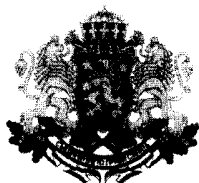


РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) BG

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

(11) 99213A

(51) C07C143/78 C07D319/18

C07C 93/00 A61K 31/18

A61K 31/165 A61K 31/335

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Заявителски № 99213 (22) Заявено на 28.11.1994 (24) Начало на действие на патента от:				(71) Заявител(и): SENJU PHARMACEUTICAL CO.,LTD. , , , OSAKA , OSAKA (JP) ; YAMANOUCHI PHARMACEUTICAL CO.,LTD. , , , TOKYO , TOKYO (JP) ;	
Приоритетни данни				(72) Изобретател(и): OGAWA , TAKAHIRO . , HYOGO (JP) ; DEGUCHI , TAKAAKI . , HYOGO (JP) ; IKEJIRY , YOSHIFUMI . , OSAKA (JP) ; INADA , KATSUHIRO . , OSAKA (JP) ;	
(31)	4-130828	(32)	22.05.1992	(33)	JP
(41) Публикувана заявка в бюлетин № 8 28.08.1995				(74) Представител по индустриална собственост: Красимира Дамянова Цоцова , 1113 София , ул."Ген. Щерю Атанасов" 5	
(45) Отпечатано на				(86) № на PCT заявка: PCT/ JP93/0 / 0654 , 19.05.1993	
(46) Публикувано в бюлетин № на				(87) № и дата на PCT публикация: 93/241 / 21 , 09.12.1993	
(56) Информационни източници:					
(62) Разделена заявка от рег. №					

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕН СЪСТАВ ЗА ЛЕЧЕНИЕ НА ГЛАУКОМА

(57) Фармацевтичният състав съдържа като активен ингредиент 5-[1-хидрокси-2-[2-(2-метоксифенокси)етиламино]етил]-2-метил бензолсулфонамид или негова кисела сол и поливинилпиролidon или -циклодекстрин.

4 претенции , 7 фигури

BG 99213A

28.11.94

ФАРМАЦЕВТИЧЕН СЪСТАВ ЗА ЛЕЧЕНИЕ НА ГЛАУКОМА

Настоящото изобретение се отнася до фармацевтичен състав за лечение на глаукома, който действително е лишен от странични ефекти, стабилен е и води до подобрена активност за понижаване на вътрешноочното налягане при ниски концентрации.

Глаукомата е заболяване, характеризиращо се с ненормално повишение на очното налягане, което предизвиква различни симптоми като умора на окото, замъглено виждане, болка в окото, постепенно отслабване на зрението, евентуално водещи до загуба на зрение. Заболяването предизвиква втвърдяване на очната ябълка като камък или вдълбочаване на зеницата, изглеждаща зелена.

Извън очната ябълка, воднистата течност (влагата) циркулира независимо за поддържането на постоянно налягане в окото (очно налягане = 15 - 20 mm Hg). Влажността се контролира от циркулацията на кръв или лимфа, резилианса на стените на очната ябълка, дейността на основния нерв и т.н. и, когато някои от тези фактори стане абнормален, очното налягане се повишава и се развива глаукома.

Когато тази абнормалност е предизвикана от офталмични заболявания като ирит, рани и кръвотечение в стъкловидното тяло, резултатното заболяване се нарича вторична глаукома. Все пак, обичайният тип глаукома е първичната глаукома, при която абнормалността е от неизвестен произход. Първичната глаукома се разделя на три типа: (1) възпалителна глаукома, чието развитие е бързо, (2) обикновена глаукома, чието развитие е хронично и (3) вродена глаукома.

За лечението на глаукомата се използват различни медикаменти със специфични цели за предпазване от нарастване на очното налягане или понижаване на нарастването на очното налягане. Известните медикаменти, понижаващи очното налягане, включват симпатометични лекарства като епинефрин (epinephrine), но епинефринът със своята мидриатична активност предизвиква стесняване на ъгъла, когато се прилага при стесняваща ъгъла глаукома като по този начин е възможно да предизвиква бързонарастващо очно налягане и често предизвиква повишаване на кръвното налягане и пигментиране в конюнктивата.

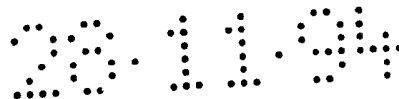
Парасимпатометичните лекарства като пилокарпина (pilocarpine) с тяхната миотична активност водят към усещането за тъмнина или акомодационна абнормалност във визуалната област.

Напоследък бета-адренергичните блокиращи агенти като тимолола (timolol), благодарение на подтискащия ефект по отношение на продуцирането на водниста течност, се използват екстензивно за лечение на глаукома (Drug Therapy Practical Series, The Drug Treatment of Glaucoma, pp. 70-75, 1990). Освен това, тези бета-адренергични блокиращи агенти, за които е известно, че предизвикват системни странични ефекти като брадикардия, сърдечна недостатъчност, астматичен пристъп не могат да бъдат администрирани на пациенти с такива симптоми.

Известно е, че алфа₁-адренергичните блокиращи агенти предизвикват изтичане на водниста течност и буназосин хидрохлоридът може да повиши хороидалното кръвно налягане, което води до възможността за развитие на нов терапевтичен агент за лечение на глаукома с ниско налягане (Journal of Japanese Society of Ophthalmology, vol. 42, pp. 710-714, 1991). Следователно, това лекарствено средство намира приложение при лечението на глаукома, но конюнктивната хиперемия и миозата, дължащи се на неговата вазодилаторна активност, ще бъдат неизбежни.

Обратно на горното, бета-адренергичните стимуланти могат също да бъдат дадени на пациенти, но конвенционалните бета-адренергични стимуланти като салбутамол (salbutamol) показват задоволителна активност само когато се прилагат във високи концентрации, което от своя страна води до значителна конюнктивна хиперемия, което прави невъзможно продължителното администриране.

Както беше казано по-горе, в действителност досега не са открити задоволителни агенти за лечение на глаукома, които са лишени от гореспоменатите странични ефекти и, които са



стабилни и ефективни при ниски концентрации.

Напоследък се съобщава, че фенилетаноламините производни или техните соли, включително 5-[1-хидрокси-2-[2-(2-метоксифенокси)етиламино]етил]-2-метилбензолсулфонамид хидрохлорид (наричан по-долу амосулалол хидрохлорид), проявяват, както алфа-адренергична, така и бета-адренергична блокираща активност и са ефективни като хипертензивни агенти и агенти за лечение на ангина пекторис (Japanese Unexamined Patent Publication No 95544/1979).

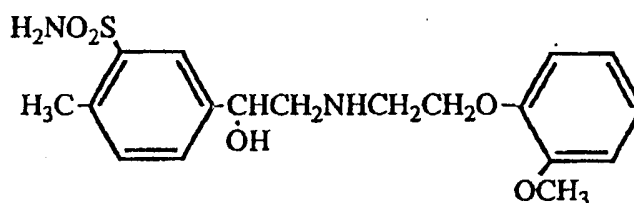
За описаните по-горе съединения, проявяващи както алфа-адренергична, така и бета-адренергична блокираща активност се съобщава, че подобряват недостатъците на страничните ефекти, предизвикани от комбинираното прилагане на алфа-адренергичните и бета-адренергичните агенти и по-този начин са ефективни като алфа-, бета-блокиращи агенти, по-специално като активни ingredienti за антихипертензивни агенти, агенти за лечение на ангина пекторис, антиаритмични агенти и др. (Japanese Unexamined Patent Publication No 73610/1980).

Във връзка с тези обстоятелства, заявителите на настоящото изобретение проведоха интензивно изследване за откриване на лекарствена субстанция, лишена напълно от дефектите (странични ефекти), свързани с конвенционалните медикаменти, споменати по-горе и проявяваща комбиниран механизъм на действие за подтискане на образуването на водниста течност и предизвиква изтичането на воднистата течност, като по този начин се постига ефективна активност за понижение на вътрешноочното налягане при ниски концентрации. В резултат на това, заявителите на настоящото изобретение установяват, че амосулалол хидрохлоридът, описан в горния японски патент, показва отлична активност за понижение на вътрешноочното на-

лягане и предизвиква по-малка част от страничните ефекти, наблюдавани при конвенционалните лекарства като едновременно с това е стабилен и ефективен при ниски концентрации.

Задача на настоящото изобретение е да предложи фармацевтичен състав за лечение на глаукома, лишен от споменатите по-горе недостатъци (странични ефекти), който е стабилен и притежава ефективна активност за понижаване на вътрешноочното налягане при ниски концентрации.

По-точно, настоящото изобретение се отнася до нов и полезен фармацевтичен състав за лечение на глаукома, който съдържа като активен ингредиент 5-[1-хидрокси-2-[2-(2-метоксифенокси)етиламино]етил]-2-метилбензолсулфонамид (наричан по-долу "амосулалол") с формула



или негова кисела сол. Тази кисела сол може да бъде, например, солите с неорганични киселини като хидрохлорид и сулфат и солите с органични киселини като малеат, тартарат и цитрат, при което се предпочита хидрохлоридът (т.е. амосулалол хидрохлорид).

Амосулалолът или неговият хидрохлорид, който представлява активен агент за лечение на глаукома съгласно настоящото изобретение е описан в смисъл на физикохимични свойства и метод за получаване, например, в споменатия по-горе (Japanese Unexamined Patent Publication No 95544/1979).

Съставът за лечение на глаукома съгласно настоящото изобретение, както може да се види от примерите от изпитанията, проявява подобрена активност за понижаване на вътрешноочното налягане при ниски концентрации, като едновременно с това проявява понижена токсичност и остава стабилен. Следователно, съставът за лечение на глаукома може да се използва като ефективно лекарство за лечение на различни видове глаукома.

При използването на амосулалола или неговия хидрохлорид като фармацевтичен състав при лечение на глаукома, този активен ингредиент може да бъде смесен с подходящи известни фармакологични носители, ексципиенти, разредители и други и може да бъде преработен в състави за парентерално приложение като офталмологични разтвори, офталмологични мехлеми и инжекционни разтвори и състави за орално администриране като таблетки, капсули и гранули.

Когато съставът за лечение на глаукома съгласно настоящото изобретение се използва под формата на офталмологичен разтвор, е подходящо използването на буфери, тонични агенти, консерванти, спомагателни солубилизиращи агенти (стабилизатори), агенти за регулиране на рН, сгъстители, хелатообразуващи агенти и други адитиви, които конвенционално се използват в офталмологичните разтвори, дотолкова, доколкото те не влияят негативно на задачата на настоящото изобретение.

Между горните адитиви, буферите включват, например, фосфатни буфери, боратни буфери, цитратни буфери, тартаратни буфери, ацетатни буфери и аминокиселини.

Тоничният агент може да бъде, например, захари като сорбитол, глюкоза и манитол поливалентни алкохоли като глицерин, полиетиленгликол и пропиленгликол и солите като на-

триев хлорид.

Примерите за консерванти включват бензалкониев хлорид, бензетониев хлорид, естери на р-хидроксибензоената киселина като метил- и етилхидроксибензоати, бензилов алкохол, фенетиллов алкохол, сорбинова киселина или нейни соли, тимерозал и хлорбутанол.

Като спомагателни солюбилизиращи агенти могат да бъдат споменати, например, циклодекстрините и техните производни, водоразтворимите полимери като поливинилпиролидона, повърхностно-активните вещества и т.н., като за предпочитане се използват поливинилпиролидон и циклодекстрин.

Агентите за регулиране на рН включват солна киселина, оцетна киселина, фосфорна киселина, натриев хидроокис, амониев хидроокис и калиев хидроокис.

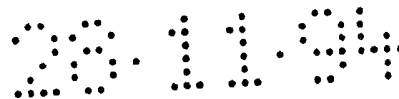
Примерите за сгъстители включват хидроксиетилцелулоза, хидроксипропилцелулоза, метилцелулоза, хидроксипропилметилцелулоза, карбоксиметилцелулоза и техните соли.

Хелатообразувачият агент може да бъде, например, натриев едеат, натриев цитрат или кондензирани натриеви фосфати.

Когато фармацевтичният състав за лечение на глаукома съгласно настоящото изобретение се използва под формата на офталмологичен мехлем, като база за офталмологичния мехлем е подходящо използването на пречистен ланолин, петролат, пластична база, течен парафин, полиетиленгликол и други.

Освен това, съставът за лечение на глаукома съгласно настоящото изобретение може да се използва под формата на състави за орално администриране като таблетки, капсули и гранули, както и под формата на разтвори за инжектиране.

Съставът за лечение на глаукома съгласно настоящото изобретение може да се администрира в различни дози в зави-



симост от начина на администриране, симптомите, възрастта и телесното тегло на пациента и, когато се използва под формата на офталмологичен разтвор за възрастни, например, е желателно прилагането като офталмологичен разтвор, съдържащ активния агент амосулалол или неговата сол в концентрации в интервала между около 0.001 до 5.0 тегл./об. %, за предпочитане в интервала между около 0.05 до 1.0 тегл./об. %, от един до четири пъти дневно и от една до няколко капки при всяко администриране.

В случаите, когато съставът за лечение на глаукома съгласно настоящото изобретение се прилага под формата на офталмологичен мехлем, е желателно използването на офталмологичен мехлем, съдържащ активния ингредиент в интервала между около 0.001 до 10.0 тегл./тегл. %, за предпочитане в интервала между около 0.05 до 1.0 тегл./тегл. %, от един до четири пъти дневно в зависимост от остротата на симптомите.

Съставът за лечение на глаукома съгласно настоящото изобретение може да бъде смесен с един или с не по-малко от два други състава за лечение на глаукома, освен ако това не противоречи на настоящото изобретение.

Съставът за лечение на глаукома съгласно настоящото изобретение може да съдържа други ingredienti, притежаващи други различни полезни качества в допълнение на състава за лечение на глаукома, освен ако това не противоречи на настоящото изобретение.

Друг аспект на настоящото изобретение е фармацевтичен състав за лечение на глаукома, съдържащ амосулалол хидрохлорид и поливинилпиролидон, или алфа-циклодекстрин. Амосулалол хидрохлоридът под формата на разтвор е стабилен по отношение на топлина и светлина, но, когато се охлади, раз-

творът замръзва и дори след възвръщане до стайна температура, образуваните по време на замръзването кристали не се разтварят лесно. Ето защо е проблем използването на разтвора след съхранение на студено място.

Заявителите на настоящото изобретение, търсейки фармацевтичен състав, който не притежава такъв дефект, установиха, че чрез добавянето на поливинилпиролidon или алфа-циклодекстрин към разтвора на амосулалола, разтворът може да бъде използван без остатъчни кристали.

При този аспект на настоящото изобретение, също така могат да бъдат добавени споменатите по-горе буфери, тонични агенти, консерванти, спомагателни солюбилизиращи агенти (стабилизатори), агенти, регулиращи рН, сгъстители, хелатообразуващи агенти и други адитиви, които обикновено се използват за получаване на офталмологичните разтвори, дотолкова, доколкото те не влияят неблагоприятно на настоящото изобретение.

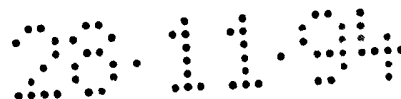
По-долу са описани примерите и примерите от изпитанията за илюстриране на настоящото изобретение с цел детайлизиране и изясняване на ефектите от настоящото изобретение, но същите са представени в качеството на илюстрация без да ограничават настоящото изобретение.

Примери

Пример 1 Офталмологичен разтвор

Приготвя се офталмологичен разтвор със следния състав:

Амосулалол хидрохлорид	0.05 г
Манитол	5.0 г



Натриев дихидроксифосфат	0.1 г
Метил-р-хидроксибензоат	0.02 г
Пропил-р-хидроксибензоат	0.01 г
Разредена солна киселина	подходящо количество (рН 6.0)

Горните ingredienti се смесват със стерилна пречистена вода, така че да се получи общо количество 100 мл.

Пример 2 Офталмологичен разтвор

Приготвя се офталмологичен разтвор със следния състав:

Амосулаол хидрохлорид	0.1 г
Борна киселина	2.0 г
Бензалкониев хлорид	0.005 г
Натриев хидроокис	подходящо количество (рН 6.0)

Горните ingredienti се смесват със стерилна пречистена вода, така че да се получи общо количество 100 мл.

Пример 3 Офталмологичен разтвор

Приготвя се офталмологичен разтвор със следния състав:

Амосулаол хидрохлорид	0.25 г
Концентриран глицерол	2.6 г
Натриев ацетат	0.1 г
Алфа-циклодекстрин	0.1 г
Метил-р-хидроксибензоат	0.02 г
Пропил-р-хидроксибензоат	0.01 г
Разредена солна киселина	подходящо количество (рН 4.5)

Горните ингредиенти се смесват със стерилна пречистена вода, така че да се получи общо количество 100 мл.

Пример 4 Офталмологичен разтвор

Приготвя се офталмологичен разтвор със следния състав:

Амосулолол хидрохлорид	0.5 г
Концентриран глицерол	2.6 г
Натриев ацетат	0.1 г
Бензалкониев хлорид	0.005 г
Разредена солна киселина	подходящо количество (pH 5.5)

Горните ингредиенти се смесват със стерилна пречистена вода, така че да се получи общо количество 100 мл.

Пример 5 Офталмологичен разтвор

Приготвя се офталмологичен разтвор със следния състав:

Амосулолол хидрохлорид	0.5 г
Концентриран глицерол	2.6 г
Натриев ацетат	0.1 г
Поливинилпиролидон	0.5 г
Бензалкониев хлорид	0.005 г
Разредена солна киселина	подходящо количество (pH 5.0)

Горните ингредиенти се смесват със стерилна пречистена вода, така че да се получи общо количество 100 мл.

Пример 6 Офталмологичен разтвор

Приготвя се офталмологичен разтвор със следния състав:

Амосулабол хидрохлорид	1.0 г
Концентриран глицерол	2.6 г
Кисел натриев фосфат	0.1 г
Поливинилпиролidon	1.0
Натриев едеат	0.05 г
Бензалкониев хлорид	0.005 г
Натриев хидроокис	подходящо количество (рН 4.0)

Горните ингредиенты се смесват със стерилна пречистена вода, така че да се получи общо количество 100 мл.

Пример 7 Офталмологичен мехлем

Приготвя се офталмологичен мехлем със следния състав:

Амосулабол хидрохлорид	1.0 г
Течен парафин	1.0 г
Бял петролат	подходящо количество
Общо количество	100 г

Пример 8 Офталмологичен мехлем

Приготвя се офталмологичен мехлем със следния състав:

Амосулабол хидрохлорид	0.5 г
Течен парафин	1.0 г
Бял петролат	подходящо количество
Общо количество	100 г

Примери за изпитания

Пример 1 Активност на амосулалол хидрохлорида за понижение на очното налягане при пигментирани зайци с нормално очно налягане

Мъжки пигментирани зайци (Dutch belted rabbits) с тегло около 2 кг, за които е установено, че не притежават очни изменения се отглеждат в кафези, в които се поддържа температура $24 \pm 4^{\circ}\text{C}$ и относителна влажност $55 \pm 15\%$, като им се дава твърда храна (Labo RG-RO производство на Nihon Nohsan Kogyo K.K.) с дневна дажба 100 г на заек и им се оставя свободен достъп до чешмяна вода за пиене.

Като изпитвано лекарство, амосулалол хидрохлоридът се приготвя като 0.05 %-ен (по-нататък в изложението изразът "%" означава "тегл./об.%") и 1.0 %-ен водни разтвори, които се използват в теста и 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на тимолмалеат [Timoptol (запазена марка): Ban-Yu Pharmaceutical Co.] и физиологичен салин се използват като позитивно контролно лекарство и контролна субстанция, респективно.

(1) Измерване на очното налягане

Тридесет и два (32) заека се разделят в четири групи по осем заека и в едното око на всеки заек се поставят 50 микролитра от изпитваните лекарства, както и контролното лекарство и физиологичният разтвор като другото око остава нетретирано. Преди накапването и 0.5, 1, 2, 3, 4, 6 и 8 часа след локалното приложение се измерва очното налягане на двете очи на всеки от зайците като се използва Pneumatograph (произ-

водство на Alcon Co., наричан по-нататък за краткост PTG).

На Фигура 1 са представени измененията във времето на очното налягане на очите, третирани чрез накапване с всяко от изпитваните лекарства, контролното лекарство и физиологичния салин, като времето (часове) след накапване е взето за абсциса, а очното налягане (мм Hg) – за ордината; всяка стойност е средна $\pm$ S.E. (броят на случаите е осем). Означенията "a", "b", "d" и "e" означават физиологичен салин, 0.05 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид, 1.0 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид и 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на тимололмалеат, респективно.

Както се вижда от резултатите, представени на Фигура 1, локалното прилагане на 1.0 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид показва значително понижаване на очното налягане, което се поддържа от тридесетата минута след накапването до 6 часа, като максималното понижение от 9 мм Hg на очното налягане се постига три часа след накапването. 0.05 %-ният воден разтвор на амосулалол хидрохлорид достига максимално понижение от 3.6 мм Hg на очното налягане 2 часа след локалното приложение.

Накапването на 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на тимололмалеат, използван като позитивно контролно лекарство предизвиква само слабо спадане на очното налягане с 2.4 мм Hg 30 минути и 1 час след локалното приложение.

(2) Измерване на диаметъра на зеницата

На всеки от зайците, използвани при измерванията в горната точка (1), се измерва диаметъра на зеницата на двете

очи при използването на микрометър, преди накапването и 0.5, 1, 2, 3, 4 и 6 часа след локалното приложение на отделните изпитвани лекарства и физиологичния салин, респективно. Измерванията на диаметъра на зеницата на очите, третирани с всяко от изпитваните лекарства, показва изменения в нормалния диапазон, като в нито една от двете групи не се наблюдава значително изменение в диаметъра на зеницата. Това показва, че амосулалол хидрохлоридът не упражнява никакъв ефект върху диаметъра на зеницата.

Пример 2 Активност на амосулалол хидрохлорида за понижаване на очното налягане при пигментирани зайци с нормално очно налягане

Четиридесет (40) мъжки пигментирани зайци (Dutch belted rabbits) с тегло около 2 кг, за които е установено, че не притежават очни изменения се отглеждат в кафези, в които се поддържа температура $24 \pm 4^{\circ}\text{C}$ и относителна влажност $55 \pm 15\%$, като им се дава твърда храна (Labo RG-RO производство на Nihon Nohsan Kogyo K.K.) с дневна дажба 100 г на заек и им се оставя свободен достъп до чешмяна вода за пиене.

Като изпитвано лекарство, амосулалол хидрохлоридът се приготвя като 0.05, 0.5 %-ен и 1.0 %-ен водни разтвори, които се използват в теста и 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на тимололмалеат [Timoptol (запазена марка): Ban-Yu Pharmaceutical Co.] и физиологичен салин се използват като позитивно контролно лекарство и контролна субстанция, респективно.

(1) Измерване на очното налягане

Четиридесетте (40) заека се разделят в пет групи по осем заека и в едното око на всеки заек се поставят 50 микролитра от изпитваните лекарства, както и контролното лекарство и физиологичният разтвор като другото око остава нетретирано. Преди накапването и 0.5, 1, 2, 3, 4, 6 и 8 часа след локалното приложение се измерва очното налягане на двете очи на всеки от зайците като се използва РТГ.

Измененията във времето на очното налягане на очите, третирани чрез накапване с всяко от изпитваните лекарства, контролното лекарство и физиологичния салин са представени на Фигура 2 (за третираните очи) и 3 (за нетретираните очи) респективно като времето (часове) след накапване е взето за абсциса, а очното налягане (мм Hg) - за ордината; всяка стойност е средна $\pm$ S.E. (броят на случаите е осем). Означенията "a", "b", "c", "d" и "e" означават физиологичен салин, 0.05 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид, 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид, 1.0 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид и 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на тимололмалеат, респективно.

Както се вижда от резултатите, представени на Фигура 2 (за третираните очи), локалното прилагане на 1.0 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид показва значително понижаване на очното налягане, което се поддържа от тридесетата минута след накапването до 6 часа, като максималното понижение от 9 мм Hg на очното налягане се постига три часа след накапването. 0.5 %-ният воден разтвор на амосулалол хидрохлорид води до значително понижение на очното налягане от тридесетата минута до 4 часа след локалното приложение и

максималното понижение от 6.2 мм Hg на очното налягане се постига 2 часа след локалното приложение. 0.05 %-ният воден разтвор на амосулалол хидрохлорид достига максимално понижение от 3.6 мм Hg на очното налягане 2 часа след локалното приложение.

Накапването на 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на тимолмалеат, използван като позитивно контролно лекарство предизвиква само слабо спадане на очното налягане с 2.4 мм Hg 30 минути и 1 час след локалното приложение.

Както се вижда от резултатите на Фигура 3 (за нетретирани очи), очното налягане не се изменя забележимо за другите очи в групите, третирани със съответните изпитвани лекарства, което потвърждава факта, че амосулалол хидрохлоридът по никакъв начин не въздейства на нетретирани очи.

(2) Измерване на диаметъра на зеницата

На всеки от зайците, използвани при измерванията в горната точка (1), се измерва диаметъра на зеницата на двете очи при използването на микрометър, преди накапването и 0.5, 1, 2, 3, 4 и 6 часа след локалното приложение на отделните изпитвани лекарства и физиологичния салин, респективно.

Фигура 4 показва измененията във времето на диаметъра на зеницата на очите, третирани с всяко от изпитваните лекарства, като времето (часове) след накапването е взето за абсциса, а диаметърът на зеницата (мм) е взет за ордината; всяка от стойностите е средна $\pm$ S.E. (броят на случаите е осем). Означенията "а" и "с" се отнасят за физиологичен разтвор на салин и 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид съответно.

Както се вижда от резултатите, представени на фигура 4, измерванията на диаметъра на зеницата в групите, третирани с всяко от изпитваните лекарства показва изменения в нормалния диапазон, като в нито една от двете групи не се наблюдава значително изменение в диаметъра на зеницата. Това показва, че амосулалол хидрохлоридът не упражнява никакъв ефект върху диаметъра на зеницата.

Горните резултати показват, че амосулалол хидрохлоридът проявява значителна активност за понижаване на очното налягане по отношение на нормални очи на пигментирани зайци и при ниски концентрации от порядъка на 0.05 %, проявява по-силна активност за понижаване на очното налягане, отколкото 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на тимололмалеат. Доказва се, също така, че амосулалол хидрохлоридът, който не влияе върху диаметъра на зеницата и при концентрации по-ниски от 0.5 % предизвиква само слаба конюнктивна хиперемия, би могъл да се използва като клинично надежден медикамент.

Пример 3 Активност на амосулалол хидрохлорида за понижаване на очното налягане при пигментирани зайци с нормално очно налягане при последователно прилагане в продължение на пет дни

Осем (8) мъжки пигментирани зайци (Dutch belted rabbits) с тегло около 2 кг, за които е установено, че не притежават очни изменения се отглеждат в кафези, в които се поддържа температура $24 \pm 4^{\circ}\text{C}$ и относителна влажност $55 \pm 15\%$, като им се дава твърда храна (Labo RG-RO производство на Nihon Nohsan Kogyo K.K.) с дневна дажба 100 г на заек и им се оставя свободен достъп до чешмяна вода за пиене.

На осемте пигментирани зайци, отгледани съгласно горната процедура, се прилагат 50 микролитра 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид на едното око и 50 микролитра физиологичен салин - на другото. Очното налягане се измерва преди първото накапване и през равни интервали от 1 до 8 часа след прилагането на първия и петия ден и преди първото накапване и 2 или 3 часа след прилагането на втория, третия и четвъртия ден, респективно, като очното налягане се измерва допълнително 24 часа след първото накапване на петия ден.

Фигура 5 показва изменението на очното налягане във времето за период от 5 дни, предизвикано от последователното накапване на 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид три пъти на ден като времето (часове) след накапването е взето за абсциса, а очното налягане (мм Hg) е взето за ордината; всяка от стойностите е средна $\pm$ S.E. (броят на случаите е осем). Означенията "а" и "с" се отнасят за физиологичен разтвор на салин и 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид, съответно.

Както е очевидно от резултатите, показани на фигура 5, максималното спадане на очното налягане от 4.8 мм Hg се забелязва 2 часа след първото накапване на първия ден; второто накапване, направено 4 часа по-късно не води до по-нататъшно понижение на очното налягане, но предизвиква значително понижение на очното налягане като очното налягане се възстановява до първоначалната си стойност 24 часа по-късно. На втория ден значително понижение на очното налягане се наблюдава 2 часа след накапването, както това става на първия ден, докато на третия ден не се наблюдава значително спадане в очното налягане. Все пак, значително понижение на очното налягане се забелязва на четвъртия ден и при кое да е от измер-

ванията на петия ден се наблюдава почти същата степен на понижение на очното налягане, както на петия ден.

Горните резултати показват, че 0.5 %-ният воден разтвор на амосулалол хидрохлорид, когато се прилага последователно на очите на пигментирани домашни зайци по три пъти на ден в продължение на пет дни предизвиква почти същата степен на понижение на очното налягане в кой да е от дните на лечение и по този начин води до потвърждение на факта, че амосулалол хидрохлоридът е свободен от тахифилаксис.

Пример 4 Активност на 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорида за понижение на очното налягане при бели зайци с предизвикано чрез водно натоварване свръхочно налягане

На пет мъжки бели зайци с тегло около 2 кг, използвани като опитни животни се прилагат 50 микролитра 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид на едното око на всеки заек и 50 микролитра физиологичен салин - на другото и с помощта на орална сонда след 30 минути се вкарват 60 мл/кг (37°C) питейна вода. Очното налягане се измерва на двете очи при използване на РТГ преди накапването, както и преди веждането на водата и 0.5, 1, 2 и 4 часа след това.

Фигура 6 представлява графична зависимост на активността за понижение на очното налягане на 0.5 %-ен воден разтвор на амолулалол хидрохлорид спрямо предизвикано чрез претоварване с вода свръхочно налягане при бели зайци като времето (часове) след накапването е прието за абсциса и очното налягане (мм Hg) е прието за ордината; всяка стойност е средна $\pm$ S.E. (броят на случаите е осем).

Както се вижда от резултатите, представени на фигура 6, очното налягане с физиологичен салин се повишава с 8.7 мм Hg 30 минути след претоварването с вода и се възвръща на първоначалната си стойност 2 часа по-късно. Обратно, 0.5 %-ният воден разтвор на амосулалол хидрохлорид повишава очното налягане с 3.4 мм Hg 30 минути след претоварването с вода, което показва, че 0.5 %-ният воден разтвор на амосулалол хидрохлорид значително понижава повишението на очното налягане в сравнение с физиологичния салин.

Пример 5 Активност на 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид за понижение на очното налягане при пигментирани зайци с предизвикано чрез лазерно лъчение свръхочно налягане

На пет мъжки пигментирани зайци с тегло около 2 кг, използвани като опитни животни се прилагат 50 микролитра 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид в количество 50 микролитра на едното око на всеки заек и 50 микролитра физиологичен салин - на другото. 30 минути по-късно с лазерен лъч се облъчват 6 различни петна (размер на петното: 200 микрометра, мощност 0.5 вата в продължение на 0.1 секунди) на ириса на двете очи по такъв начин, че петната се локализируют на еднакво разстояние. Очното налягане се измерва на двете очи при използване на РТГ преди накапването, както и преди лазерното облъчване и 15, 30 и 45 минути след лазерното облъчване.

Фигура 7 представлява графична зависимост на активността за понижение на очното налягане на 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид спрямо предизвикано чрез

лазерно облъчване свръхочно налягане при пигментирани зайци като времето (минути) след лазерното облъчване е прието за абсциса и очното налягане (мм Hg) е прието за ордината; всяка стойност е средна $\pm$ S.E. (броят на случаите е осем). Означенията "а" и "с" означават физиологичен салин и 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид, съответно.

Както се вижда от резултатите, представени на фигура 7, очното налягане с физиологичен салин се повишава с 7.9 мм Hg около 15 минути след лазерното облъчване и се възвръща на първоначалната си стойност 45 минути по-късно, докато 0.5 %-ният воден разтвор на амосулалол хидрохлорид понижава очното налягане с 4.5 мм Hg 30 минути след накапването (т.е. непосредствено преди лазерното облъчване), но повишава до почти същото ниво, както преди накапването, което показва, че 0.5 %-ният воден разтвор на амосулалол хидрохлорид проявява подтискаща активност по отношение на повишението на очното налягане.

Горните резултати показват, че амосулалолът проявява не само значителна активност за понижение на очното налягане при зайци с нормално очно налягане, но развива също така силна подтискаща активност по отношение на повишено очно налягане при зайци, предизвикано чрез претоварване с вода или лазерно облъчване.

Пример 6 Изследване върху превръщането на амосулалол хидрохлорида в офталмологичен разтвор: Тест за замразяване - размразяване (Изследване на стабилизиращ агент за офталмологичен разтвор на амосулалол хидрохлорида)

Известно е, че водният разтвор на амосулалол хидрохло-

рида е стабилен по отношение на топлина и светлина. Когато 0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид (pH 5.5) се подложи на тест за замразяване - размразяване, обаче, веднъж замръзналият разтвор не дава възможност на кристалите да се разтворят дори след като са оставени при стайна температура.

Следователно, се провежда изследване за стабилизиращ агент, който може да се използва при такова замразяване.

0.5 %-ен воден разтвор на амосулалол хидрохлорид (pH 5.5) се смесва с всеки от стабилизиращите агенти (NoNo 1 - 5), описани в Таблица 1 по-долу и се поставя в стъклена ампула с капацитет 5 мл, замразява се при -30°C и се оставя да престои при стайна температура за провеждане на изследване за присъствие на кристали в него.

Таблица 1

No	Стабилизиращ агент
1	Хидроксипропилметилцелулоза SH-50
2	Поливинилпиролидон K-30
3	Полисорбат 80
4	Алфа-циклодекстрин
5	Бета-циклодекстрин

Получените резултати са представени в Таблица 2. Както се вижда от резултатите, представени в Таблица 2, поливинилпиролидон K-30 (стабилизиращ агент 2) и Алфа-циклодекстринът (стабилизиращ агент 4) са ефективни. Следователно, поливинилпиролидонът и алфа-циклодекстринът са препоръчителни за приложение като стабилизиращи агенти на амосулалол хидрохлорид.

Таблица 2

Стабилизиращ агент	Утайка от кристали
No	Тест за замразяване-размразяване
Отсъства	+
1	+
2	-
3	+
4	-
5	+

Забележка: Както е показано в Таблица 2, означението "+" означава "утайка от кристали", а означението "-" означава "отсъствие на утайка от кристали".

Пример 7 Изпитание на амосулалол хидрохлорида за токсичност

(1) Изпитание за остра токсичност на амосулалол хидрохлорида спрямо мишки:

Изпитанието за остра токсичност на амосулалол хидрохлорида се провежда върху мишки чрез орално или интравенозно администриране.

Амосулалолът се дава на ICR мишки на възраст 7 седмици чрез орално администриране при използване на орална сонда или през опашната вена. В резултат на това се определя, че 50 %-ната летална доза (LD_{50}) е 6500 мг/кг (мъжки) и 5700 мг/кг (женски) при орално администриране и 104 мг/кг (мъжки) и 134 мг/кг (женски) при интравенозно администриране.

(2) Визуално локално изпитание за токсичност на 1.0 % и 0.5 % офталмологичен разтвор на амосулалол хидрохлорида при зайци чрез последователно накапване в продължение на 28 дни:

На 15 мъжки японски бели зайци, разделени на три групи, всяка от които се състои от по пет заека се прилага по една капка (0.05 мл) при всяко накапване в дясното око на всеки заек 4 пъти на ден в регулярни интервали от 2,5 часа в продължение на 28 дни, от 1.0 и 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на амосулалол хидрохлорид, както и физиологичен салин като контрола, докато лявото око не се третира.

Провеждат се наблюдения съгласно следващите точки от (а) до (е).

(а) Общо състояние;

Наблюденията за общото състояние при мишките се провеждат веднъж в седмицата.

(б) Измерване на телесното тегло;

Телесното тегло се определя веднъж в седмицата.

(в) Визуално наблюдение на предния очен сегмент;

На базата на описаните по-долу критерии за оценка на очните увреждания (Gendai no Rinsho (Present-Day Clinics) Vol. 4, No 4, pp. 227-289, 1970) се провежда цифрова оценка на 1.0 и 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на амосулалол хидрохлорид преди накапване, както и в деня (Първия ден) на започване на накапването, както и на втория, четвъртия, седмия, четиринадесетия, двадесет и първия, двадесет и осмия ден след началото на накапването, но винаги след извършване

на на капването, а също така на сутринта след последното на-
капване (двадесет и деветия ден). Стойности, не по-малки от
1, определени в коя да е от точките, се приема за "увреждаща
окоото", докато стойности между 0 и 0.5 се приемат като
"неувреждащи окоото".

Критерии за оценка на очните увреждания

Роговица

А) Степен на непрозрачност

Отсъствие на непрозрачност (нормална)	0
Разсейващи или дифузни области, детайлите на ириса се виждат ясно	1
Лесно забележими полупрозрачни области, детайлите на ириса леко затъмнени	2
Опалесциращи области, детайлите на ириса не се виждат, размерът на зеницата едва забележим	3
Непрозрачна, ирисът не се вижда	4

Б) Площ на непрозрачност

Една четвърт (или по-малко), но не 0	1
Повече от една четвърт, но по-малко от една втора	2
Повече от една втора, но по-малко от три четвърти	3
Повече от три четвърти до цялата площ	4

Ирис

Стойност:

Нормален	0
Гънки над нормалното, конжестия, нарастваща околороговична хиперемия (едно от изброените или комбинации от тях), ирисът реагира на светлина (бавната реакция е позитивна)	1
Не реагира на светлина, кръвотечение, груба деструкция (едно от изброените или всички)	2

Конюнктива

А) Зачервяване на палпебралната конюнктива

Отсъствие на хиперемия	0
Лигавица, оцветена много слабо в червено, слаба вазодилатация в палпебралния ръб	0.5
Очевидна хиперемия над нормалното, лигавица оцветена по-ясно в червено, забележимо набъбване	1
Лигавица, оцветена силно забележимо в червено, слабо неразличими периферни кръвоносни съдове	2
Дифузно пълно зачервяване (по-остро от 2)	3

Б) Оток на палпебралната конюнктива

Отсъствие на набъбване	0
Лека тенденция към оток	0.5
Набъбване над нормалното	1
Очевидно набъбване с частично извърщане на	

клепачите	2
Набъбване с клепахи, затворени наполовина	3
Набъбване с клепахи, затворени наполовина до напълно затворени	4

В) Зачервяване на булбарната конюнктивна

Отсъствие на хиперемия	0
Леко разширение на окологорогичните съдове	0.5
По-ясно изразена вазодилатация	1
Явно разширение на съдовете по посока на палпебралния ръб на съдовете, оцветен в червено	2

Г) Мигателна ципа

Отсъствие на хиперемия	0
Тенденция към вазодилатация и оток	0.5
По-ясно изразена вазодилатация палпебралния ръб, оцветен в червено	1
Много силна вазодилатация, цялата мигателна ципа оцветена в червено	2

Д) Отделяне на секрет

Отсъствие	0
Някакво количество, различно от нормалното (не се включват малките количества, наблюдавани във вътрешния кантус)	1
Отделяне на секрет с овлажняване на клепахи и миглите	2
Отделяне на секрет с овлажняване на клепахи и миглите и на значителна площ около окото	3

Таблицы 5 и 6 показывают результаты от визуальных наблюдений на предната очна секция, специфицирани по-горе в точка (в), получени с 1 %-ен и 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на амосулалол хидрохлорид, съответно, като всяка стойност представлява средна от пет случая.

В Таблицы 5 и 6, цифровата оценка за роговицата означава стойността, получена чрез умножение на стойността в "(А) непрозрачността" по тази от "(Б) размерът на роговичния домен определен в съответствие с горното" в описаните по-горе "Критерии за оценка на очните увреждания".

Таблица 5

Вид оценка	Време, изминало след приложението на 1 %-ен разтвор, дни								
	Преди	1	2	4	7	14	21	28	29
Роговица	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ирис	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Конюнктива									
(А)	0	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0
(Б)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(В)	0	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	0.3	0.3	0
(Г)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(Д)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общо	0	0.7	0.7	0.6	0.4	0.4	0.4	0.4	0

Таблица 6

Вид оценка	Време, изминало след приложението на 0.5 %-ен разтвор, дни								
	Преди	1	2	4	7	14	21	28	29
Роговица	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ирис	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Конюнктива									
(А)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(Б)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(В)	0	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0
(Г)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(Д)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общо	0	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0

(г) Наблюдение на оцетени с флуоресцин петна в роговицата;

Преди накапването на 1 %-ен и 0.5 %-ен офталмологични разтвори на амосулалол хидрохлорид, както и в деня (на първия ден) на започване на накапването, така и на втория, четвъртия, седмия, четиринадесетия, двадесет и първия, двадесет и осмия ден след започване на накапването, но винаги след провеждане на всяко от накапванията, а също така, и сутринта на последното накапване (двадесет и деветия ден), в очите на всяко от тестваните животни се прилагат 10 микролитра 0.1 %-ен воден разтвор на флуоресцин, след което се провежда наблюдение за надраскване на роговичните епителни клетки с фото-слит лампа.

(д) Определяне на роговичните епителни и ендотелни клетки с помощта на сканиращ електронен микроскоп;

След завършване на накапването на 1 %-ния и 0.5 %-ния офталмологични разтвори на амосулалол хидрохлорид се провеждат морфологични наблюдения на роговичните епителни и ендотелни клетки на три очи от двете групи.

(е) Определяне на сагитален срез на очната ябълка с оптичен микроскоп;

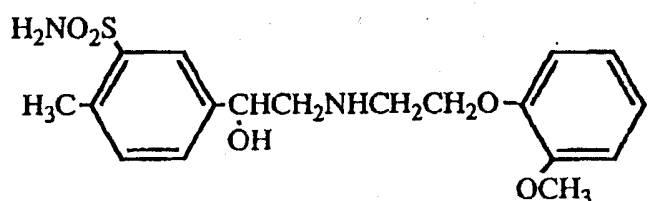
След завършване на накапването на 1 %-ния и 0.5 %-ния офталмологични разтвори на амосулалол хидрохлорид се приготвят проби за оптична микроскопия, всяка от които съдържа сагитален срез от очната ябълка на 2 очи от всяка група за провеждане на микроскопското наблюдение на клепача, конюнктивата, роговицата, предния сегмент, ириса, кристалната леща на стъкловидното тяло, ретинохороидната мембрана, склерата и оптичния нерв. В резултат не се наблюдават абнормални изменения в (а) общото състояние и в (б) телесното тегло, както при 1 %-ен, така и при 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на амосулалол хидрохлорид; (в) визуалното наблюдение на предния окуларен сегмент не показва абнормални изменения в двете от третираните групи индивидуално с 1 %-ен и 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на амосулалол хидрохлорид, както това е показано в Таблицы 5 и 6 и, освен това, (г) наблюдението на оцветени с флуоресцин петна в роговицата, (д) изследването със сканиращ електронен микроскоп на роговичните епителни и ендотелни клетки и (е) изследването с оптичен микроскоп на сагитален срез на очната ябълка индивидуално не показват абнормални изменения, както с 1 %-ен, така и с 0.5 %-ен офталмологичен разтвор на амосулалол хидрохлорид.

Описаните по-горе резултати от различните тестове ни дадоха възможност да установим, че, когато амосулалол хидрохлоридът се използва като офталмологичен разтвор за лечение на глаукома, не показва странични ефекти като дразнене на окото и представлява един изключително сигурен медикамент.

Средството за лечение на глаукома съгласно изобретението проявява отлична активност за понижаване на очното налягане при ниски концентрации и е с ниска токсичност и е сигурно, което му придава предимства при приложение като средство срещу различните видове глаукома.

Патентни претенции

1. Фармацевтичен състав за лечение на глаукома, характеризиращ се с това, че съдържа като активен ингредиент 5-[1-хидрокси-2-[2-(2-метоксифенокси)етиламино]етил]-2-метилбензолсулфонамид с формула



или негова кисела сол.

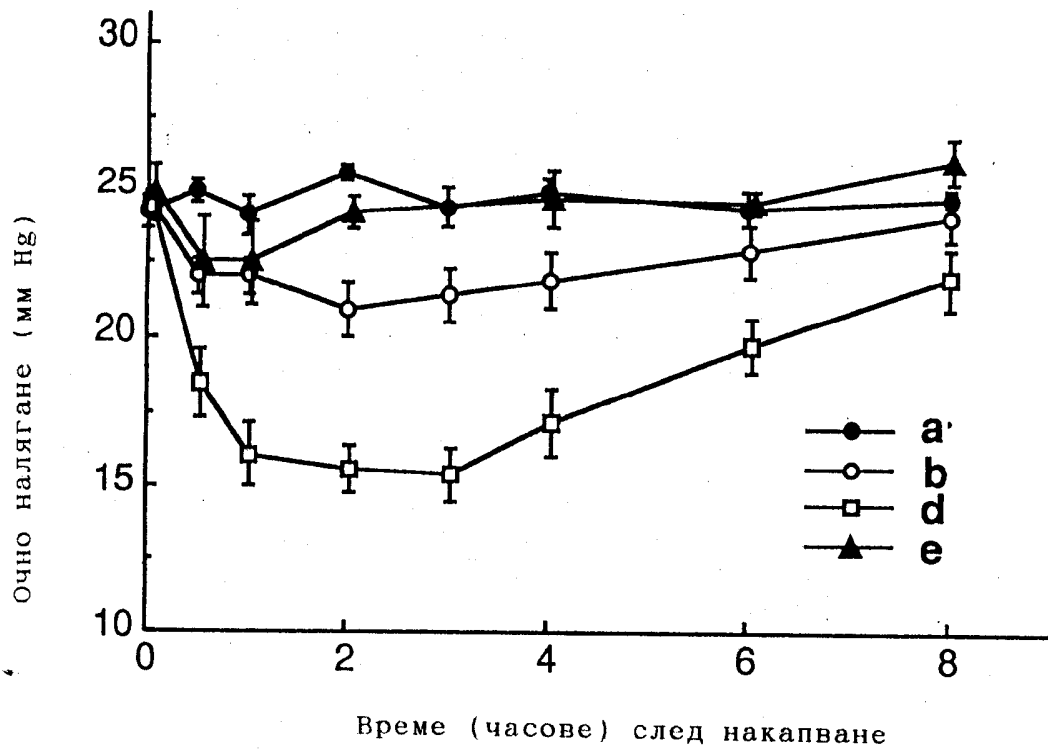
2. Фармацевтичен състав за лечение на глаукома съгласно претенция 1, характеризиращ се с това, че съставът съдържа 5-[1-хидрокси-2-[2-(2-метоксифенокси)етиламино]етил]-2-метилбензолсулфонамид или негова кисела сол и поливинилпи-ролидон или алфа-циклодекстрин.

3. Фармацевтичен състав за лечение на глаукома съгласно претенция 1, характеризиращ се с това, че дозираната форма на въпросния агент за лечение на глаукома представлява офталмологичен разтвор.

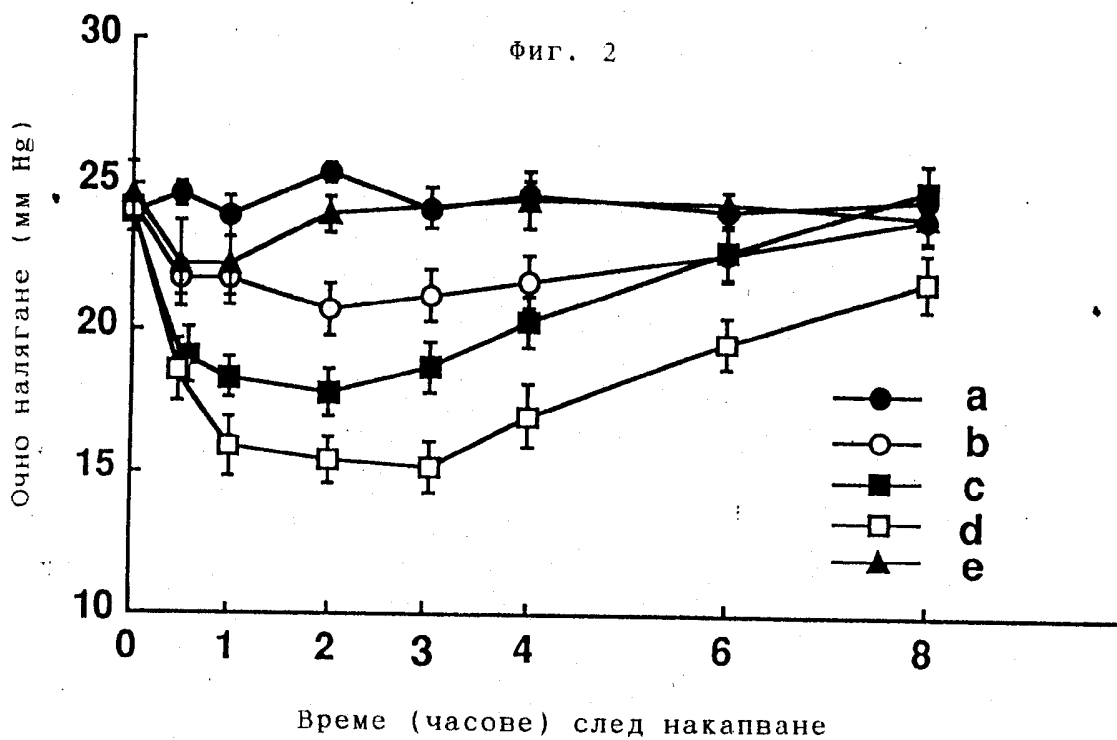
4. Фармацевтичен състав за лечение на глаукома съгласно претенция 1, характеризиращ се с това, че дозираната форма на въпросния агент за лечение на глаукома представлява офталмологичен мехлем.

28.11.94

Фиг. 1

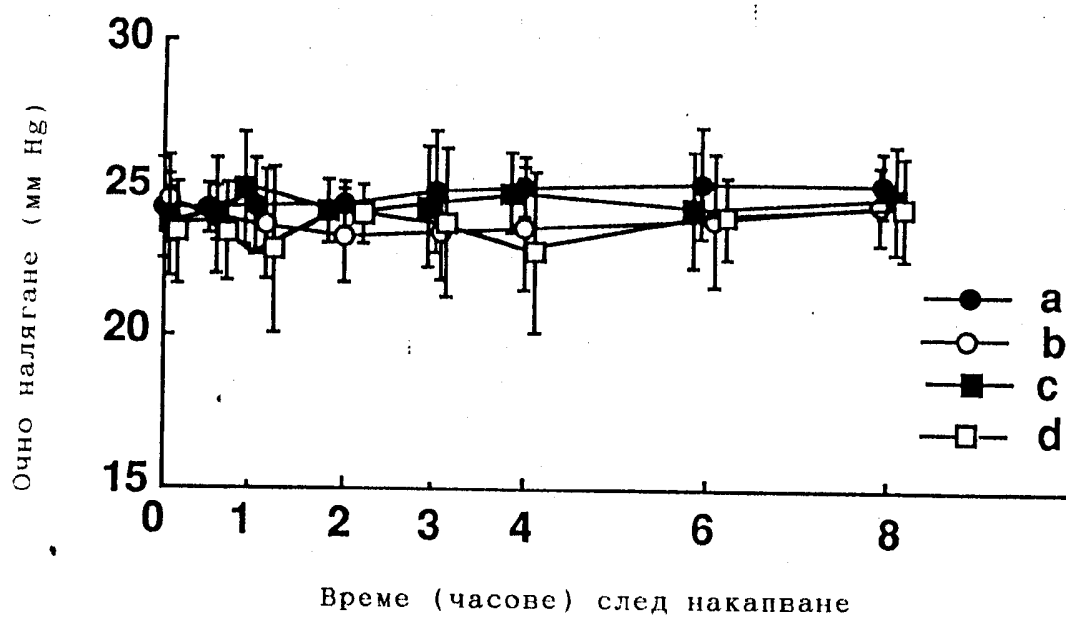


Фиг. 2

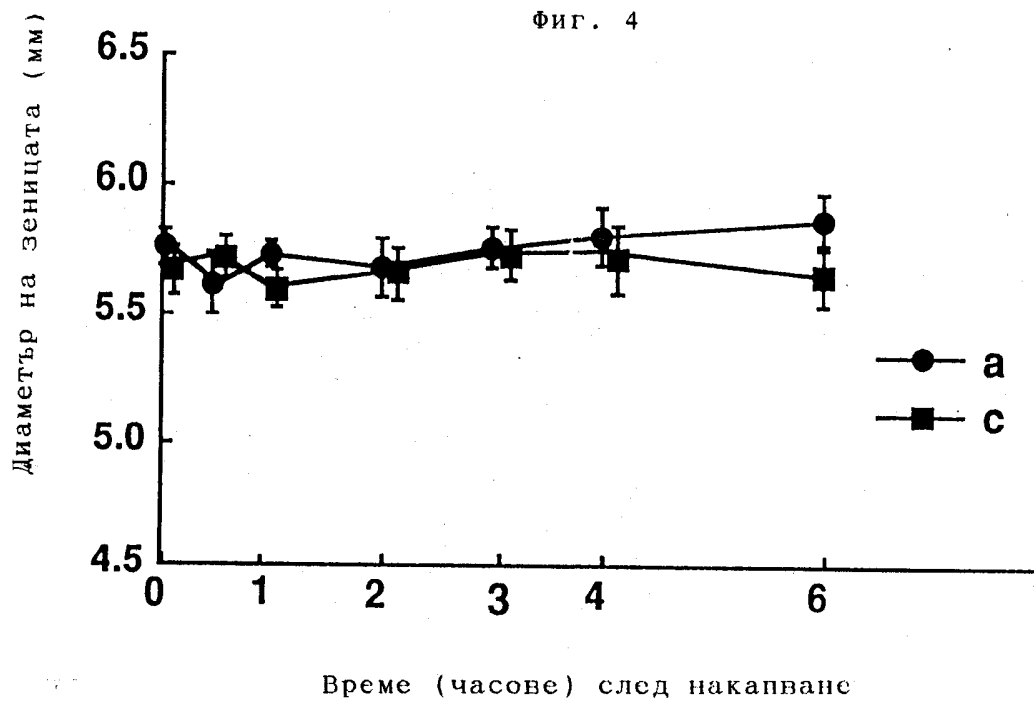


20.11.94

Фиг. 3

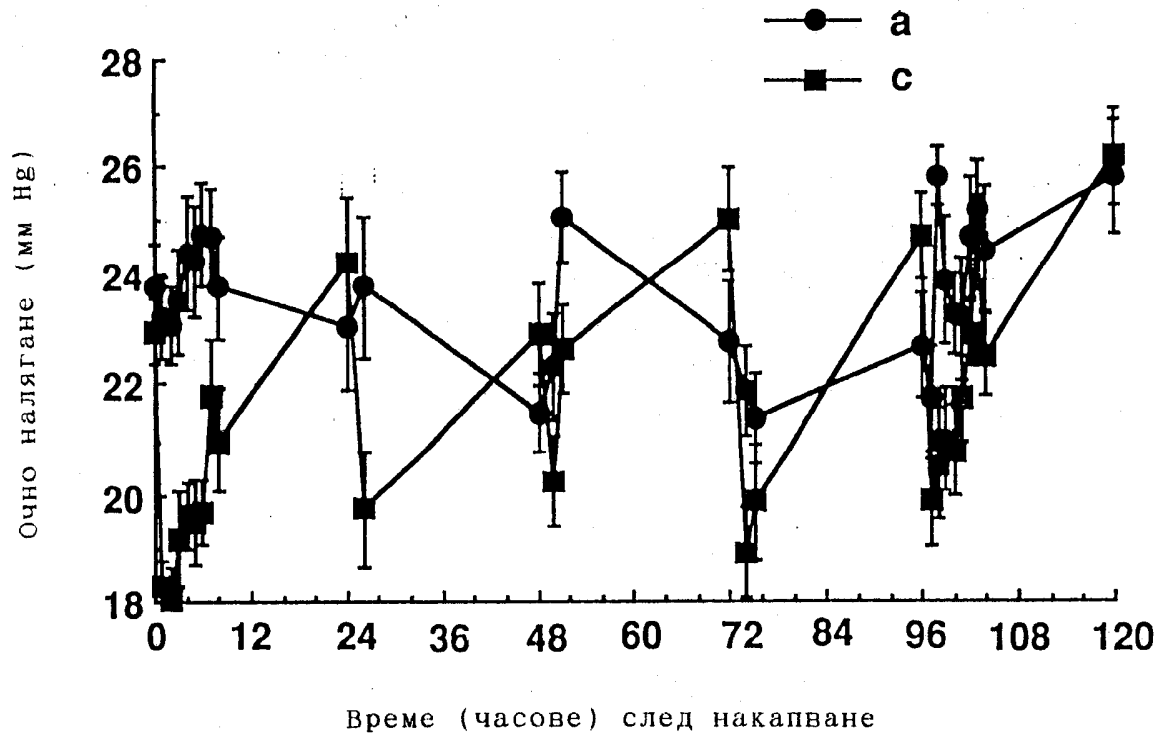


Фиг. 4

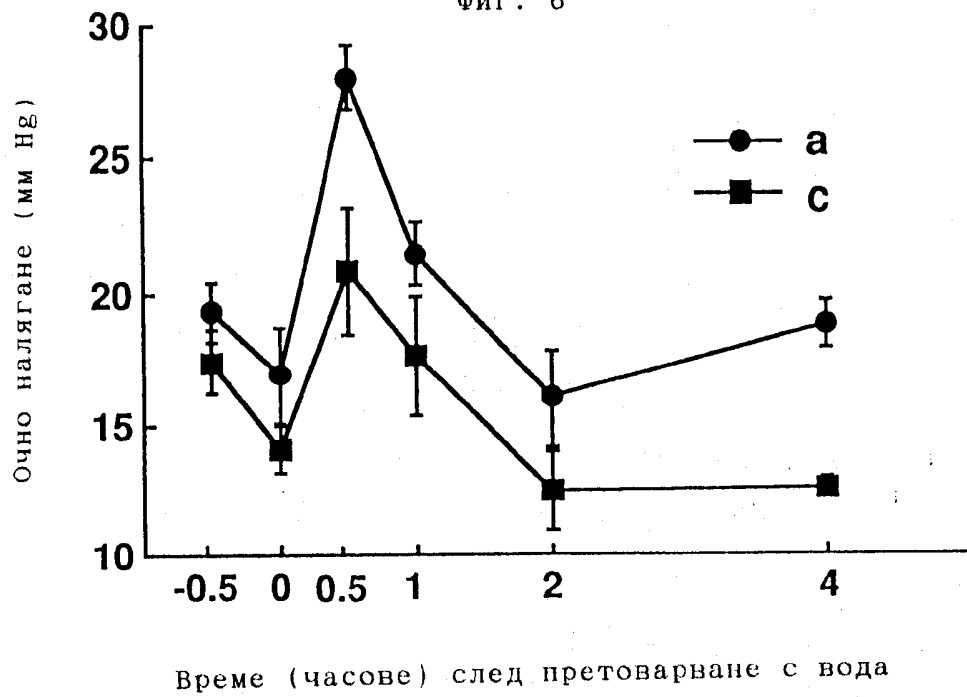


28.11.94

Фиг. 5



Фиг. 6



28.11.94

ФИГ. 7

