



(51) МПК
A61K 31/427 (2006.01)
A61K 47/30 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61P 27/06 (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2008139113/15, 02.03.2007**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
02.03.2007

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
02.03.2006 US 60/779,273
01.03.2007 US 11/680,893

(43) Дата публикации заявки: **10.04.2010** Бюл. № 10

(45) Опубликовано: **27.11.2011** Бюл. № 33

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 5422116 A, 06.06.1995. US 5798380 A, 25.08.1998. US 6110912 A, 29.08.2000. US 2002/0045585 A1, 18.04.2002. US 2003/0165545 A1, 04.09.2003. US 2003/0203849 A1, 30.10.2003. EP 0480690 A1, 15.04.1992.**

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **02.10.2008**

(86) Заявка РСТ:
US 2007/063171 (02.03.2007)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2007/103782 (13.09.2007)

Адрес для переписки:

**129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
 ООО "Юридическая фирма Городисский и
 Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной**

(72) Автор(ы):

**КРИШНАМУРТХИ Рамеш (US),
 ТРЕВИНО Лео А. (US),
 ЭВАНС Ричард М. (US)**

(73) Патентообладатель(и):

**ИНСПАЙР ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК.
 (US)**

RU 2 434 633 C2

RU 2 434 633 C2

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТИВНЫЕ ФОРМЫ ЛАТРУНКУЛИНА

(57) Реферат:

Водная фармацевтическая препаративная форма содержит, по меньшей мере, один латрункулин, неионное поверхностно-активное вещество и средство для поддержания тоничности при pH от 4 до 8. Латрункулин, поверхностно-активное вещество и средство для поддержания тоничности совместимы в препаративной форме и препаративная форма не содержит более чем 0,1% об./об.

диметилсульфоксида. Латрункулин представляет собой латрункулин А, латрункулин В, дез-метиллатрункулин В или аналог латрункулина. Неионное поверхностно-активное вещество является полисорбатом, полоксамером или их комбинацией. По второму варианту водная фармацевтическая форма содержит латрункулин, этанол и средство для поддержания тоничности. Препаративная форма предназначена для

уменьшения внутриглазного давления у
млекопитающего. Препаративная форма по
изобретению стабильна в течение, по меньшей

мере, шести месяцев при охлаждении. 3 н. и 12
з.п. ф-лы, 5 ил.

R U 2 4 3 4 6 3 3 C 2

R U 2 4 3 4 6 3 3 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
A61K 31/427 (2006.01)
A61K 47/30 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61P 27/06 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2008139113/15, 02.03.2007**

(24) Effective date for property rights:
02.03.2007

Priority:

(30) Priority:
02.03.2006 US 60/779,273
01.03.2007 US 11/680,893

(43) Application published: **10.04.2010 Bull. 10**

(45) Date of publication: **27.11.2011 Bull. 33**

(85) Commencement of national phase: **02.10.2008**

(86) PCT application:
US 2007/063171 (02.03.2007)

(87) PCT publication:
WO 2007/103782 (13.09.2007)

Mail address:

129090, Moskva, ul. B.Spasskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. E.E.Nazinoj

(72) Inventor(s):

KRISHNAMURTKhI Ramesh (US),
TREVINO Leo A. (US),
EhVANS Richard M. (US)

(73) Proprietor(s):

INSPAJR FARMAS'JuTIKALZ, INK. (US)

(54) PHARMACEUTICAL PREPARATIVE FORMS OF LATRUNCULIN

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: water pharmaceutical preparative form contains, at least, one latrunculin, non-ionic surface-active substance and preparation for supporting tonicity, at pH from 4 to 8. Latrunculin, surface-active substance and preparation for supporting tonicity are compatible in preparative form, and preparative form does not contain more than 0.1% vol/vol dimethylsulfoxide. Latrunculin represents latrunculin A, latrunculin B, desmethyl latrunculin B or latrunculin analogue. Non-ionic

surface-active substance is polysorbate, poloxamer or their combination. In accordance with the second version, water pharmaceutical form contains latrunculin, ethanol and preparation for supporting tonicity. Preparative form is intended for reduction of intraocular pressure in mammals. Preparative form by invention is stable during, at least, six months when cooled.

EFFECT: preparative form is intended for reduction of intraocular pressure in mammals.

15 cl, 5 dwg, 7 ex

RU 2 434 633 C2

RU 2 434 633 C2

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим препаративным формам, в частности к офтальмологическим препаративным формам, макроцильных (макроциклических) активных соединений цитоскелета, таких как соединения латрункулина и к их родственным аналогам. Настоящее изобретение также относится к способам применения таких фармацевтических препаративных форм для предупреждения или лечения заболеваний или расстройств, при которых необходимо изменение целостности актина цитоскелета, например лечения заболеваний, при которых повышено внутриглазное давление, таких как первичная открытоугольная глаукома, и для нейропротекции зрительных нервов у людей и других млекопитающих.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Глаукома представляет собой глазное заболевание, которое приводит к необратимому ухудшению зрения. Она находится на четвертом месте среди наиболее распространенных причин слепоты и на втором среди причин снижения зрения в Соединенных Штатах, и наиболее распространенная причина необратимого ухудшения зрения среди афро-американцев. Вообще говоря, заболевание характеризуется прогрессирующей нейропатией, вызванной, по меньшей мере, частично, повреждающим воздействием повышенного внутриглазного давления на зрительный нерв. Открытоугольная глаукома составляет приблизительно 90% всех первичных глауком и характеризуется патологически высоким сопротивлением оттоку внутриглазной жидкости (водянистой влаги). Нормальное сопротивление необходимо для поддержания внутриглазного давления, достаточного для сохранения формы глаза для целостности глаза. Такое сопротивление обеспечивается трабекулярной сетью, комплексом ткани, состоящим из специализированных эндотелиальных клеток, пучков соединительной ткани и межклеточного вещества. Нормальное сопротивление трабекулярной сети обеспечивает внутриглазное давление ~16 мм рт.ст., давление, при котором водянистая влага покидает глаз с такой же скоростью, с какой образуется (2,5 мкл/минуту). Крайне высокое давление (например, 70 мм рт.ст.) может вызвать слепоту в течении всего лишь нескольких дней. См. P.L. Kaufman and T.W. Mittag «Medical Therapy of Glaucoma», Ch.9, Sec.II (pp.9.7-9.30) в P.L. Kaufman and T.W. Mittag (eds.): Glaucoma (Vol.7 of S.M.Podos and M. Yanoff (eds.): Textbook of Ophthalmology Series). London, Mosby-Year Book Europe Ltd. (1994); A.C.Guyton, Textbook of Medical Physiology (W.B. Saunders Co., Sixth Ed.), pp.386-89 (1981).

В настоящее время лечение глаукомы и контролирование повышенного внутриглазного давления представляют собой подход, использующий терапевтические средства широкого спектра химических классов.

Классы лекарственных средств, наиболее часто используемых для снижения внутриглазного давления, основываются на подавлении образования водянистой влаги (например, бета-блокаторы, α 2-адренергические агонисты, ингибиторы карбоангидразы) или для улучшения увеосклерального дренажа (аналоги простагландинов). Не существует современных лекарственных средств против глаукомы для практического использования, которые действуют непосредственно на трабекулярную сеть. Пилокарпин уменьшает сопротивление оттоку через трабекулярную сеть вторично, основываясь на деформации сети вследствие вызванного лекарственным средством сокращения ресничной мышцы, но его использование ограничено необходимостью 3-4 разового введения в сутки и местными побочными эффектами, особенно миозом. Эпинефрин, вероятно, действует

непосредственно на клетки сети с увеличением β 2адренергической, опосредуемой рецептором передачи, но редко используется в клинике, потому что имеет опосредованные рецепторами местные и системные побочные эффекты, высокую частоту развития местной аллергии и лишь умеренную эффективность и различные
5 ответы среди пациентов.

Трабекулэктомия представляет собой наиболее распространенную форму фильтрирующей операции по поводу глаукомы и остается в качестве терапии первой
10 линии для хирургического уменьшения, не поддающегося контролю фармацевтически, внутриглазного давления при первичной открытоугольной глаукоме. Указанная операция создает лимбальную фистулу, через которую водянистая влага вытекает в подконъюнктивальное пространство, обеспечивая фильтрационную подушку для снижения внутриглазного давления. Успешность операции сильно зависит от
15 фармакологической модуляции заживления раны.

Главным успехом хирургического влияния на глаукому было использование антиметаболитов для предупреждения рубцевания после фильтрирующей операции по
20 поводу глаукомы. Постоперативное рубцевание фильтрационной подушки является основным критическим фактором в определении коротко- или долговременного результата современной хирургии глаукомы. Антиметаболит митомицин С (ММС) и 5-фторурацил (5-FU) представляют собой основные широко используемые средства для подавления рубцевания и нарушения фильтрационной подушки. В крупном ретроспективном исследовании общепринятое выполнение трабекулэктомии показало частоту неудач до 30% в пределах 3 месяцев после операции. Для снижения случаев
25 неблагоприятных осложнений предложены различные способы с целью избежать естественного возникновения рубцевания фильтрационной подушки, главным образом назначением интраоперативного или постоперативного применения антиметаболических лекарственных средств 5-фторурацила (5-FU) или митомицина С (ММС), двух наиболее широко используемых цитотоксических средств.
30

Несмотря на их положительный долговременный эффект на длительную фильтрацию, применение цитотоксических лекарственных средств при хирургически
35 открытом глазе повышает частоту тяжелых осложнений, таких как сопутствующее увеличение осложнений, угрожающих зрению. ММС и 5-FU демонстрируют высокую частоту тяжелых осложнений после их применения; их побочные эффекты главным образом влияют на корнеальный эпителий и их клиническое использование ограничено сильной болью и дискомфортом у пациента. Не существует адекватного
40 способа, доказанного для достижения удовлетворительных послеоперационных долговременных хирургических результатов с минимальными побочными эффектами для человека или их отсутствием.

Патенты США № 6586425, 6110912 и 5798380 раскрывают способ лечения глаукомы, использующий соединения, которые влияют на целостность актинового
45 филамента глаза для повышения оттока водянистой влаги. Указанные патенты также отдельно раскрывают ингибиторы киназы и латрункулин-А, латрункулин-В, свинхолид-А и джасплакинолид, которые вызывают изменение актинового цитоскелета в трабекулярной сети или изменение их взаимодействия с нижележащей мембраной. Изменение цитоскелета и связанных с ним сцеплений уменьшают
50 сопротивление трабекулярной сети току жидкости и таким образом уменьшают внутриглазное давление.

Латрункулины растворимы в диметилсульфоксиде (ДМСО), но обладают очень низкой растворимостью в воде, вследствие, в значительной степени липофильной

природы латрункулинов, которые представляют собой большие макроцильные соединения. ДМСО не разрешен в офтальмической препаративной форме для использования у человека. Латрункулин-В обычно растворяют в ДМСО в виде маточного раствора и хранят при -20°C для сохранения стабильности в течение 5 длительного времени (Okka, et.al., Trans. Am. Ophthalmol. Soc. 102:251-259 (2004)). Известные жидкие препаративные формы латрункулина являются неприемлемыми фармацевтическими препаративными формами, так как существуют одна или более 10 следующих проблем: нежелательные побочные эффекты, такие как токсичность из-за носителя или вспомогательного средства, низкая растворимость латрункулина без использования ДМСО и низкая стабильность вследствие разрушения латрункулина со временем.

Существует необходимость в фармацевтической препаративной форме, которая может быть использована для лечения глаукомы, для заживления раны после 15 трабекулэктомии и лечения заболеваний или нарушений, которые вызваны целостностью актинового цитоскелета.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к водной фармацевтической препаративной 20 форме, содержащей, по меньшей мере, латрункулин и препаративную форму, не содержит существенное количество диметилсульфоксида. Настоящее изобретение обеспечивает водную фармацевтическую препаративную форму, содержащую, по меньшей мере, один латрункулин и один или более агентов, которые повышают растворимость латрункулина в водной среде. Препаративная форма не содержит 25 существенного количества каких-либо неприемлемых веществ для фармацевтического, в частности офтальмического, использования. Препаративная форма предоставляет латрункулин со значительной активностью для терапевтического использования и является стабильной в течение, по меньшей мере, шести месяцев при температуре 30 хранения в холодильнике.

Настоящее изобретение относится к водной фармацевтической препаративной форме, содержащей, по меньшей мере, один латрункулин в количестве 0,001-2% мас./об., неионное поверхностно-активное вещество в количестве 0,01-2% мас./об. и средство для поддержания тоничности в интервале значений 200-400 мОсм/кг при рН 35 от 4 до 8, в которой латрункулин, поверхностно-активное вещество и средство для поддержания тоничности совместимы в препаративной форме, и препаративная форма не содержит существенного количества диметилсульфоксида.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая препаративная форма 40 содержит по меньшей мере один латрункулин в количестве 0,001-2% мас./об., 1-100 мМ буфера, подходящего для поддержания рН от 4 до 6, 0,01-2% мас./об. неионного поверхностно-активного вещества, и средство для поддержания тоничности в интервале значений 200-400 мОсм/кг. Предпочтительным буфером является цитратный буфер. Предпочтительными веществами для поддержания тоничности 45 являются маннит и декстроза.

В другом варианте осуществления изобретения водная фармацевтическая препаративная форма содержит по меньшей мере один латрункулин в количестве 0,001-2% мас./об., 5-10% этанола и средство для поддержания тоничности 50 от 200 до 400 мОсм/кг. Препаративная форма необязательно содержит 1-100 мМ буфера для поддержания рН от 4 до 8.

В другом варианте осуществления изобретения водная фармацевтическая препаративная форма содержит по меньшей мере один латрункулин в

количестве 0,001-2% мас./об., 1-10% полипропиленгликоля, 0,02-0,25% полаксамера, 0,1-1% полисорбата, и средство для поддержания тоничности от 200 до 400 мОсм/кг, в которой рН препаративной формы 4-8.

В еще одном варианте осуществления изобретения водная фармацевтическая препаративная форма содержит по меньшей мере латрункулин в количестве 0,001-2%, циклодекстрин, 0,01-0,5% консерванта и средство для поддержания тоничности от 200 до 400 мОсм/кг, в которой рН препаративной формы 4-8.

Настоящее изобретение предоставляет способ снижения внутриглазного давления, способ лечения глаукомы, способ подавления заживления раны после трабекулэктомии и способ подавления ангиогенеза. Способ включает стадию введения пациенту, нуждающемуся в лечении, водной фармацевтической препаративной формы настоящего изобретения в количестве, эффективном для изменения актинового цитоскелета, например, ингибированием полимеризации актина.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фиг.1 демонстрирует внутриглазное давление (ИОР, % базисная линия) vs. время после лечения, голландских «опоясанных» кроликов, подвергнутых лечению препаративной формой, включающей 0,02% латрункулина В в 5% этаноле и носителем.

Фиг.2 демонстрирует внутриглазное давление (ИОР, % базисная линия) vs. время после лечения голландских «опоясанных» кроликов, подвергнутых лечению препаративной формой 0,02% латрункулина В в буферном фосфатом солевом растворе (рН~7), содержащем пропиленгликоль, полуксамер 407 и полисорбат 80, и носителем.

Фиг.3 демонстрирует внутриглазное давление (ИОР, % базисная линия) vs. время после лечения, голландских «опоясанных» кроликов, подвергнутых лечению препаративной формой 0,02% латрункулина В в цитратном буферном растворе (рН~5,5), содержащем 4,5% мас./об. маннита, 1% мас./об. полисорбата 80, 0,05% мас./об. динатрий эдетата и 0,01% мас./об. хлорида бензалкония, и носителем.

Фиг.4 изображает внутриглазное давление (ИОР, % базисная линия) vs. время после лечения, голландских «опоясанных» кроликов, подвергнутых лечению препаративной формой 0,02% дез-метиллатрункулина В в 5% этаноле, и носителем.

Фиг.5 изображает внутриглазное давление (ИОР, % базисная линия) vs. время после лечения, голландских «опоясанных» кроликов, подвергнутых лечению препаративной формой 0,1% цис-дез-метиллатрункулина В в цитратном буферном растворе (рН~5,5), содержащем 4,5% мас./об. маннита, 1% мас./об. полисорбата 80, 0,05% мас./об. динатрий эдетата и 0,01% мас./об. хлорида бензалкония, и носителем.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Если не указано иначе, % количества в заявке означает % (мас./об.).

Описана водная препаративная форма латрункулина, которая не требует использования ДМСО. Авторы изобретения создали водную препаративную форму латрункулина, не содержащую ДМСО, которая стабильна значительный период времени при комнатной температуре и при охлаждении. Авторы изобретения также раскрыли водную препаративную форму латрункулина, которая успешна для лечения некоторых состояний, таких как глаукома, подавлением полимеризации филаментов актина. Авторы изобретения раскрыли водную препаративную форму латрункулина, которая хорошо переносится, для глазного применения.

Настоящее изобретение относится к водной фармацевтической препаративной форме, содержащей макроцильное соединение, а конкретно латрункулин и аналоги латрункулина. Настоящее изобретение предоставляет соединения в водной среде.

5 Препаративная форма не содержит существенного количества неприемлемых веществ для фармацевтического, в частности офтальмического использования. Настоящее изобретение предоставляет стабильную водную препаративную форму латрункулина; препаративная форма подходит для терапевтического использования и остается

10 стабильной при использовании обычных условий хранения в течении длительного периода времени.
Водные фармацевтические препаративные формы настоящего изобретения исключают использование неподходящих растворяющих вспомогательных веществ, таких как метанол и диметилсульфоксид, которые могут вызвать токсикологические

15 последствия и повреждение тканей при использовании у человека или млекопитающих в течение длительного периода. Указанные фармацевтические препаративные формы содержат латрункулины в водном растворе в значительной концентрации и демонстрируют фармакологический эффект на снижение внутриглазного давления у млекопитающих. Для местного введения от одной до двух капель настоящих

20 препаративных форм наносят на поверхность глаза от одного до четырех раз в день по усмотрению врача. Представленные водные фармацевтические препаративные формы не вызывают раздражения и приемлемы для глаз и подходят для многочисленных инстилляций.

Латрункулины представляют собой активные макролиды цитоскелета. Латрункулины представляют собой специфические и мощные вещества, разрушающие актин, которые секвестрируют мономерный G-актин, приводя к разрушению

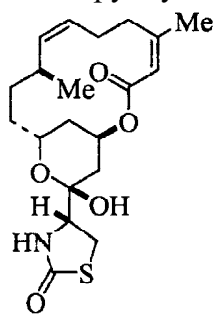
25 филаментов актина. Природные латрункулины выделяют из морских губок, таких как *Latrunculia magnifica*, *Negombata magnifica*, и *Spongia mycofijiensis* и из голожаберных моллюсков, например из *Chromodoris lochi*. Аналоги латрункулина могут быть получены синтетическими способами (A.B. Smith III et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 2995-3007; J.D. White and M. Kawasaki, *J. Org. Chem.* 1992, 57, 5292-5300; A. Fürstner et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 5358-5380).

30

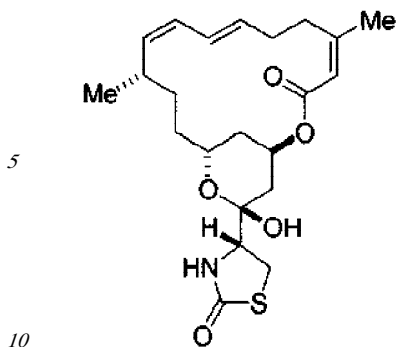
Латрункулины, использованные в данной заявке, означают природные латрункулины и аналоги латрункулина. Предпочтительными латрункулинами настоящего изобретения являются латрункулин В, латрункулины А, дез-метиллатрункулин В или их фармацевтически приемлемая соль, таутомер, сольват или

35 гидрат.

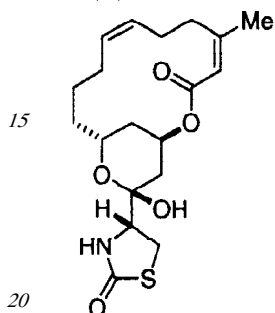
Латрункулин В



Латрункулин А



Дез-метиллатрункулин В



Аналоги латрункулина, использованные в настоящей заявке, являются синтетическими соединениями, чьи строения сходны со строением природных латрункулинов, как раскрыто в D.Blasberger, et al., Liebigs Ann. Chem. 1171-1188 (1989); Furstner et al., PNAS, 102:8103-8108 (2005); и Патентной публикации США US2006-0217427; содержание которых включено в описание ссылками.

Настоящее изобретение относится к водной фармацевтической препаративной форме, содержащей, по меньшей мере, один латрункулин и препаративную форму, не содержащую существенного количества диметилсульфоксида. Используемый в описании термин «существенное количество» означает более чем 0,1%, предпочтительно 0,01%, и более предпочтительно 0,001%. Водная фармацевтическая препаративная форма настоящего изобретения не содержит более чем 0,1%, предпочтительно 0,01%, и более предпочтительно 0,001% об./об. ДМСО. В предпочтительном варианте осуществления изобретения водная фармацевтическая препаративная форма настоящего изобретения не содержит диметилсульфоксида.

Настоящее изобретение относится к водной фармацевтической препаративной форме, содержащей, по меньшей мере, один латрункулин в количестве 0,001-2% мас./об., и средство для поддержания тоничности 200-400 мОсм/кг, в которой рН составляет 4-9 и препаративная форма не содержит существенного количества диметилсульфоксида. Если фармацевтическую препаративную форму используют офтальмически, рН препаративной формы предпочтительно составляет 4-8, и тоничность предпочтительно составляет 220-380 мОсм/кг.

Настоящее изобретение относится к водной фармацевтической препаративной форме, содержащей, по меньшей мере, один латрункулин в количестве 0,001-2% мас./об., 1-100 мМ буфера, подходящего для поддержания рН 4-8, предпочтительно для поддержания рН 4-6, 0,01-2% мас./об. неионного поверхностно-активного вещества, и средства для поддержания тоничности 200-400 мОсм/кг. Указанная препаративная форма не содержит существенного количества ДМСО и предпочтительно содержит не более чем 5% (об./об.) этанола, и более предпочтительно, не более чем 2%, 1% этанола.

Важно, что компоненты настоящего изобретения совместимы друг с другом.

Термин «совместимы», использованный в данном документе, означает физическую совместимость и химическую совместимость. Физическая совместимость означает, что компоненты не образуют преципитатов или коацерватов и не вызывают разделения фаз, осаждения или изменения цвета. Химическая совместимость означает, что

5 компоненты не вызывают разрушения латрункулина или инактивации биологической активности латрункулинов.

Сурфактанты (поверхностно-активные вещества), подходящие для настоящего изобретения, могут быть неионными или ионными. Однако ионные сурфактанты

10 менее предпочтительны. Хорошо известно, что длительное использование катионных веществ, особенно катионных сурфактантов, вызывает повреждение эпителия роговицы. Анионные компоненты часто не совместимы с другими компонентами настоящего изобретения.

Предпочтительные поверхностно-активные вещества для настоящего изобретения

15 неионные. Приемлемые неионные поверхностно-активные вещества включают, но не ограничены перечисленным, полисорбат 80, полисорбат 60, полисорбат 20, тилоксапол, полиоксилстеараты, глицерилмоностеарат, полиоксил касторовое масло, полиэтиленгликоль каприлового триглицерида и полоксамеры. Предпочтительные

20 неионные сурфактанты представляют собой полисорбаты и полоксамеры. Указанные сурфактанты являются неионными конденсатами щелочного оксида органического соединения, которое содержит гидроксильные группы. Неионные сурфактанты повышают растворимость латрункулина. Неионные сурфактанты часто защищают молекулы латрункулина от химического разрушения при хранении молекул

25 латрункулина в мицеллярной среде, которая улучшает физическую и химическую стабильность. Концентрация сурфактанта (сурфактантов) в препаративной форме составляет приблизительно 0,01-2%, предпочтительно 0,05-1,5% и более предпочтительно 0,1-1% (мас./об.). Подходящую концентрацию сурфактанта

30 определяют растворимостью латрункулина в присутствии сурфактанта, нейтрализацией бактерицидных влияний сопутствующих консервантов и/или концентрациями, которые могут вызвать раздражение у человека. Фармацевтические препаративные формы, произведенные в присутствии неионного поверхностно-активного вещества, могут быть скорректированы до целевой рН 4-8, без нарушения

35 растворимости латрункулина.

Не все неионные сурфактанты подходят для препаративной формы латрункулина вследствие их несовместимости с латрункулином или другими компонентами препаративной формы или вследствие их непригодности для использования у

40 человека. Например, неионные сурфактанты, такие как сорбитанмоностеарат, сорбитантриолеат, сорбитанмоноолеат, полиэтиленгликоль глицерилкокоат и класс oleth сурфактантов, не совместим с препаративной формой латрункулина, потому что перечисленные сурфактанты не образуют прозрачного раствора и образуют коацерваты и/или преципитаты при смешивании с другими компонентами

45 препаративной формы. Также неионный сурфактант TRITON® (октилфениловый эфир полиоксиэтилена) не подходит для использования для человека.

Концентрация латрункулина (латрункулинов) в водной препаративной форме составляет в общем случае 0,001-2%, предпочтительно 0,005-0,2%, более

50 предпочтительно 0,005-0,1%, и более предпочтительно 0,005-0,02% (мас./об.).

Буферные растворы для поддержания рН 4-8 включают фосфатный, цитратный буфер, ацетатный буфер, малеатный буфер, тартратный буфер или их сочетания. Фосфатный буфер или цитратный буфер предпочтительны. Для длительной

стабильности препаративная форма предпочтительно имеет рН 4-6. Буферные растворы, подходящие для поддержания рН 4-6, включают цитратный буфер, ацетатный буфер, цитрат/фосфатный буфер, малеатный буфер, тартратный буфер или их сочетания. Подходящая концентрация буфера составляет 1-100 мМ, предпочтительно 5-50 мМ, более предпочтительно 5-25 мМ и наиболее предпочтительно 10-20 мМ.

Средство для поддержания тоничности представлено в количестве для обеспечения тоничности 200-400, предпочтительно 220-380, и более предпочтительно 250-340 мОсм/кг. Средство для поддержания тоничности может быть ионным и неионным. Неионное средство для поддержания тоничности предпочтительнее, потому что оно более часто совместимо с сурфактантами, чем ионное вещество. Неионные средства для поддержания тоничности включают диолы, такие как глицерин, маннит, эритрит; и сахара, такие как декстроза. Другие неионные средства для поддержания тоничности, такие как глицерин, полиэтиленгликоль, пропиленгликоль, которые также функционируют в качестве соразтворителей, также могут быть использованы. Неионные средства для поддержания тоничности представлены в общем случае в количестве 2-20%, предпочтительно 3-10%, более предпочтительно 3,5-5% (мас./об.). Предпочтительными неионными веществами являются маннит и декстроза в количестве 2-6%.

Средством для поддержания тоничности также могут быть ионные вещества, такие как хлорид натрия, хлорид калия или сбалансированный солевой раствор. Ионные средства для поддержания тоничности могут быть представлены в количестве 0,5-0,9%, предпочтительно 0,6-0,9% (мас./об.).

Сурфактант, средство для поддержания тоничности, соразтворитель и какой-либо другой ингредиент, вносимый состав в препаративной формы, должен иметь хорошую растворимость в воде, обладать совместимостью с другими компонентами и иметь умеренное влияние на конечную вязкость препаративной формы. Препаративная форма должна иметь надлежащую конечную вязкость, такую чтобы препаративная форма могла быть доставлена как капли для местного применения, используя обычную глазную флакон-капельницу и быть фильтр-стерилизуемой. Препаративная форма предпочтительно представляет собой прозрачный раствор без каких-либо осадков.

Фармацевтическая препаративная форма настоящего изобретения необязательно содержит хелатирующее вещество. Хелатирующее вещество представляет собой вещество, которое может формировать отдельные координационные связи с ионами металла. Хелатирующие вещества предлагают широкий диапазон секвестрантов для контроля ионов металла в водных системах. Посредством образования стабильных водорастворимых комплексов с поливалентными ионами металлов хелатирующие вещества предупреждают нежелательное взаимодействие блокированием нормальной реакционной способности ионов металла. Этилендинитрилтетрауксусная кислота (EDTA), диэтилентриаминпентауксусная кислота (DTPA) и N,N-бис(карбоксиметил)глицин (NTA) являются примерами хелатирующих веществ для настоящих изобретений. EDTA (этилендиаминтетраацетат) представляет собой предпочтительное хелатирующее вещество.

Медико-санитарные правила в разных странах требуют, чтобы многодозовые глазные препараты содержали консерванты. Многие хорошо известные консерванты, которые использовали в некоторых других глазных препаратах, не могут быть использованы в настоящем изобретении, потому что указанные препараты не

считаются безопасными для повторного офтальмического использования, или их взаимодействие с сурфактантом приводит к образованию комплекса, который уменьшает бактерицидную активность консерванта. В одном варианте осуществления, хлорид бензалкония применяют в качестве безопасного консерванта;

5 предпочтительно, хлорид бензалкония применяют совместно с EDTA. Другие подходящие консерванты включают бензиловый спирт, метилпарабены, пропилпарабены, тимерозал, хлоробутанол и хлориды бензетония. Обычно такие консерванты используют в количестве 0,001-1%, предпочтительно 0,01-0,25%, и
10 наиболее предпочтительно 0,05-0,2% (мас./об.).

В одном варианте осуществления фармацевтическая препаративная форма содержит 0,5-0,9% ионного модификатора тоничности, такого как хлорид натрия; препаративная форма дополнительно содержит буферные вещества (такие как
15 фосфаты натрия и/или цитрат натрия и лимонную кислоту) до 1-100 мМ, неионный сурфактант в интервале 0,01-2%, хелатирующее вещество в интервале 0,005-0,05% мас./об., и регуляторы рН. Такая водная препаративная форма имеет тоничность 250-350 мОсм/кг и изготовлена с рН 4-6.

В еще одном варианте осуществления фармацевтическая препаративная форма
20 содержит 4-5% неионного средства для поддержания тоничности, такого как маннит; препаративная форма содержит буферные вещества (такие как фосфаты натрия и/или цитрат натрия и лимонную кислоту) в интервале значений 5-50 мМ, сурфактант в интервале 0,01-2%, хелатирующее вещество в интервале 0,005-0,05% мас./об., и регуляторы рН. Такая водная препаративная форма имеет тоничность 250-350
25 мОсм/кг и создана с рН 4-6. Препаративная форма необязательно содержит консервант в интервале значений 0,001-0,1% мас./об.

В еще одном варианте осуществления фармацевтическая препаративная форма
30 содержит 0,001-2% мас./об. латрункулина, 0,1-2% полисорбата 80 и средство для поддержания тоничности 200-400 мОсм/кг. Препаративная форма не обязательно содержит 1-100 мМ буфера для поддержания рН 4-6. Подходящие буферы включают фосфатный, цитратный буфер, ацетатный буфер, малеатный буфер, тартратный буфер или их сочетания. Фосфатный или цитратный буфер предпочтительны.

Настоящее изобретение дополнительно относится к водной фармацевтической
35 препаративной форме, содержащей, по меньшей мере, один латрункулин в количестве 0,001-2% мас./об., 5-25% этанола (об./об.) и средство для поддержания тоничности 200-400 мОсм/кг. Для глазного применения концентрация этанола предпочтительно составляет 5-10%. Препаративная форма не обязательно содержит 1-
40 100 мМ буфера для поддержания рН 4-8. Подходящие буферы включают фосфатный, цитратный буфер, ацетатный буфер, малеатный буфер, тартратный буфер или их сочетания. Фосфатный или цитратный буфер предпочтительны. Препаративная форма не содержит существенного количества ДМСО. В одном варианте осуществления препаративная форма содержит 0,005-0,02% латрункулина, 5-10% этанола и 0,5-0,9%
45 хлорида натрия.

Настоящее изобретение дополнительно относится к водной фармацевтической
препаративной форме, содержащей, по меньшей мере, один латрункулин в
количестве 0,001-2% мас./об., 1-10% (об./об.) пропиленгликоля, 0,02-0,25% мас./об.
50 полаксамера и средство для поддержания тоничности 200-400 мОсм/кг. Препаративная форма не обязательно содержит 1-100 мМ буфера для поддержания рН 4-8 и/или 0,1-1% сурфактанта, такого как полисорбат 80. Подходящие буферы включают фосфатный, цитратный буфер, ацетатный буфер, малеатный буфер,

тарtratный буфер или их сочетания. Фосфатный или цитратный буфер предпочтительны. Препаративная форма не содержит существенного количества ДМСО.

5 Настоящее изобретение дополнительно относится к водной фармацевтической
препаративной форме, содержащей, по меньшей мере, один латрункулин в
количестве 0,001-2% мас./об., циклодекстрин в количестве 0,005-5%,
предпочтительно 0,01-2% мас./об., консервант, такой как бензалкония хлорид в
количестве 0,01-0,5% мас./об., и средство для поддержания тоничности 200-400
10 мОсм/кг. Циклодекстрин, который образует комплексы с латрункулином и повышает
водную растворимость латрункулина, подходит для настоящего изобретения.
Например, 0,01-2% гидроксипропил-бета циклодекстрин или 0,01-1%
сульфобутилированный эфир гидроксипропил-бета циклодекстрин включают в
водную препаративную форму. Препаративная форма необязательно содержит 1-100
15 мМ буфера для поддержания pH 4-8. Подходящие буферы включают фосфатный,
цитратный буфер, ацетатный буфер, малеатный буфер, тарtratный буфер или их
сочетания. Фосфатный или цитратный буфер предпочтительны. Препаративная форма
не содержит существенного количества ДМСО. Препаративная форма необязательно
20 содержит поверхностно-активное вещество, такое как TWEEN® (полисорбат)-20,
TWEEN® (полисорбат)-40, TWEEN® (полисорбат)-60, Span (сорбитанмоноолеат)-20,
Span (сорбитанмоноолеат)-40, тилоксапол, поливинилпирролидон и поливиниловый
спирт.

25 Настоящее изобретение дополнительно относится к эмульсии, включая
микроэмульсию или разбавленную эмульсию, в которой латрункулины сформованы
со вспомогательными веществами до образования однородной, воспроизводимой,
устойчивой фармацевтической препаративной формы, которая физически и химически
стабильна. Подходящие вспомогательные вещества включают сурфактанты,
30 эмульгирующие вещества и подходящие растительные или синтетические масла,
которые фармацевтически приемлемы. Эмульсию образуют в водном растворе при
pH 4-8, предпочтительно 4-7, и более предпочтительно pH 4-6. Препаративная форма
необязательно содержит 1-100 мМ буфера для поддержания pH 4-8. Подходящие
буферы включают фосфатный, цитратный буфер, ацетатный буфер, малеатный буфер,
35 тарtratный буфер или их сочетания. Фосфатный или цитратный буфер
предпочтительны. Препаративная форма не содержит существенного количества
ДМСО. Эмульсия необязательно содержит приемлемый консервант и один или более
антиоксидантов. Такая эмульсия может быть получена общепринятыми способами
40 эмульгирования, включая, но не ограничиваясь перечисленным, гомогенизацию с
высокой скоростью сдвига, обработку ультразвуком, гомогенизацию при высоком
давлении, механическим встряхиванием с последующей эмульсификацией при высоком
давлении или способами, такими как микрофлюидизация или межфлюидное
взаимодействие.

45 В одном варианте осуществления фармацевтическая препаративная форма
содержит 0,001-2% латрункулина, 1-10% касторового масла или 10-20% минерального
масла, 1-5% карбомеров или 1-10% цетилового спирта, 0,1-1% полисорбата 80, 0,1-1%
моностеарата глицерила или 0,1-2% полиоксилстеарата и средство для поддержания
50 тоничности, такое как глицерин или пропиленгликоль для поддержания
тоничности 200-400 мОсм/кг; pH препаративной формы 4-7.

Фармацевтическая препаративная форма настоящего изобретения стабильна при
температуре хранения в холодильнике, по меньшей мере, три месяца,

предпочтительно 6 месяцев, и более предпочтительно 12 месяцев. Термин «стабильность», использованный в данном документе, означает, что, по меньшей мере, 70%, предпочтительно 80%, более предпочтительно 90% молекул латрункулина остаются интактными без разрушения.

5 Фармацевтические препаративные формы настоящего изобретения подходят для хранения при температуре хранения в холодильнике или при комнатной температуре, но не стабильны при циклах замораживания-оттаивания, что проявляется негомогенностью молекул латрункулина и изменениями в эффективности консервирования препаративной формы.

10 Фармацевтические препаративные формы настоящего изобретения произведены асептическим способом или стерилизованы на конечной стадии. Уровни очистки всех веществ, использованных при получении, превышает 90%. Растворы изобретения получены тщательным смешиванием латрункулина, буфера, модификатора
15 тоничности, сурфактанта, хелатирующего вещества; необязательно неионных полимеров, комплексообразующих веществ, растворяющих веществ, консервантов и антиоксиданта.

20 Фармацевтическая препаративная форма может быть стерилизована фильтрацией препаративной формы через стерилизующий неоднородный фильтр, предпочтительно с номинальным размером пор 0,22 микрона. Фармацевтическая препаративная форма может также быть стерилизована стерилизацией на конечной стадии, используя один или более способов стерилизации, включая, но не ограничиваясь перечисленным, термический способ, или способ стерилизации радиацией, или используя импульсное
25 излучение для производства стерильной препаративной формы.

В одном варианте осуществления фармацевтическую препаративную форму настоящего изобретения вводят местно в глаза (например, местно, в камеру глаза или посредством имплантата) в форме глазных препаратов. Фармацевтическая
30 препаративная форма может быть скомбинирована с офтальмически приемлемым веществом, повышающим вязкость, или веществом, повышающим проницаемость с образованием глазной суспензии или раствора. Фармацевтическая препаративная форма готова для использования без дополнительного разведения или каких-либо других манипуляций.

35 Глаукома представляет собой заболевание глаз, которое приводит к необратимому ухудшению зрения. Открытоугольная глаукома отличается патологически высоким сопротивлением оттоку жидкости из глаза. Сцепления клеток трабекулярной сети представляют собой главный определяющий фактор сопротивления потоку.

40 Фармацевтические препаративные формы настоящего изобретения вызывают преходящее фармакологическое нарушение клеточных сцеплений, в основном посредством разрыва связанных структур цитоскелета или модификацией их взаимодействия с мембраной. Нарушение указанных сцеплений уменьшает сопротивление трабекулярной сети току жидкости и, следовательно, уменьшает
45 внутриглазное давление терапевтически успешным образом.

50 Фармацевтические препаративные формы настоящего изобретения успешны для модулирования заживления раны после трабекулэктомии. Фармацевтические препаративные формы в общем случае менее токсичны для корнеальных эндотелиальных клеток, чем антиметаболиты, такие как 5-фторурацил или митоцин C. Фармацевтические препаративные формы подавляют управляемую актомиозином контрактильность, приводя к повреждению актиновой микрофиламентной системы и нарушению ее мембранного крепления, что ослабляет клеточно-экстраклеточные

сцепления. Такие состояния подавляют заживление раны и таким образом уменьшают повреждение фильтрационной подушки после операции.

Ангиогенез характеризуется развитием новой сосудистой сети из существующих сосудов и играет важную роль в физиологических процессах, таких как эмбриогенез, заживление раны и женская репродуктивная функция, так же как и в патологических случаях, включая рак, ревматоидный артрит и диабетическую ретинопатию. Рост метастазов опухолей критически зависит от ангиогенеза. Ангиогенез представляет собой многостадийный процесс, вовлекающий эндотелиальные клетки (EC) цитоскелета в миграцию, пролиферацию и стабилизацию барьера. Авторы настоящего изобретения полагают, что взаимодействие между цитоскелетом и апоптозом затрагивает внутриклеточные пути, которыми происходит образование сосудов. Фармацевтические препаративные формы настоящего изобретения успешны для подавления ангиогенеза и лечения опухолей.

Антимитотические лекарственные средства серьезно затрагивают экскрецию жидкости, есть серьезные основания полагать, что целостность цитоскелета обусловлена данной функцией. Указанная роль цитоскелета в управлении эпителиальным транспортом представляет собой обязательную стадию в перемещении по водному каналу содержащихся агрегатов частиц и в их доставке к апикальной мембране. Регуляция актинового цитоскелета является важной в модуляции транспорта жидкости. Зависящая от осмоляльности перестройка цитоскелета и экспрессия специфических стрессовых белков являются важными компонентами регуляторных систем, вовлеченных в адаптацию медуллярных клеток к осмотическому стрессу. Фармацевтические препаративные формы настоящего изобретения успешны в управлении функцией эпителия и модулировании транспорта жидкости.

Настоящее изобретение обеспечивает уменьшение внутриглазного давления, способ лечения глаукомы, способ подавления заживления раны после трабекулэктомии, способ подавления ангиогенеза, способ лечения рака и способ управления функцией эпителия и модулирования транспорта жидкости. Способ включает стадию введения пациенту, который нуждается в лечении, фармацевтической препаративной формы настоящего изобретения в количестве, эффективном для повреждения актинового цитоскелета, посредством подавления полимеризации актина.

Фармацевтическая препаративная форма настоящего изобретения используется в качестве средств, снижающих внутриглазное давление, и, следовательно, полезна в лечении или предупреждении глаукомы или сходных глазных состояний.

Фармацевтическая препаративная форма настоящего изобретения полезна в лечении или предупреждении нейродегенеративных заболеваний, которые являются результатом повышенного внутриглазного давления и повреждения глазных нейронов.

Фармацевтические препаративные формы настоящего изобретения могут также быть использованы в косметической области для уменьшения морщин, в области консервации тромбоцитов крови и для купирования вазоспазма и спазма мышц рта способами и путем введения, известными специалисту в данной области.

Фармацевтическая препаративная форма, раскрытая в данном документе, может быть введена в глаза пациента локально любым способом, но предпочтительно вводится в форме капель, спрея или геля. В качестве альтернативы фармацевтическая препаративная форма может быть введена в глаза посредством липосом. Дополнительно, фармацевтическая препаративная форма может быть введена в

слезную пленку помпово-катетерной системой. В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическую препаративную форму содержат в устройстве для длительного или селективного высвобождения, например в мембране, такой как, но не ограничиваясь указанным, в OcusertTM System (Alza Corp., Palo Alto, CA) или Retisert (Bausch & Lomb, Rochester, NY). В качестве дополнительного варианта осуществления фармацевтическая препаративная форма может содержаться или быть прикрепленной к контактным линзам, которые располагают на глазах. Другой вариант осуществления настоящего изобретения касается фармацевтической препаративной формы, содержащейся в тампоне или губке, которыми препаративная форма может быть нанесена на поверхность глаза. Другой вариант осуществления настоящего изобретения касается фармацевтической препаративной формы, содержащейся в жидком спрее, который может быть нанесен на поверхность глаза. Другой вариант осуществления настоящего изобретения касается фармацевтической препаративной формы, включающей инъекцию фармацевтической препаративной формы непосредственно в слезные ткани или на поверхность глаза.

В еще одном варианте осуществления фармацевтическую препаративную форму вводят пациенту системно. Термин «системно», использованный в данном документе, включает подкожную, внутривенную инъекцию, инъекцию в стекловидное тело, в камеру глаза, субконъюнктивальные инъекции, местное введение и пероральное введение.

Доставка в стекловидное тело может включать одну или множество инъекций в стекловидное тело, или посредством имплантируемого устройства в стекловидное тело, которое высвобождает соединения, действующие на цитоскелет непрерывным способом. Доставка в стекловидное тело может также включать доставку во время хирургических манипуляций в виде или внутриглазной ирригации раствором, или применяют непосредственно в стекловидное тело во время хирургической манипуляции. Та же цель может быть достигнута субконъюнктивальной или ретробульбарной инъекцией.

Изобретение проиллюстрировано следующими примерами, которые не предназначены ограничивать изобретение рамками процедур, описанных в них. Без дополнительного экспериментирования специалист в данной области может, используя предшествующее описание, применять настоящее изобретение в полном объеме. Следующие предпочтительные специфические варианты осуществления, следовательно, истолковываются как только иллюстративные и не ограничены другим раскрытием каким-либо образом.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Получение препаративной формы латрункулина В 0,02% в 5% препаративной форме этанолового носителя

Во флакон, содержащий 1 мг латрункулина В, добавили 250 микролитров 200 этанола определенной концентрации, полученный раствор перемешивали при комнатной температуре. К нему добавили 750 микролитров буферного фосфатного солевого раствора, рН которого приблизительно составляет 7; раствор перемешивали при комнатной температуре в течение приблизительно 5 минут. Полученный раствор был прозрачным и 0,1% в отношении латрункулина В. Использовали описанный раствор или разводили до концентрации 0,02%, используя буферную фосфатную солевую препаративную форму.

Пример 2. Получение препаративной формы латрункулина В в препаративной форме водного носителя

Во флакон, содержащий 1 мг латрункулина В, добавили 100 микролитров пропиленгликоля, полученный раствор перемешивали при комнатной температуре. Латрункулин В немедленно растворился. Раствор охладили до приблизительно 5°C в ванночке со льдом. К нему добавили 450 микролитров буферного фосфатного солевого раствора (рН~7), содержащего 0,25% мас./об. полоксамера 407, и смешали в течение 10 минут, при сохраняющейся температуре приблизительно 5°C. К полученному добавили 450 микролитров буферного фосфатного солевого раствора (рН~7), содержащего 1% мас./об. полисорбата 80, и смешали в течение 10 минут при комнатной температуре. Полученный раствор был прозрачным и 0,1% в отношении латрункулина В. Описанный раствор использовали как есть или разведенным до концентрации 0,02%, используя буферный фосфатный солевой раствор (рН~7).

Пример 3. Получение препаративной формы латрункулина В в препаративной форме водного носителя

Во флакон, содержащий 1 мг латрункулина В, добавили 50 микролитров пропиленгликоля и 40 микролитров глицерина, полученный раствор перемешивали при температуре окружающей среды. Латрункулин В немедленно растворился. Раствор охладили до приблизительно 5°C в ванночке со льдом. К нему добавили 910 микролитров буферного фосфатного солевого раствора (рН~7), содержащего 0,2% мас./об. полоксамера 407 и 1% мас./об. полисорбата 80. После добавления раствор смешали в течение 10 минут при температуре приблизительно 5°C и затем допустимо смешивали при комнатной температуре дополнительно в течение 10 минут. Полученный раствор был прозрачным и 0,1% в отношении латрункулина В. Описанный раствор использовали как есть или разведенным до концентрации 0,02% или меньшей концентрации, используя буферный фосфатный солевой раствор (рН~7), содержащий 0,2% мас./об. полоксамера 407 и 1% мас./об. полисорбата 80.

Пример 4. Получение препаративной формы латрункулина В в препаративной форме водного носителя

Во флакон, содержащий 1 мг латрункулина В, добавили 1 мл приблизительно 10 мМ буферного цитратного раствора, содержащего 4,5% мас./об. маннита, 1% мас./об. полисорбата 80, 0,05% мас./об. динатрий эдетата, и 0,01% мас./об. хлорида бензалкония (рН~5) и перемешивали при комнатной температуре в течение приблизительно 15 мин. Раствор был прозрачным и бесцветным. Раствор был 0,1% в отношении латрункулина В и имел рН приблизительно 5,5. Описанный раствор использовали как есть или разведенным до концентрации 0,02% мас./об. или меньшей концентрации (такой как 0,005% мас./об.), используя буферный цитратный раствор (рН~5,5), содержащий 4,5% мас./об. маннита, 1% мас./об. полисорбата, 80, 0,05% мас./об. динатрий эдетата и 0,01% мас./об. хлорида бензалкония.

Растворы, содержащие 0,02% (раствор А) и 0,005% (раствор В) латрункулина, были исследованы на стабильность. Разрушение латрункулина В измерили HPLC. Результаты показали, что раствор А сохранил 95%, и раствор В сохранил 100% первоначального количества латрункулина В после хранения при 2-8°C в течение 6 месяцев.

Пример 5. Получение раствора дез-метиллатрункулина В 0,02% в 5% препаративной форме этанолового носителя

Во флакон, содержащий 1 мг дез-метиллатрункулина В, добавили 250 микролитров 200 этанола определенной концентрации, полученный раствор перемешивали при температуре окружающей среды. К нему добавили 750 микролитров буферного фосфатного солевого раствора, рН которого приблизительно

составляла 7; раствор перемешивали при комнатной температуре в течение приблизительно 5 минут. Полученный раствор был прозрачным и 0,1% в отношении латрункулина В. Описанный раствор использовали как есть или разведенным до концентрации 0,02%, используя буферирную фосфатную солевую препаративную форму.

Пример 6. Получение раствора цис-дез-метиллатрункулина В в препаративной форме водного носителя

Во флакон, содержащий 1 мг цис-дез-метиллатрункулина В, добавили 1 мл приблизительно 10мМ буферного цитратного раствора, содержащего 4,5% мас./об. маннита, 1% мас./об. полисорбата, 80, 0,05% мас./об. динатрий эдетата, и 0,01% мас./об. хлорида бензалкония (рН~5), и перемешивали при комнатной температуре в течение приблизительно 15 мин. Раствор был прозрачным и бесцветным. Раствор был 0,1% в отношении латрункулина В и имел рН приблизительно 5,5. Описанный раствор использовали как есть или разведенным до концентрации 0,02% или меньшей концентрации, используя буферный цитратный раствор (рН~5,5), содержащий 4,5% мас./об. маннита, 1% мас./об. полисорбата 80, 0,05% мас./об. динатрий эдетата и 0,01% мас./об. хлорида бензалкония.

Пример 7. Эффекты препаративных форм соединений цитоскелета на внутриглазное давление in vivo

Животные препараты и инструментарий: для всех in vivo экспериментов и оценок переносимости препаративных форм и изучения эффектов соединений в данных препаративных формах на внутриглазное давление, эксперименты провели на голландских «опоясанных» кроликах. Животных, использованных в данных исследованиях, разместили индивидуально в животноводческом хозяйстве, где они содержались при нормальном не реверсированном 12-часовом цикле дня и ночи и имели свободный доступ к пище и воде. Измерение внутриглазного давления выполнили, используя имеющийся в продаже тонометр ТonoPen XL.

Описание опыта: кроликов достают из их клетки и неподвижно закрепляют в мешках из ткани за несколько минут перед измерениями IOP для минимизации индуцированного стрессом повышения IOP. Роговицу глаз кроликов анестезируют 0,25% пропаракаином HCl. После ожидания примерно в течение 2 минут для появления эффекта анестезии, веко удерживают открытым не доминирующей рукой и к центральной части роговицы неоднократно прислоняют Тono-Pen для успешной регистрации показаний. Или фармацевтическую препаративную форму, содержащую латрункулин В, или контрольный носитель вводят каждому животному в виде одной или более глазной капли (капель). Обычно, используя пипетку, 20 микролитров (2 капли × 10 микролитров каждая) наносят на центральную часть роговицы с примерно 30 секундными интервалами. Моргание предотвращают максимальным воздействием; одинаковый объем исследуемого раствора и носителя инстиллируют в оба глаза. IOP измеряют перед инстилляцией (-1 час, 0 часов) и через 1, 2-2,5, 3, 4,5 и 6 часов после инстиллюции. Животных возвращают в клетку после каждой серии измерений. В добавление к измерению IOP, краткие осмотры глаза выполняют перед дозированием, и во время курса введений, и в конце исследования. Анализ сфокусирован на наблюдении за состоянием глаз, конкретно на глазных симптомах, таких как покраснение, отек конъюнктивы, конъюнктивальные выделения и мутность роговицы.

Результаты:

Фиг.1 демонстрирует эффекты уменьшения внутриглазного давления у голландских

«опоясанных» кроликов, которых подвергли воздействию 0,02% латрункулина В в 5% препаративной форме этанола и носителем.

Фиг.2 демонстрирует эффекты уменьшения внутриглазного давления у голландских «опоясанных» кроликов, которых подвергли воздействию 0,02% латрункулина В в буферированном фосфатом солевом растворе (рН~7), содержащем пропиленгликоль, полоксамер 407 и полисорбат 80, и носителем (пример 3).

Фиг.3 демонстрирует эффекты уменьшения внутриглазного давления у голландских «опоясанных» кроликов, которых подвергли воздействию 0,02% латрункулина В в буферированном цитратом растворе (рН~5,5), содержащем 4,5% мас./об. маннита, 1% мас./об. полисорбата 80, 0,05% мас./об. динатрий эдетата и 0,01% хлорида бензалкония, и носителем (пример 4).

Фиг.4 демонстрирует эффекты уменьшения внутриглазного давления у голландских «опоясанных» кроликов, которых подвергли воздействию 0,02% дез-метиллатрункулина В в 5% препаративной форме этанола и носителем (пример 5).

Фиг.5 демонстрирует эффекты уменьшения внутриглазного давления у голландских «опоясанных» кроликов, которых подвергли воздействию 0,1% цис-дез-метиллатрункулина В в буферном цитратном растворе (рН~5,5), содержащем 4,5% мас./об. маннита, 1% мас./об. полисорбата 80, 0,05% мас./об. динатрий эдетата и 0,01% мас./об. хлорида бензалкония, и носителем (пример 6).

Изобретение, и образ, и способ его получения и использования, описан в данном документе полностью, ясно, в кратких и точных терминах, понятных специалисту в данной области, который имеет отношение к получению и использованию вышеупомянутого. Понятно, что вышеизложенное описывает предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения и что могут быть сделаны его модификации в пределах рамок настоящего изобретения, которые определены в формуле изобретения. Отмечен и отчетливо заявлен предмет обсуждения, рассматриваемый как изобретение, следующая формула изобретения завершает настоящий документ.

Формула изобретения

1. Водная фармацевтическая препаративная форма для уменьшения внутриглазного давления у млекопитающего, содержащая, по меньшей мере, один латрункулин в количестве 0,001-2% мас./об., неионное поверхностно-активное вещество в количестве 0,01-2% мас./об. и средство для поддержания тоничности от 200 до 400 мОсм/кг, при рН от 4 до 8, в которой латрункулин, поверхностно-активное вещество и средство для поддержания тоничности совместимы в препаративной форме, и препаративная форма не содержит более чем 0,1% об./об. диметилсульфоксида (ДМСО), где указанным латрункулином является латрункулин А, латрункулин В, дез-метиллатрункулин В или аналог латрункулина, указанным неионным поверхностно-активным веществом является полисорбат, полоксамер или их комбинация.

2. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.1, которая не содержит более чем 0,001% об./об. диметилсульфоксида.

3. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.1, которая не содержит диметилсульфоксида.

4. Водная фармацевтическая препаративная форма по любому из пп.1-3, дополнительно содержащая 1-100 мМ буфера, подходящего для поддержания рН от 4 до 6.

5. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.4, в которой указанный

буфер представляет собой цитратный буфер, ацетатный буфер, цитрат/фосфатный буфер, малеатный буфер, тартратный буфер или их комбинацию.

6. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.1, дополнительно содержащая хелатирующее вещество и/или консервант.

7. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.1, в которой указанное средство для поддержания тоничности представляет собой неионное средство для поддержания тоничности.

8. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.7, в которой указанное неионное средство для поддержания тоничности представляет собой маннит или декстрозу.

9. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.7, в которой указанное неионное средство для поддержания тоничности представляет собой пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и/или глицерин.

10. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.1, которая стабильна в течение, по меньшей мере, 6 месяцев при 2-8°C.

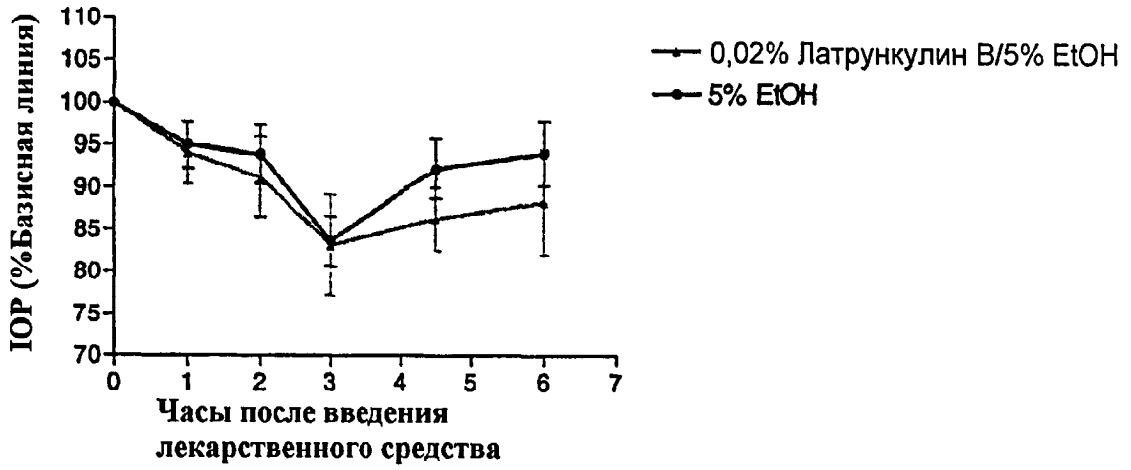
11. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.1, в которой указанное поверхностно-активное вещество представляет собой полоксамер в количестве 0,02-0,25% мас./об., и препаративная форма дополнительно содержит 1-10% об./об. пропиленгликоля.

12. Водная фармацевтическая препаративная форма для уменьшения внутриглазного давления у млекопитающего, содержащая, по меньшей мере, один латрункулин в количестве 0,001-2% мас./об., 5-10% об./об. этанола и средство для поддержания тоничности от 200 до 400 мОсм/кг, в котором рН препаративной формы от 4 до 8, и препаративная форма не содержит более чем 0,1% об./об. ДМСО.

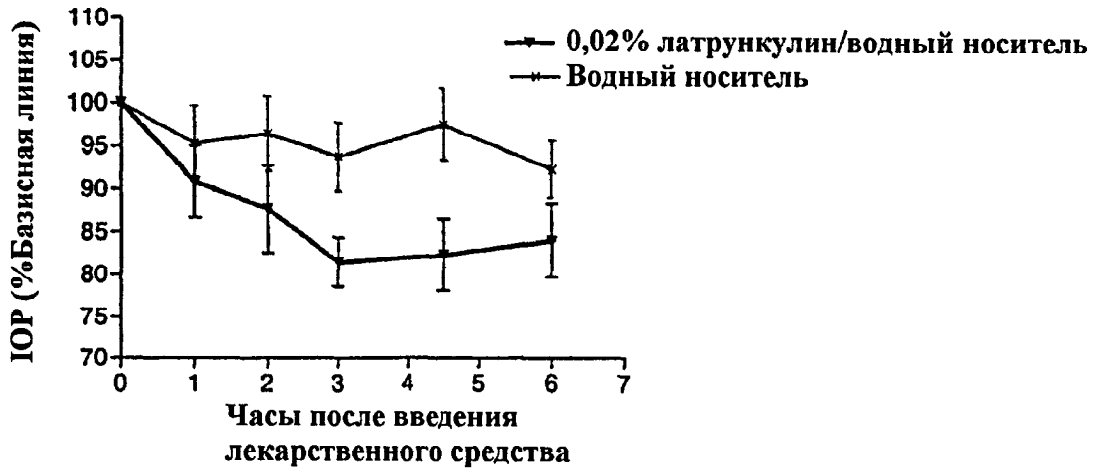
13. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.1, в которой указанный латрункулин представляет собой латрункулин А, латрункулин В или дез-метиллатрункулин В.

14. Водная фармацевтическая препаративная форма по п.1, в которой содержание указанного латрункулина составляет 0,005-0,02% мас./об.

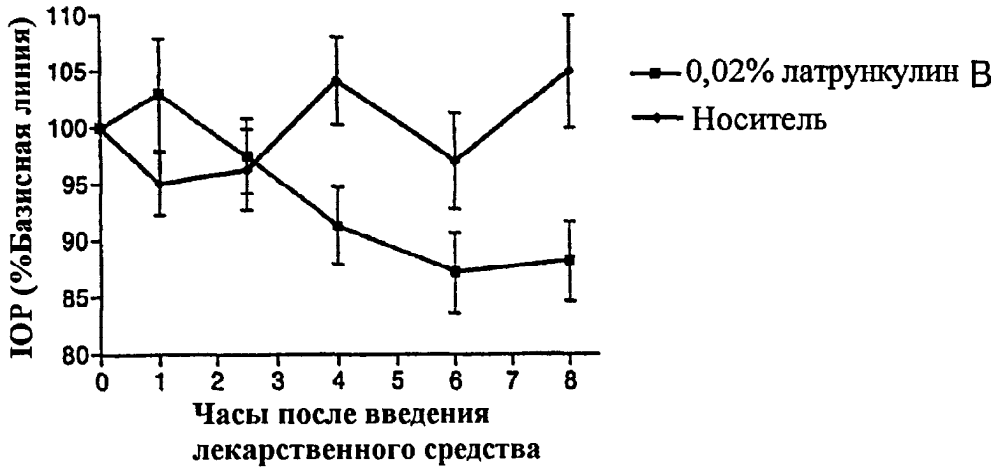
15. Способ уменьшения внутриглазного давления у млекопитающего, включающий стадию введения млекопитающему, нуждающемуся в лечении, водной фармацевтической препаративной формы по пп.1-14, в количестве, эффективном для уменьшения внутриглазного давления.



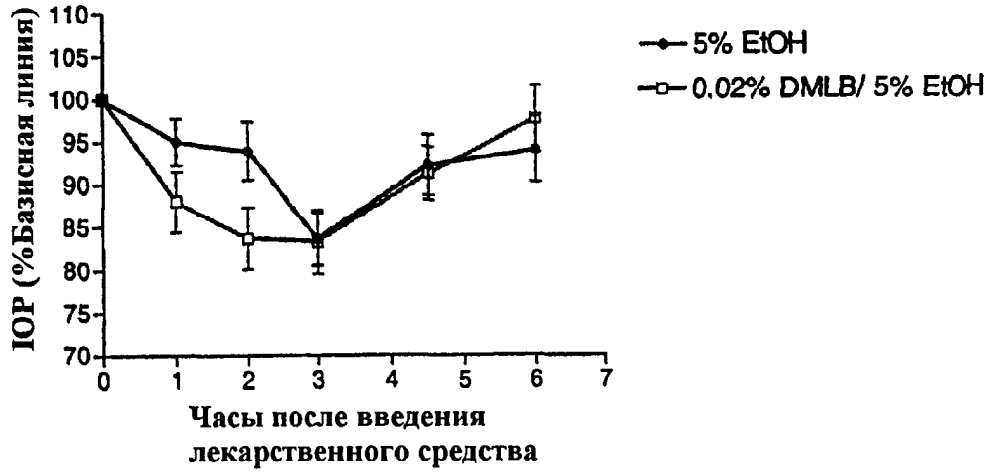
Фиг. 1



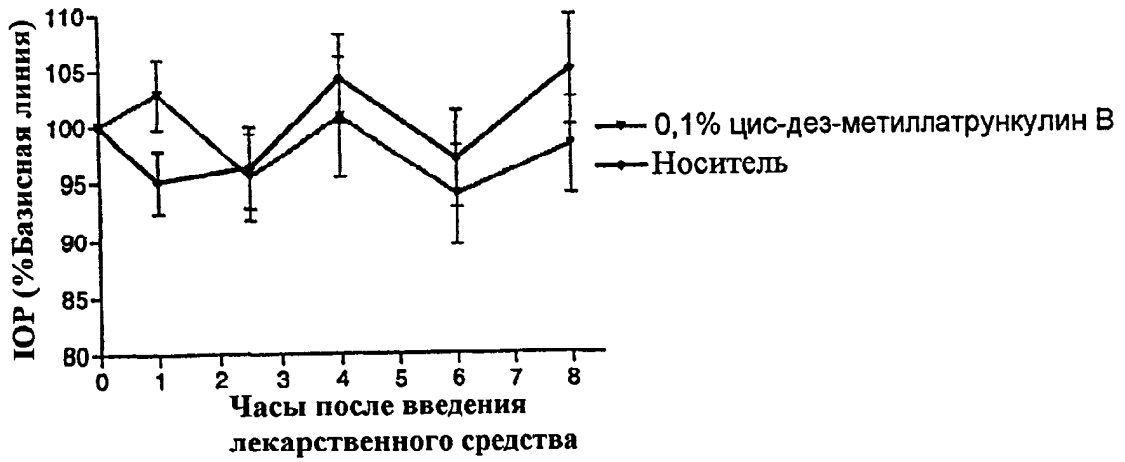
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5