

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02814952.1

[51] Int. Cl.

A61K 31/195 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

A61P 27/04 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008 年 1 月 23 日

[11] 授权公告号 CN 100362989C

[22] 申请日 2002.7.22 [21] 申请号 02814952.1

[30] 优先权

[32] 2001.7.23 [33] IT [31] RM2001A000438

[86] 国际申请 PCT/IT2002/000481 2002.7.22

[87] 国际公布 WO2003/011249 英 2003.2.13

[85] 进入国家阶段日期 2004.1.29

[73] 专利权人 法米基股份公司

地址 意大利比萨

[72] 发明人 E·鲍德里尼 M·F·西托尼

P·切托尼 S·布加拉西

B·加纳西尼

[56] 参考文献

EP0551848A 1993.7.21

审查员 唐晓帆

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 周承泽

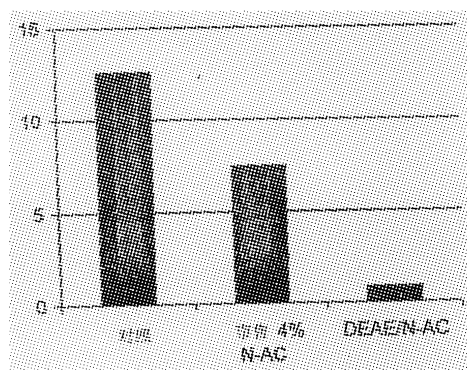
权利要求书 1 页 说明书 12 页 附图 2 页

[54] 发明名称

治疗眼干综合症的包含 N-乙酰-半胱氨酸的眼科组合物

[57] 摘要

一种含有乙酰-半胱氨酸作为活性成分的眼科药物组合物，它具有溶解粘液的作用并适合眼药水给药，其中 N-乙酰-半胱氨酸被碱性 DEAE-右旋糖苷中和而达到优选在 6.0-7.5 之间的 pH 水平，并具有生理上可接受的小于 320mOsm/kg 的渗量。N-乙酰-半胱氨酸中和剂的存在不负面影响组合物的渗量，这使得所述制剂是等渗或甚至是低渗的，这样避免了刺激和潜在地破坏上述包含 N-乙酰-半胱氨酸眼科产品的作用。



1. 一种以乙酰半胱氨酸为基础的以眼药水为给药方式的眼科组合物，其特征在于，所述组合物包含被碱性 DEAE-右旋糖苷中和的 N-乙酰-半胱氨酸并具有生理上可接受的渗量。

2. 如权利要求 1 所述的眼科组合物，其中，所述渗量低于 320 mOsm/kg。

3. 如权利要求 2 所述的眼科组合物，具有低于 300 mOsm/kg 的渗量且 pH 值在 6.0-7.5 之间。

4. 如权利要求 3 所述的眼科组合物，其中，所述 pH 值在 6.2-7.0 之间。

5. 如权利要求 1-4 中任一项所述的眼科组合物，在水中包含 3%-5%按重量计算的 N-乙酰-半胱氨酸和 9%-15%按重量计算的 DEAE-右旋糖苷。

6. 如权利要求 1 所述的眼科组合物，其形式为水溶液或水悬液。

7. 如权利要求 6 所述的眼科组合物，还包含其它增加粘度的聚合物。

8. 如权利要求 7 所述的眼科组合物，其中所述增加粘度的聚合物选自聚乙烯醇、羟丙基纤维素、透明质酸、聚乙烯吡咯烷酮、硫酸软骨素。

9. 如权利要求 6 或 7 所述的眼科组合物，还包含防腐剂、抗微生物剂和/或螯合剂。

10. 如权利要求 1 所述的眼科组合物，它包含 4%按重量计算的 N-乙酰-半胱氨酸，12%按重量计算的 DEAE-右旋糖苷，pH 值在 6.2-7 之间且渗量在 240-300 mOsm/kg 之间。

治疗眼干综合症的包含 N-乙酰-半胱氨酸的眼科组合物

描述

本发明是关于一种治疗眼干综合症的包含 N-乙酰-半胱氨酸的眼科组合物。更特定的是, 本发明是涉及包含作为活性成分的 N-乙酰-半胱氨酸的组合物, 它适合以眼药水局部给药, 因为它们和泪液是等渗的, 这是由于对所述组合物渗量无副作用的 N-乙酰-半胱氨酸中和剂的存在。

正如所知的, 眼前的泪薄膜是覆盖结膜和暴露的眼球表面的组织液体结构。在正常的条件下, 泪薄膜表现为三层结构的复合体, 包括:

- 内部的粘液层, 由存在于结膜上皮的特殊的细胞(杯状细胞)所产生的糖蛋白混合物(粘蛋白)组成, 这一层粘附在角膜-结膜上皮而形成亲水层。
- 丰富的中间水层, 覆盖前述的亲水层, 富含氧并主要由水、电解质、蛋白质、酶和粘蛋白组成, 它们具有营养、防御、运载和视觉功能。
- 外部脂质层, 主要起的作用是调节来自泪薄膜的水的蒸发率。

前述的三层结构组成了一种复杂的生理结构, 它的主要功能是保护眼睛表面, 维持角膜表面的水化、润滑和清洗作用并协同产生正常的视力。这个生理系统完全的平衡和连续的更新对于它完成自己的功能来说是必不可少的条件。对于这个发生, 首先必须有恒定的但不是过多的水从泪液蒸发, 这样就使得渗量维持在 300mOsm/kg 的生理值附近, 泪膜必须通过眨眼不断的重新分布在角膜表面。

眼睛许多病理的或反常的状态通过泪膜的不连续或改变而显现出来, 由于例如眨眼率的不足, 隐型眼镜过长时间的使用, 应用特定的系统药物或老年高血压。在本文中, 名词“眼干综合症”的意思是一系列眼部的病理表现, 特征是所述泪膜的减少和/或成分的改变, 然而更合适的是由于这种原因产生的角膜表面特征性的改变和术语干性角膜结膜炎是一样的。不言而喻的, 眼干是临床上一种很难用频率定义的病症, 因为它不是一直被认识到, 由于它经常是温和的以及非特异性的症状学和客观事实(Lemp M. A., 眼干治疗的最新发展(Recent developments in dry eye management), *Ophthalmology* 10, 1299-304(1987); Lemp M. A., 眼干综合征: 治疗和临床试验(Dry eye syndromes: treatment and clinical trials). *Adv. Exp. Med. Biol.*, 350 553-9(1994); Lemp M. A., 眼干的流行病学和分类(Epidemiology and classification of dry eye), *Adv. Exp. Med. Biol.*, 438 791-803(1998))。患有眼干综合症的病人表现出的紊乱如结膜变红, 醒来时

眼睑睁开困难，一种烧灼、刺痛和多沙的感觉，一种异质体感觉和畏光。可能的并发症有从表面非上皮化(disepithelisation)的角膜病，到感染性角膜炎甚至严重的角膜感染性变质性病理改变。

从诊断的观点来看，除了评价它自己的症状外，眼干综合症可以通过统一的步骤鉴别和检测，最常用的是测定泪液的产生(Schirmer 试验)，眨眼后泪膜消失的时间(BUT)以及应用孟加拉玫红或荧光素进行眼表面染色的测定。而且，眼泪的渗量值可以作为在检查时病理状态的客观参数，已经证明在病理条件下这个值平均上升 30-40mOsm/kg。

有许多可能的病因。有时候不太可能，甚至利用实验室调查和精密复杂的装置来认识到这个综合症的病因；在这种情况下，有人称之为“特发形式”，它完全作为症状可治疗的。由于泪膜的改变可有不同的病理解释和治疗方法，这依赖于已经发现改变了的泪液成分的类型，一种基本的步骤包括评定异常情况是发生在脂质表层、水层或内部的粘蛋白层(Miglior M., Troiano P., 泪膜病理学:治疗的归类和基本原理(Lacrimal film pathologies:classification and rationale of the therapy)，选自 *Symposium on the lacrimal System*, Toronto, June 25, 1994, Hurwitz J. 等编辑, Kugler & Ghedini Publ., (1995))，然后从治疗的观点得出更合适的结论。

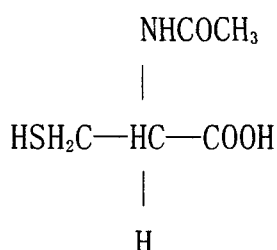
本身不经常发生的外部脂质成分的改变，通常是由于睑炎导致产生的，并应该这样治疗。更多的情况是中间的水层的改变，这个改变总是包括这个成分量的减少，伴随过度的蒸发，这将导致前述的泪液渗量的上升。在这种情况下，眼药水中特定的组合物，被称为“人工泪液”，在富含水分和含有很少或无粘膜模拟(mucomimetic)药物的制剂中被指出，可能和低水合的角膜隐型眼镜相联系。

当改变发生在内部的粘蛋白层时，情况就微妙了。已经知道粘蛋白层的完整性对于维持泪液稳定性是必要的因素之一，因为粘蛋白提高了角膜表面的润湿性，使得水膜持续和均匀的粘附在暴露表面而保证稳定性，并提高了液相粘度，阻止来自结膜囊的快速流。

至于粘蛋白层的改变，已经报导(Miglior M. 等, *Ioc. cit.*)它会随着粘蛋白缺乏或过多而出现。当粘蛋白缺少或不足时，角膜不可湿润的，这是由于电解质和糖蛋白之间出现的不平衡所致，泪膜变的不稳定并被分解，因此产生干燥的部分。在第二种情况中，过多的粘蛋白凝结成线仍旧阻碍眼睛表面的可湿性，导致干燥区域的形成并破坏角膜上皮。在这种情况下，也可能在局部眼睛水平，通过应用合适配制的“人工泪液”附加合适的粘蛋白成分和粘膜模拟药物组合物进行

干预(即各种纤维素衍生物、聚乙烯衍生物如聚乙烯-吡咯烷酮和聚乙烯醇, 各种多聚糖和它们的衍生物如右旋糖苷、透明质酸、硫酸软骨素等等), 或在粘蛋白成分过多的情况中, 应用溶解粘液的药物如 N-乙酰-半胱氨酸。

更特殊的是, 为了泪液粘液的减少和流动, N-乙酰-半胱氨酸主要规定是局部和系统给药。作为选择的, 也可以应用其他粘液溶解剂, 如用羧甲基半胱氨酸、盐酸溴己新和安溴素(后两种也有一种没有较好定义的分泌-刺激作用)进行系统给药。前述的第一种活性成分有以下结构式:



它是天然氨基酸 L-半胱氨酸的衍生物, 其被证明为临床有效的治疗急性和慢性支气管肺病症的粘液溶解剂, 因此主要是为这些病症开处方, 大多数应用系统给药。这个分子被认为是通过“裂解”粘液的二硫键(S-S)来发挥活性的, 这样就降低了其粘滞度。在眼睛中, N-乙酰-半胱氨酸溶液可以溶解粘液线从而降低泪液的粘滞度。

N-乙酰-半胱氨酸(也指以后的 N-AC)也是一种相对较强的酸, 不能直接应用于眼睛表面, 但同样的在合适的中和之后可以。例如, 4%按重量计算 N-AC 水溶液的 pH 值为 1.90, 在将它应用于眼药水中之前, 所述酸必须被中和, 例如用 NaOH, 来产生相应的钠盐并使得 pH 值在可以被人类眼睛忍受的生理范围之内。然而, 必须的中和有一个缺点就是, 会提高所得溶液的渗量, 它从原来的值 241mOsm/kg 到高渗相应的值。在这点上, 意大利专利第 1151755 号(Bruscettini s.r.l.)描述了一种包含 N-AC 的眼药水组合物, 其中活性成分由磷酸氢二钠缓冲液和许多重碳酸钠补充, 足以使得溶液的 pH 值在 6.6-7.0 范围。即使是文献也没有强调任何导致的忍耐性的不方便, 它呈现出高渗性而作为所推荐制剂的基本特征。

另外一种 N-乙酰-半胱氨酸基础的制剂作为局部眼睛的应用在 EP-A-0 551 848(Zambon Group S.p.A.)中描述, 其中所述 N-AC 溶液, 优选的 4%按重量计算, 和聚乙烯醇结合来获得活性增加的治疗干性角膜结膜炎的产物。在这种情况下, 所述文献未报导所推荐制剂表现出的渗量值, 但从相应组合物清楚的得知它们是强高渗的制剂。

实际上, 目前商业上应用的 N-AC-基础的眼药水呈现出的渗量值大大高于“生

理的”值 300mOsm/kg。对于 Brunac® 商标销售的产品来说这些值是 >1000 mOsm/kg (Bruschettini s.r.l. 包含 5% 的 N-AC)，对于 Tirocular® 产品来说大概是 900 mOsm/kg (ACRAF S.p.A, 包含 4% 的 N-AC)。如前面指出的，考虑到避免泪膜过度高渗的重要性，显而易见的是前述的制剂会刺激和潜在损害角膜表面。如果眼干综合症病人的泪液已经是高渗了，这个就更加如此，因此相关的治疗就不允许通过施用高渗制剂而加重这些疾病。出于这些考虑，人工泪液等渗制造或优选的制成低渗制剂 (Holly F.J., Lamberts D.W., 非等渗溶液对于泪膜渗量的影响 (Effect of nonisotonic solutions on tear film osmolality). *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 20, 236 (1981))。

还考虑到不用无机碱 NaOH 而用其他有机碱中和乙酰半胱氨酸的可能性，仍旧获得强高渗溶液，如下面的实施例所示。

用氢氧化钠中和

N-AC	5.00g
增加粘滞度聚合物	1.00g
NaOH	1.18g
无菌蒸馏水	q. s. 至 100ml
pH=7.00;	渗量=644mOsm/kg

用 L-赖氨酸(lisine)中和

N-AC	5.00g
L-赖氨酸(lisine)	4.50g
依地酸钠	0.10g
增加粘滞度聚合物	2.00g
无菌蒸馏水	q. s. 至 100ml
pH=7.00;	渗量=620mOsm/kg

用 L-精氨酸中和

N-AC	5.00g
L-精氨酸	6.20g
依地酸钠	0.10g
粘滞剂聚合物	2.00g

无菌蒸馏水 q. s. 至 100ml
pH=7.00; 渗量=656mOsm/kg

用 L-组氨酸(histidine) 中和

N-AC 4.00g
L-组氨酸(histidine) 8.00
无菌蒸馏水 q. s. 至 100ml
pH=6.50; 渗量=409mOsm/kg

用 L-甲基葡糖胺中和

N-AC 4.00g
L-甲基葡糖胺 3.40g
无菌蒸馏水 q. s. 至 100ml
pH=7.30; 渗量=490mOsm/kg

用 L-甘氨酸碳酸钠中和

N-AC 4.00g
L-甘氨酸碳酸钠 3.60g
无菌蒸馏水 q. s. 至 100ml
pH=7.20; 渗量=1636mOsm/kg

用 L-葡糖胺中和

N-AC 4.00g
L-葡糖胺 4.80g
无菌蒸馏水 q. s. 至 100ml
pH=7.30; 渗量=631mOsm/kg

先前的实施例表明通常应用的药物中和剂导致产生相当高渗的制剂假设 5.0% 或 4.0% 的 N-乙酰-半胱氨酸, 增加粘滞度聚合物存在或不存在时都是一样的。

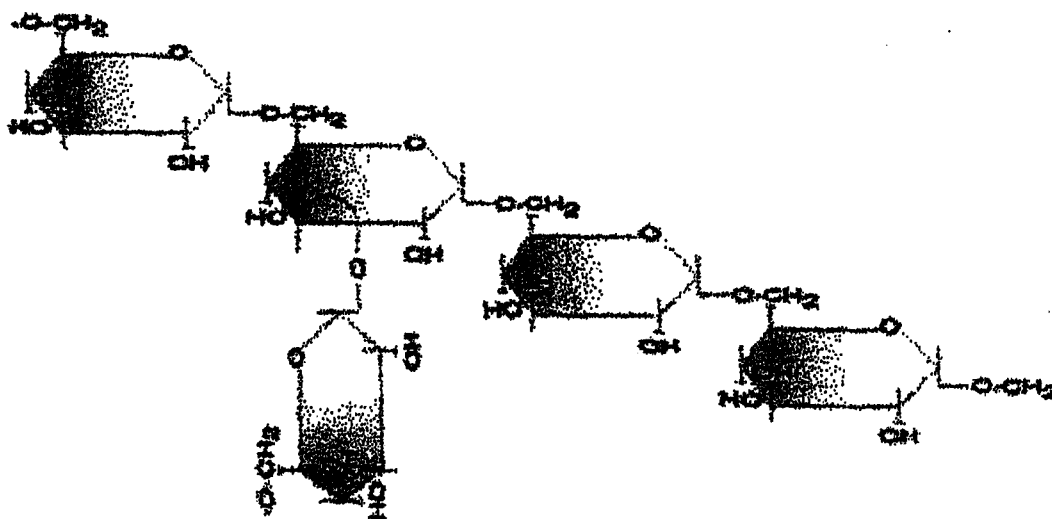
以上的观点中, 提供局部眼睛应用的乙酰半胱氨酸基础的药物组合物是本发明的一个目标, 这种药物组合物可方便的应用在溶解粘液活性的制剂中来治疗眼干综合症而不出现对于眼组织的弱耐受性或毒性的缺点, 这些通常是和低 pH 值以及上

面所有的，及渗量值大大高于生理值相联系。更特别的是，所述眼制剂-虽然利用了乙酰半胱氨酸溶解粘液的特性-必须化学上是接近中性的，同时是等渗优选的是低渗的。

为此，本发明用一种碱试剂中和所述乙酰半胱氨酸，这既改进了所述制剂作为人工泪液的总体性能，有不影响其渗透压，由此可以获得和泪液等渗甚至低渗的 N-AC 溶液。

在对于本发明研究的设计中，已经发现右旋糖苷的一种聚阳离子衍生物，二乙基氨基乙基-右旋糖苷(DEAE-右旋糖苷)，它包含通过对于酸解特别稳定的酯键和右旋糖苷骨架葡萄糖部分相连的二乙基氨基乙基，惊奇的是它通过形成相应的盐对于中和 N-乙酰-半胱氨酸的酸性有效，而对于所得溶液的渗透压没有作用。与此同时，通过用右旋糖苷聚阳离子衍生物中和 N-AC 所得的制剂已经包含一种增加粘滞度聚合物，已经认识到它的存在和眼干综合症相联系的许多病症中有益。

DEAE-右旋糖苷，已经被认识和应用为治疗高胆固醇血症的药物以及作为常规抗血脂药(antilipemic)(美国专利 3,627,872 和 4,160,826)，它通过在碱溶液中将 2-氯乙基-二乙基胺和右旋糖苷反应获得，右旋糖苷——一种多聚糖它的结构式如下所示：



作为起初的多聚糖，所述二乙基氨基乙基衍生物包括吡喃型葡萄糖单位，主要通过 16 键连接，然而小数量的 13 键(及更小的程度 12 和 14 键)负责旁支链。平均的分子量大约是 500,000 并且氮的含量大约是 3.2%，相应的每三个葡萄糖单位一个阳离子基团。右旋糖苷硫酸盐相似，DEAE-右旋糖苷是一种多聚电解质且它的特性和起初的聚合物-右旋糖苷有相当大的不同。

作为一种多聚阳离子产物，DEAE-右旋糖苷通常在商业上以其相应的氯化物或

硫酸盐的成盐形式应用。所述的自由碱形式，必须根据本发明建议的作为中和 N-乙酰-半胱氨酸的初始反应剂，例如可以从 DEAE—右旋糖苷氯化物(或硫酸盐)配制，通过根据下面的方法用阳离子交换树脂处理。

将阳离子交换树脂(DOWEX 1×8, 30ml)装填在柱中并用 0.1N 的 NaOH 处理来水合和激活它。接着，1N NaOH 通过树脂。将所述树脂仔细的用水清洗来去除多余的 NaOH，将 5%的 DEAE—右旋糖苷 HCL 溶液导入柱中。通过减少压力的蒸发将柱中包含碱性右旋糖苷的溶液浓缩然后干燥。

为了测定用来配制的 N-乙酰-半胱氨酸的中和能力，从前面的操作获得的自由碱形式的产物，如果需要用 0.1N HCL 滴定。预先测定质量单位中和剂中包含化学等价物的量，这项操作可以进行，例如通过“反向滴定”，其中首先在一定量的溶解在蒸馏水中的碱性右旋糖苷中加入过量的强酸(HCL)，然后用强碱(NaOH)滴定过量强酸。这项操作获得的，通过电势滴定测得的 pH 值在附图中报告。

图 1 显示了在本发明组合物中应用的碱性 DEAE—右旋糖苷的滴定曲线。

图 2 显示了评价大鼠眼干综合症实验模型中组合物活性的 Schirmer 实验的结果。

图 3 显示了在相同的大鼠实验模型中通过裂隙灯观察荧光素钠染色后的角膜的结果。

暂时将涉及本发明组合物应用实验的两张图搁在一边，以后再处理，回到碱性 DEAE—右旋糖苷滴定，图 1 显示了当应用前述步骤处理溶解在 5ml 蒸馏水中的 0.08g 碱性 DEAE—右旋糖苷，并加入 5.0ml N/10 HCL 后获得的电势滴定曲线。用 NaOH 电势滴定过量 HCL，在图中显示了所得逐渐增加的 pH 值，显示了在加入 3.6ml 碱溶液后曲线点达到 pH 为 7.0。因此，1.4ml (5.0-3.6) 的 N/10 HCL，例如 0.14mEq，中和 0.08g 碱性 DEAE—右旋糖苷。这就可以在研究中估算聚阳离子试剂的等价重量如 $0.14/0.08=1.75\text{mEq/g}$ 。

根据上面的观点，因此就可能容易的实现一种 N-AC-基础的制剂，其活性成分被合适比例的碱性 DEAE—右旋糖苷中和，在下面的实施例中将看的更加清楚，它不会对所述组合物的渗量有不利影响，但会获得有益的等渗眼溶液。

因此，本发明特别提供了一种以乙酰半胱氨酸为基础的眼药水给药的眼科组合物，它包含用碱性 DEAE—右旋糖苷中和的 N-乙酰-半胱氨酸并拥有生理上可接受的渗量。更特别的是，已经知道所述渗量小于 320mOsm/kg，更优选的是小于 300 mOsm/kg，然而所述组合物的 pH 值在 6.0-7.5 范围之内，优选的是在 6.2-7.0 范围之内。以上的特性使得获得以眼药水给药适合治疗眼干综合症的溶液—所述溶液优

选的包含被 9%-15%按重量计算之间的碱性 DEAE—右旋糖苷中和的 3%-5%按重量计算的 N-乙酰-半胱氨酸。本发明实施方式之一提供了一种眼科组合物，它包含 4%按重量计算的 N-乙酰-半胱氨酸，12%按重量计算的 DEAE-右旋糖苷，pH 值在 6.2-7 之间且渗量在 240-300 mOsm/kg 之间。

本发明的制剂可用眼药载体配制成水溶液或水悬液，并可包含一种或多种其他可能的，在这种制剂药学技术中所知的成分。特别是，除了 N-乙酰-半胱氨酸和 DEAE—右旋糖苷，所述制剂也可包含较少量的其他粘滞度增加聚合物，如前面文章参考引用的以及下面在举例制剂中所报导的，例如聚乙烯醇、羟丙基纤维素、透明质酸、聚乙烯吡咯烷酮、硫酸软骨素。习惯的，所述组合物可包含其它佐剂，其中有螯合的试剂、抗微生物试剂和防腐剂，虽然后者通常在眼药水中是避免的，但如果可能应用单一剂量组而不含有防腐剂。

以下实施例报导了根据本发明而配制的所述眼科组合物的一些特定的实施方案，以及一些关于这些组合物发挥功效和先前文章对比的实验数据。

实施例 1

考虑到如前面所述的已经测定了的等价比例，N-乙酰-半胱氨酸和 DEAE—右旋糖苷基础的低渗制剂根据下面配方制造：

N-AC	4.0g
碱性 DEAE—右旋糖苷	12.0g
无菌蒸馏水	q. s. 至 100ml
pH=6.18;	渗量=245mOsm/kg

对于这个制剂，将 4gNAC 溶解在大约一半所用的水中，并将 12g 碱性 DEAE—右旋糖苷溶解在剩余的水中。然后将所述两种溶液混合并应用 0.2 μ m 的无菌过滤器过滤。

除了前述的渗量值，所述组合物表现出 21mPa·S 的粘滞度和牛顿学说类型的流动。

实施例 2

根据本发明配制的低渗组合物在这种情况下包含防腐剂，根据以下配方：

N-AC	4.0g
碱性 DEAE—右旋糖苷	12.0g
苯扎氯胺	0.01g
无菌蒸馏水	q. s. 至 100ml
pH=6.23;	渗量=245mOsm/kg

对于这个制剂，将 NAC、DEAE—右旋糖苷和苯扎氯胺分别溶解在蒸馏水中。然后将所述溶液混合并应用 0.2 μ m 的无菌过滤器过滤。

如果需要，渗量可通过加入 NaCl 而达到生理值 300 mOsm/kg。

实施例 3

考虑到如上面所述的已经测定了的等价比例，并继续以上面阐述的实施例中相似的方法进行配制，根据下面的配方配制一种 N-乙酰-半胱氨酸和 DEAE—右旋糖苷基础的低渗制剂：

N-AC	3.0g
碱性 DEAE—右旋糖苷	9.0g
无菌蒸馏水	q. s. 至 100ml
pH=6.2;	渗量=185mOsm/kg

实施例 4

用相似的配制步骤获得一种低渗但更浓缩的制剂，按照下面的配方：

N-AC	5.0g
碱性 DEAE—右旋糖苷	15.0g
无菌蒸馏水	q. s. 至 100ml
pH=6.5;	渗量=307mOsm/kg

下面报导了其他显示任选的存在其他粘滞度增高剂的制剂实施例，它的浓度通常在 0.5-3%按重量计算之间。在所有的情况中，配制的步骤和前面实施例中阐述的相似，并获得了低渗的产物。

实施例 5

N-AC	4.0g
碱性 DEAE—右旋糖苷	12.0
聚乙烯醇*	0.5
无菌蒸馏水	q. s. 至 100ml

*Polyviol W 48/20, Wacker Chemie

实施例 6

N-AC	4.0
------	-----

碱性 DEAE—右旋糖苷	12.0
羟丙基纤维素*	0.4
无菌蒸馏水	q. s. 至 100ml
*Klucel MF, Aqualon Co.	

实施例 7

N-AC	4.0g
碱性 DEAE—右旋糖苷	12.0
透明质酸*	0.2
无菌蒸馏水	q. s. 至 100ml
*Hyalastine, Fidia S.p.A	

实施例 8

N-AC	4.0g
碱性 DEAE—右旋糖苷	12.0
聚乙烯吡咯烷酮*	0.4
无菌蒸馏水	q. s. 至 100ml
*Kollidon PF 12, BASF	

为了评价根据本发明方法配制所得组合物的效果,进行了许多实验,下面报导了一些结果。

生物适合性的研究

生物适合性的研究通过紧密间歇施用如实施例 2 所描述的 50 μ l 制剂在大鼠眼睛活体中进行。没发现主要刺激征象。

稳定性研究

所述制剂经过高压灭菌(120 $^{\circ}$ C, 20 分钟):如前文所述, N-乙酰-半胱氨酸降解大约 30%(苯扎氯胺存在和不存在)。然而,可能利用通过 0.2 μ m 膜过滤进行灭菌,如前面的实施例所实施的那样。

在 DEAE—右旋糖苷存在时用来测定 N-AC 的分析方法

为了评价赋形剂中 N-AC 的稳定性,不可能应用 HPLC 方法或紫外线分光光度测定。因此运用以下的比色方法(Raggi M.A., Cavrini V. 和 Di Pietra A.M., 比色法测定药物剂量形式的乙酰半胱氨酸、青霉胺和巯基丙酰氨基乙酸(Colorimetric

determination of acetylcysteine, penicillamine and mercaptopropionyl-glycine in pharmaceutical dosage forms), *J. Pharm. Sci.*, 71, 1384-1386 (1982)).

应用的试剂

- 1, 10-二氮菲 0.25% (100ml)
- 铁溶液 $4 \times 10^{-3} \text{M}$ (1000ml)
- pH4 醋酸缓冲液 (100ml)
- 醋酸钠 0.2M (100ml)

试剂配方

邻-二氮菲 0.25%

将 0.25g 的所述化合物溶解在蒸馏水中, 在稍微加热后, 将它用蒸馏水稀释至需要的体积。所述溶液在黑色玻璃容器中保存 3 天远离光线。

铁溶液

将 1.92g 的 $\text{FeNH}_4\text{SO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$ 溶解在蒸馏水中, 然后用 10ml 浓缩 HCl 处理。用蒸馏水稀释到所需体积。所述溶液在黑色玻璃容器中保存 3 天远离光线。

pH 4 缓冲液

这是通过将 75ml 0.1M CH_3COOH 和 25ml 0.1M CH_3COONa 混合而获得。如果需要, pH 值可以用 0.2M CH_3COONa 溶液调整。

标准配制

将 0.163g 乙酰半胱氨酸溶解在 500ml 蒸馏水中。通过以 1:5 的比例稀释, 就获得了所需的浓度。

将体积增加的这种溶液 (1-5ml) 放置在 25ml 的烧瓶中, 然后连续加入下面的试剂:

- 6ml 铁溶液
- 2.5ml 邻-二氮菲 0.25%
- 3.5ml 0.2M NaOAc
- 4.5ml pH4 缓冲液

20 分钟后, 通过应用和样品同时配制的对照参考测定在 515nm 处的吸收值。还应用上面所述的步骤进行 DEAE-右旋糖苷存在时 N-AC 校准。对于这些样品, 通过应用包含聚合物的对照参考以及不含 DEAE-右旋糖苷的对照参考进行所述测定。所得光谱是相等的。

通过比较由 N-AC 获得的光谱和由还包含多聚物样品获得的光谱, 就可以证明

DEAE-右旋糖苷不干扰吸收,但它会改变其强度。

大鼠眼干综合症实验模型中的活性研究

所述实验在一组 10 只新西兰白化雄大鼠上进行,体重为 2-2.5kg 并在标准环境中饲养。实施例 2 所述的制剂(称为 DEAE/N-AC)不仅和只接受生理溶液的对照组比较,而且和商业上应用的(高渗)包含 4%N-AC 的制剂比较。

对动物的双眼一天施用三次硫酸阿托品(AS)溶液滴眼,连续 5 天来造成实验性的眼干病(Burgalassi S., Panichi L., Chetoni P., Saettone M.F. 和 Boldrini E., 白化大鼠中单眼干模型的发展以及一些泪液取代物的评价(Development of a simple dry eye model in the albino rabbit and evaluation of some tear substitutes), Ophthalmic Res. 31, 229-235(1999))。在 AS 给药 5 分钟后,仅仅在右眼滴 50 μ l (相当于一滴)所研究的制剂之一或生理溶液(对照组)。

在合适的时间间隔(在开始处理后的第 2, 3, 4 和 5 天),动物接受 Schirmer 实验并在用荧光素钠染色后,通过带有钴蓝过滤器的裂隙灯观察眼睛表面。

所述 Schirmer 实验设想采用一条标准大小的吸墨水纸和外部第三的较低结膜穹隆中的材料。所述纸条放置在适当位置持续固定的时间(3 分钟)。泪液产生的时间以及被泪液沾湿的纸部分的毫米长度提供了泪液分泌的分数。图 2 报告了在各种处理条件下所得的所述实验结果。所述图的纵轴给出了在 3 分钟被沾湿纸条的毫米数。完整线(基线)对应于在未处理的动物(21, 2 毫米)中观察到的生理平均值。

值得注意的是,在用生理溶液处理过的眼睛中(对照组),泪液的分泌明显下降,经过持续 5 天的观察。所述高渗的商业应用制剂的 Schirmer 实验分数和对照组的没有很大的区别,除了观察的第二天。根据本发明(DEAE/N-AC)配制的制剂代替的产生比基线的那些更好的实验分数,如第 3 天。因此所述制剂看上去能够有效的对比由阿托品导致的泪液产生减少的作用。

图 3 显示了通过裂隙灯观察用荧光素钠染色后的动物角膜后得到的结果。这项染色使得由 AS 处理所产生的改变(角膜损害)更加明显,这种损害通常在眼干综合症的眼睛中。对于每一种处理,所述的值表达为在从处理的第 3 天至第 5 天检查的眼睛总数量中注意到的密集颜色点(和角膜上皮的改变相对应)的眼睛比例。值得注意的是,和商业上应用的制剂不一样,根据本发明配制的制剂减少了观察到的改变总数量实际到 0。

本发明已经用对于它的一些特殊实施方案的特定参考书目来揭示,但应该明白的是文中的技术员也可以进行修改和变化,但不离开如附加权利要求所定义的本发明的范围。

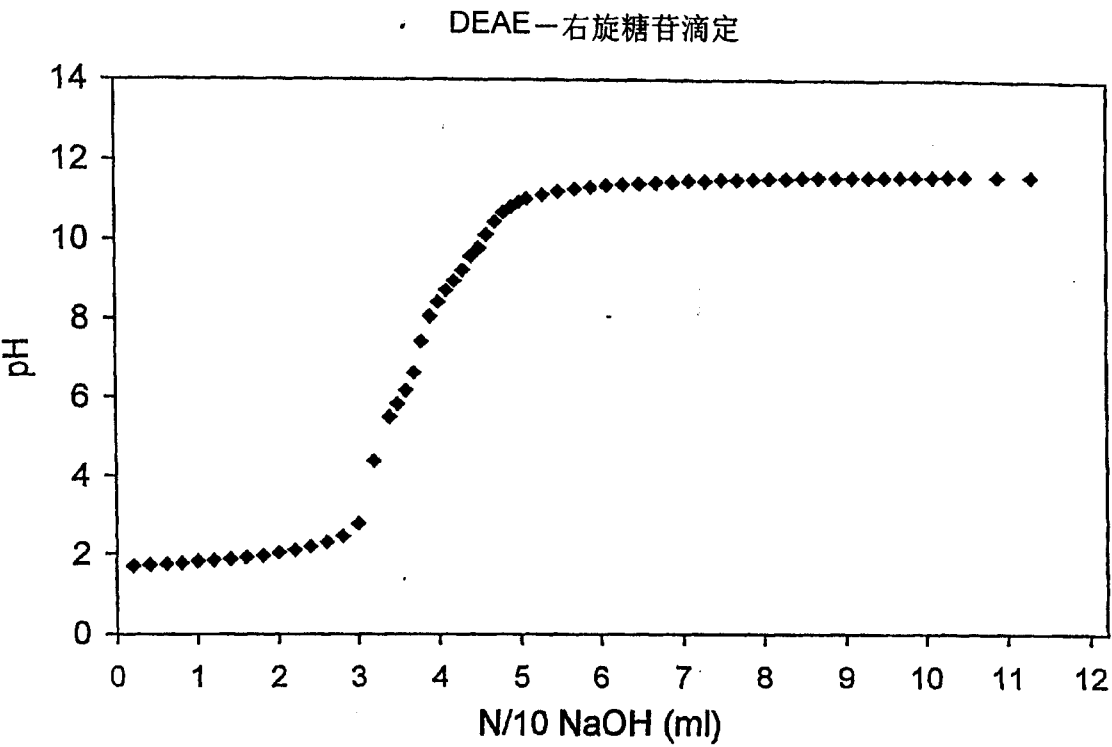


图 1

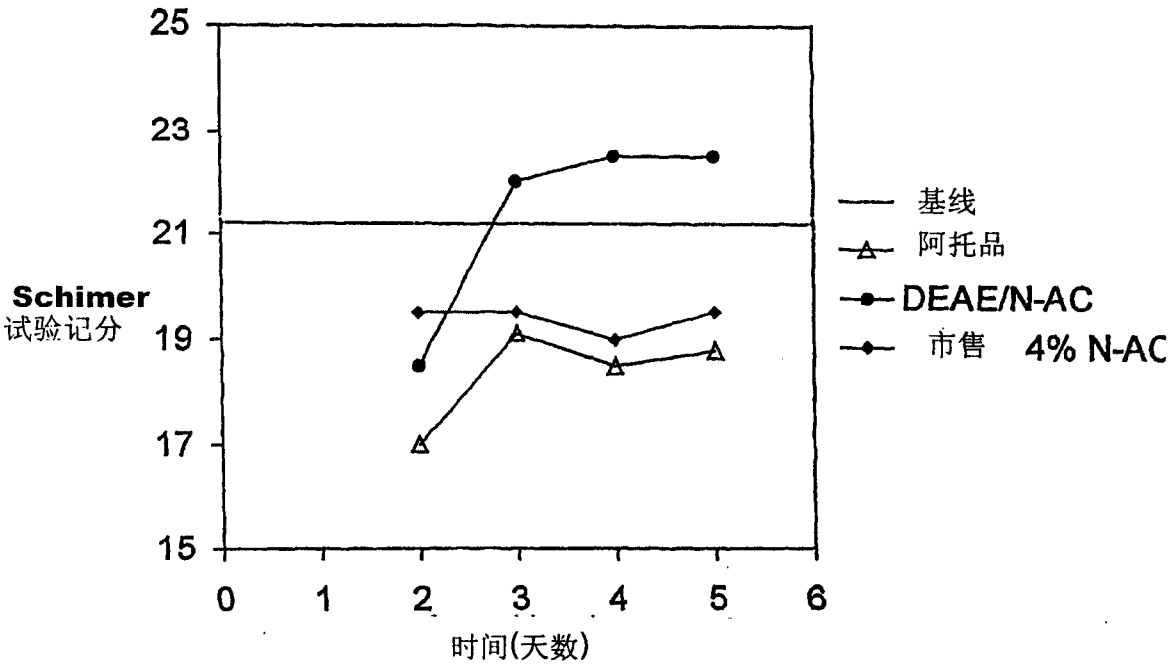


图 2

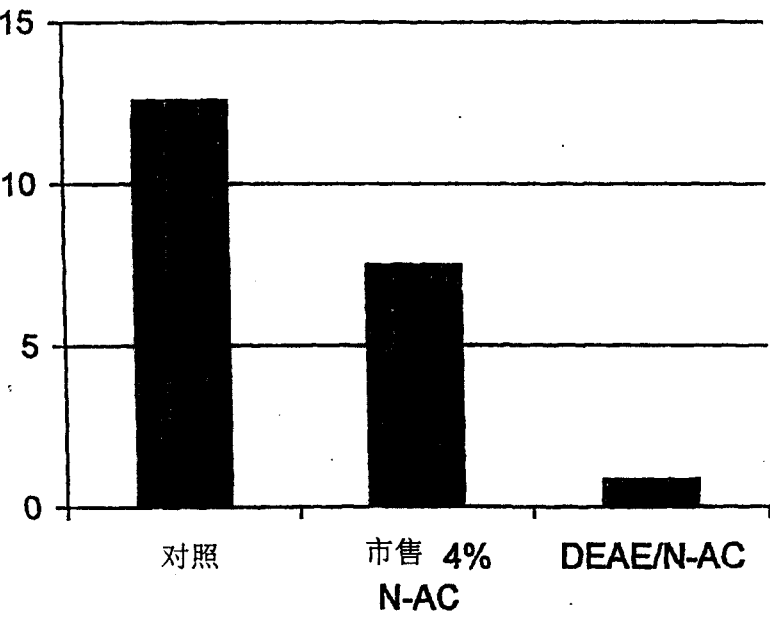


图 3