

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-540446

(P2010-540446A)

(43) 公表日 平成22年12月24日(2010.12.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	4 C 0 8 4
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 31/22 (2006.01)	A 6 1 P 31/22	
A 6 1 P 27/04 (2006.01)	A 6 1 P 27/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 46 頁)

(21) 出願番号	特願2010-525937 (P2010-525937)	(71) 出願人	591018268
(86) (22) 出願日	平成20年9月18日 (2008. 9. 18)		アレルギー、インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成22年5月24日 (2010. 5. 24)		ALLERGAN, INCORPORATED
(86) 国際出願番号	PCT/US2008/076756		ED
(87) 国際公開番号	W02009/099467		アメリカ合衆国92612カリフォルニア
(87) 国際公開日	平成21年8月13日 (2009. 8. 13)		州アーヴィン、デュポン・ドライブ252
(31) 優先権主張番号	11/858, 200		5番
(32) 優先日	平成19年9月20日 (2007. 9. 20)	(74) 代理人	100081422
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 田中 光雄
		(74) 代理人	100101454
			弁理士 山田 卓二
		(74) 代理人	100067035
			弁理士 岩崎 光隆
		(74) 代理人	100144923
			弁理士 中川 将之

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シクロスポリン組成物

(57) 【要約】

シクロスポリンに関する処置方法、組成物および医薬を開示する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

角膜知覚の低下を処置する方法であって、シクロスポリン A を約 0.0001% (w/v) ないし約 0.05% (w/v) 未満の濃度で含有する組成物を、それを必要とする個体に投与することを含んで成る方法。

【請求項 2】

組成物が、0.01~0.02% (w/v) の濃度のシクロスポリン A、および保存剤を含有する請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

組成物中のシクロスポリン A の濃度が約 0.015% (w/v) である請求項 2 に記載の方法。

10

【請求項 4】

組成物中のシクロスポリン A の濃度が約 0.04% (w/v) である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

組成物中のシクロスポリン A の濃度が約 0.005% (w/v) である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

角膜知覚の低下が、角膜に影響を及ぼす手術、またはウイルス感染に関連する請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 7】

角膜知覚の低下が、角膜屈折矯正手術または全層角膜移植手術に関連する請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

角膜知覚の低下が、放射状角膜切開術を受けた個体において引き起こされる請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

角膜知覚の低下が、光屈折矯正角膜切開術によって引き起こされる請求項 7 に記載の方法。

【請求項 10】

角膜知覚の低下が、レーシックによって引き起こされる請求項 7 に記載の方法。

30

【請求項 11】

角膜知覚の低下が、ラセックによって引き起こされる請求項 7 に記載の方法。

【請求項 12】

角膜知覚の低下が、SB-LASIKによって引き起こされる請求項 7 に記載の方法。

【請求項 13】

角膜知覚の低下が、EPI-LASIKによって引き起こされる請求項 7 に記載の方法。

【請求項 14】

角膜知覚の低下が、ウイルス感染によって引き起こされる請求項 6 に記載の方法。

【請求項 15】

ウイルス感染がHSV-1によるものである請求項 14 に記載の方法。

40

【請求項 16】

ウイルス感染がHSV-2によるものである請求項 14 に記載の方法。

【請求項 17】

ウイルス感染がVZVによるものである請求項 14 に記載の方法。

【請求項 18】

組成物中のシクロスポリン A の濃度が約 0.0015% (w/v) である請求項 2 に記載の方法。

【請求項 19】

シクロスポリン A を約 0.0015% (w/v) の濃度で含有する液体組成物。

50

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

涙腺機能または流涙に関連する異常はしばしば、そのような異常を起こしている哺乳動物に不快をもたらす。

【図面の簡単な説明】

【0002】

【図1】3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼した後の、角膜における平均(±SD)シクロスポリンA濃度(片対数)。

【図2】3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼した後の、結膜における平均(±SD)シクロスポリンA濃度(片対数)。

【図3】3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼した後の、強膜における平均(±SD)シクロスポリンA濃度(片対数)。

【図4】3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼した後の、眼瞼縁における平均(±SD)シクロスポリンA濃度(片対数)。

【図5】3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼した後の、鼻涙管における平均(±SD)シクロスポリンA濃度(片対数)。

【発明を実施するための形態】

【0003】

シクロスポリンAを約0.0001%(w/v)ないし約0.05%(w/v)未満の濃度で含有する組成物を開示する。

驚くべきことに本発明者は、処置に有効であり得る約0.05%(w/v)未満の濃度のシクロスポリンA組成物を調製し得ることを見出した。

【0004】

一態様においては、本発明の組成物を、角膜に影響を及ぼす手術後の角膜知覚の低下を処置するために、それを必要とする哺乳動物の眼に投与する。

他の一態様においては、本発明の組成物を、角膜に影響を及ぼす手術後の角膜知覚の回復を促進するために、それを必要とする哺乳動物の眼に投与する。

【0005】

他の一態様においては、本発明の組成物を、ヘルペス後の角膜知覚の低下を処置するために、それを必要とする哺乳動物の眼に投与する。

他の一態様においては、本発明の組成物を、ドライアイ疾患を処置するために、それを必要とする哺乳動物の眼に投与する。

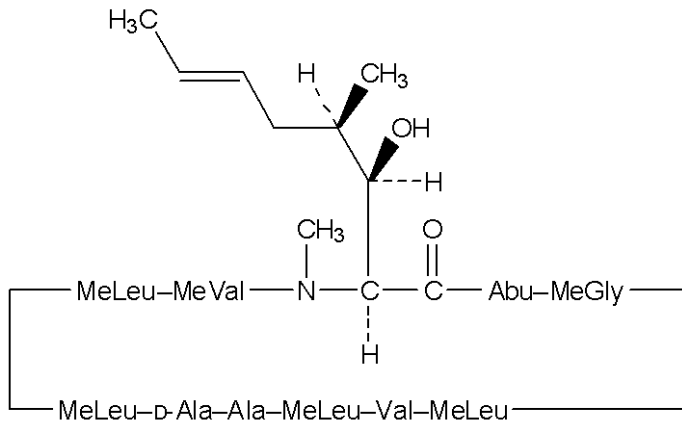
【0006】

10

20

30

【化 1】



シクロスポリンA

10

【 0 0 0 7 】

シクロスポリン A (cyclosporin A) は、上記構造を有する免疫抑制作用を有する環状ペプチドである。これは、他の名称、例えばシクロスポリン (cyclosporine)、シクロスポリン A (cyclosporine A)、シクロスポリン (ciclosporin) およびシクロスポリン A (ciclosporin A) でも知られる。

20

【 0 0 0 8 】

処置方法

一態様は、シクロスポリン A を 0 . 0 0 0 1 % (w / v) ないし約 0 . 0 5 % (w / v) 未満の濃度で含有する組成物を、それを必要とする哺乳動物に局所投与することを含んで成る、角膜知覚の低下を処置する方法である。

【 0 0 0 9 】

本発明の処置は通例、哺乳動物またはヒトの眼または複数の眼に、本発明が開示する組成物の 1 0 ~ 5 0 μ L の液滴を局所投与することを含んで成る。有効な処置を提供するためのヒトまたは哺乳動物に投与する 1 日当たりの滴数は、当業者の通常の技術の範囲内で決定する。

30

【 0 0 1 0 】

角膜知覚の低下は、いくつかの要因に関連しうる。例えば、角膜知覚の低下はしばしば、角膜に影響を及ぼす手術、またはウイルス感染によって起こりうる。

【 0 0 1 1 】

角膜知覚の低下を招きうる手術の例は、角膜屈折矯正手術または全層角膜移植手術、例えば下記の手術を包含する：

放射状角膜切開術、

光屈折矯正角膜切開術 (photorefractive keratotomy)、

レーシック (laser-assisted in situ keratomileusis) (LASIK)、

ラセック (laser assisted sub-epithelial keratomileusis) (LASEK)、

SB-LASIK、

EPI-LASIK、

その他。

40

【 0 0 1 2 】

角膜知覚の低下を招きうるウイルス感染の例は、下記のを包含する：

HSV-1、

HSV-2、

VZV、

その他。

50

【 0 0 1 3 】

一態様においては、組成物を 1 日 1 ~ 4 回投与する。

他の一態様においては、組成物を 1 日 2 回投与する。

他の一態様においては、組成物を 1 日に 1 回だけ投与する。

【 0 0 1 4 】

他の一態様においては、組成物を 3 ヶ月間にわたり 1 日 1 回だけ投与したとき、眼灼熱感を持つ患者は 1 4 % に満たない。

他の一態様においては、組成物を 3 ヶ月間にわたり 1 日 1 回だけ投与したとき、眼灼熱感を持つ患者は 1 0 % に満たない。

他の一態様においては、組成物を 3 ヶ月間にわたり 1 日 1 回だけ投与したとき、眼灼熱感を持つ患者は 8 % に満たない。

【 0 0 1 5 】

本発明の開示のために、「処置する」または「処置」とは、化合物、組成物、処置活性剤または薬物を、疾患もしくは他の望ましくない状態の診断、治癒、緩和、治療、防止に、またはヒトもしくは他の動物の身体の構造もしくは機能に影響を及ぼすために使用することを指す。

【 0 0 1 6 】

組成物

シクロスポリン A の濃度は約 0 . 0 5 % 未満である。このことは、Restasis (登録商標) として知られる市販の 0 . 0 5 % シクロスポリン A エマルジョンよりも濃度が低いことを意味する。

【 0 0 1 7 】

他の一態様においては、シクロスポリン A 濃度が約 0 . 0 0 5 ~ 0 . 0 4 % (w / v) である。

他の一態様においては、シクロスポリン A 濃度が約 0 . 0 2 ~ 0 . 0 4 % (w / v) である。

他の一態様においては、シクロスポリン A 濃度が約 0 . 0 0 5 % (w / v) である。

他の一態様においては、シクロスポリン A 濃度が約 0 . 0 1 5 % (w / v) である。

他の一態様においては、シクロスポリン A 濃度が約 0 . 0 0 1 5 % (w / v) である。

他の一態様においては、シクロスポリン A 濃度が約 0 . 0 2 % (w / v) である。

他の一態様においては、シクロスポリン A 濃度が約 0 . 0 3 % (w / v) である。

他の一態様においては、シクロスポリン A 濃度が約 0 . 0 4 % (w / v) である。

【 0 0 1 8 】

眼科学的に許容し得る液体を、眼に局所投与できるように調製する。快適性は、できる限り最大にすべきであるが、場合によっては、製剤化の都合 (例えば薬物の安定性、バイオアベイラビリティなど) で最適快適性より低くせざるを得ないこともある。快適性を最大にできない場合、局所眼使用において液体が患者に許容されるように、液体を調製すべきである。さらに、眼科学的に許容される液体は、単回使用用に包装すべきであるか、または複数回使用による汚染を防止するために保存剤を含有すべきである。

【 0 0 1 9 】

眼科学的な適用のためには、生理食塩液を主な賦形剤として用いて、液剤または製剤を調製する場合が多い。眼用液剤はしばしば、適切な緩衝系によって快適な pH に保つ。製剤は、薬学的に許容し得る通常の保存剤、安定剤および界面活性剤も含有し得る。

【 0 0 2 0 】

得られる製剤が眼科学的に許容される限り、種々の緩衝剤および手段を pH 調節に用いてよい。従って、緩衝剤は、酢酸、クエン酸、リン酸およびホウ酸の緩衝剤を包含するが、それらに限定されない。製剤の pH を調節するために、必要に応じて酸または塩基を使用し得る。

【 0 0 2 1 】

他の一態様においては、本発明の組成物は保存剤を含有する。

10

20

30

40

50

本発明が開示する医薬組成物中に使用し得る保存剤は、下記のことを包含するが、それらに限定されない：

カチオン性保存剤、例えば第四級アンモニウム化合物（塩化ベンザルコニウム、polyquadなどを包含する）、グアニジン系保存剤（PHMB、クロルヘキシジンなどを包含する）；クロロブタノール；

水銀保存剤、例えばチメロサル、酢酸フェニル水銀および硝酸フェニル水銀；並びに酸化保存剤、例えば安定化オキシクロロ複合体（例えばPurite（登録商標））。

【0022】

他の一態様においては、本発明の組成物は界面活性剤を含有する。

界面活性剤は、賦形剤もしくは活性剤の溶解を促進するため、固体もしくは液体を組成物中に分散させるため、湿潤を向上するため、液滴サイズを調節するため、または他の多くの目的のために使用し得る。有用な界面活性剤は下記群の界面活性剤を包含するが、それらに限定されない：アルコール；アミノオキシド；ブロックポリマー；カルボキシル化アルコールまたはアルキルフェノールエトキシレート；カルボン酸／脂肪酸；エトキシ化アルコール；エトキシ化アルキルフェノール；エトキシ化アリールフェノール；エトキシ化脂肪酸；エトキシ化脂肪エステルまたは油（動物性および植物性）；脂肪エステル；脂肪酸メチルエステルエトキシレート；グリセロールエステル；グリコールエステル；ラノリン系誘導体；レシチンおよびレシチン誘導体；リグニンおよびリグニン誘導体；メチルエステル；モノグリセリドおよび誘導体；ポリエチルエングリコール；ポリマー界面活性剤；プロポキシ化およびエトキシ化脂肪酸、アルコールまたはアルキルフェノール；タンパク質系界面活性剤；サルコシン誘導体；ソルビタン誘導体；スクロースおよびグルコースエステルおよび誘導体。

10

20

【0023】

エトキシレート界面活性剤が特に有用である。

エトキシレート界面活性剤は、 $-O(CH_2CH_2O)_n-OH$ 部分（ここで n は少なくとも約 1 である）を有するものである。

一態様においては、 n が約 1 ～ 約 10000 である。

他の一態様においては、 n が 1 ～ 約 1000 である。

他の一態様においては、 n が約 1 ～ 約 500 である。

【0024】

いくつかのエトキシレートは、1 個のエトキシレート部分を有する。換言すれば、各分子にエトキシレート鎖が 1 個存在する。

30

エトキシレート部分を 1 個有する界面活性剤の例は下記のことを包含するが、それらに限定されない：

アルコールが 1 個のヒドロキシル単位を有するエトキシ化アルコール；アルキルフェノールエトキシレート；エトキシ化脂肪酸；脂肪酸メチルエステルエトキシレート；ポリエチレングリコールなど。

【0025】

エトキシレートは、1 個より多いエトキシレート部分を有し得る。換言すれば、複数のエトキシレート部分が複数の異なる分子部分に結合し得る。その例は、ブロックポリマー；エトキシ化油、ソルビタン誘導体、スクロースおよびグルコースのエトキシレートなどを包含するが、それらに限定されない。

40

【0026】

ブロックポリマー：ブロックポリマーは構造 $A-B-A'$ を有するポリマーで、 A および A' はエチレン単位数 1 またはそれ以上のポリエチレン鎖であり、 B はプロピレン単位数 1 またはそれ以上のポリプロピレン鎖である。 A および A' は、必ずしもそうではないが通例ほぼ同じ長さである。

【0027】

一態様においては、 A および A' は約 2 ～ 200 のエチレン単位を有する。

他の一態様においては、 A および A' は約 5 ～ 100 のエチレン単位を有する。

50

他の一態様においては、A および A' は約 7 ~ 15 のエチレン単位を有する。

他の一態様においては、A および A' は約 7、約 8 または約 12 のエチレン単位を有する。

【0028】

他の一態様においては、B は約 25 ~ 100 のプロピレン単位を有する。

他の一態様においては、B は約 30 ~ 55 のプロピレン単位を有する。

他の一態様においては、B は約 30、約 34 または約 54 のプロピレン単位を有する。

【0029】

他の一態様においては、分子量が約 1000 ~ 20000 である。

他の一態様においては、分子量が約 2000 ~ 10000 である。

10

他の一態様においては、分子量が約 2500、約 3000、約 3800 または約 8400 である。

【0030】

そのようなブロックポリマーは下記のことを包含するが、それらに限定されない：

ポロキサレン：A が約 12 のエチレンオキシド単位を有し、B が約 34 のプロピレンオキシド単位を有し、A' が約 12 のエチレンオキシド単位を有し、平均分子量が約 3000 である。

ポロキサマー 182：A が約 8 のエチレンオキシド単位を有し、B が約 30 のプロピレンオキシド単位を有し、A' が約 8 のエチレンオキシド単位を有し、平均分子量が約 2500 である。

20

ポロキサマー 188：A が約 75 のエチレンオキシド単位を有し、B が約 30 のプロピレンオキシド単位を有し、A' が約 75 のエチレンオキシド単位を有し、平均分子量が約 8400 である。

ポロキサマー 331：A が約 7 のエチレンオキシド単位を有し、B が約 54 のプロピレンオキシド単位を有し、A' が約 7 のエチレンオキシド単位を有し、平均分子量が約 3800 である。

【0031】

エトキシ化アルコール

エトキシ化アルコールは下記のことを包含するが、それらに限定されない：

炭素原子数約 6 ~ 20 の直鎖アルコールのエトキシレート。

30

【0032】

一態様においては、直鎖アルコールは炭素原子を約 10 ~ 16 個有する。

他の一態様においては、n が約 1 ~ 100 である。

他の一態様においては、n が約 1 ~ 50 である。

他の一態様においては、n が約 5 ~ 50 エチレンオキシド単位である。

他の一態様においては、n が約 1 ~ 20 エチレンオキシド単位である。

他の一態様においては、n が約 30 ~ 50 エチレンオキシド単位である。

【0033】

エトキシ化アルキルフェノール

エトキシ化アルキルフェノールは、エトキシ化された、すなわちフェノール性 OH がエトキシレート部分で置換されたアルキルフェノールである。

40

エトキシ化アルキルフェノールは下記のことを包含するが、それらに限定されない：

オクチルフェノールエトキシレート、すなわち $C_8H_{17}Ph(OCH_2CH_2O)_nH$ ；

ノニルフェノールエトキシレート、すなわち $C_9H_{19}Ph(OCH_2CH_2O)_nH$ ；

上記式中の n が約 1 ~ 100 であるアルキルフェノール；

上記式中の n が約 1 ~ 50 であるアルキルフェノール；

上記式中の n が約 9 ~ 15 であるアルキルフェノール；

【0034】

オクチルフェノール 1.5 モルエトキシレート（すなわち n が約 1.5 の平均値）；オクチルフェノール 5 モルエトキシレート；オクチルフェノール 7 モルエトキシレート；オ

50

クチルフェノール 9 モルエトキシレート；オクチルフェノール 12 モルエトキシレート；
 オクチルフェノール 40 モルエトキシレート；ノニルフェノール 1.5 モルエトキシレート；
 ノニルフェノール 4 モルエトキシレート；ノニルフェノール 6 モルエトキシレート；
 ノニルフェノール 9 モルエトキシレート；ノニルフェノール 10 モルエトキシレート；ノ
 ニルフェノール 10.5 モルエトキシレート；ノニルフェノール 12 モルエトキシレート
 ；ノニルフェノール 15 モルエトキシレート；ノニルフェノール 15 モルエトキシレート
 ；ノニルフェノール 30 モルエトキシレート；およびノニルフェノール 40 モルエトキシ
 レート。

【0035】

エトキシ化脂肪酸

10

エトキシ化脂肪酸は下記のことを包含するが、それらに限定されない：

モノエステル、すなわち $\text{RCO}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{OH}$ [ここで RCO_2H は脂肪酸である]；または
 ジエステル、すなわち $\text{RCO}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_nC(=\text{O})\text{R}$

を形成するようにエステル化されたエトキシレート。

【0036】

脂肪酸は下記のことを包含するが、それらに限定されない：

飽和脂肪酸：これは $\text{C}=\text{C}$ 部分を持たず、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸
 、アラキジン酸、ベヘン酸、リグノセリン酸を包含する。

【0037】

不飽和脂肪酸：下記のことを包含する：

20

モノ不飽和脂肪酸：これは $\text{C}=\text{C}$ 基を 1 個有し、例えばパルミトレイン酸、オレイン酸
 およびネルボン酸である；

ジ不飽和脂肪酸：これは $\text{C}=\text{C}$ 基を 2 個有し、例えばリノール酸である；

トリ不飽和脂肪酸：これは $\text{C}=\text{C}$ 基を 3 個有し、例えば - リノレン酸および - リノ
 レン酸である；

テトラ不飽和脂肪酸：これは $\text{C}=\text{C}$ 基を 4 個有し、例えばアラキドン酸である；および

ペンタ不飽和脂肪酸：これは $\text{C}=\text{C}$ 基を 5 個有し、例えばエイコサペンタエン酸である

。

【0038】

下記のものも使用し得る：

30

ラウリン酸；炭素数 14 の脂肪酸、例えばミリスチン酸；炭素数 16 の脂肪酸、例えばパ
 ルミチン酸およびパルミトレイン酸；炭素数 18 の脂肪酸、例えばステアリン酸、オレイ
 ン酸、リノール酸、- リノレン酸および - リノレン酸；炭素数 20 の脂肪酸、例えば
 エイコサペンタエン酸；炭素数 22 の脂肪酸例えばアラキジン酸；並びに炭素数 24 の脂
 肪酸、例えばリグノセリン酸およびネルボン酸。

【0039】

一態様においては、 n が約 2 ~ 100 である。

他の一態様においては、 n が約 5 ~ 50 である。

他の一態様においては、 n が約 30 ~ 50 である。

【0040】

40

エトキシ化脂肪エステルまたは油（動物性および植物性）

これは、エチレンオキシドと脂肪エステルまたは油との反応によって得られる生成物で
 ある。脂肪油を使用する場合、生成物は、該油中に存在する脂肪酸のエトキシレート、グ
 リセロールのエトキシレート、モノおよびジグリセリドのエトキシレートなどの混合物で
 ある。

【0041】

その例は下記のことを包含するが、それらに限定されない：

下記油のエトキシレート：アニス油、ヒマシ油、丁子油、カシヤ油、桂皮油、アーモ
 ンド油、コーン油、落花生油、綿実油、ベニバナ油、トウモロコシ油、アマニ油、ナタネ
 油、大豆油、オリーブ油、キャラウエー油、ローズマリー油、ピーナツ油、ペパーミント

50

油、ヒマワリ油、ユーカリ油、ゴマ油、コリアンダー油、ラベンダー油、シトロネラ油、ジュニパー油、レモン油、オレンジ油、クラーリースージ油、ナツメグ油、ティーツリー油、ヤシ油、獣脂油およびラード。

【 0 0 4 2 】

一態様においては、トリグリセリド油 1 モル当たり 1 ～ 約 5 0 モルのエチレンオキシドを用いる。

他の一態様においては、トリグリセリド油 1 モル当たり約 3 0 ～ 約 4 0 モルのエチレンオキシドを用いる。

【 0 0 4 3 】

エチレンオキシドを、式 $\text{RCO}_2\text{R}'$ で示される脂肪酸エステルと反応させて、 $\text{RCO}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{R}'$ を生成することもできる。すなわち、式 $\text{RCO}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{R}'$ [ここで、 RCO_2H は脂肪酸であり、 R' は炭素数 1 ～ 6 のアルキルである。] で示される界面活性剤が意図される。

一態様は、 R' がメチルである脂肪酸メチルエステルエトキシレートである。

【 0 0 4 4 】

他の一態様においては、 RCO_2H が、ラウリン酸；炭素数 1 4 の脂肪酸、例えばミリスチン酸；炭素数 1 6 の脂肪酸、例えばパルミチン酸およびパルミトレイン酸；炭素数 1 8 の脂肪酸、例えばステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、 α -リノレン酸および γ -リノレン酸；炭素数 2 0 の脂肪酸、例えばエイコサペンタエン酸；炭素数 2 2 の脂肪酸、例えばアラキジン酸；または炭素数 2 4 の脂肪酸、例えばリグノセリン酸およびネルボン酸である。

【 0 0 4 5 】

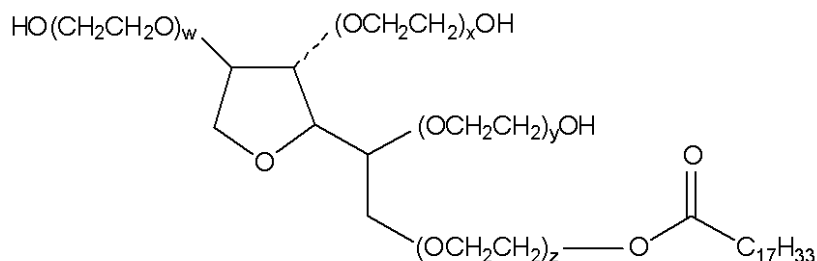
ポリエチレングリコールは、エトキシレートであって、不置換であるか、または両末端に酸素を有する、すなわち $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$ である。

【 0 0 4 6 】

ソルビタン誘導体：

これは、エトキシル化ソルビタンであって、エトキシル化鎖の 1 つまたはそれ以上の末端に脂肪酸が結合したものである。例えばポリソルベート 8 0 は下記構造に示すようにオレエート末端基を有する。

【 化 2 】



ポリソルベート 8 0

(w、x、y および z の合計が 2 0)

【 0 0 4 7 】

このような化合物は、 $\text{POE} (w + x + y + z)$ ソルビタンモノ (またはジもしくはトリ) 脂肪酸と称される。

例えばポリソルベート 8 0 は $\text{POE} (2 0)$ ソルビタンモノオレエートである。

すなわち、括弧内の数値は、分子中のエチレンオキシド単位の総数であり、末尾は酸末端基の数と名称である。

【 0 0 4 8 】

ソルビタン誘導体は下記のことを包含するが、それらに限定されない：

エチレンオキシド単位の総数が 3 ～ 3 0 であるソルビタン誘導体；

エチレンオキシド単位の総数が 4、5 または 2 0 であるソルビタン誘導体；

末端酸がラウレート、パルミテート、ステアレートまたはオレエートであるソルビタン

10

20

30

40

50

誘導体。

【0049】

ソルビタン誘導体は、
 POEソルビタンモノラウレート；
 POEソルビタンジラウレート；
 POEソルビタントリラウレート；
 POEソルビタンモノパルミテート；
 POEソルビタンジパルミテート；
 POEソルビタントリパルミテート；
 POEソルビタンモノステアレート；
 POEソルビタンジステアレート；
 POEソルビタントリステアレート；
 POEソルビタンモノオレエート；
 POEソルビタンジオレエート；または
 POEソルビタントリオレエート

であり得る。

【0050】

特定の例は、POE(20)ソルビタンモノラウレート；POE(4)ソルビタンモノラウレート；POE(20)ソルビタンモノパルミテート；POE(20)モノステアレート；POE(20)ソルビタンモノステアレート；POE(4)ソルビタンモノステアレート；POE(20)ソルビタントリステアレート；POE(20)ソルビタンモノオレエート；POE(20)ソルビタン15モノオレエート；POE(5)ソルビタン10モノオレエート；POE(20)ソルビタントリオレエートを包含する。

【0051】

スクロースおよびグルコースのエステルおよび誘導体

スクロースおよびグルコース系の界面活性剤は多数存在するが、スクロースおよびグルコースのエステルおよび誘導体のいくつかは前記ソルベート誘導体に類似している。換言すれば、糖のヒドロキシル部分の1つ、複数または全部がエトキシ化され、エトキシレート鎖の1つまたは複数の末端にカルボン酸が結合している。他のいくつかのスクロースおよびグルコースエステルは、エトキシ化されているだけで、末端カルボン酸を有さない。他のいくつかのスクロースおよびグルコースエステルは、エトキシ化され、アルコールとの反応によって生成したアルキル基を末端に有し得る。他のいくつかのスクロースおよびグルコースエステルは、糖と疎水性鎖とのエステルまたはエーテルで、糖の別の部分に置換したエトキシレートを有し得る。

【0052】

本発明が開示する眼用製剤中には、様々な有用な賦形剤を使用し得る。そのような賦形剤は、ポリビニルアルコール、ポビドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポロキサマー、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、およびアクリレート（例えばPemulen（登録商標））を包含するが、それらに限定されない。

【0053】

浸透圧調節剤を、必要に応じて、または好都合に使用し得る。それは、塩、特に塩化ナトリウム、塩化カリウム、マンニトールおよびグリセリン、または他の適当な眼科学的に許容し得る浸透圧調節剤を包含するが、それらに限定されない。

【0054】

同様に、眼科学的に許容し得る酸化防止剤は、メタ重亜硫酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、アセチルシステイン、ブチル化ヒドロキシアニソールおよびブチル化ヒドロキシルトルエンを包含するが、それらに限定されない。

【0055】

眼用製剤中に含ませ得る他の佐剤成分はキレート剤である。有用なキレート剤はエデト酸二ナトリウムであるが、その代わりに、またはそれと共に他のキレート剤を使用しても

10

20

30

40

50

よい。

【 0 0 5 6 】

組成物は水性の溶液もしくはエマルジョン、または他の許容し得る液体の形態であり得る。エマルジョンには、1種またはそれ以上の油をエマルジョン形成のために使用し得、場合によっては1種またはそれ以上の界面活性剤が必要であり得る。適当な油は、アニス油、ヒマシ油、丁子油、カシヤ油、桂皮油、アーモンド油、コーン油、落花生油、綿実油、ベニバナ油、トウモロコシ油、アマニ油、ナタネ油、大豆油、オリーブ油、キャラウェイ油、ローズマリー油、ピーナツ油、ペパーミント油、ヒマワリ油、ユーカリ油、ゴマ油などであるが、それらに限定されない。

【 0 0 5 7 】

一態様においては、組成物は水溶液である。

他の一態様においては、組成物はエタノールを含有しない。

他の一態様においては、組成物はヒアルロン酸を含有しない。

他の一態様においては、組成物はビタミンE T P G Sを含有しない。

他の一態様においては、組成物はシクロデキストリンAを含有しない。

他の一態様においては、組成物はシクロデキストリンを含有しない。

【 0 0 5 8 】

実施例 1

成分	%成分 (% w / v)	1 L バッチに要する量 (g)
シクロスポリン	0 % (プラセボ P) 0. 0 3 % (A) 0. 0 4 % (B) 0. 0 5 % (C)	0 g (プラセボ P) 0. 3 0 (A) 0. 4 0 (B) 0. 5 (C)
カルボキシメチルセルロースナトリウム	0. 5	5. 0
ポリソルベート 8 0	1. 0	1 0. 0
グリセロール	1. 0	1 0. 0
マンニトール	0. 5	5. 0
クエン酸ナトリウム二水和物	0. 4	4. 0
ホウ酸	0. 2 5	2. 5
ホウ酸ナトリウム十水和物	0. 4 1	4. 1
塩化カリウム	0. 1 4	1. 4
Purite	0. 0 1	0. 1
精製水	q.s. (1 0 0 %とする)	q.s. (1 0 0 %とする)

【 0 0 5 9 】

組成物 P、A、B および C を下記手順で調製する。

1. バッチサイズの約 9 0 % まで精製水を計量し、適当なビーカーまたは容器に入れる。
2. 強力なミキサー (Rotosolver) で水の攪拌を開始し、強い渦を生じさせる。
3. 予め計量したカルボキシメチルセルロースナトリウムを強い渦に加える。少なくとも 1 時間、強力な混合を続ける。
4. ミキサーを低速にする。

【 0 0 6 0 】

5. 予め計量したポリソルベート 8 0 を加え、溶解させる。

6. 予め計量したグリセロールを加え、溶解させる。
7. 予め計量したマンニトールを加え、溶解させる。
8. 予め計量したクエン酸ナトリウム二水和物を加え、溶解させる。
9. 予め計量したホウ酸を加え、溶解させる。
10. 予め計量したホウ酸ナトリウム十水和物を加え、溶解させる。
11. 予め計量した塩化カリウムを加え、溶解させる。

【0061】

12. pHを測定し、必要なら調節する。pHは 7.5 ± 0.1 とする。
13. 予め計量したPuriteを加え、溶解させる。
14. 最終バッチ体積とするのに充分量の精製水を加える。これにより、最終プラセボ製剤(P)を調製し得る。

【0062】

0.03%(A)、0.04%(B)、0.05%(C)の調製手順

15. バッチサイズ要件を満たすのに必要なプラセボ(9815X)量を正確に量り、磁気攪拌子の入ったメディアボトルに入れる。
16. 予め計量したシクロスポリンを加え、溶解させる。発泡しないよう、低速で搅拌する。シクロスポリンを完全に溶解させるのに、通例一晚の混合を要し得る。
17. 一晚の混合が完了したら、ポンプを用いてシクロスポリン溶液をMillipore MilligardプレフィルターおよびPall Suporlife滅菌フィルターに通し、無菌的に濾液を回収する。
18. 次に、無菌溶液を、眼用に適当な複数用量のドロPPERボトルに無菌的に充填する。
19. 最終生成物を、シクロスポリンアッセイ、pH、浸透圧、粘度、Purite、無菌性および抗微生物有効性に関して試験すべきである。
20. 最終生成物を室温で遮光して保存すべきである。

【0063】

実施例2

下記製剤を調製した。DおよびEは、当分野で知られる標準的な方法で調製した。Fは、カルボキシメチルセルロースナトリウムの代わりにPemulen TR-2を用い、クエン酸およびホウ酸緩衝剤を加えなかったことを除いては、A～Cに関して先に記載したように調製した。

【0064】

	D	E	F
	エマルジョン	エマルジョン	溶液
シクロスポリンA	0.05	0.05	0.05
ヒマシ油	1.25	0.30	N/A
ポリオキシエチレン40ステアレート, NF	N/A	0.30	N/A
ポリソルベート80	1.00	0.30	1.00
グリセロール	2.20	1.00	1.00
マンニトール	N/A	2.00	2.00
Pemulen TR-2	0.05	0.10	0.10
水酸化ナトリウム(1N)	pH調節	pH調節	pH調節
精製水	QS	QS	QS
pH	pH=7.4	7.39	7.35

【0065】

バイオアベイラビリティ

10

20

30

40

50

本発明において開示および使用する組成物は、処置有効量のシクロスポリン A を哺乳動物に提供する。しかし、本発明の範囲を限定することを意図しないが、本発明の組成物中のシクロスポリン A の濃度は、通常処置有効濃度に関連する濃度よりも顕著に低濃度であり得る。例えば、Allergan, Inc. から Restasis (登録商標) として市販されている製剤は、0.05% シクロスポリン A ヒマシ油エマルジョンである。現在開発中の他の組成物は、濃度が 0.1% またはそれ以上である。

【0066】

ウサギにおけるインビボ実験の薬理動態データを報告する。ウサギの実験は、ヒトを包含する他の哺乳動物におけるバイオアベイラビリティの有用なモデルであると考えられる。すなわち、バイオアベイラビリティのパラメータを開示し特徴付ける (特許請求の範囲において) が、それは処置をウサギのみに限定するものと解釈すべきではなく、ウサギにおけるバイオアベイラビリティによって特徴付けられ定義される組成物は、他の哺乳動物 (特にヒト) の処置における使用も意図される。

10

【0067】

一態様においては、本発明の組成物は組成物 A A よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 B B よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 C C よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

20

一態様においては、本発明の組成物は組成物 D D よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 E E よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 F F よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

一態様においては、本発明の組成物は組成物 G G よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 H H よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

30

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 I I よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 J J よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 K K よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 L L よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 M M よりも多くのシクロスポリン A をヒトの角膜に提供する。

40

【0068】

一態様においては、本発明の組成物は組成物 A A よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 B B よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 C C よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

一態様においては、本発明の組成物は組成物 D D よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 E E よりも多くのシクロスポリン A を

50

ヒトの結膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 F F よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

一態様においては、本発明の組成物は組成物 G G よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 H H よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 I I よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 J J よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 K K よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 L L よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

他の一態様においては、本発明の組成物は組成物 M M よりも多くのシクロスポリン A をヒトの結膜に提供する。

【 0 0 6 9 】

他の一態様においては、雌ニュージーランド白ウサギの各眼に前記組成物 1 滴 3 5 μ L を局所投与すると、局所投与から 3 0 分後において、ウサギの角膜 1 g 当たり少なくとも約 5 0 0 n g のシクロスポリン A がウサギの角膜に提供される。

【 0 0 7 0 】

他の一態様においては、雌ニュージーランド白ウサギの各眼に前記組成物 1 滴 3 5 μ L を局所投与すると、局所投与から 3 0 分後において、ウサギの角膜 1 g 当たり少なくとも約 1 0 0 0 n g のシクロスポリン A がウサギの角膜に提供される。

【 0 0 7 1 】

他の一態様においては、雌ニュージーランド白ウサギの各眼に前記組成物 1 滴 3 5 μ L を局所投与すると、局所投与から 3 0 分後において、ウサギの角膜 1 g 当たり少なくとも約 1 4 0 0 n g のシクロスポリン A がウサギの角膜に提供される。

【 0 0 7 2 】

他の一態様においては、雌ニュージーランド白ウサギの各眼に前記組成物 1 滴 3 5 μ L を局所投与すると、局所投与から 3 0 分後において、ウサギの角膜 1 g 当たり少なくとも約 2 0 0 0 n g のシクロスポリン A がウサギの角膜に提供される。

【 0 0 7 3 】

他の一態様においては、雌ニュージーランド白ウサギの各眼に前記組成物 1 滴 3 5 μ L を局所投与すると、局所投与から 3 0 分後において、ウサギの角膜 1 g 当たり少なくとも約 2 4 0 0 n g のシクロスポリン A がウサギの角膜に提供される。

【 0 0 7 4 】

他の一態様においては、雌ニュージーランド白ウサギの各眼に前記組成物 1 滴 3 5 μ L を局所投与すると、局所投与から 3 0 分後において、ウサギの角膜 1 g 当たり少なくとも約 1 7 0 0 0 n g のシクロスポリン A がウサギの角膜に提供される。

【 0 0 7 5 】

他の一態様においては、前記組成物はシクロスポリン A を 0 . 0 0 5 ~ 約 0 . 0 4 % 含有する水溶液であり、雌ニュージーランドウサギの各眼に前記組成物 1 滴 3 5 μ L を局所投与すると、角膜 1 g 当たり少なくとも約 1 7 0 0 0 n g のシクロスポリン A がウサギの角膜に提供されることが下記のように測定される：

被験雌ニュージーランド白ウサギ 1 5 匹のそれぞれの各眼に前記組成物を局所投与し；被験体への投与後約 0 . 5 時間、約 2 時間、約 6 時間、約 1 2 時間および約 2 4 時間の時点で 3 被験体の角膜におけるシクロスポリン A 量を測定する；ここで、角膜中のシクロスポリン A 量の測定は、各被験体について 1 回だけ行う。

10

20

30

40

50

【0076】

他の一態様においては、ニュージーランドウサギの各眼に投与する前記組成物が、角膜1 g 当たり少なくとも約30000 ng のシクロスポリンAをウサギの角膜に提供する。

他の一態様においては、ニュージーランドウサギの各眼に投与する前記組成物が、角膜1 g 当たり少なくとも約45000 ng のシクロスポリンAをウサギの角膜に提供する。

【0077】

他の一態様においては、ニュージーランドウサギの各眼に投与する前記組成物が、角膜1 g 当たり少なくとも約95000 ng のシクロスポリンAをウサギの角膜に提供する。

他の一態様においては、ニュージーランドウサギの各眼に投与する前記組成物が、角膜1 g 当たり少なくとも約155000 ng のシクロスポリンAをウサギの角膜に提供する

10

【0078】

他の一態様においては、雌ニュージーランド白ウサギの各眼に前記組成物1滴35 µLを局所投与すると、局所投与後24時間にわたってウサギの結膜1 g 当たり少なくとも約6000 ng のシクロスポリンAがウサギの結膜に提供される。

【0079】

他の一態様においては、前記組成物はシクロスポリンAを0.005～約0.04%含有する水溶液であり、ニュージーランドウサギの各眼に前記組成物1滴35 µLを局所投与すると、結膜1 g 当たり少なくとも約6000 ng のシクロスポリンAがウサギの結膜に提供されることが下記のように測定される：

20

被験雌ニュージーランド白ウサギ15匹のそれぞれの各眼に前記組成物を局所投与し；被験体への投与後約0.5時間、約2時間、約6時間、約12時間および約24時間の時点で3被験体の結膜におけるシクロスポリンA量を測定する；ここで、結膜中のシクロスポリンA量の測定は、各被験体について1回だけ行う。

【0080】

他の一態様においては、ニュージーランドウサギの各眼に投与する前記組成物が、結膜1 g 当たり少なくとも約5000 ng のシクロスポリンAをウサギの結膜に提供する。

他の一態様においては、ニュージーランドウサギの各眼に投与する前記組成物が、結膜1 g 当たり少なくとも約7000 ng のシクロスポリンAをウサギの結膜に提供する。

【0081】

他の一態様においては、ニュージーランドウサギの各眼に投与する前記組成物が、結膜1 g 当たり少なくとも約10000 ng のシクロスポリンAをウサギの結膜に提供する。

30

他の一態様においては、ニュージーランドウサギの各眼に投与する前記組成物が、結膜1 g 当たり少なくとも約17000 ng のシクロスポリンAをウサギの結膜に提供する。

【0082】

他の一態様においては、組成物35 µL滴を12ヶ月間にわたり両眼に1日2回局所投与したヒトにおいて、シクロスポリンAの血中レベルは0.1 mg/mL未満である。

【0083】

薬物動態試験1

3試験製剤の1つを35 µLの量で、雌ニュージーランド白ウサギの各眼に局所投与した（各時点でウサギn=3）。投与後0.5、2、6、12、24、48および144時間の時点で、角膜、結膜、強膜、眼瞼縁、鼻涙管および血液のサンプルを採取した。未処置ウサギ（n=2）から得たサンプルを、投与前サンプルに供した。定量範囲は、血液では0.2～0.4 ng/mL、角膜および結膜では0.1～200 ng、眼瞼縁および鼻涙管では0.1～100 ng、強膜および涙腺では0.1～20 ngであった。

40

【0084】

3つの0.05%シクロスポリンA製剤のうちの1つを1回点眼した後の眼組織中のシクロスポリンAの薬物動態パラメータを表1-1に示す。

【0085】

【表 1 - 1】

組織／ マトリックス	組成物 F		組成物 E		組成物 D	
	C _{max} (ng/g)	AUC _{0-t} (ng・時間/g)	t _{1/2} (時間)	C _{max} (ng/g)	AUC _{0-t} (ng・時間/g)	t _{1/2} (時間)
角膜	4050	163000	41.3	1100	76200	41.7
結膜	4460	18100	11.3	2560	11600	5.57
強膜	545	6110	29.7	136	2840	24.8
眼瞼縁	3120	38300	42.5	2020	42200	38.1
鼻涙管	195	2190	NC	74.4	1190	NC
血液	2.21	NC	NC	0.441	NC	NC

NC = 計算不能

BLQ = 定量限界未満

【0086】

すなわち、0.05%シクロスポリンA製剤の単回点眼後、最も高いシクロスポリンA眼組織暴露レベルがもたらされたのは組成物Fを用いた場合で、その次に組成物E、組成物Dの順であった。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 7 】

材料

試験材料

前記組成物 D、E および F をこの試験に使用した。

化学薬品、試薬および供給物

他の化学薬品はいずれも、試薬級またはそれ以上であった。

動物

種類、系統、性別、年齢、大きさ、供給元および識別

体重 1 . 8 ~ 2 . 6 k g の雌ニュージーランド白ウサギを Charles River (カナダ、ケベック、サンコンスタン) から購入した。動物の識別のために永久耳タグを使用した。

10

【 0 0 8 8 】

正当性

ウサギとヒトの眼解剖学は類似しているので、ウサギは好適な動物モデルである。

【 0 0 8 9 】

動物の管理

毎日 1 2 時間を明るく、1 2 時間を暗くする時間調節蛍光照明システムを備えた、環境調節された設備の中に、すべての動物を収容した。室温を 6 1 ~ 7 2 ° F に保ち、相対湿度を 3 0 ~ 7 0 % に保った。空気流は、毎時 1 0 ~ 3 0 換気の範囲とした。温度、湿度および空気流は、Edstrom Watchdog システム・バージョン 4 . 0 でモニターした。

品質保証高繊維ウサギ飼料 (Certified Hi-Fiber Rabbit Diet) を動物に与えた。飼料の品質証明および分析は販売元から提供された。製造元提供の分析以外に分析は実施しなかった。逆浸透法で精製した飲料水を自由に摂取させた。定期的に水を分析して、この試験の実施を妨害し得る汚染物がないか調べた。

20

製造元が動物飼料の分析を行った。

【 0 0 9 0 】

動物馴化

Allergan における馴化期間中、動物を毎日観察して、全体的健康状態または挙動に変化がないか調べた。試験開始前少なくとも 5 日間、ウサギを検疫した。すべての動物が、試験前および試験期間中、健康に見えた。

30

【 0 0 9 1 】

動物の死および処分

少なくとも 1 m L のペントバルビタールナトリウムの耳介静脈内注射によって、動物を安楽死させた。

【 0 0 9 2 】

試験デザインおよび試験方法

試験デザイン

【表 1 - 2】

動物の種および系統	ニュージーランド白ウサギ
性別	雌
数	各時点でウサギ 3 匹 投与前、ウサギ 2 匹（生物分析対照）
体重	1.8 ～ 2.8 kg
投与レジメン	両眼に 1 回点眼
投与量	35 μ L
試験物	0.05% AGN 192371（シクロスポリン A）を含む製剤
時点	投与後 0.5、2、6、12、24、48 および 144 時間
組織／マトリックス	角膜、結膜、強膜、鼻涙管、眼瞼縁および血液
アッセイ法	LC-MS/MS
分析物	AGN 192371（シクロスポリン A）
定量範囲	血液： 0.5 ～ 40 ng/mL 角膜： 0.1 ～ 200 ng 結膜： 0.1 ～ 200 ng 眼瞼縁： 0.1 ～ 100 ng 鼻涙管： 0.1 ～ 100 ng 強膜： 0.1 ～ 20 ng

10

20

【0093】

単回両眼投与、各時点でウサギ 3 匹（6 眼および 3 血液サンプル）。群 4 の 2 匹には投薬せず、生物分析対照として用いた。投与前に 65 匹の動物を体重測定し、4 試験群に分けた。試験デザインを表 1 - 2 に示す。4 試験群を下記の表 2 に示す。

30

【0094】

【表 2】

群	処置	用量（ μ L）	頻度	n
1	組成物 F	35	単回両側投与	各時点 3 F （全 21 F）
2	組成物 E	35	単回両側投与	各時点 3 F （全 21 F）
3	組成物 D	35	単回両側投与	各時点 3 F （全 21 F）
4	投薬なし	—	—	2 F （全 2 F）

40

n = 各群の動物数

F = 雌

【0095】

前処置検査

試験に付す前に、各動物の身体検査を行った。標準化されたデータ収集シートを使用し

50

て、投薬前および眼投与直後の目視観察結果を記録した。

【0096】

無作為化

投与前に65匹の動物を体重測定し、無作為に4試験群に分けた。

【0097】

投与手順

試験の時間0の時点で、動物の両眼に1回点眼した。投与直前に眼を検査して、異常、例えば感染、充血または目に見える損傷がないか調べた。目に見える異常のない動物だけを使用した。下眼瞼をそっとつまんで眼から離した。Gilson精密ピペットで35 μ Lの投与溶液を各眼の下結膜円蓋に滴下した。投薬時刻を記録した。眼に薬物が均一に行き渡るように、約5秒間眼をそっと閉じたままにした。投与後に眼の目視観察を行った。投与した眼を含んで動物に主観的な刺激の徴候がないか調べた。観察結果を記録した。

10

【0098】

死亡率 / 疾病率

試験期間中、動物の死亡率 / 疾病率を調べた。

【0099】

体重

投薬前日およびその後は無作為に、動物の体重を測定した。

【0100】

剖検前の採血

安楽死 / 剖検前に各ウサギから採血した。ケタミン / キシラジンカクテル (ケタミン 87 mg / mL、キシラジン 13 mg / mL) を 0.1 mL / kg 量静脈内注射して、動物を麻酔した。採血は心穿刺により行った。血液約 5 mL を、キャップがラベンダー色 (K₃ EDTA) の 10 mL チューブに採った。血液サンプルを生物分析するまで約 - 15 またはそれ以下で保存した。

20

【0101】

安楽死

採血後、市販の安楽死溶液を静脈内注射して動物を安楽死させた。

【0102】

剖検および眼組織の採取

剖検時に、眼サンプルを両眼から採り、場合によっては水分を拭き取り、重量測定し、適当なラベルを付けた個別のシラン処理バイアルに入れた。眼表面に残留する製剤を落とすために、両眼を LENS PLUS (登録商標) で濯いだ。

30

【0103】

結膜

各眼から上下の結膜を採り、プールし、重量を記録し、個別のねじ蓋付きガラス製 13 x 100 シラン処理試験管に入れ、すぐに氷上に置いた。サンプルを生物分析するまで - 15 またはそれ以下で保存した。

【0104】

角膜

各眼から角膜全体を採り、重量を記録し、個別のねじ蓋付きガラス製 13 x 100 シラン処理試験管に入れ、すぐに氷上に置いた。サンプルを生物分析するまで - 15 またはそれ以下で保存した。

40

【0105】

強膜

各眼から強膜を採り、重量を記録し、個別のねじ蓋付きガラス製 13 x 100 シラン処理試験管に入れ、すぐに氷上に置いた。サンプルを生物学的分析するまで - 15 またはそれ以下で保存した。

【0106】

鼻涙管

50

各眼に付随する鼻涙管を含む組織を採り、重量を記録し、ねじ蓋付きガラス製 13 × 100 シラン処理試験管に入れ、すぐに氷上に置いた。サンプルを生物分析するまで - 15 またはそれ以下で保存した。

【0107】

眼瞼縁

各眼から眼瞼縁を採り、重量を記録し、個別のねじ蓋付きガラス製 13 × 100 シラン処理試験管に入れ、すぐに氷上に置いた。サンプルを生物分析するまで - 15 またはそれ以下で保存した。

【0108】

サンプルの保存

血液および眼組織のサンプルを、生物分析するまで - 15 またはそれ以下で保存した。

【0109】

生物分析

眼組織および血液中の濃度を、下記方法で定量した。

眼組織サンプルを抽出するために、4 でメタノール 2.0 mL に一晚浸漬した。その後、メタノール 2.0 mL による 2 回目の浸漬を行い、室温で約 1 時間振盪した。全部で 4 mL の有機抽出物から 1 mL を採り（涙腺サンプルに関しては 4 mL 全部を分析した）、内部標準を加えた（CsG 500 ng/mL を 20 μ L）。メタノール抽出物を蒸発乾固し、50:50 のアセトニトリル：水中の 2 mM 酢酸アンモニウム / 0.4 % ギ酸 200 μ L で再構成して、LC MS / MS 分析した。血液サンプル分析のための生物分析方法では、K3 EDTA 処理ウサギ血液の 0.5 mL に内部標準 CsG を加えた（500 ng/mL を 10 μ L）。

【0110】

血液サンプルを 37 で 30 分間インキュベーション後、サンプルを 0.1 N - HCl (2 mL) で酸性化した。各サンプルにメチル t - ブチルエーテル (4 mL) を加え、15 分間混合した。有機相を分離し、0.1 N - NaOH (2 mL) を加えて塩基性化した。有機抽出物を水相から分離し、蒸発乾固し、50:50 のアセトニトリル：水中の 2 mM 酢酸アンモニウム / 0.4 % ギ酸 200 μ L で再構成して、LC MS / MS 分析した。再構成サンプルの 50 μ L 量を LS - MS / MS 分析するのに、PE Sciex API3000 質量分析計 (Applied Biosystems、カリフォルニア州フォスターシティ)、Leap オートサンプラー (ノースカロライナ州カーボロ)、および HPLC ポンプ (Shimadzu Scientific Instruments、メリーランド州コロンビア) を使用した。逆相 HPLC を行うのに Keystone BDS C8 カラム (3 μ m、2.1 × 50 mm、65) を使用し、流速 0.3 mL / 分で溶媒勾配溶出を行った (A = 水中の 2 mM 酢酸アンモニウム / 0.4 % ギ酸、B = アセトニトリル中の 2 mM 酢酸アンモニウム / 0.4 % ギ酸)。MRM 分析に用いたプリカーサー - プロダクトイオンのペアは、CsA には 1203 (MH)⁺ 425.5、IS (シクロスポリン G) には m/z 1217 (MH)⁺ 425.5 であった。総分析時間は 5 分間で、CsA および CsG の保持時間はそれぞれ約 1.82 分および約 1.86 分であった。

【0111】

データ処理

データ収集

- ・処置前および処置後の肉眼的な眼検査
- ・体重：日 - 1 において無作為化
- ・投与記録
- ・死亡率 / 疾病率
- ・血液サンプル：剖検前
- ・眼組織サンプル：剖検後

【0112】

10

20

30

40

50

データ計算およびアウトライアー分析

生データ中、正当な理由で排除したもの以外、すべてのデータを計算に用いた。

【0113】

薬物動態分析

Thermo Electron Watson (商標) (ペンシルベニア州フィラデルフィア) および Microsoft (登録商標) Excel (ワシントン州レッドモンド) を用いて、薬物動態計算を行った。下記薬物動態パラメータを、既知のノンコンパートメントアプローチで計算した (Tang-Lui ら、Pharmaceutical Research, Vol. 5, No. 4, 1988, 238-241 参照)。薬物動態データを記述統計学、例えば平均および標準偏差 (可能な場合) で記載した。濃度 - 時間曲線下面積 (AUC) の値は、複合 AUC および可能な場合は \pm 標準誤差 (SEM) として記した。

10

【0114】

P K パラメータ	記載
C_{\max} (ng/mL) または (ng/g)	最高観測濃度
T_{\max} (時間)	最高観測濃度到達時間
AUC_{0-t} (ng・時間/g)	非逐次サンプリングにランダム法を用いた、時間 0 から最終定量可能時点までの、濃度 - 時間曲線下面積
$t_{1/2}$ (時間)	半減期
MRT (時間)	平均滞留時間

20

【0115】

定量限界未満の値および丸め

平均の計算に寄与する濃度値の半数を超えるものが定量限界未満 (BLQ) であった場合は、統計を計算不能 (NC) として報告した。半数またはそれ以上の値が定量可能であった場合は、BLQ 値があればそれを値「0」で置き換え、そのように置き替えた値を用いて平均およびその標準偏差 (SD) を計算した。各処置群の各サンプリング時点について、平均および平均の標準偏差を計算した。サンプルサイズが 2 に満たないかまたは 2 に等しい場合は、平均値のみを報告した。平均値はすべて 3 つの有効数字まで報告し、標準偏差は対応する平均値と同じ小数位まで報告した。

30

【0116】

プロトコル逸脱

6 時間後の時点の眼組織サンプル採取に先立ち、眼表面に残留する製剤を落とすための Lens Plus (登録商標) による眼の濯ぎを行わなかった。この逸脱が本試験から導かれる結果に及ぼす影響は最小限であると考えられる。なぜなら、この薬物は通例、眼表面から短時間で吸収されるからである。また、6 時間の間のウサギの瞬目が、表面の残留製剤を落とすように作用したはずである。

【0117】

略号

40

ACN	アセトニトリル
ALQ	定量限界を超える
AUC	血漿または血液中の薬物濃度－時間曲線下面積
AUC _{Extrap}	時間 0 から最終定量可能時点までの血漿または血液中の薬物濃度－時間曲線下面積外挿値
BID	1 日 2 回
BLQ	定量限界未満
BMS	生物分析質量分析
CFR	連邦規制基準
C0 または C ₀	時間 0 における外挿血漿または血液中薬物濃度
C _{max} または C _{max}	最高薬物濃度
CONC	濃度
DG	妊娠日
DSE	薬物安全性評価
EDTA(K3)	エチレンジアミン四酢酸カリウム
F	雌性
GD	妊娠日
FDA	米国食品医薬品局
GLP	医薬品安全性試験実施基準
IC	心臓内
IS	サンプル入手不十分
IM	筋肉内
IU	国際単位
IV	静脈内
IVT	硝子体内
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィータンデム質量分析

10

20

30

【 0 1 1 8 】

LLOQ	定量下限
M	雄性
N, n, No., no.	数
N/A, N.A., または n/a	適用されない
N/C, N.C., NC, または n/c	計算不能
NR	結果なし／報告なし
NS	サンプルなし
NZW	ニュージーランド白
OD	右眼
OU	両眼
PKDM	薬物動態および薬物代謝
PO	経口
QID	1日4回
QNS	量が不十分
SD, S.D., または sd	標準偏差
SE	標準誤差
Sec	秒
SMP	サンプル
T _{1/2} または T _{1/2}	薬物半減期
TA	トリアムシノロンアセトニド
TID	1日3回
TK	トキシコキネティクス
T _{max} または T _{max}	C _{max} が観察された時間
U	単位
ULOQ	定量上限

10

20

30

注：挙げられた略号が必ずしも本報告に用いられるわけではない。

【0119】

結果および考察

角膜

平均濃度および薬物動態パラメータを表3および表4に示す。3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをウサギの両眼に1回点眼後の、角膜におけるシクロスポリンAの濃度-時間グラフを図1に示す。

【0120】

【表 3】

表 3 3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼後の、角膜におけるシクロスポリンAの平均濃度

時間 (時間)	シクロスポリンA濃度 (ng/g)					
	組成物F		組成物E		組成物D	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD
0.5	4050	1220	1020	330	295	201
2	2740	620	1100	190	432	142
6	3030	750	1010	170	536	138
12	2530	430	858	267	417	127
24	1570 ^a	390	891 ^a	115	256 ^a	28.2
48	1240 ^a	230	622 ^a	118	238 ^a	76.6
144	222 ^a	61	125 ^a	47	52.5 ^a	13.2

平均値はn=6の平均

^a $t_{1/2}$ の計算に用いた濃度時点

【0121】

【表 4】

表 4 3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼後の、角膜におけるシクロスポリンAの薬物動態パラメータ

パラメータ	組成物F	組成物E	組成物D
C_{max} (ng/g)	4050 ± 1220	1100 ± 190	536 ± 138
T_{max} (時間)	0.500	2.00	6.00
AUC _{0-t} (ng・時間/g) ^a	163000 ± 7000	76200 ± 3300	29300 ± 2000
AUC ₀₋₂₄ (ng・時間/g)	59000	22100	9450
$t_{1/2}$ (時間)	41.3	42.2	49.8
MRT (時間)	50.3	56.5	61.6

^a 3製剤について0～144時間のAUC間隔で計算した

【0122】

組成物F

組成物Fを両眼に1回点眼後、シクロスポリンAは急速に角膜に吸収され、最高角膜濃度 (C_{max}) 4050 ± 1220 ng/g が投与後0.500時間で得られた。最終定量可能時点までの濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-t}) の値は163000 ± 7000 ng・時間/g、AUC₀₋₂₄値は59000 ng・時間/gであった。消失半減期 ($t_{1/2}$) は41.3時間、平均滞留時間 (MRT) は50.3時間であった。

【0123】

組成物E

組成物Eを両眼に1回点眼後、シクロスポリンAは角膜に吸収され、 C_{max} 値1100 ± 190 ng/g が投与後2.00時間で得られた。AUC_{0-t}値は76200 ± 3300 ng・時間/g、AUC₀₋₂₄値は22100 ng・時間/gであった。消失 $t_{1/2}$ は41.7時間、MRTは56.5時間であった。

10

20

30

40

50

【 0 1 2 4 】

組成物 D

組成物 D を両眼に 1 回点眼後、シクロスポリン A は角膜に吸収され、 C_{max} 値 $536 \pm 138 \text{ ng/g}$ が投与後 6.00 時間で得られた。 AUC_{0-1} 値は $29300 \pm 2000 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ 、 AUC_{0-24} 値は $9450 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ であった。消失 $t_{1/2}$ は 49.8 時間、MRT は 61.6 時間であった。

【 0 1 2 5 】

結膜

平均濃度および薬物動態パラメータを表 5 および表 6 に示す。3つの 0.05% シクロスポリン A 製剤の 1 つをウサギの両眼に 1 回点眼後の、結膜におけるシクロスポリン A の濃度 - 時間グラフを図 2 に示す。

【 0 1 2 6 】

【表 5】

表 5 3つの 0.05% シクロスポリン A 製剤の 1 つをニュージーランド白ウサギの両眼に 1 回点眼後の、結膜におけるシクロスポリン A の平均濃度

時間 (時間)	シクロスポリン A 濃度 (ng/g)					
	組成物 F		組成物 E		組成物 D	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD
0.5	4460	650	2560	1070	694	410
2	2170	530	1410	330	665	266
6	739	208	630 ^a	197	330 ^a	143
12	292 ^a	97	178 ^a	34	110 ^a	52.3
24	58.2 ^a	12.5	60.5 ^a	32.5	20.5 ^a	13.2
48	26.9 ^a	19.1	BLQ	-	BLQ	-
144	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-

平均値は n=6 の平均

BLQ=定量限界未満

^a $t_{1/2}$ の計算に用いた濃度時点

【 0 1 2 7 】

【表 6】

表 6 3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼後の、結膜におけるシクロスポリンAの薬物動態パラメータ

パラメータ	組成物F	組成物E	組成物D
C_{max} (ng/g)	4460 ± 650	2560 ± 1070	694 ± 410
T_{max} (時間)	0.500	0.500	0.500
AUC_{0-t} (ng・時間/g)	18100 ± 800 ^a	11600 ± 700 ^b	5290 ± 480 ^b
AUC_{0-24} (ng・時間/g)	17100	11600	5290
$t_{1/2}$ (時間)	11.3	5.57	4.55
MRT (時間)	7.37	5.93	6.07

^a 0～48時間のAUC間隔で計算した

^b 0～24時間のAUC間隔で計算した

10

【0128】

組成物F

組成物Fを両眼に1回点眼後、シクロスポリンAは急速に結膜に吸収され、 C_{max} 値4460 ± 650 ng/gが投与後0.500時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は18100 ± 800 ng・時間/g、 AUC_{0-24} 値は17100 ng・時間/gであった。消失 $t_{1/2}$ は11.3時間、MRTは7.37時間であった。

20

【0129】

組成物E

組成物Eを両眼に1回点眼後、シクロスポリンAは急速に結膜に吸収され、 C_{max} 値2560 ± 1070 ng/gが投与後0.500時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は11600 ± 700 ng・時間/gであった。消失 $t_{1/2}$ は5.57時間、MRTは5.93時間であった。

【0130】

組成物D

組成物Dを両眼に1回点眼後、シクロスポリンAは急速に結膜に吸収され、 C_{max} 値694 ± 410 ng/gが投与後0.500時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は5290 ± 480 ng・時間/gであった。消失 $t_{1/2}$ は4.55時間、MRTは6.07時間であった。

30

【0131】

強膜

平均濃度および薬物動態パラメータを表7および表8に示す。3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをウサギの両眼に1回点眼後の、強膜におけるシクロスポリンAの濃度-時間グラフを図3に示す。

【0132】

【表 7】

表 7 3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼後の、強膜におけるシクロスポリンAの平均濃度

時間 (時間)	シクロスポリンA濃度 (ng/g)					
	組成物F		組成物E		組成物D	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD
0.5	545	98	136	44	52.5	29.3
2	294	74	120	34	49.4	24.5
6	210	58	83.7	14.0	53.0	10.9
12	133	25	51.0	19.1	28.6 ^a	3.7
24	51.4 ^a	9.4	36.5 ^a	9.9	13.5 ^a	2.3
48	24.2 ^a	7.1	13.0 ^a	3.61	7.10 ^a	3.09
144	2.92 ^a	0.40	1.14 ^a	1.27	BLQ	-

平均値は n=6 の平均

BLQ=定量限界未満

^a $t_{1/2}$ の計算に用いた濃度時点

【0133】

【表 8】

表 8 3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼後の、強膜におけるシクロスポリンAの薬物動態パラメータ

パラメータ	組成物F	組成物E	組成物D
C_{max} (ng/g)	545 ± 98	136 ± 43	53.0 ± 10.9
T_{max} (時間)	0.500	0.500	6.00
AUC_{0-t} (ng・時間/g)	6110 ± 260 ^a	2840 ± 150 ^a	1040 ± 50 ^b
AUC_{0-24} (ng・時間/g)	3900	1560	792
$t_{1/2}$ (時間)	29.7	24.8	18.7
MRT (時間)	25.3	26.9	23.8

^a 0～144時間のAUC間隔で計算した

^b 0～48時間のAUC間隔で計算した

【0134】

組成物F

組成物Fを両眼に1回点眼後、シクロスポリンAは急速に強膜に吸収され、 C_{max} 値 $545 \pm 98 \text{ ng/g}$ が投与後0.500時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は $6110 \pm 260 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ 、 AUC_{0-24} 値は $3900 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ であった。消失 $t_{1/2}$ は29.7時間、MRTは25.3時間であった。

【0135】

組成物E

組成物Eを両眼に1回点眼後、シクロスポリンAは急速に強膜に吸収され、 C_{max} 値 $136 \pm 43 \text{ ng/g}$ が投与後0.500時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は $2840 \pm 150 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ 、 AUC_{0-24} 値は $1560 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ であった。消失 $t_{1/2}$ は24.8時間、M

10

20

30

40

50

RTは26.7時間であった。

【0136】

組成物D

組成物Dを両眼に1回点眼後、シクロスポリンAは強膜に吸収され、 C_{max} 値 $53.0 \pm 10.9 \text{ ng/g}$ が投与後6.00時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は $1040 \pm 50 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ 、 AUC_{0-24} 値は $792 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ であった。消失 $t_{1/2}$ は18.7時間、MRTは23.8時間であった。

【0137】

眼瞼縁

平均濃度および薬物動態パラメータを表9および表10に示す。3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをウサギの両眼に1回点眼後の、眼瞼縁におけるシクロスポリンAの濃度-時間グラフを図4に示す。

【0138】

【表9】

表9 3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼後の、眼瞼縁におけるシクロスポリンAの平均濃度

時間 (時間)	シクロスポリンA濃度 (ng/g)					
	組成物F		組成物E		組成物D	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD
0.5	3120	1040	2020	980	1800	900
2	1710	300	1380	630	2450	970
6	679	135	547	300	430	214
12	787	280	910	199	662	506
24	263 ^a	158	138 ^a	87	222 ^a	172
48	223 ^a	207	362 ^a	437	112 ^a	82
144	40.0 ^a	22.5	24.9 ^a	23.4	7.30 ^a	12.64

平均値はn=6の平均

^a $t_{1/2}$ の計算に用いた濃度時点

【0139】

【表10】

表10 3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼後の、眼瞼縁におけるシクロスポリンAの薬物動態パラメータ

パラメータ	組成物F	組成物E	組成物D
C_{max} (ng/g)	3120 ± 1040	2020 ± 980	2450 ± 970
T_{max} (時間)	0.500	0.500	2.00
AUC_{0-t} (ng・時間/g) ^a	38300 ± 5300	42200 ± 10800	27700 ± 3300
AUC_{0-24} (ng・時間/g)	19900	17600	18000
$t_{1/2}$ (時間)	42.5	38.2	24.4
MRT (時間)	40.5	38.4	21.9

^a 3製剤について0~144時間のAUC間隔で計算した

【 0 1 4 0 】

組成物 F

組成物 F を両眼に 1 回点眼後、シクロスポリン A は急速に眼瞼縁に吸収され、 C_{max} 値 $3120 \pm 1040 \text{ ng/g}$ が投与後 0.500 時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は $38300 \pm 5300 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ 、 AUC_{0-24} 値は $19900 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ であった。消失 $t_{1/2}$ は 42.5 時間、MRT は 40.5 時間であった。

【 0 1 4 1 】

組成物 E

組成物 E を両眼に 1 回点眼後、シクロスポリン A は急速に眼瞼縁に吸収され、 C_{max} 値 $2020 \pm 980 \text{ ng/g}$ が投与後 0.500 時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は $42200 \pm 10800 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ 、 AUC_{0-24} 値は $17600 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ であった。消失 $t_{1/2}$ は 38.1 時間、MRT は 38.4 時間であった。

【 0 1 4 2 】

組成物 D

組成物 D を両眼に 1 回点眼後、シクロスポリン A は眼瞼縁に吸収され、 C_{max} 値 $2450 \pm 970 \text{ ng/g}$ が投与後 2.00 時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は $27700 \pm 3300 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ 、 AUC_{0-24} 値は $18000 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ であった。消失 $t_{1/2}$ は 24.4 時間、MRT は 21.9 時間であった。

【 0 1 4 3 】

鼻涙管

平均濃度および薬物動態パラメータを表 11 および表 12 に示す。3つの 0.05% シクロスポリン A 剤の 1 つをウサギの両眼に 1 回点眼後の、鼻涙管組織におけるシクロスポリン A の濃度 - 時間グラフを図 5 に示す。

【 0 1 4 4 】

【 表 11 】

表 11 3つの 0.05% シクロスポリン A 剤の 1 つをニュージーランド白ウサギの両眼に 1 回点眼後の、鼻涙管におけるシクロスポリン A の平均濃度

	シクロスポリン A 濃度 (ng/g)					
	組成物 F		組成物 E		組成物 D	
時間 (時間)	平均	SD	平均	SD	平均	SD
0.5	194	201	74.4	20.9	72.0	91.7
2	43.7	44.1	37.2	43.6	37.4	13.8
6	18.2	15.2	BLQ	-	11.8	10.0
12	24.2	12.0	35.5	21.5	14.9	8.4
24	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-
48	BLQ	-	4.68	5.15	BLQ	-
144	1.71	1.93	BLQ	-	BLQ	-

平均値は n=6 の平均

BLQ=定量限界未満

【 0 1 4 5 】

【表 12】

表 12 3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼後の、鼻涙管におけるシクロスポリンAの薬物動態パラメータ

パラメータ	組成物 F	組成物 E	組成物 D
C_{\max} (ng/g)	195 ± 201	74.4 ± 20.9	72.0 ± 91.7
T_{\max} (時間)	0.500	0.500	0.500
AUC_{0-t} (ng・時間/g)	2190 ± 350 ^a	1190 ± 212 ^b	279 ± 39 ^c
AUC_{0-12} (ng・時間/g)	478 ± 86	465 ± 106	279 ± 39
$t_{1/2}$ (時間)	NC	NC	NC
MRT (時間) ^d	17.6	24.7	12.1

NC=計算不能

^a 0～144時間のAUC間隔で計算した

^b 0～48時間のAUC間隔で計算した

^c 0～12時間のAUC間隔で計算した

^d 0～12時間の時間間隔で計算した

10

20

【0146】

組成物 F

組成物 F を両眼に1回点眼後、シクロスポリン A は急速に鼻涙管組織に流れ込んで吸収され、 C_{\max} 値 $195 \pm 201 \text{ ng/g}$ が投与後 0.500 時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は $2190 \pm 350 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ 、 AUC_{0-12} 値は $478 \pm 86 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ であった。MRT は 17.6 時間であった。

【0147】

組成物 E

組成物 E を両眼に1回点眼後、シクロスポリン A は急速に鼻涙管組織に流れ込んで吸収され、 C_{\max} 値 $74.4 \pm 20.9 \text{ ng/g}$ が投与後 0.500 時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は $1190 \pm 210 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ 、 AUC_{0-12} 値は $465 \pm 106 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ であった。MRT は 24.7 時間であった。

30

【0148】

組成物 D

組成物 D を両眼に1回点眼後、シクロスポリン A は急速に鼻涙管組織に流れ込んで吸収され、 C_{\max} 値 $72.0 \pm 91.7 \text{ ng/g}$ が投与後 0.500 時間で得られた。 AUC_{0-t} 値は $279 \pm 39 \text{ ng} \cdot \text{時間/g}$ であった。MRT は 12.1 時間であった。

【0149】

血液

シクロスポリン A の平均血中濃度を表 13 に示す。

40

【表 13】

表 13 3つの0.05%シクロスポリンA製剤の1つをニュージーランド白ウサギの両眼に1回点眼後の、シクロスポリンAの平均血中濃度

時間 (時間)	シクロスポリンA濃度 (ng/mL)					
	組成物F		組成物E		組成物D	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD
0.5	2.21	0.33	0.441	0.126	BLQ	-
2	0.463	0.021	BLQ	-	BLQ	-
6	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-
12	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-
24	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-
48	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-
144	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-

平均値はn=3の平均

BLQ=定量限界未満

10

20

【0150】

組成物F

組成物Fを両眼に1回点眼してから0.5時間後および2時間後の時点で、シクロスポリンAの血中濃度はそれぞれ $2.21 \pm 0.33 \text{ ng/mL}$ および $0.463 \pm 0.021 \text{ ng/mL}$ であった。それ以降のいずれの時点においても、シクロスポリンAのレベルは定量限界未満であった。

【0151】

組成物E

組成物Eを両眼に1回点眼してから0.5時間後の時点で、シクロスポリンAの血中濃度は $0.441 \pm 0.126 \text{ ng/mL}$ であった。それ以降のいずれの時点においても、シクロスポリンAのレベルは定量限界未満であった。

30

【0152】

組成物D

組成物Dを両眼に1回点眼後、いずれの時点においても、シクロスポリンAのレベルは定量限界未満であった。

【0153】

組成物Fをウサギに投与した場合は全般的に、最も高いレベルでシクロスポリンAが眼組織に送達され、平均で、濃度-時間曲線下面積(AUC)が組成物Dと比較して5倍大きかった。組成物Eをウサギに投与した場合は、組成物Dと比較して、AUCが平均で2倍大きかった。本アッセイにおいて組成物Dをニュージーランド白ウサギに投与して得られた薬物動態データは、過去に報告されたデータとよく一致していた。

40

【0154】

全般的に消失半減期および平均滞留時間は、組成物Fの場合が最大で、次に組成物E、組成物Dの順であった。すなわち、最終定量可能時点までのAUC値を求め、さらに角膜、結膜、強膜および眼瞼縁については24時間のAUCを、鼻涙管については12時間のAUCを求めて、1日1回投与後の薬物レベルを同じ間隔で評価した。全般的に、 AUC_{0-1} 値の比較により示された傾向は、 AUC_{0-24} または AUC_{0-12} の比較によるものと一致していた。

【0155】

結論として、0.05%シクロスポリンA製剤を1回点眼後、最も高いシクロスポリンA眼組織暴露レベルが認められたのは、薬物を水性組成物Fとして製剤化した場合であり

50

、次いで、組成物 E、組成物 D の順であった。血液薬物暴露にも付随する傾向が見られた。

【 0 1 5 6 】

本発明の範囲の制限を意図するわけではないが、そのような薬物動態試験結果は、従来知られていたよりも顕著に低い濃度でシクロスポリン A を局所眼用組成物中に使用し得、それでもなお処置有効量のシクロスポリン A をもたらし得ることを示すと考えられる。

【 0 1 5 7 】

薬物動態試験 2

下記組成物を、組成物 D、E および F と同様の方法で調製した。

製剤	組成物 G	組成物 H	組成物 D
成分	水溶液	水溶液	エマルジョン
シクロスポリン A	0. 0 2 0	0. 0 3 0	0. 0 5 0
Purite	0. 0 1 % (1 0 0 ppm)	0. 0 1 % (1 0 0 ppm)	0. 0 % (0 ppm)
ポリソルベート 8 0	1. 0	1. 0	1. 0
グリセロール	1. 0	1. 0	2. 2
マンニトール	0. 5	0. 5	N / A
ナトリウム カルボキシメチルセルロース (CMC) -7LFPH	0. 5	0. 5	N / A
クエン酸ナトリウム二水和物	0. 4	0. 4	N / A
ホウ酸	0. 2 5	0. 2 5	N / A
ホウ酸ナトリウム十水和物	0. 4 1	0. 4 1	N / A
塩化カリウム	0. 1 4	0. 1 4	N / A
ヒマシ油	N / A	N / A	1. 2 5
Pemulen TR-2	N / A	N / A	0. 0 5
水酸化ナトリウム	N / A	N / A	p H 7. 4
精製水	Q S	Q S	N / A

【 0 1 5 8 】

前記と同様の分析方法を用いて薬物動態試験を行った。パラメータを次に示す。

- ・試験製剤： G、H および D
- ・動物種／系統： N Z W ウサギ
- ・性別： 雌
- ・数： 各時点でウサギ 2 匹（ウサギ 2 匹をブランクとする）
- ・投与経路： 眼局所
- ・投与計画： 両眼、Q D（水溶液）／B I D（組成物 D）－ 5 日間
- ・投与量： 3 5 μ L
- ・時点： 1 日目および 5 日目－投与の 0. 5、2、6、1 2、2 4 時間後
- ・アッセイ方法： L C－M S／M S
- ・分析物： シクロスポリン A
- ・データ解析： C_{max} 、 AUC_{0-24} 、用量補正 AUC

【 0 1 5 9 】

角膜、涙液および血液中の結果を次表に示す。

【表 1 4】

表 1 4 角膜におけるシクロスポリン バイオアベイラビリティ

	組成物 G		組成物 H		組成物 D エマルジョン, BID	
	1 日目	5 日目	1 日目	5 日目	1 日目	5 日目
C _{max} (ng/g)	810 ±530	2570 ±650	1420 ±930	3020 ±440	583 ±209	1670 ±170
AUC ₀₋₂₄ (ng・時間/g)	14700 ±2500	33900 ±2200	22100 ±2800	48800 ±3900	12100 ±700	27900 ±1000
AUC/用量 (ng・時間/g/ng)	2.12	4.93	2.12	4.71	0.349	0.807
総用量/24 時間 (ng)	7000	7000	10500	10500	35000	35000

10

【 0 1 6 0 】

20

【表 1 5】

表 1 5 血液におけるシクロスポリン バイオアベイラビリティ

	0.02% CsA, 水溶液, QD		0.03% CsA, 水溶液, QD		Restasis® (0.05%) エマルジョン, BID	
	1 日目	5 日目	1 日目	5 日目	1 日目	5 日目
C _{0.5 時間} (ng/mL)	0.741	0.883	0.727	0.604	BLQ	BLQ

30

n=2 ウサギ/時点

BLQ-検出限界 (0.2 ng/mL) 未満

【 0 1 6 1 】

【表 1 6】

表 1 6 涙液におけるシクロスポリン バイオアベイラビリティ

	0.02% CsA 水溶液, QD		0.03% CsA 水溶液, QD		Restasis® (0.05%) エマルジョン, BID	
	1 日目	5 日目	1 日目	5 日目	1 日目	5 日目
C _{max} (ng/mL)	18.2 ±6.3	50.1 ±29.2	31.4 ±45.2	39.4 ±9.7	44.2 ±18.4	83.5 ±33.2
AUC ₀₋₂₄ (ng・時間/mL)	109 ±15	371 ±62	327 ±121	397 ±127	368 ±51	663 ±110

40

【 0 1 6 2 】

50

標準組成物

組成物 (A A ~ M M) は、本発明が開示する組成物を特徴付けるための比較用標準として用いることが特に意図される。

【0163】

下記組成物は、引用により本書の一部とするKanaiら、Transplantation Proceedings, Vol. 21, No. 1 (2月), 1989: 3150-3152に開示されたのと同じものを意味するものとする：

組成物 A A : シクロスポリン A (0 . 0 2 5 %) 、 シクロデキストリン (4 0 m g / m L) および水から成る溶液；

組成物 B B : シクロスポリン A (0 . 0 0 9 %) 、 シクロデキストリン (2 0 m g / m L) および水から成る溶液；

組成物 C C : シクロスポリン A (0 . 0 0 3 %) 、 シクロデキストリン (1 0 m g / m L) および水から成る溶液。

【0164】

下記組成物は、引用により本書の一部とするCheeksら、Current Eye Research, Vol. 11, No. 7 (1992), 641-649に開示されているのと同じものを意味するものとする。

組成物 D D : シクロスポリン A (0 . 0 2 5 %) を含有する シクロデキストリン (4 0 m g / m L) の溶液。

【0165】

下記組成物は、引用により本書の一部とするTamilvanan, Stp Pharma Sci, 11-12月; 11(6):421-426に開示されているのと、シクロスポリン A の濃度以外は同じものを意味するものとする：

組成物 E E : シクロスポリン A (0 . 0 5 w / w %) 、 ヒマシ油 (2 . 5 w / w %) 、 ステアリルアミン (0 . 1 2 w / w %) 、 - トコフェロール (0 . 0 1 w / w %) 、 塩化ベンザルコニウム (0 . 0 1 w / w %) および水 (1 0 0 w / w % とする) から成るエマルジョン。

【0166】

下記組成物は、米国特許第 5 0 5 1 4 0 2 号 (第 7 欄) に開示されたサンプル C ~ E と同じものを意味するものとする。該米国特許の開示全部を引用により本書の一部とする。

組成物 F F : シクロスポリン A (0 . 2 5 m L / m L) 、 - シクロデキストリン (4 0 m g / m L) および塩化ナトリウム (7 . 7 9 m g / m L) ；

組成物 G G : シクロスポリン A (0 . 1 0 m L / m L) 、 - シクロデキストリン (2 0 m g / m L) および塩化ナトリウム (8 . 4 0 m g / m L) ；

組成物 H H : シクロスポリン A (0 . 0 5 m L / m L) 、 - シクロデキストリン (1 0 m g / m L) および塩化ナトリウム (8 . 7 0 m g / m L) 。

【0167】

下記組成物は、引用により本書の一部とするAbdulrizak, Stp Pharma Sci, 11-12月; 11(6):427-432に開示されたのと、シクロスポリン A の濃度以外は同じものを意味するものとする：

組成物 I I : シクロスポリン A (0 . 0 5 w / w %) 、 ヒマシ油 (2 . 5 w / w %) 、 ポロキサマー 1 8 8 (0 . 4 2 5 w / w %) 、 グリセロール (2 . 2 5 w / w %) 、 Lipo id E-80 (0 . 5 w / w %) 、 ステアリルアミン (0 . 1 2 w / w %) 、 トコフェロール (0 . 0 1 w / w %) 、 塩化ベンザルコニウム (0 . 0 1 w / w %) および水から成るエマルジョン。

【0168】

下記組成物は、Kuwano Mitsuakiら、Phram Res 2002年8月; 19(1):108-111に開示されたのと同じものを意味するものとする。

組成物 J J : シクロスポリン A (0 . 0 8 6 5 %) 、 エタノール (0 . 1 %) 、 MYS-40 (2 %) 、 HPMC (0 . 3 w / v %) 、 リン酸二水素ナトリウム (0 . 2 w / v %) および EDTA二ナトリウム (0 . 0 1 w / v %) 、 浸透圧を 2 8 7 m O s m に調節するための塩化

10

20

30

40

50

ナトリウム並びに水から成る溶液。

【 0 1 6 9 】

組成物 K K は、引用により本書の一部とする U S 2 0 0 1 0 0 4 1 6 7 1 の表 1 に製剤 1 として開示されたものを意味するものとする。組成物 L L は、シクロスポリン濃度を低下した以外は引用により本書の一部とする U S 2 0 0 1 0 0 4 1 6 7 1 の製剤 3 として開示されたものである。

組成物 K K : シクロスポリン A (0 . 0 2 %) 、ヒアルロン酸ナトリウム (0 . 0 5 %) 、Tween 80 (0 . 0 5 %) 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0 . 0 8 %) 、ソルビトール (5 . 4 6 %) 、精製水 (1 0 0 m L とする) 、 pH 7 . 0 ~ 7 . 4 、 $\text{mOsm/L} = 295 \sim 305$ 。

組成物 L L : シクロスポリン A (0 . 2 %) 、ヒアルロン酸ナトリウム (0 . 1 0 %) 、Tween 80 (5 . 0 0 %) 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0 . 0 8 %) 、ソルビトール (5 . 1 6 %) 、精製水 (1 0 0 m L とする) 、 pH 7 . 0 ~ 7 . 4 、 $\text{mOsm/L} = 295 \sim 305$ 。

【 0 1 7 0 】

下記組成物は、引用により本書の一部とする U S 5 9 5 1 9 7 1 の実施例 2 に開示されたものを意味するものとする。

組成物 M M : シクロスポリン A (0 . 0 2 5 g) 、ポリオキシ 4 0 ステアレート (0 . 5 g) 、ヒドロキシプロピルメチルセルロース (0 . 2 g) 、ブチル化ヒドロキシトリエン (0 . 0 0 0 5 g) 、エタノール (0 . 1 g) 、塩化ナトリウム (0 . 7 3 g) 、リン酸二水素ナトリウム (0 . 2 g) 、エデト酸ナトリウム (0 . 1 g) 、 pH 6 . 0 に調節するための水酸化ナトリウム、および水 (1 0 0 m L とする) 。

【 0 1 7 1 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 A A 1 滴を同じ体積で雌ニューージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 A A よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【 0 1 7 2 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 B B 1 滴を同じ体積で雌ニューージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 B B よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【 0 1 7 3 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 C C 1 滴を同じ体積で雌ニューージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 C C よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【 0 1 7 4 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 D D 1 滴を同じ体積で雌ニューージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 D D よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【 0 1 7 5 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 E E 1 滴を同じ体積で雌ニューージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 E E よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【 0 1 7 6 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 F F 1 滴を同じ体積で雌ニューージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 F F よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【 0 1 7 7 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 G G 1 滴を同じ体積で雌ニューージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 G G よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

10

20

30

40

50

【 0 1 7 8 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 H H 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 H H よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【 0 1 7 9 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 I I 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 I I よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【 0 1 8 0 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 J J 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 J J よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

10

【 0 1 8 1 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 K K 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 K K よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【 0 1 8 2 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 L L 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 L L よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

20

【 0 1 8 3 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 M M 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 M M よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【 0 1 8 4 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 A A 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 A A よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【 0 1 8 5 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 B B 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 B B よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

30

【 0 1 8 6 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 C C 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 C C よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【 0 1 8 7 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 D D 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 D D よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

40

【 0 1 8 8 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 E E 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 E E よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【 0 1 8 9 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 F F 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した 3 0 分後に、本発明の組成物は組成物 F F よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【 0 1 9 0 】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 G G 1 滴を同じ体積で雌ニュー

50

ージーランド白ウサギの眼に局所投与した30分後に、本発明の組成物は組成物G Gよりも多くのシクロスポリンAをウサギ結膜に提供する。

【0191】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物H H 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した30分後に、本発明の組成物は組成物H Hよりも多くのシクロスポリンAをウサギ結膜に提供する。

【0192】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物I I 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した30分後に、本発明の組成物は組成物I Iよりも多くのシクロスポリンAをウサギ結膜に提供する。

10

【0193】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物J J 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した30分後に、本発明の組成物は組成物J Jよりも多くのシクロスポリンAをウサギ結膜に提供する。

【0194】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物K K 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した30分後に、本発明の組成物は組成物K Kよりも多くのシクロスポリンAをウサギ結膜に提供する。

【0195】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物L L 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した30分後に、本発明の組成物は組成物L Lよりも多くのシクロスポリンAをウサギ結膜に提供する。

20

【0196】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物M M 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与した30分後に、本発明の組成物は組成物M Mよりも多くのシクロスポリンAをウサギ結膜に提供する。

【0197】

ヒトまたは動物における二組成物の比較は、例えば、本発明の組成物を一つの眼に、第二の組成物を第二の眼に投与することによって行い得る。

【0198】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物A A 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後24時間にわたり、本発明の組成物は組成物A Aよりも多くのシクロスポリンAをウサギ角膜に提供する。

30

【0199】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物B B 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後24時間にわたり、本発明の組成物は組成物B Bよりも多くのシクロスポリンAをウサギ角膜に提供する。

【0200】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物C C 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後24時間にわたり、本発明の組成物は組成物C Cよりも多くのシクロスポリンAをウサギ角膜に提供する。

40

【0201】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物D D 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後24時間にわたり、本発明の組成物は組成物D Dよりも多くのシクロスポリンAをウサギ角膜に提供する。

【0202】

他の一態様においては、本発明の組成物1滴または組成物E E 1滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後24時間にわたり、本発明の組成物は組成物E Eよりも多くのシクロスポリンAをウサギ角膜に提供する。

【0203】

50

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 F F 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 F F よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【0204】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 G G 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 G G よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【0205】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 H H 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 H H よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

10

【0206】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 I I 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 I I よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【0207】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 J J 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 J J よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【0208】

20

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 K K 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 K K よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【0209】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 L L 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 L L よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【0210】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 M M 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 M M よりも多くのシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

30

【0211】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 A A 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 A A よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0212】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 B B 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 B B よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0213】

40

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 C C 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 C C よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0214】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 D D 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 D D よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0215】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 E E 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 2 4 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 E E

50

よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0216】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 F F 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 24 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 F F よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0217】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 G G 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 24 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 G G よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0218】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 H H 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 24 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 H H よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0219】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 I I 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 24 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 I I よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0220】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 J J 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 24 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 J J よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0221】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 K K 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 24 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 K K よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0222】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 L L 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 24 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 L L よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0223】

他の一態様においては、本発明の組成物 1 滴または組成物 M M 1 滴を同じ体積で雌ニュージーランド白ウサギの眼に局所投与後 24 時間にわたり、本発明の組成物は組成物 M M よりも多くのシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0224】

一態様においては、前記組成物 1 滴 35 μ L を雌ニュージーランド白ウサギの各眼に局所投与し、局所投与の 30 分後の時点で角膜 1 g 当たり少なくとも約 500 ng のシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【0225】

他の一態様においては、前記組成物 1 滴 35 μ L を雌ニュージーランド白ウサギの各眼に局所投与し、局所投与の 30 分後の時点で角膜 1 g 当たり少なくとも約 2000 ng のシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【0226】

他の一態様においては、前記組成物 1 滴 35 μ L を雌ニュージーランド白ウサギの各眼に局所投与し、局所投与の 30 分後の時点で角膜 1 g 当たり少なくとも約 2400 ng のシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【0227】

他の一態様においては、前記組成物 1 滴 35 μ L を雌ニュージーランド白ウサギの各眼に局所投与し、局所投与後 24 時間の間に角膜 1 g 当たり少なくとも約 17000 ng のシクロスポリン A をウサギ角膜に提供する。

【0228】

10

20

30

40

50

他の一態様においては、前記組成物 1 滴 35 μ L を雌ニュージーランド白ウサギの各眼に局所投与し、局所投与後 24 時間の間に結膜 1 g 当たり少なくとも約 3300 ng のシクロスポリン A をウサギ結膜に提供する。

【0229】

他の一態様においては、前記組成物はシクロスポリン A を 0.005% ~ 約 0.04% 含有する水溶液であり、ニュージーランドウサギの各眼に前記組成物 1 滴 35 μ L を局所投与すると、角膜 1 g 当たり少なくとも約 17000 ng のシクロスポリン A がウサギの角膜に提供されることが下記のように測定される：

被験雌ニュージーランド白ウサギ 15 匹のそれぞれの各眼に前記組成物を局所投与し；被験体への投与から約 0.5 時間、約 2 時間、約 6 時間、約 12 時間および約 24 時間の時点で 3 被験体の角膜におけるシクロスポリン A 量を測定する；ここで、角膜中のシクロスポリン A 量の測定は、各被験体について 1 回だけ行う。

10

【0230】

他の一態様においては、前記組成物はシクロスポリン A を 0.005% ~ 約 0.04% 含有する水溶液であり、ニュージーランドウサギの各眼に前記組成物 1 滴 35 μ L を局所投与すると、結膜 1 g 当たり少なくとも約 17000 ng のシクロスポリン A がウサギの結膜に提供されることが下記のように測定される：

被験雌ニュージーランド白ウサギ 15 匹のそれぞれの各眼に前記組成物を局所投与し；被験体への投与から約 0.5 時間、約 2 時間、約 6 時間、約 12 時間および約 24 時間の時点で 3 被験体の結膜におけるシクロスポリン A 量を測定する；ここで、結膜中のシクロスポリン A 量の測定は、各被験体について 1 回だけ行う。

20

【0231】

前記の通り、本発明の組成物は、ウサギのほか、ヒトを包含する哺乳動物に使用するのに適当である。すなわち、特許請求の範囲またはそれ以外に記載される、インビボ ウサギバイオアベイラビリティ試験により特徴付けられる組成物はいずれも、ヒトまたは他の哺乳動物にも使用することが意図される。ウサギにおけるバイオアベイラビリティに関して組成物を定義するからと言って、該組成物を使用する処置方法をウサギに対する適用に限定すると解釈すべきではなく、該組成物による処置はヒトおよび他の哺乳動物の処置を包含すると解釈すべきである。

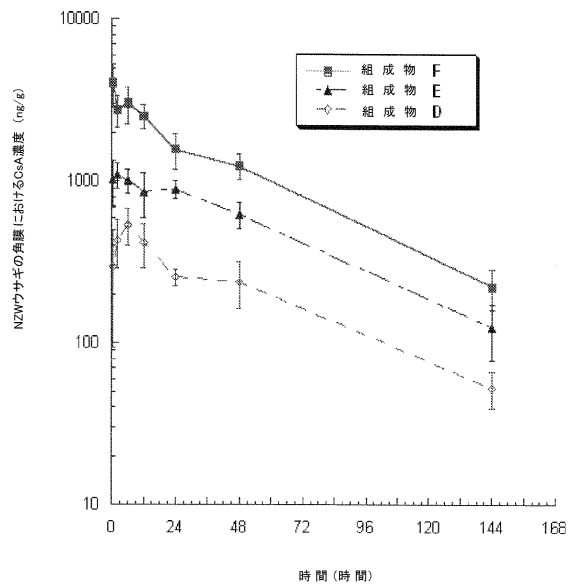
【0232】

前記記載は、本発明の実施に用い得る特定の方法および組成物を詳しく説明したもので、考えられる最善の様式を表す。しかし、所望の薬理的性質を有する更なる組成物を同様の方法で調製し得ることは、当業者に明らかである。すなわち、本書における前記記載がいかに詳細なものであったとしても、その全体的範囲を制限するものと解釈すべきではなく、本発明の範囲は特許請求の範囲の法的構成によってのみ規定される。

30

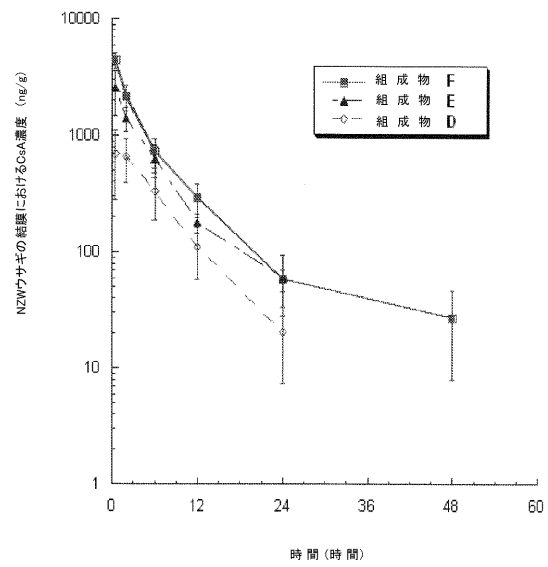
【図 1】

Fig. 1



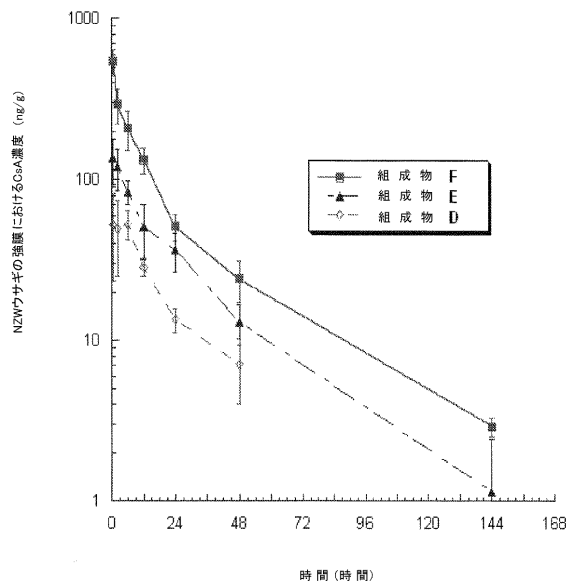
【図 2】

Fig. 2



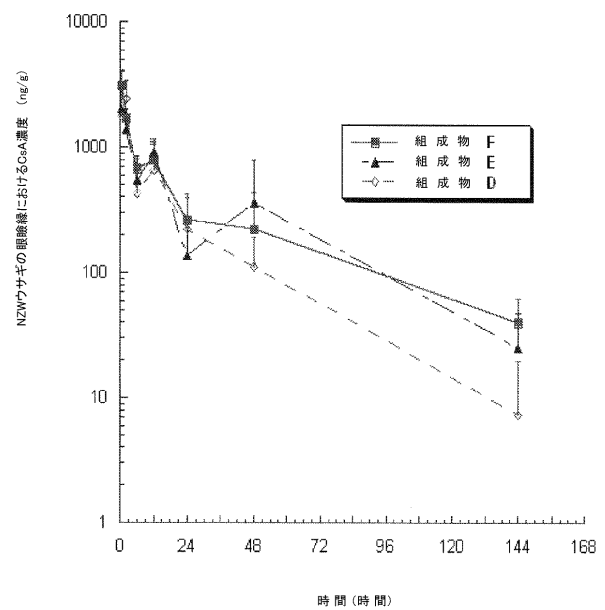
【図 3】

Fig. 3



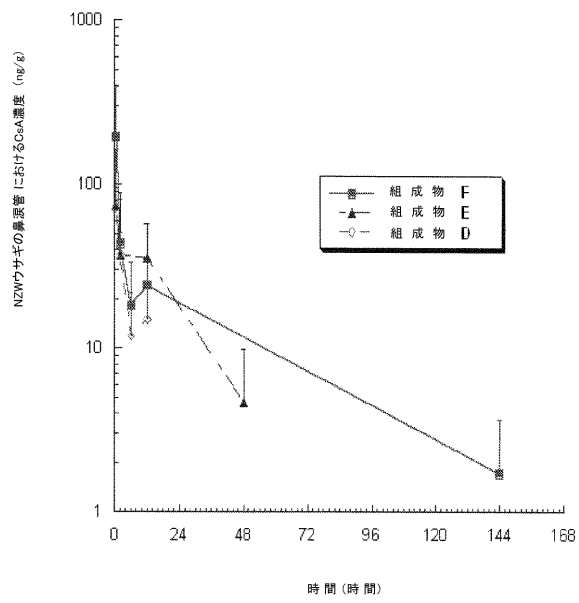
【図 4】

Fig. 4



【 図 5 】

Fig. 5



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/076756

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K9/00 A61K38/13		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/011880 A (MINU L L C [US]; PEYMAN GHOLAM A [US]) 25 January 2007 (2007-01-25) page 1, paragraphs 1,2 page 11, paragraph 56 - page 12, paragraph 58 page 13, paragraph 64 - page 14, paragraph 65 page 22, paragraph 102 - page 23, paragraph 104 page 26, paragraph 114 page 37, paragraph 148 claims 69,73,74	1-13,19
Y	----- -/-	1-18
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
3 September 2009		09/09/2009
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer van de Wetering, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2008/076756

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	REYNOLDS S A ET AL: "Therapeutic options for the management of early neurotrophic keratopathy: A case report and review" OPTOMETRY - JOURNAL OF THE AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, ELSEVIER, NL, vol. 77, no. 10, 1 October 2006 (2006-10-01), pages 503-507, XP025253438 ISSN: 1529-1839 [retrieved on 2006-10-01] abstract page 503, left-hand column, paragraph 1 - page 504, paragraph 1 page 504; table 1 page 504, right-hand column, last paragraph - page 505, paragraph 3	1,6, 14-17
Y		1-18
X	WO 2007/056457 A (COMBINATORX INC [US]; CHAPPELL TODD W [US]; AUSPITZ BENJAMIN A [US]; J) 18 May 2007 (2007-05-18) page 15, lines 20-23,29 - page 16, line 27 page 30, line 26 - page 31, line 12 page 45, lines 14-17 claims 31,36-38,41	1-7,14, 18,19
X	US 5 051 402 A (KURIHARA KOZO [JP] ET AL) 24 September 1991 (1991-09-24) cited in the application column 1, line 61 - column 2, line 11 example 2	19
Y		1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2008/076756

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007011880 A	25-01-2007	AU 2006270041 A1	25-01-2007
		CA 2615990 A1	25-01-2007
		EP 1904056 A2	02-04-2008
		US 2007078077 A1	05-04-2007
		US 2008108579 A1	08-05-2008
WO 2007056457 A	18-05-2007	AR 058182 A1	23-01-2008
		AU 2006311577 A1	18-05-2007
		CA 2628570 A1	18-05-2007
		CN 101355876 A	28-01-2009
		EP 1956906 A2	20-08-2008
		JP 2009514969 T	09-04-2009
US 5051402 A	24-09-1991	KR 20080065704 A	14-07-2008
		AU 1738688 A	22-12-1988
		CA 1325973 C	11-01-1994
		DE 3868438 D1	26-03-1992
		EP 0294239 A1	07-12-1988
		ES 2033429 T3	16-03-1993
		GR 3004199 T3	31-03-1993
		HK 28097 A	06-03-1997

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100156144

弁理士 落合 康

(72)発明者 リチャード・エス・グレアム

アメリカ合衆国 9 2 6 1 2 カリフォルニア州アーバイン、バルサウッド 5 0 6 6 番

(72)発明者 ウォルター・エル・ティエン

アメリカ合衆国 9 2 6 0 6 カリフォルニア州アーバイン、アーバスト 8 番

(72)発明者 アイリーン・モーガン

アメリカ合衆国 9 2 6 8 8 カリフォルニア州ランチョ・サンタ・マルガリータ、サニー・スローブ 3 8 番

(72)発明者 レット・シフマン

アメリカ合衆国 9 2 6 5 1 カリフォルニア州ラグナ・ビーチ、テンブル・ヒルズ・ドライブ 1 8 4 3 番

(72)発明者 デイビッド・エイ・ホランダー

アメリカ合衆国 9 2 7 8 2 カリフォルニア州タスティン、フリッカー 1 1 7 6 1 番

(72)発明者 メイッサ・アッター

アメリカ合衆国 9 2 8 7 0 カリフォルニア州プラセンティア、マーツウェイラー・ドライブ 1 0 1 8 番

Fターム(参考) 4C084 AA02 BA01 BA09 BA18 DA11 MA17 MA58 NA14 ZA33 ZB33