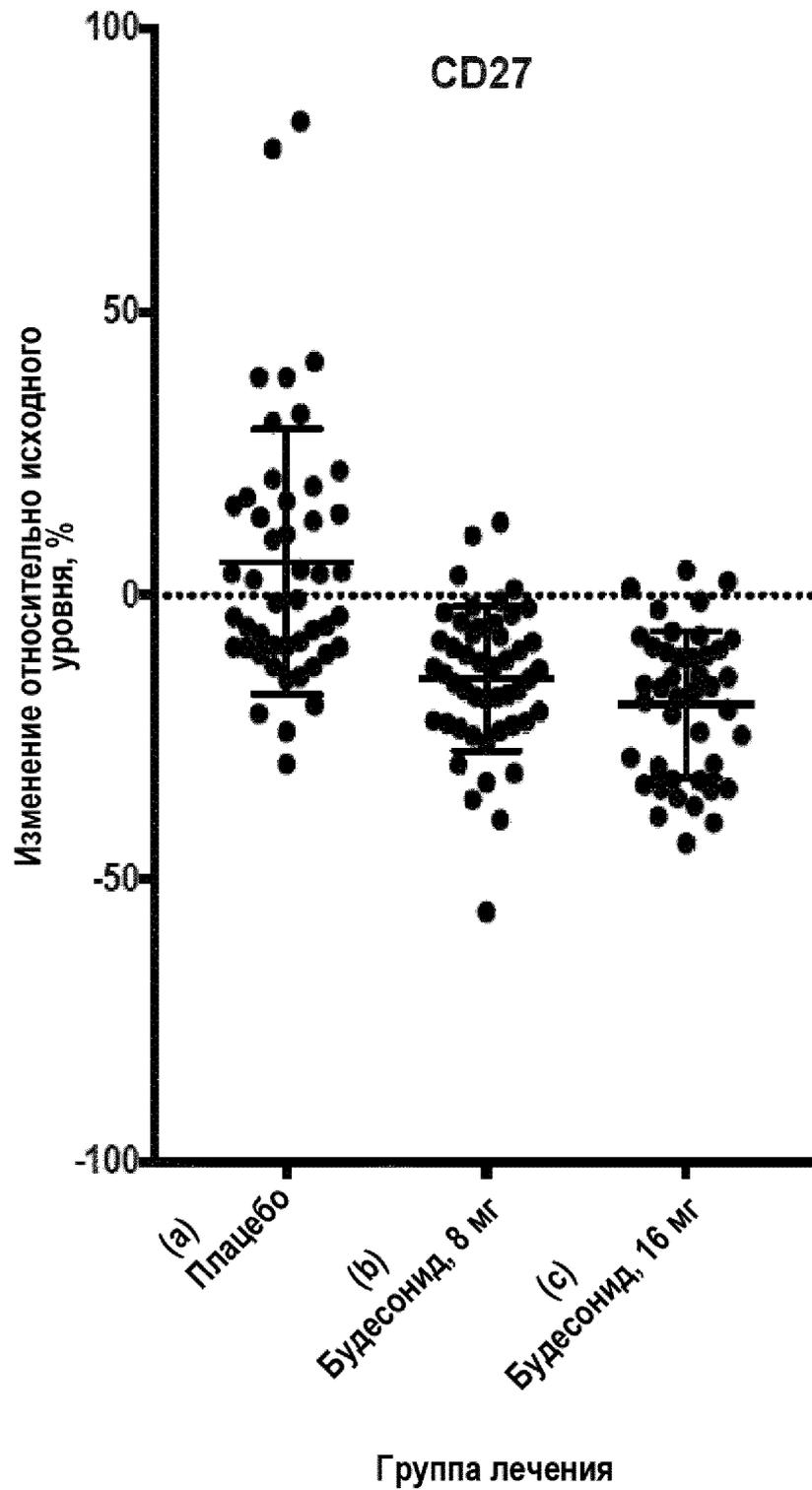
Фиг. 9



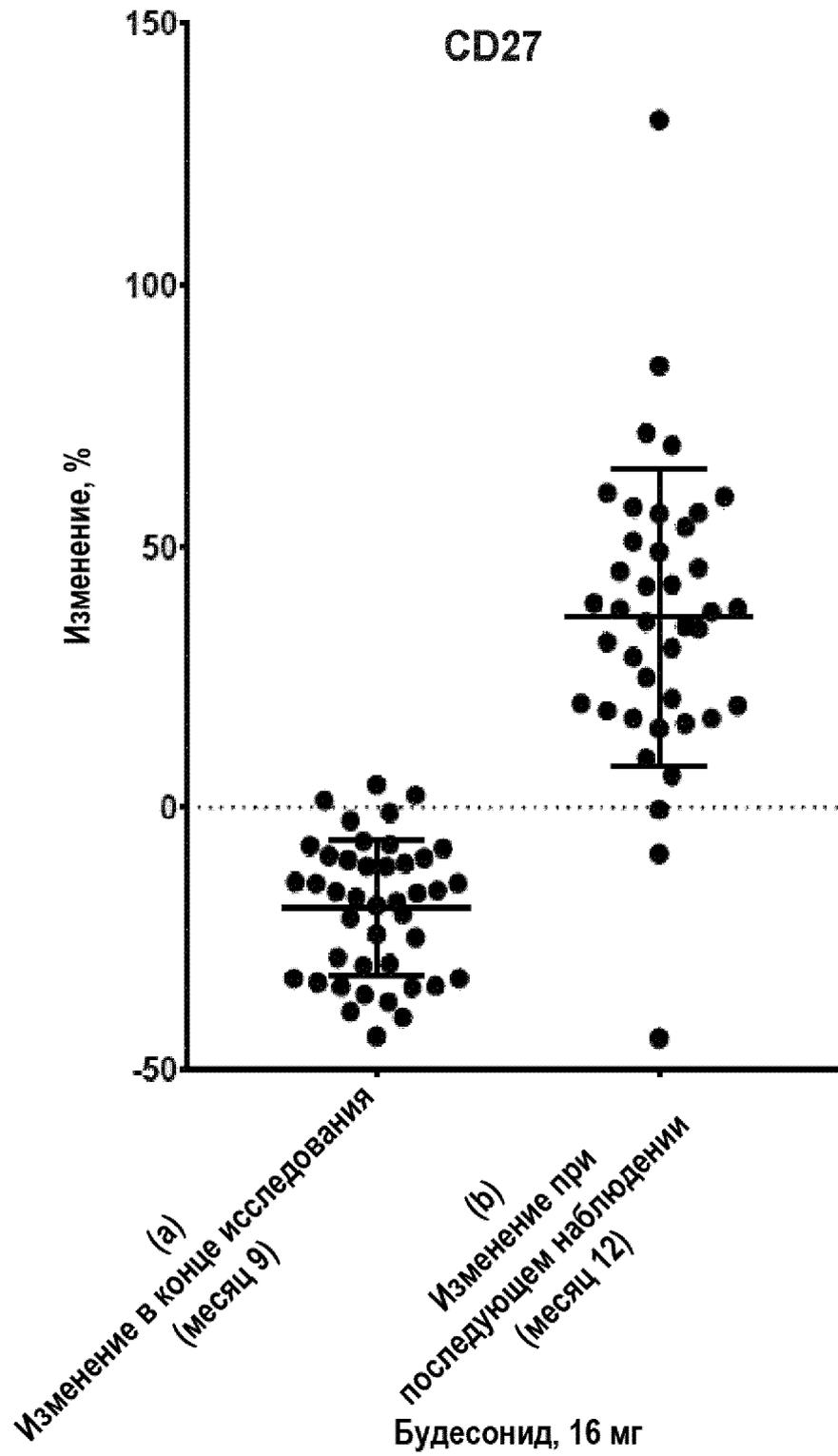
Фиг. 10



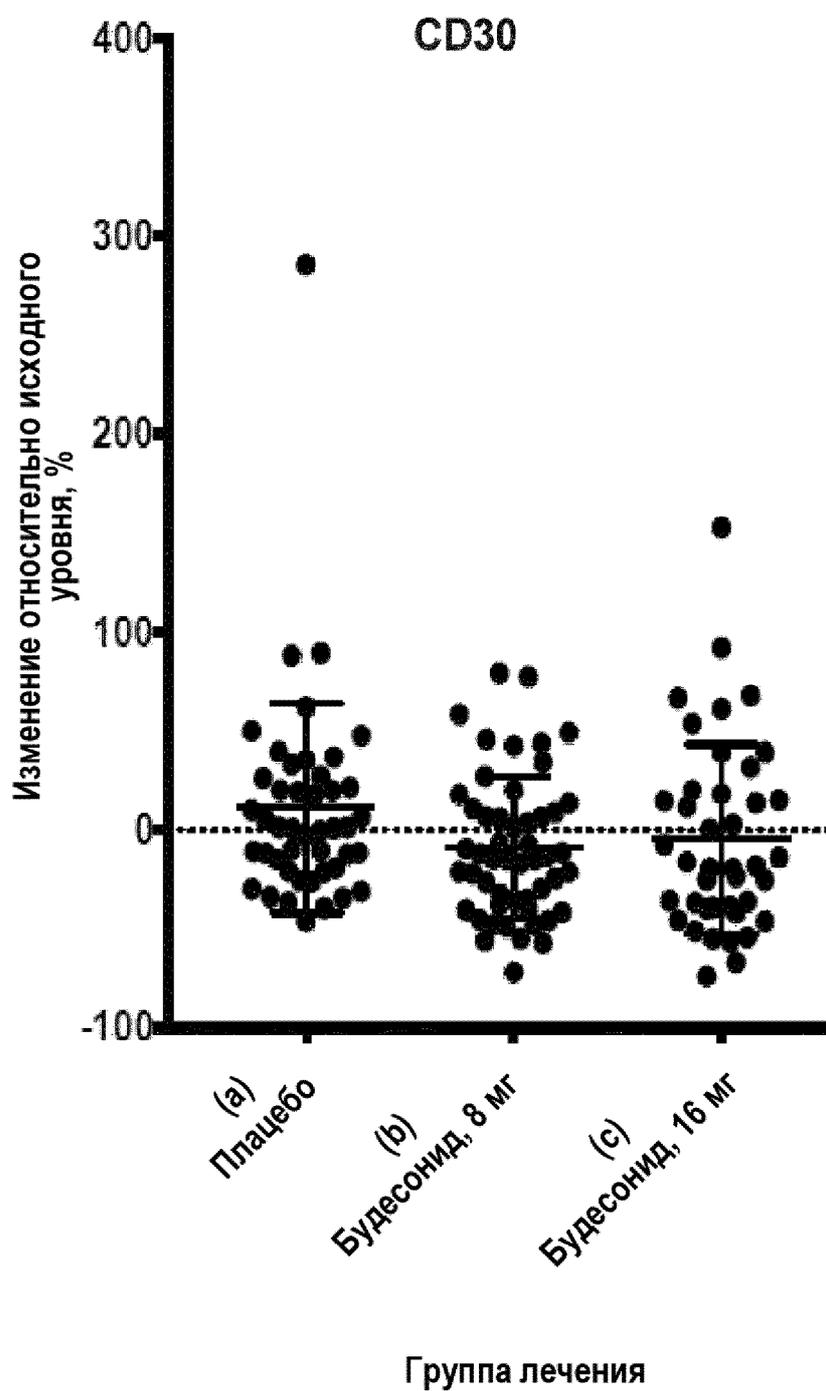
Фиг. 11



Фиг. 12

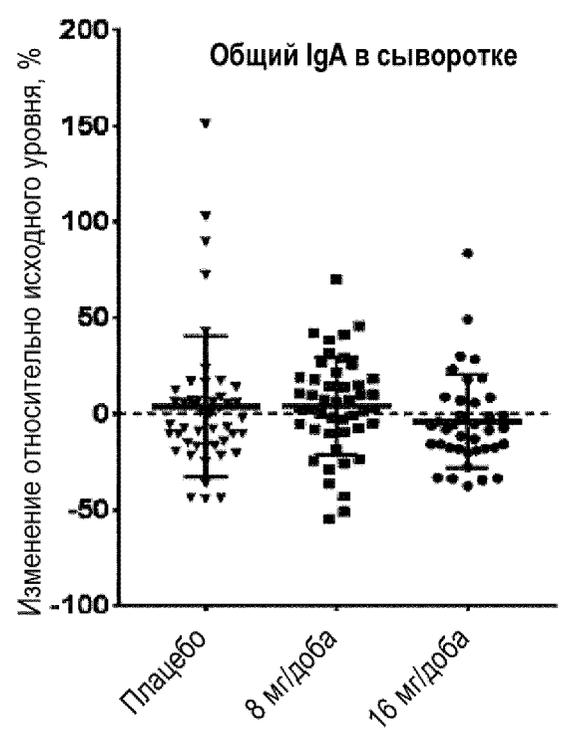
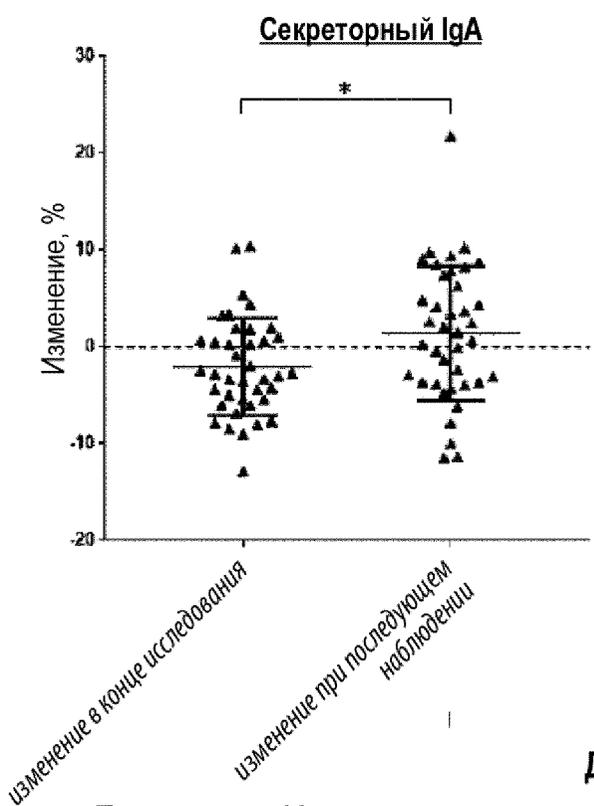
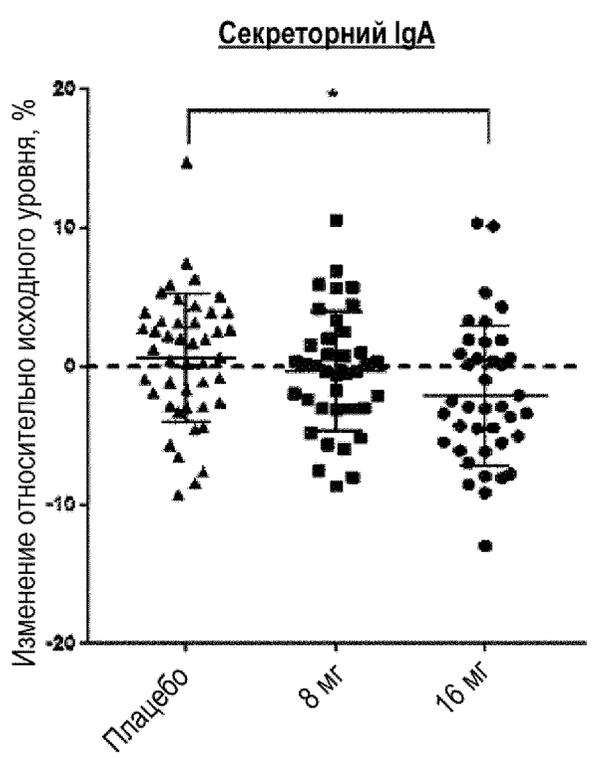


Фиг. 13



Фиг. 14

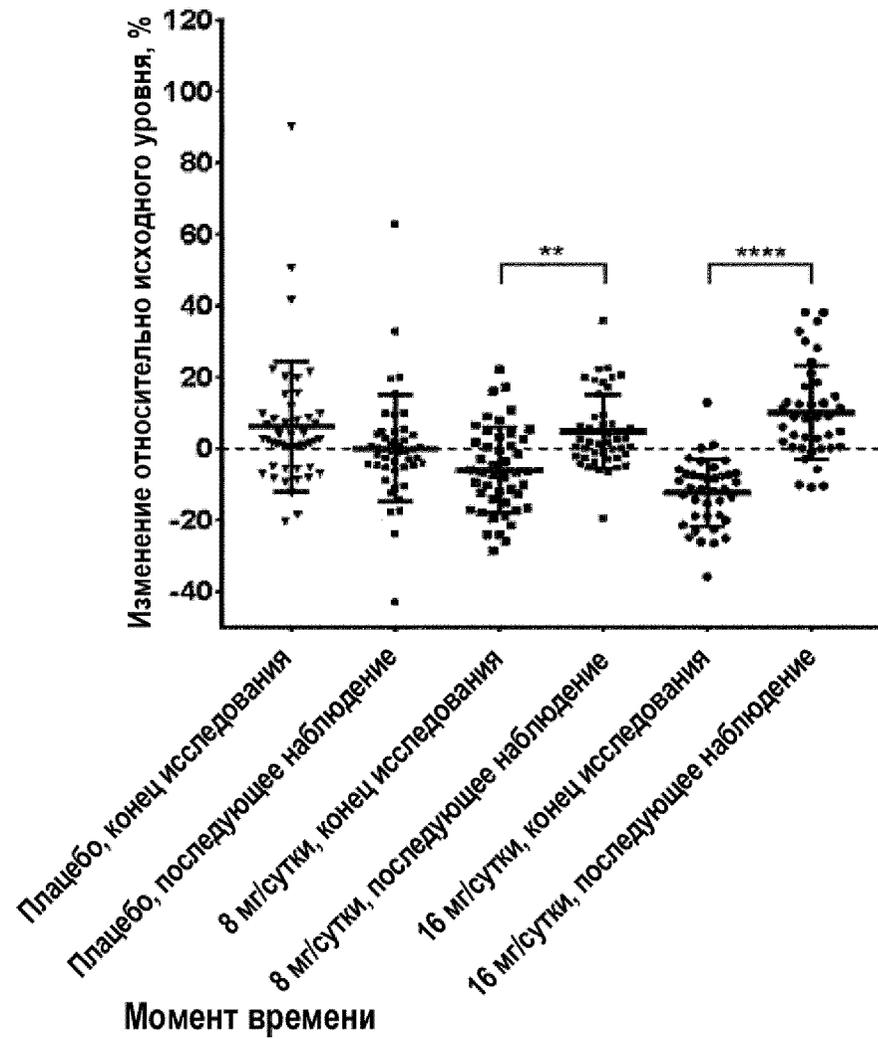
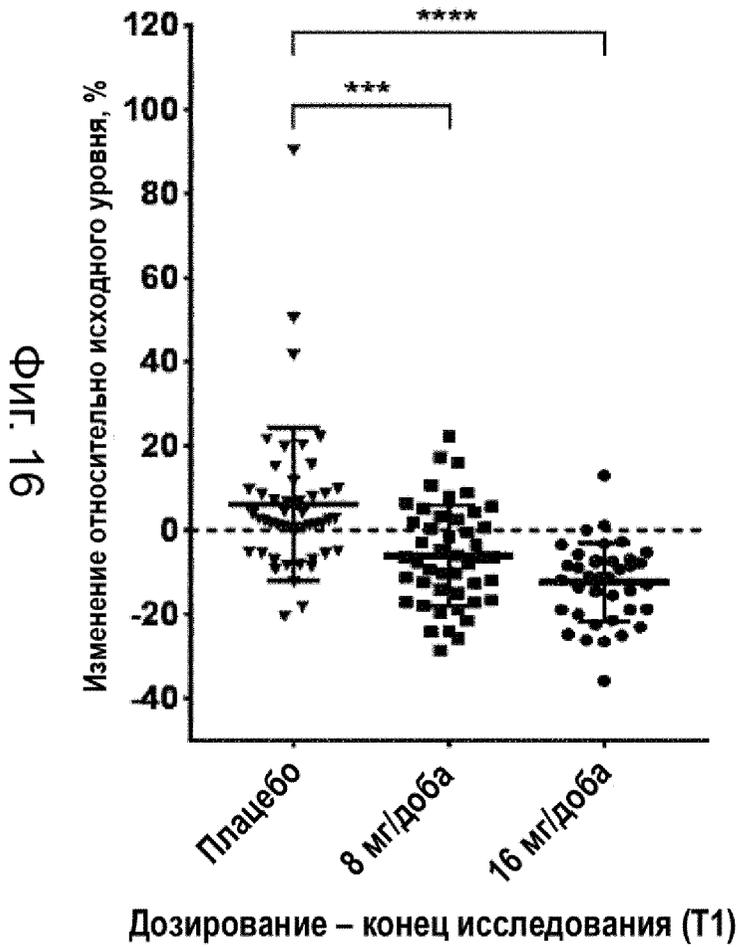
Секреторный IgA



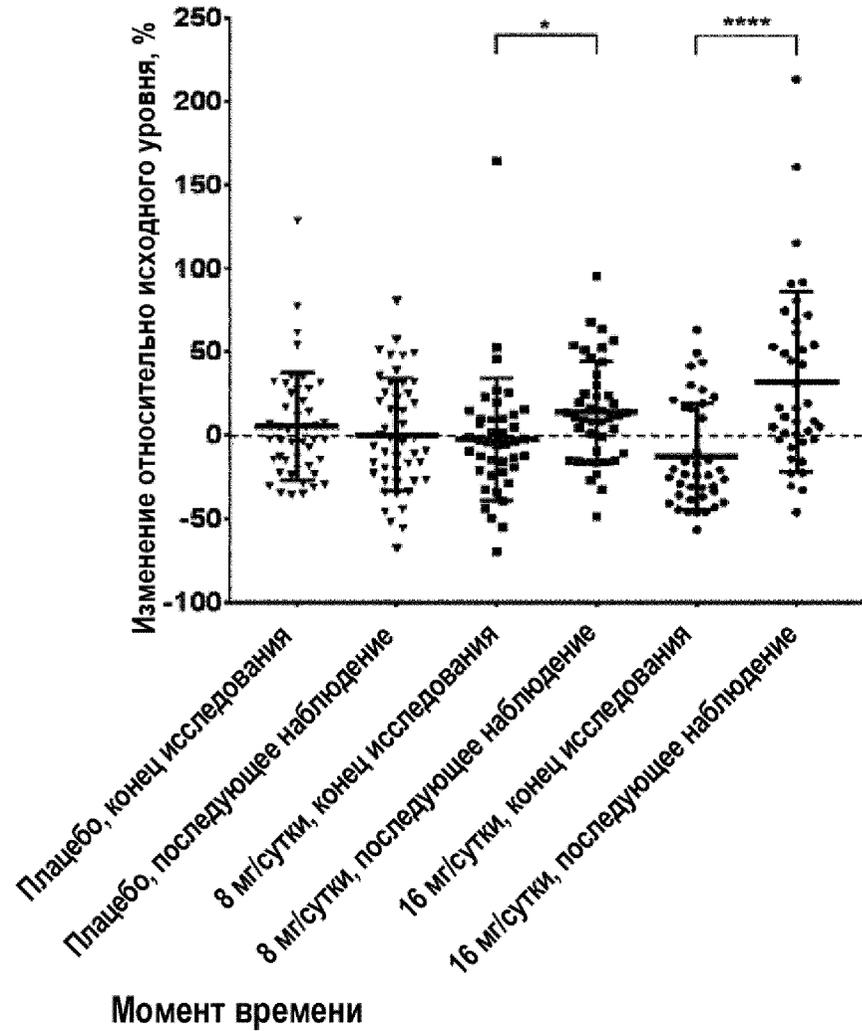
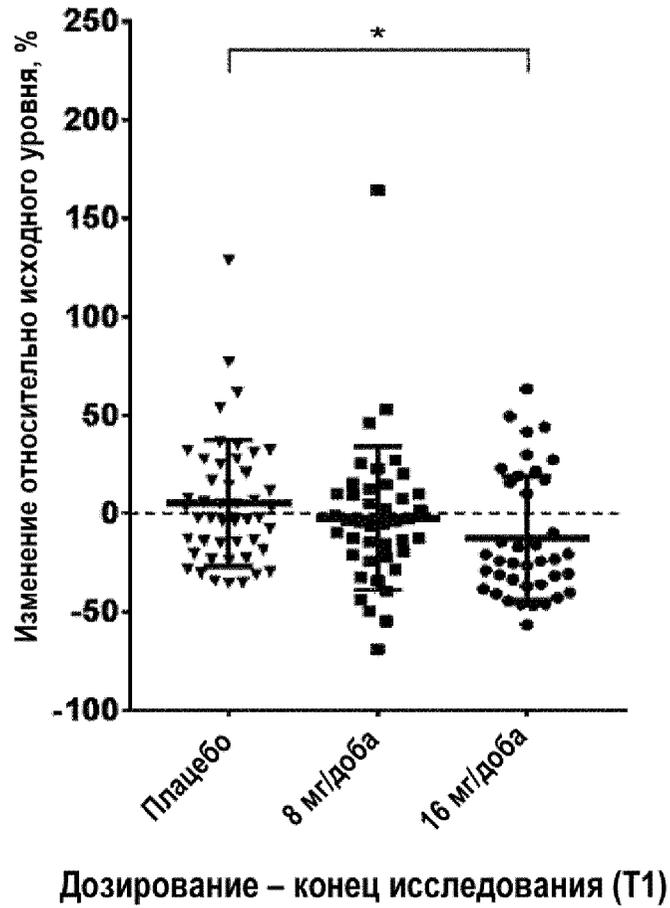
ФИГ. 15

16/24

Уровни иммунного комплекса IgA-IgG

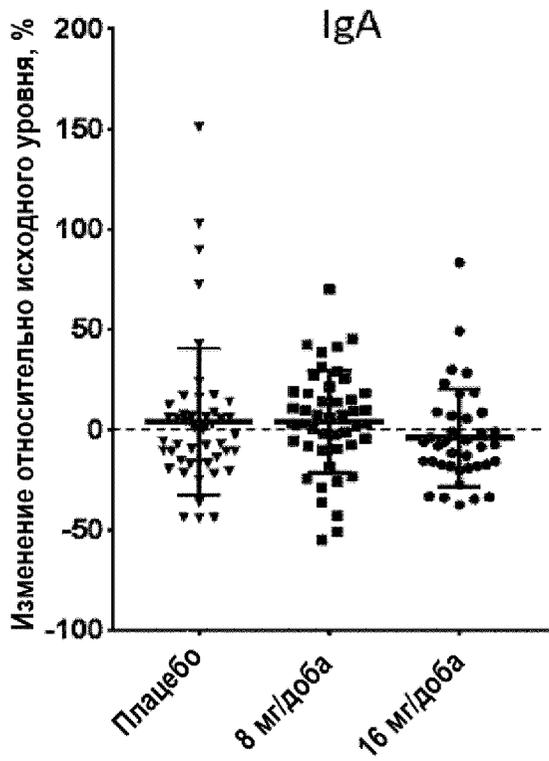


Уровни IgA1, дефицитного по галактозе

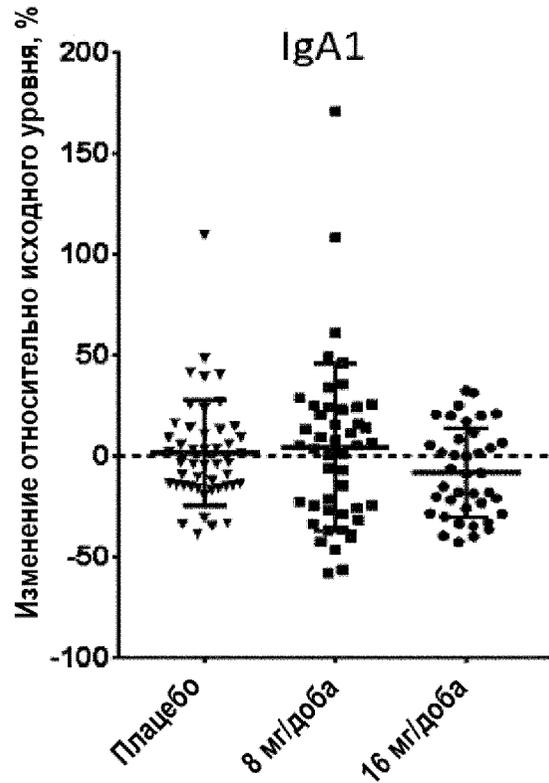


ФИГ. 17

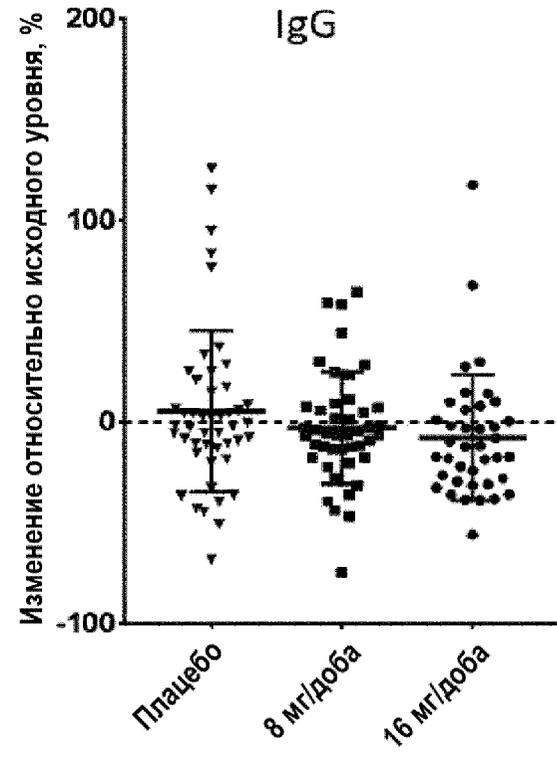
Общие уровни IgA, IgA1 и IgG



Дозирование – конец исследования (T1)

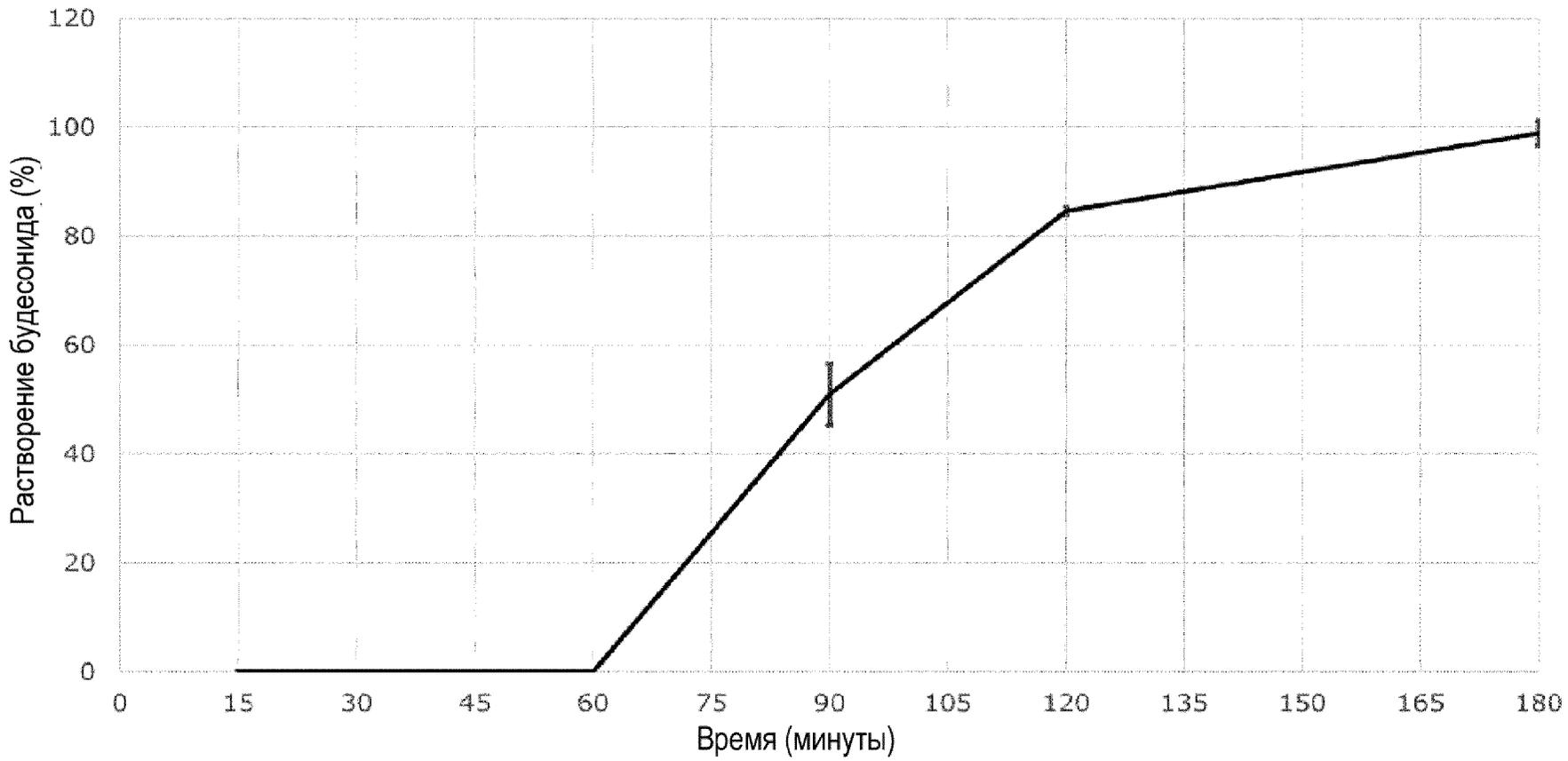


Дозирование – конец исследования (T1)

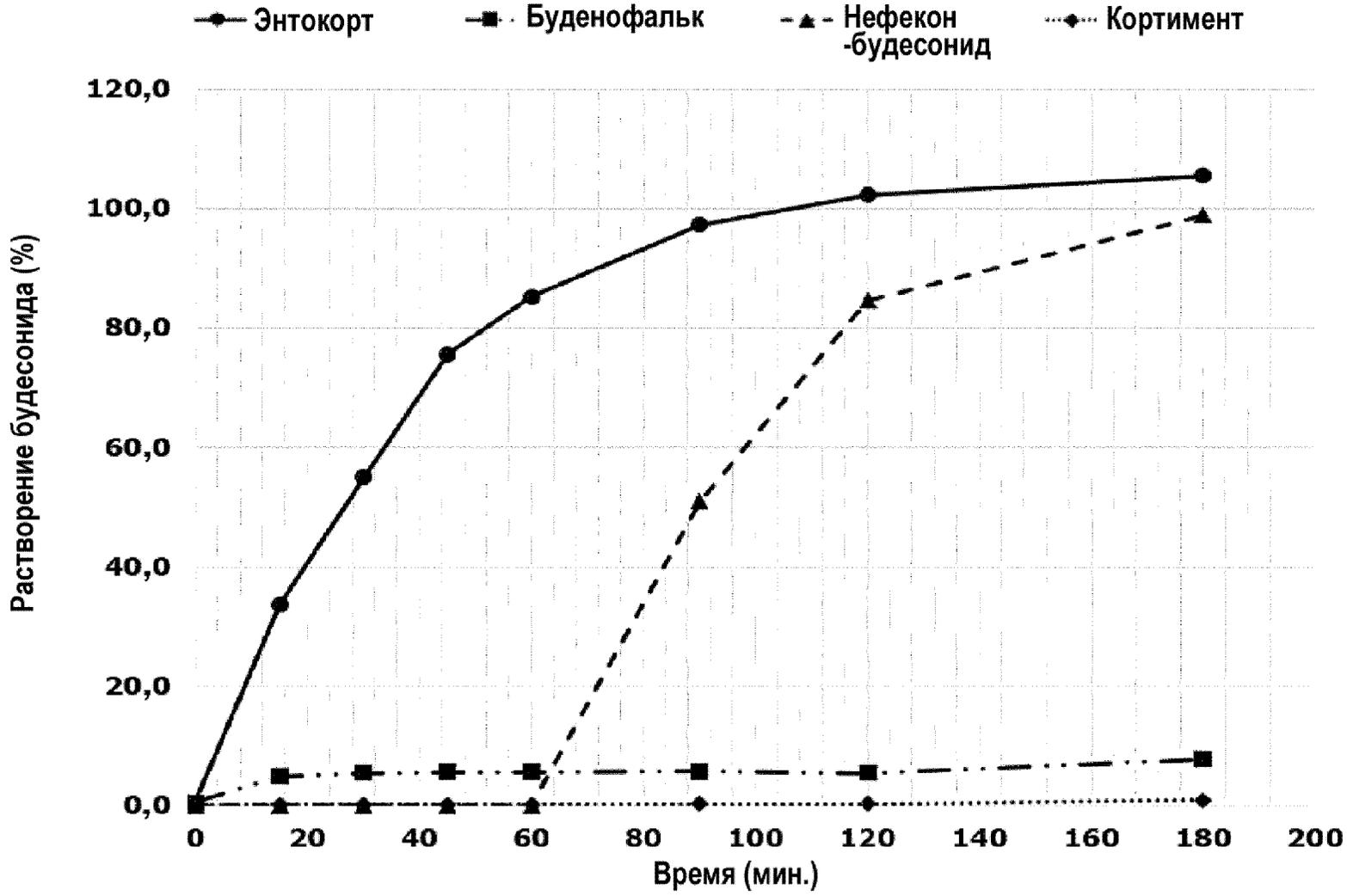


Дозирование – конец исследования (T1)

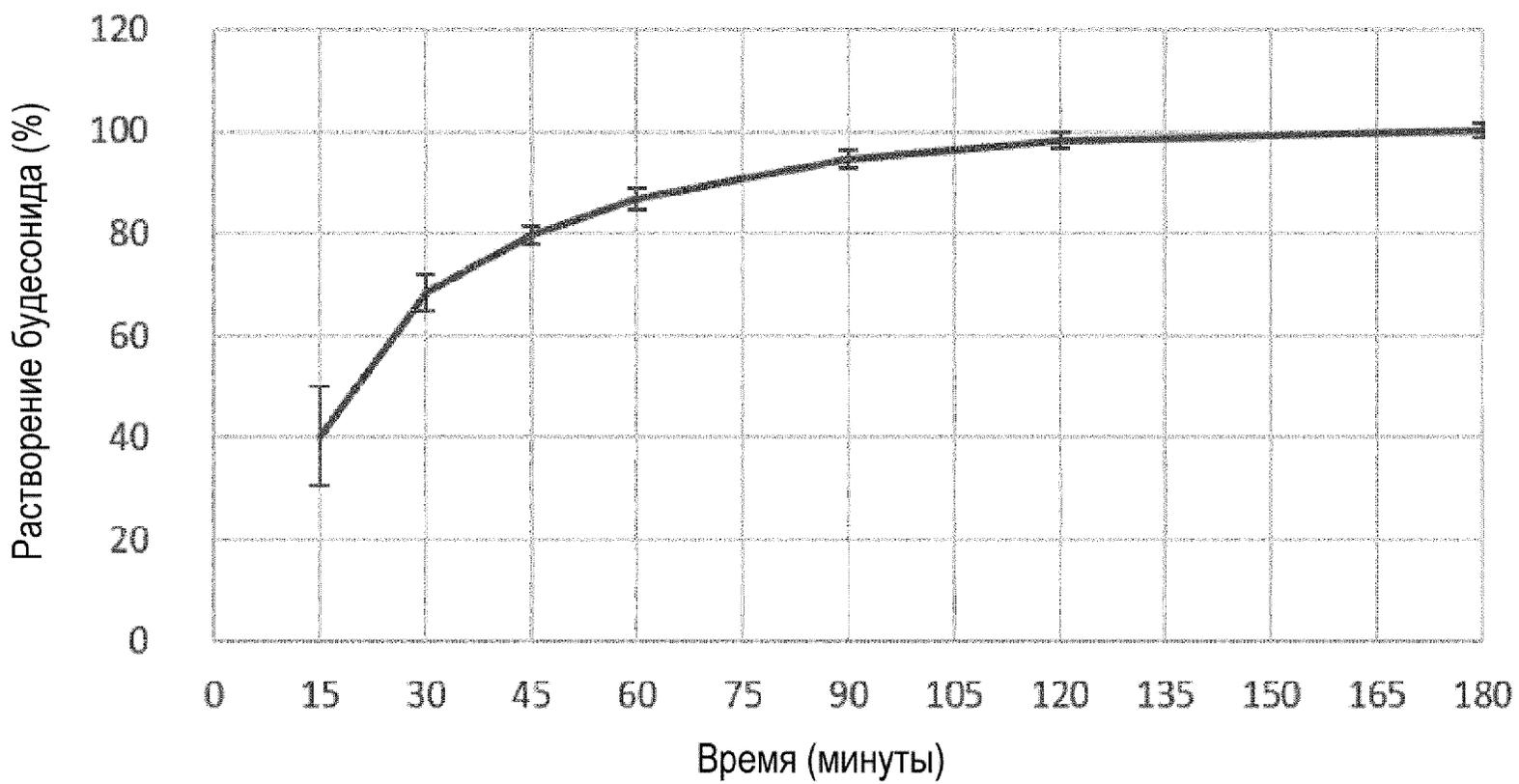
19/24



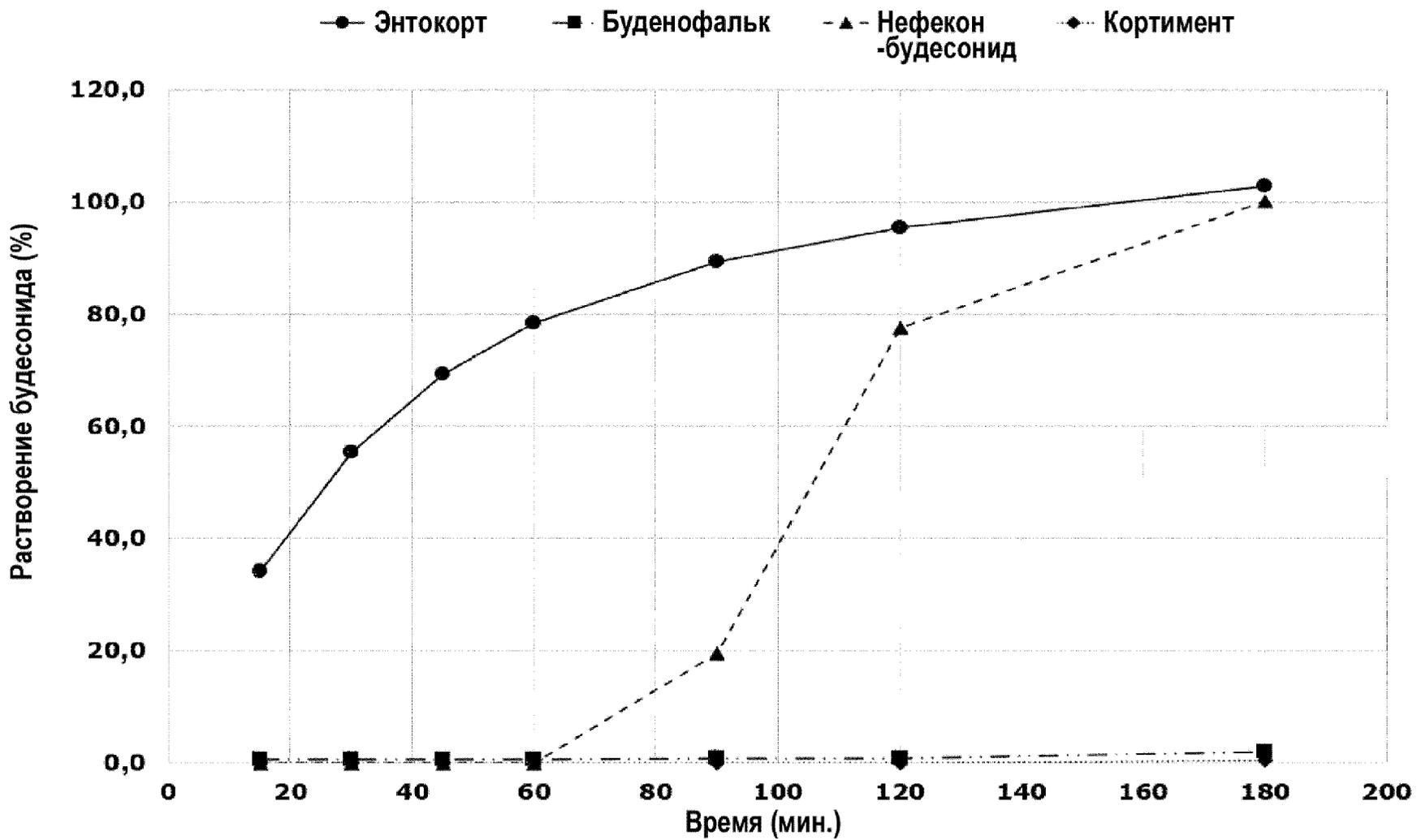
Фиг. 19



Фиг. 20

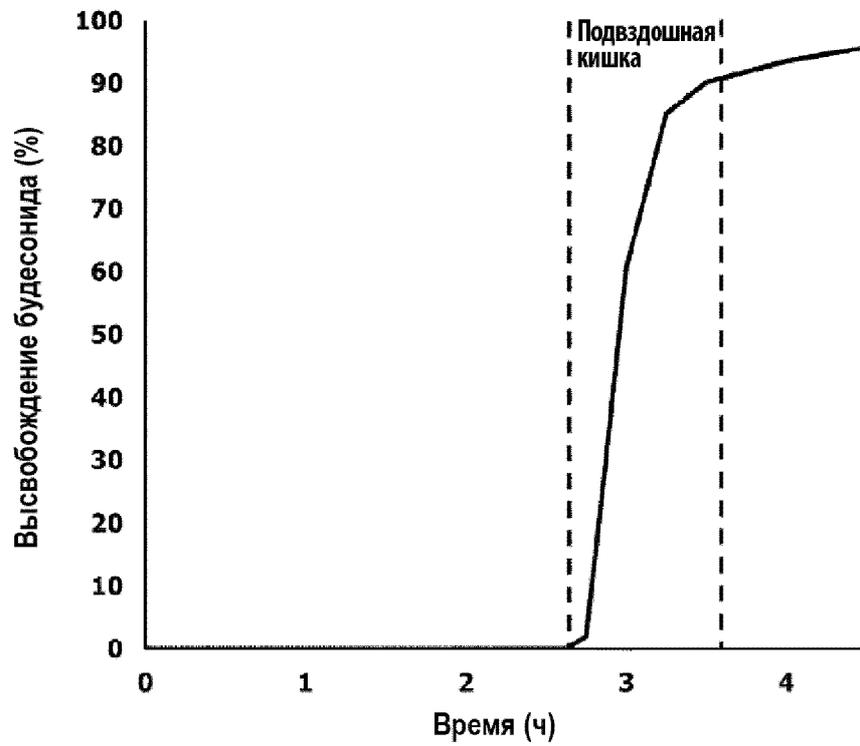


Фиг. 21



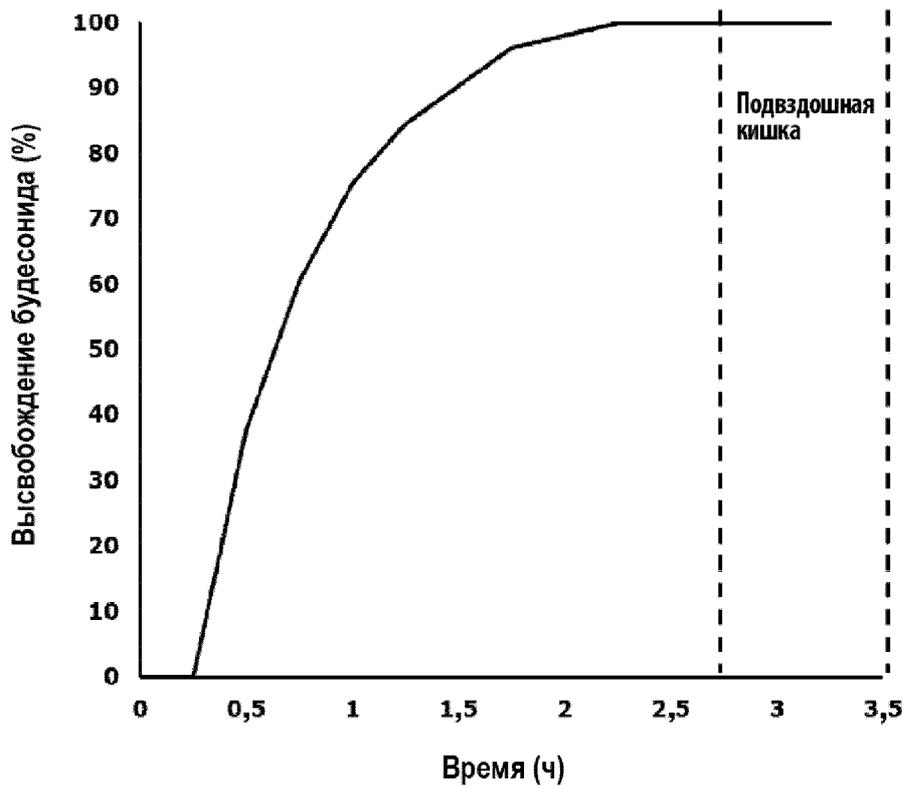
ФИГ. 22

Нефекон-будесонид

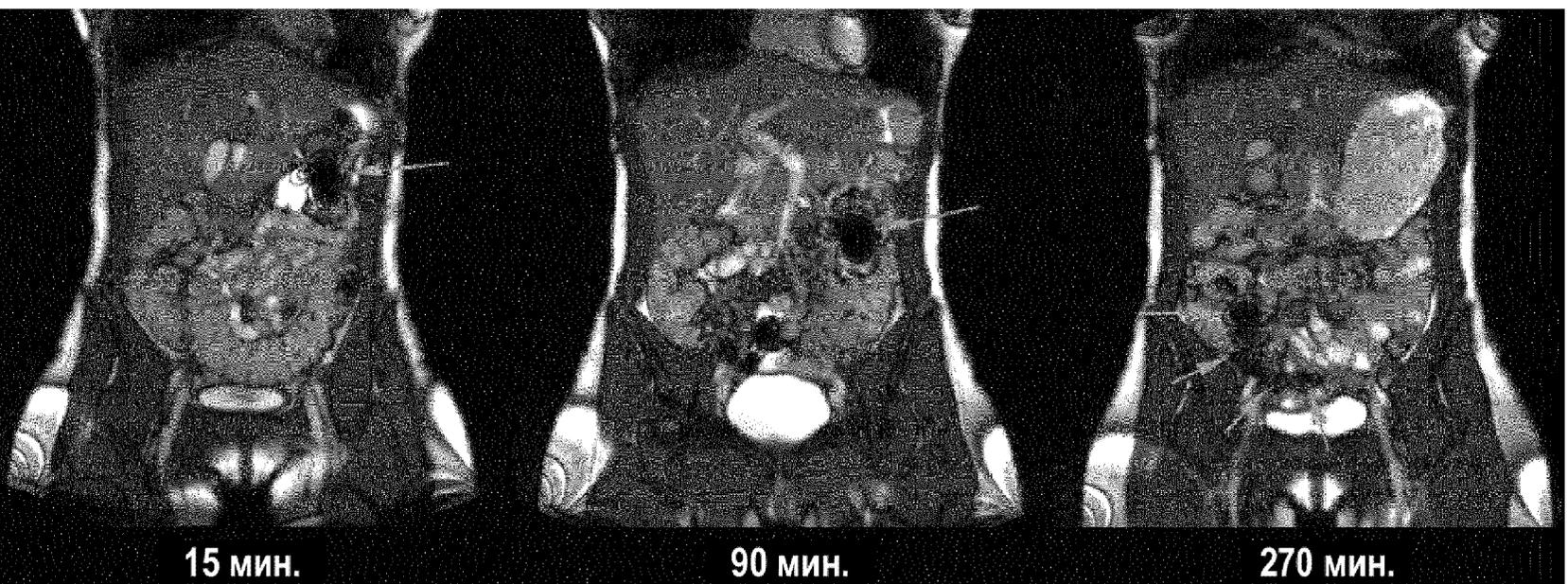


Фиг. 23а

Энтокорт



Фиг. 23б



ФИГ. 24