



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112641720 A

(43) 申请公布日 2021.04.13

(21) 申请号 202011555416.1

(51) Int.Cl.

(22) 申请日 2015.03.03

A61K 9/08 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 47/10 (2006.01)

61/947,378 2014.03.03 US

A61K 47/18 (2006.01)

A61K 31/385 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

A61P 27/10 (2006.01)

201580012000.6 2015.03.03

A61P 27/02 (2006.01)

(71) 申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 威廉·H·加纳

玛格丽特·H·加纳

威廉·R·伯恩斯

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 贾士聪 黄革生

权利要求书3页 说明书26页 附图3页

(54) 发明名称

硫辛酸胆碱酯组合物及使用方法

(57) 摘要

本发明涉及硫辛酸胆碱酯组合物及使用方法。本发明大体上涉及包含硫辛酸胆碱酯或其衍生物和非水性赋形剂的药物组合物及其用于治疗眼部疾病或病症(例如,老花眼)的用途。

1. 药物组合物,其包含混合于pH值为4至6的水溶液中的治疗有效量的硫辛酸胆碱酯和非水性赋形剂,其中如在40%的相对湿度下于25℃储存3个月后经HPLC所测得,所述药物组合物中存在至少95%的所述硫辛酸胆碱酯。

2. 如权利要求1所述的药物组合物,其中在40%的相对湿度下于25℃储存3个月,少于2%的所述硫辛酸胆碱酯降解。

3. 如权利要求1或2所述的药物组合物,基于在40%的相对湿度下于25℃储存3个月后经HPLC所测定的曲线下面积,所述药物组合物具有少于12%的总药物相关杂质。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的药物组合物,基于在40%的相对湿度下于25℃储存3个月后经HPLC所测定的曲线下面积,所述药物组合物具有少于7%的药物相关杂质,其中所述药物相关杂质由1.12至1.14的相对保留时间表征。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的药物组合物,基于在40%的相对湿度下于25℃储存3个月后经HPLC所测定的曲线下面积,所述药物组合物具有少于4%的药物相关杂质,其中所述药物相关杂质由0.65至0.66的相对保留时间表征。

6. 如权利要求1至5中任一项所述的药物组合物,其特征在于下列中的一项或多项:

(a) 以所述组合物的重量计具有浓度为1%至10%的所述硫辛酸胆碱酯;

(b) 以所述组合物的重量计具有浓度为0.005%至0.1%的防腐剂;

(c) 以所述组合物的重量计具有0.1%至5%的生化能量源;以及

(d) 以所述组合物的重量计具有浓度为0.5%至5%的甘油。

7. 如权利要求6所述的药物组合物,其中所述防腐剂是苯扎氯铵并且所述生化能量源是丙氨酸。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的药物组合物,其中所述硫辛酸胆碱酯具有选自以下的抗衡离子:氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、甲磺酸根、硝酸根、马来酸根、醋酸根、柠檬酸根、富马酸根、富马酸氢根、酒石酸根、琥珀酸根、苯甲酸根和谷氨酸的阴离子。

9. 改善晶状体的调节幅度的方法,其包括向所述晶状体施用有效量的权利要求1至8中任一项所述的药物组合物。

10. 治疗或预防个体中老花眼的方法,其包括向所述个体的眼睛施用有效量的权利要求1至8中任一项所述的药物组合物。

11. 非水性组合物,其包含硫辛酸胆碱酯或其衍生物和非水性赋形剂。

12. 如权利要求11所述的非水性组合物,其中所述非水性赋形剂基本上与水混溶。

13. 如权利要求11或12所述的非水性组合物,其中所述非水性赋形剂是非水解性溶剂。

14. 如权利要求11至13中任一项所述的非水性组合物,其中所述非水性赋形剂是醇。

15. 如权利要求14所述的非水性组合物,其中所述醇是多元醇。

16. 如权利要求15所述的非水性组合物,其中所述多元醇是甘油。

17. 如权利要求15所述的非水性组合物,其中所述多元醇是丙二醇。

18. 如权利要求11所述的非水性组合物,其中所述非水性赋形剂是半氟化烷烃。

19. 如权利要求11至18中任一项所述的非水性组合物,其包含通过将硫辛酸胆碱酯与所述非水性赋形剂混合而获得的非水性溶液。

20. 如权利要求19所述的非水性组合物,其中所述混合在20℃至100℃的温度下进行。

21. 如权利要求20所述的非水性组合物,其中所述混合在37℃至80℃的温度下进行。

22. 如权利要求11至21中任一项所述的非水性组合物,其中所述硫辛酸胆碱酯或其衍生物的浓度为所述组合物的0.1%至40%。

23. 如权利要求11至22中任一项所述的非水性组合物,其中所述硫辛酸胆碱酯具有选自以下的抗衡离子:氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、甲磺酸根、硝酸根、马来酸根、醋酸根、柠檬酸根、富马酸根、富马酸氢根、酒石酸根、琥珀酸根、苯甲酸根和谷氨酸的阴离子。

24. 眼用制剂,其包含混合于水溶液中的权利要求11至23中任一项所述的非水性组合物。

25. 如权利要求24所述的眼用制剂,其中所述水溶液包含缓冲剂。

26. 如权利要求24或25所述的眼用制剂,其pH值为4至8。

27. 如权利要求26所述的眼用制剂,其pH值为4.5。

28. 如权利要求24至27中任一项所述的眼用制剂,其包含至少一种选自以下的成分:生化可接受的能量源、防腐剂、缓冲剂、张度剂、表面活性剂、粘度改性剂和抗氧化剂。

29. 如权利要求24至28中任一项所述的眼用制剂,其中在混合于所述水溶液之前对所述非水性组合物进行灭菌。

30. 如权利要求24至29中任一项所述的眼用制剂,其中所述水溶液是经灭菌的溶液。

31. 如权利要求24至30中任一项所述的眼用制剂,其特征在于下列中的一项或多项:

(a) 以所述制剂的重量计具有浓度为1%至10%的硫辛酸胆碱酯或其衍生物;

(b) 以所述制剂的重量计具有浓度为0.005%至0.1%的防腐剂;

(c) pH值为4至6;

(d) 以所述制剂的重量计具有0.1%至5%的生化能量源;

(e) 以所述制剂的重量计具有浓度为0.5%至5%的甘油;以及

(f) 具有大于3个月的保质期稳定性。

32. 如权利要求31所述的眼用制剂,其中所述防腐剂是苯扎氯铵并且所述生化能量源是丙氨酸。

33. 改善晶状体的调节幅度的方法,其包括向所述晶状体施用有效量的权利要求11至23中任一项所述的非水性组合物或权利要求24至32中任一项所述的眼用制剂。

34. 治疗或预防个体中老花眼的方法,其包括向所述个体的眼睛施用有效量的权利要求11至23中任一项所述的药物组合物或权利要求24至32中任一项所述的眼用制剂。

35. 系统,其包含第一隔室、第二隔室、和分隔所述第一隔室和第二隔室的密封物,其中所述第一隔室包含活性成分与非水性赋形剂的非水性组合物,所述第二隔室包含水溶液,并且其中在破坏所述密封物并使所述非水性溶液与所述水溶液混合后所述系统被激活。

36. 如权利要求35所述的系统,其中所述活性成分是硫辛酸胆碱酯或其衍生物并且所述非水性赋形剂是眼科可接受的赋形剂。

37. 如权利要求35或36所述的系统,其中所述水溶液包含缓冲剂。

38. 如权利要求35至37中任一项所述的系统,其中所述非水性组合物和所述水溶液两者均是经灭菌的。

39. 如权利要求35至38中任一项所述的系统,其中所述系统中的所述活性成分具有大于3个月的保质期稳定性。

40. 如权利要求39所述的系统,其中所述系统中的所述活性成分具有大于6个月的保质

期稳定性。

41. 如权利要求35至40中任一项所述的系统,其中激活后所述系统中的所述活性成分具有大于3个月的保质期稳定性。

42. 储存易于在水溶液中水解的活性成分的方法,所述方法包括(a)在第一隔室中提供所述活性成分;(b)在第二隔室中提供所述水溶液;以及(c)用密封物分隔所述第一隔室和所述第二隔室,其中直至即将通过破坏所述密封物而进行使用之前,所述第一隔室中的所述活性成分不与所述水溶液接触。

43. 如权利要求42所述的方法,其中所述第一隔室中的所述活性成分是冻干粉末或所述活性成分与非水解性溶剂混合。

44. 如权利要求42或43所述的方法,其中所述活性成分是硫辛酸胆碱酯或其衍生物、或肽。

## 硫辛酸胆碱酯组合物及使用方法

[0001] 本申请是申请日为2015年3月3日、申请号为201580012000.6、发明名称为“硫辛酸胆碱酯组合物及使用方法”的申请的分案申请。

### 发明领域

[0002] 本发明大体上涉及包含硫辛酸胆碱酯或其衍生物和非水性赋形剂的药物组合物及其用于治疗眼部疾病或病症(例如,老花眼)的用途。

[0003] 发明背景

[0004] 老花眼和调节幅度

[0005] 随着我们变老,我们的晶状体经历使其更难以对近处的物体聚焦的生理学变化。这是为什么每个人需要阅读眼镜,甚至早在35-40岁时。眼睛改变光焦度的能力(也被称为调节幅度)随着年龄显著地下降。调节幅度在儿童和年轻人中是20屈光度,但是其在25岁时降低至10屈光度,并且在60岁时降低至 $\leq 1$ 屈光度。与年龄相关的不能对近处的物体聚焦被称作老花眼。我们所有人将发展老花眼并且将使用矫正的晶状体除非发现新的治疗。

[0006] 许多因素有助于引起老花眼。在由水通道蛋白-0的调节过程中形成的晶状体纤维细胞流体层(参见图1)已牵涉老花眼。如图所示,当睫状肌收缩时(亥姆霍兹调节理论),小带上的张力被释放并且晶状体囊中储存的势能被释放,并且在晶状体的赤道平面上产生运动。如晶状体的有限元分析所示,该力来源于晶状体周的赤道位置处的小带晶状体附着点附近。晶状体由长纤维细胞构成,且“新的”细胞生成于表面处。这些纤维细胞形成类似于“管”的微流体通道。这用于维持晶状体调节功能。功能失调的“老的”纤维细胞向内移位。这提供了当小带张力被释放时将外部“流体隔室”流体向晶状体的中部(中央光轴)移动以增加几何曲率(光学倍率)的有效的手段。通过与针对血液流过微毛细血管( $< 10\mu\text{m}$ )所报道的类似的特殊现象促进该流体运动。小的血浆层(由Fahraeus-Lindqvist描述的现象)沿着血管的外围形成。这降低了表观或有效的测得的血细胞比容粘度,并且改善了具有较低背压的血流。

[0007] 在晶状体纤维细胞(也是约 $10\mu\text{m}$ 直径)内,类似的现象显然在运作。在近视聚焦的调节过程中,在晶状体纤维细胞中作为细胞壁/细胞膜的衬里的丰富的水通道蛋白-0允许水从细胞中流出。通过这些相同的间隙水通道,将溶解的微量营养物(包括治疗性药物)提供至晶状体。此外,它们的未公开的固有功能的一部分有利于需要前述流体运动以改变晶状体几何结构的调节幅度。沿着细胞内纤维细胞膜壁形成的水层降低了阻抗或电阻并且向内核胞质蛋白给予“润滑作用”;这是以前被忽视的现象。尽管蛋白核心(晶状体纤维细胞的内部的内侧)可以具有较高的特性粘度,但是在核与内膜之间形成的“润滑因子”或微表层( $< 1\text{nm}$ )显著降低了非本征粘度(如血液血细胞比容表观粘度)。这允许晶状体胞质在有限的小带力的范围内朝着中央视轴移动以增加光学倍率。

[0008] 该水层的损失意味着需要更大的力以将流体从赤道通道移动至光学通道(为了增加几何曲率-光学倍率)。类似地,当水通道蛋白-0结构-功能因为随着年龄的氧化应力所造成的二硫键形成至核心蛋白而受到损坏时,该功能层受到损坏并不起作用。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明人已经发现硫辛酸胆碱酯(“LACE”) (参见例如,第8,410,462号美国专利)可以修复负责流体运动的该重要流体层、修复近视并降低受二硫化物交联影响的核心晶状体胞质模量。因此,需要LACE制剂用于治疗其中失去该重要流体层或其中二硫化物交联是个问题的眼部疾病或病症(例如,老花眼)。

[0011] 在各种实施方案中,本发明提供了包含治疗有效量的硫辛酸胆碱酯或其衍生物和非水性赋形剂的药物组合物。在一些实施方案中,将所述治疗有效量的硫辛酸胆碱酯和所述非水性赋形剂混合于pH值为4至8(例如,4.0、4.2、4.4、4.6、4.8、5.0、5.2、5.4、5.6、5.8、6.0、6.2、6.4、6.6、6.8、7.0、7.2、7.4、7.6、7.8、8.0或任何基于这些特定数值的范围)的水溶液中。在某些实施方案中,所述水溶液包含缓冲剂。在某些实施方案中,所述药物组合物不含缓冲剂。

[0012] 在某些实施方案中,所述药物组合物包含混合于pH值为4至6水溶液中的治疗有效量的硫辛酸胆碱酯和非水性赋形剂,其中在40%的相对湿度下于25℃储存3个月后经HPLC所测得,所述药物组合物中存在至少95%的所述硫辛酸胆碱酯。在某些实施方案中,所述药物组合物的特征在于:在40%的相对湿度下于25℃储存3个月,组合物中少于2%的硫辛酸胆碱酯降解。在某些实施方案中,所述药物组合物的特征在于:基于在40%的相对湿度下于25℃储存3个月后经HPLC所测定的曲线下面积,所述药物组合物具有少于12%的总药物相关杂质。在某些实施方案中,所述药物组合物的特征在于:基于在40%的相对湿度下于25℃储存3个月后经HPLC所测定的曲线下面积,所述药物组合物具有少于7%的药物相关杂质,其中所述药物相关杂质由1.12至1.14的相对保留时间表征。在某些实施方案中,所述药物组合物的特征在于:基于在40%的相对湿度下于25℃储存3个月后经HPLC所测定的曲线下面积,所述药物组合物具有少于4%的药物相关杂质,其中所述药物相关杂质由0.65至0.66的相对保留时间表征。

[0013] 在某些实施方案中,所述药物组合物的特征在于下列一项或多项:

[0014] (a) 以所述组合物的重量计具有浓度为1%至10%的硫辛酸胆碱酯;

[0015] (b) 以所述组合物的重量计具有浓度为0.005%至0.1%的防腐剂;

[0016] (c) 以所述组合物的重量计具有0.1%至5%的生化能量源;以及

[0017] (d) 以所述组合物的重量计具有浓度为0.5%至5%的甘油。在某些实施方案中,所述防腐剂是苯扎氯铵并且所述生化能量源是丙氨酸。在某些实施方案中,所述硫辛酸胆碱酯具有选自以下的抗衡离子:氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、甲磺酸根、硝酸根、马来酸根、醋酸根、柠檬酸根、富马酸根、富马酸氢根、酒石酸根(例如,(+)-酒石酸根、(-)-酒石酸根、或其混合物)、琥珀酸根、苯甲酸根和诸如谷氨酸的氨基酸的阴离子。

[0018] 在某些实施方案中,通过将治疗有效量的硫辛酸胆碱酯和所述非水性赋形剂相继地或同时地与所述水溶液混合而制备所述药物组合物。在某些实施方案中,通过首先将治疗有效量的硫辛酸胆碱酯和所述非水性赋形剂混合以形成非水性组合物,随后将所述非水性组合物与所述水溶液混合而制备所述药物组合物。在某些实施方案中,所述非水性组合物可以通过将硫辛酸胆碱酯和非水性赋形剂混合而形成的溶液、乳液或悬浮液。所述混合可以在加热持续的时间段下进行。通过任一方法而制备的所述药物组合物可以具有至少3个月(例如,3个月、6个月、9个月、1年或大于1年)的保质期稳定性。

[0019] 在某些实施方案中,本发明提供了包含硫辛酸胆碱酯或其衍生物和非水性赋形剂的非水性组合物。在某些实施方案中,所述非水性赋形剂基本上与水混溶。在某些实施方案中,所述非水性赋形剂是非水解性溶剂。在某些实施方案中,所述非水性赋形剂是醇。在某些实施方案中,所述醇是多元醇,例如,甘油或丙二醇。在一些实施方案中,所述非水性赋形剂是半氟化烷烃。

[0020] 在某些实施方案中,所述非水性组合物包含通过将硫辛酸胆碱酯与非水性赋形剂混合而获得的非水性溶液。在某些实施方案中,所述混合在20℃至100℃的温度下进行。在某些实施方案中,所述混合在37℃至80℃的温度下进行。

[0021] 在某些实施方案中,所述非水性组合物中硫辛酸胆碱酯或其衍生物的浓度为0.1重量%至40重量%。在某些实施方案中,所述硫辛酸胆碱酯具有选自以下的抗衡离子:氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、甲磺酸根、硝酸根、马来酸根、醋酸根、柠檬酸根、富马酸根、富马酸氢根、酒石酸根(例如,(+)-酒石酸根、(-)-酒石酸根或其混合物)、琥珀酸根、苯甲酸根和诸如谷氨酸的氨基酸的阴离子。

[0022] 在某些实施方案中,本发明提供了包含混合于水溶液中的非水性组合物的眼用制剂。在某些实施方案中,所述水溶液包含缓冲剂。在某些实施方案中,所述眼用制剂的pH值为4至8。在某些实施方案中,所述眼用制剂pH值为4.5。在某些实施方案中,所述眼用制剂包含至少一种选自以下的成分:生化可接受的能量源、防腐剂、缓冲剂、张度剂、表面活性剂、粘度改性剂和抗氧化剂。在某些实施方案中,在混合于所述水溶液之前对所述非水性组合物进行灭菌。在某些实施方案中,所述水溶液是经灭菌的溶液。

[0023] 在某些实施方案中,所述眼用制剂的特征在于下列一项或多项:

[0024] (a) 以所述制剂的重量计具有浓度为1%至10%的硫辛酸胆碱酯或其衍生物;

[0025] (b) 以所述制剂的重量计具有浓度为0.005%至0.1%的防腐剂;

[0026] (c) pH值为4至6;

[0027] (d) 以所述制剂的重量计具有0.1%至5%的生化能量源;

[0028] (e) 以所述制剂的重量计具有浓度为0.5%至5%的甘油;以及

[0029] (f) 具有大于3个月的保质期稳定性。在某些实施方案中,所述防腐剂是苯扎氯铵并且所述生化能量源是丙氨酸。

[0030] 在某些实施方案中,本发明还提供了通过将所述非水性组合物与所述水溶液分开储存于例如,两部分的装置(例如,如本文所述)或试剂盒中的药物组合物的长期储存的系统或方法,。随后可以在使用前将所述分开储存的非水性组合物与所述水溶液混合。

[0031] 在某些实施方案中,所述系统包括第一隔室、第二隔室和分隔所述第一隔室和所述第二隔室的密封物,其中所述第一隔室包含活性成分和非水性赋形剂的非水性组合物,所述第二隔室包含水溶液,并且其中在破坏所述密封物并且将所述非水溶液与所述水溶液混合后所述系统被激活。在某些实施方案中,所述活性成分是硫辛酸胆碱酯或其衍生物并且所述非水性赋形剂是眼科可接受的赋形剂。在某些实施方案中,所述水溶液包含缓冲剂。在某些实施方案中,所述非水性组合物和所述水溶液均是经灭菌的。在某些实施方案中,所述系统中的活性成分具有大于3个月的保质期稳定性。在某些实施方案中,所述系统中的活性成分具有大于6个月的保质期稳定性。在某些实施方案中,激活后所述系统中的活性成分具有大于3个月的保质期稳定性。

[0032] 在某些实施方案中,本发明提供了储存易于在水溶液中水解的活性成分的方法,所述方法包括(a)在第一隔室中提供所述活性成分;(b)在第二隔室中提供所述水溶液;以及(c)用密封物分隔所述第一隔室和所述第二隔室,其中直至即将通过破坏所述密封物而进行使用之前,所述第一隔室中的所述活性成分不与所述水溶液接触。在某些实施方案中,所述第一隔室中的所述活性成分是冻干粉末或所述活性成分与非水解性溶剂混合。在某些实施方案中,所述活性成分是硫辛酸胆碱酯或其衍生物、或肽。

[0033] 在某些实施方案中,本发明还提供了治疗或预防需要其的个体中老花眼的方法,所述方法包括向所述个体的晶状体或眼睛施用有效量的本文所述的任何药物组合物。

[0034] 附图简述

[0035] 图1示出在通过水通道蛋白-0的调节过程中晶状体纤维细胞流体层的形成。

[0036] 图2A示出在各自用1滴3%的硫辛酸胆碱酯制剂治疗兔子眼睛45分钟后兔子眼睛中硫辛酸胆碱酯代谢物分布。图2B是硫辛酸胆碱酯的代谢和清除的示意图。

[0037] 图3示出在施用硫辛酸制剂和硫辛酸胆碱酯制剂后硫辛酸的递送的比较。

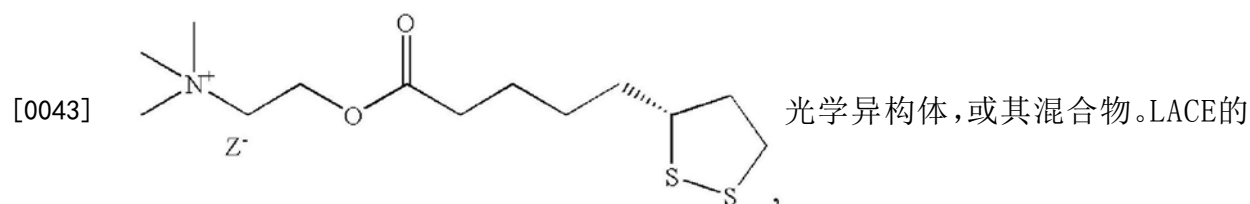
[0038] 图4示出可用于长期储存硫辛酸胆碱酯制剂的具有插入件的两部分滴眼剂瓶的设计。

[0039] 发明详述

[0040] 定义

[0041] 除非特别说明或由上下文来看是显而易见的,否则如本文所用本文公开的数值应理解为在本领域正常公差范围内例如,在所述值的10%以内。

[0042] 如本文所用,将术语“EV06”、“LACE”或“硫辛酸胆碱酯”理解为具有以下化学结构:



抗衡离子(即, $Z^-$ )可以是任何药学上可接受的阴离子。抗衡离子的非限制性实例包括氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、甲磺酸根、硝酸根、马来酸根、醋酸根、柠檬酸根、富马酸根、富马酸氢根、酒石酸根(例如,(+)-酒石酸根、(-)-酒石酸根或其混合物)、琥珀酸根、苯甲酸根和诸如谷氨酸的氨基酸的阴离子。在某些实施方案中,所述抗衡离子是氯离子。在某些实施方案中,所述抗衡离子是酒石酸根。

[0044] 如本文所用,“Dioplin<sup>TM</sup>”制剂是指硫辛酸胆碱酯制剂。例如,Dioplin<sup>TM</sup> 3%的制剂是指以所述制剂的重量计具有3%的硫辛酸胆碱酯的制剂。

[0045] 如本文所用,将硫辛酸胆碱酯的“衍生物”理解为由硫辛酸胆碱酯与非水性药用赋形剂反应而形成的除硫辛酸和胆碱之外的任何化合物或化合物的混合物。在某些实施方案中,所述衍生物是由硫辛酸胆碱酯与丙二醇反应而形成的产物。在某些实施方案中,所述衍生物是由硫辛酸胆碱酯与甘油反应而形成的产物。

[0046] 除非特别说明或由上下文来看是显而易见的,否则如本文所用,术语“赋形剂”是指药学上可接受的赋形剂。

[0047] 开放式术语,诸如“包括(include)”、“包括(including)”、“包含(contain)”、“包

含(containing)”等意指“包括(comprising)”。

[0048] 术语“治疗(treating)”是指以对改善病况、症状、或与疾病或病症相关的参数有效的量、方式或模式施用治疗。

[0049] 术语“预防(preventing)”是指在统计上显著的程度或者在本领域技术人员可检测的程度上排除患者获得病症、导致患者在更长时间段能不患病症、或停止病症的进展。

[0050] 术语“治疗有效量”是指导致个体的眼部疾病或病症(例如,老花眼)的症状的发作的预防或延缓、或导致个体的眼部疾病或病症(例如,老花眼)的症状的改善、或导致达到预期的生物学结果(诸如改善的调节幅度或改善的指示疾病状态的另一适当的参数)的活性成分(例如,LACE或其衍生物)的量。测定眼部应用的治疗有效量的方法是已知的,例如,如第8,410,162号美国专利中所述,其内容通过引用整体并入本文。例如,可以通过测量包括但不限于晶状体的弹性、刚度、粘度、密度或不透明度的临床结果而测定用于治疗或预防老花眼的治疗有效量。

[0051] 如本文所用,术语“保质期稳定性(shelf-stability)”或“保质期稳定的(shelf stable)”理解为在40%的相对湿度(RH)下于25℃储存一段时间(例如,3个月)后基本上未改变的组合物或活性成分(例如,LACE或其衍生物)的特征,或表征在40%的相对湿度(RH)下于25℃储存一段时间(例如,3个月)后基本上未改变的组合物或活性成分(例如,LACE或其衍生物)。用于测定此保质期稳定性的方法是已知的,例如,可以通过HPLC测得保质期稳定性以测定在将制剂储存一定时间段后制剂中残余的或已降解的组合物或活性成分(例如,硫辛酸胆碱酯)的百分比。例如,保质期稳定的药物组合物可以是指指在40%RH下于25℃储存3个月后如经HPLC所测得具有至少90%(例如,91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或大于99%)的活性成分(例如,硫辛酸胆碱酯)存在于组合物中的组合物。保质期稳定的药物组合物还可以是指指在40%RH下于25℃储存3个月后如经HPLC所测得具有5%以下(例如,小于4%、小于3%、小于2%、小于1%、或小于0.5%)的活性成分(例如,硫辛酸胆碱酯)已降解的组合物。

[0052] 如本文所用,术语化合物的“相对保留时间”或“RRT”可以使用等式“ $RRT = (t_2 - t_0) / (t_1 - t_0)$ ”计算,其中 $t_0$ =死时间, $t_1$ =硫辛酸胆碱酯的保留时间,并且 $t_2$ =化合物的保留时间。

[0053] 术语“个体”,如本文所用通常是指动物(例如,宠物)或人,包括健康的人或患有某种疾病或病症(例如,老花眼)的患者。

[0054] LACE制剂

[0055] 在各种实施方案中,本发明提供了包含治疗有效量的硫辛酸胆碱酯或其衍生物的药物组合物。在某些实施方案中,所述药物组合物包含包括治疗有效量的硫辛酸胆碱酯或其衍生物的冻干粉末。在某些实施方案中,所述冻干粉末还包括非水性赋形剂。在某些实施方案中,通过冻干本文所述的任何药物组合物而获得所述冻干粉末。

[0056] 在某些实施方案中,药物组合物包含治疗有效量的硫辛酸胆碱酯或其衍生物和非水性赋形剂。在某些实施方案中,将治疗有效量的硫辛酸胆碱酯和非水性赋形剂混合于pH值为4至8(例如,4.0、4.2、4.4、4.6、4.8、5.0、5.2、5.4、5.6、5.8、6.0、6.2、6.4、6.6、6.8、7.0、7.2、7.4、7.6、7.8、8.0、或任何基于这些特定数值的范围)的水溶液中。在某些实施方案中,所述水溶液包含缓冲剂。在某些实施方案中,所述药物组合物不含缓冲剂。在某些实

施方案中,所述水溶液基本上不含氧。

[0057] 在某些实施方案中,通过将治疗有效量的硫辛酸胆碱酯和非水性赋形剂相继地或同时地与所述水溶液混合而制备所述药物组合物。在某些实施方案中,通过首先将治疗有效量的硫辛酸胆碱酯和所述非水性赋形剂混合以形成非水性组合物,随后将所述非水性组合物与所述水溶液混合而制备药物组合物。

[0058] 通过任一方法制备的药物组合物可以具有至少3个月(例如,3个月、6个月、9个月、1年或大于1年)的保质期稳定性。在某些实施方案中,在40%RH下于25℃储存3个月后经HPLC所测得所述药物组合物具有至少90%(例如,至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%,或大于99%)的硫辛酸胆碱酯或其衍生物存在于该组合物中。在某些实施方案中,在40%RH下于25℃储存3个月后经HPLC所测得所述药物组合物有5%或更少(例如,小于4%、小于3%、小于2%、小于1%,或小于0.5%)的硫辛酸胆碱酯或其衍生物已降解。

[0059] 药物组合物还可以在40%RH下于25℃储存一定时间段后具有药物相关的降解物(例如,总药物相关杂质、或特定的药物相关杂质的量)的有利分布。用于测量制剂中药物相关的降解物的量的分析工具(例如,HPLC)是已知的。在某些实施方案中,所述药物组合物的特征在于:基于在40%RH下于25℃储存3个月后经HPLC所测定的曲线下面积,具有12%以下(例如,小于10%、小于8%、小于6%、小于4%、小于2%或小于1%)的总药物相关杂质。在某些实施方案中,所述药物组合物的特征在于:基于在40%RH下于25℃储存3个月后经HPLC所测定的曲线下面积,具有7%以下(例如,小于6%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%或小于1%)的药物相关杂质,其中所述药物相关杂质由1.12至1.14的相对保留时间表征。在某些实施方案中,所述药物组合物的特征在于:基于在40%RH下于25℃储存3个月后经HPLC所测定的曲线下面积,具有4%以下(例如,小于3%、小于2%或小于1%)的药物相关杂质,其中所述药物相关杂质由0.65至0.66的相对保留时间表征。

[0060] 药物组合物中硫辛酸胆碱酯或其衍生物的浓度以所述组合物的重量计可以是1%至10%(例如,1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、或任何基于这些特定数值的范围)的任何浓度。在某些实施方案中,药物组合物中的硫辛酸胆碱酯的浓度是1%。在某些实施方案中,药物组合物中的硫辛酸胆碱酯的浓度是3%。在某些实施方案中,药物组合物中的硫辛酸胆碱酯的浓度是4%。

[0061] 非水性赋形剂可以是眼科可接受的赋形剂。在某些实施方案中,所述非水性赋形剂是非水解性的。在某些实施方案中,所述非水性赋形剂基本上与水混溶。在某些实施方案中,所述非水性赋形剂在与水混合后形成乳液。在某些实施方案中,所述非水性赋形剂是离子液体(例如,甘油-胆碱)。

[0062] 在某些实施方案中,所述基本上与水混溶的非水性赋形剂是醇(例如,乙醇、山梨醇、丙二醇、聚乙二醇、甘油,或其混合物)。在某些实施方案中,所述醇是多元醇(例如,丙二醇、甘油、乙二醇、二乙二醇、赤藓糖醇、乳糖醇、麦芽糖醇、甘露醇、山梨醇、木糖醇、季戊四醇或蔗糖)。在某些实施方案中,所述多元醇是甘油。在某些实施方案中,所述多元醇是丙二醇。

[0063] 在某些实施方案中,所述非水性赋形剂是半氟化烷烃。半氟化烷烃是已知的,例如,如在美国专利申请公开2013/0046014中所述,其内容通过引用整体并入本文。半氟化烷

烃是其一些氢原子被氟取代的直链或支链烷烃。在某些实施方案中,所述半氟化烷烃由至少一个非氟化烃片段和至少一个全氟化烃片段组成。在某些实施方案中,根据通式 $F(CF_2)_n(CH_2)_mH$ ,所述半氟化烷烃具有一个连接至一个全氟化烃片段的非氟化烃片段,或根据通式 $F(CF_2)_n(CH_2)_m(CF_2)_oF$ ,所述半氟化烷烃具有被一个非氟化烃片段隔开的两个全氟化烃片段,其中n、m和o各自独立地选自3至20。

[0064] 药物组合物中非水性赋形剂(例如,甘油)的浓度以所述组合物的重量计可以是0.1%至10%(例如,0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、或任何基于这些特定数值的范围)。在某些实施方案中,所述非水性赋形剂是甘油,并且甘油的浓度以所述组合物的重量计为0.1%至5%(例如,0.1%、0.2%、0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、或任何基于这些特定数值的范围)。在某些实施方案中,甘油的浓度以所述组合物的重量计为0.1%、0.4%、1.3%或2.7%。

[0065] 药物组合物还可以包含其他合适的成分。此类合适的成分的非限制性实例包括选自以下的一种或多种成分:生化可接受的能量源、防腐剂、缓冲剂、张度剂、表面活性剂、粘度改性剂和抗氧化剂。

[0066] 合适的生化可接受的能量源可以是本领域已知的那些中的任何一种。例如,所述生化可接受的能量源可以通过作为能量代谢途径(特别是葡萄糖代谢途径)的中间物参与而可促进还原的那些中的任何一种。合适的生化可接受的能量源的非限制性实例包括:氨基酸或其衍生物(例如,丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、2-酮戊二酸、谷氨酸和谷氨酰胺等),糖或其代谢物(例如,葡萄糖、葡萄糖-6-磷酸(G6P)),丙酮酸酯(例如,丙酮酸乙酯)、乳糖、乳酸、或其衍生物),脂(例如,脂肪酸或其衍生物诸如单、二和三甘油酯以及磷脂),以及其他(例如,NADH)。生化可接受的能量源的合适的量以所述组合物的重量计可以是0.01%至5%(例如,0.05%、0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、或任何基于这些特定数值的范围)。在某些实施方案中,所述生化能量源是丙酮酸乙酯。在某些实施方案中,所述生化能量源是丙氨酸。在某些实施方案中,丙酮酸乙酯或丙氨酸的量以所述组合物的重量计为0.05%至5%(例如,0.05%、0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、或任何基于这些特定数值的范围)。在某些实施方案中,丙氨酸的量以所述组合物的重量计为0.5%。在本文所述的任何实施方案中,所述生化可接受的能量源为眼科可接受的量。

[0067] 适当的防腐剂可以是本领域已知的那些中的任何一种。非限制性实例包括苯扎氯铵(BAK)、西曲铵、氯丁醇、乙二胺四乙酸二钠(EDTA)、聚季铵盐-1(Polyquad®)、聚六亚甲基双胍(PHMB)、稳定的氧氯络合物(PURITE®)、过硼酸钠和SofZia®。药物组合物中防腐剂的合适的量以所述组合物的重量计可以是0.005%至0.1%(例如,0.005%、0.01%、0.02%、0.05%、0.1%、或任何基于这些特定数值的范围)。在某些实施方案中,所述防腐剂是苯扎氯铵。在某些实施方案中,所述苯扎氯铵的量以所述组合物的重量计为0.005%至0.1%(例如,0.005%、0.01%、0.02%、0.05%、0.1%、或任何基于这些特定数值的范围)。在某些实施方案中,所述苯扎氯铵(benzylalkonium chloride)的量以所述组合物的重量计为0.01%。在本文所述的任何实施方案中,所述防腐剂为眼科可接受的量。在某些实施方案中,所述药物组合物不含防腐剂。虽然硫辛酸胆碱酯或其衍生物可以起到防腐剂的作用,但是如本文所用,不将其归类为防腐剂。

[0068] 合适的缓冲剂可以是能实现期望的用于所述药物组合物的pH(例如,本文所述的)

的本领域已知的那些中的任何一种。非限制性实例包括磷酸盐缓冲液(例如,磷酸二氢钠一水合物、无水磷酸氢二钠)、乙酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、硼酸盐缓冲液和HBSS(Hank's平衡盐溶液)。缓冲剂的合适的量可以基于期望的pH值容易地计算。在本文所述的任何实施方案中,缓冲剂为眼科可接受的量。然而,在某些实施方案中,药物组合物不包含缓冲剂。在某些实施方案中,用酸(例如,盐酸)或碱(例如,氢氧化钠)将所述水溶液或所述最终的药物组合物的pH值调节至期望的pH值范围(例如,如本文所述)。虽然某些通常不会常规地用作缓冲剂的化合物诸如丙氨酸可能仍然有能力作为缓冲剂;但如本文所用,不将它们归类为缓冲剂。

[0069] 合适的张度剂可以是本领域已知的那些中的任何一种。非限制性实例包括氯化钠、氯化钾、甘露糖醇、右旋糖、甘油、丙二醇及其混合物。药物组合物中张度剂的合适的量是可以实现200mOsm至460mOsm(例如,260mOsm至360mOsm,或260mOsm至320mOsm)的渗透压度的任何量。在某些实施方案中,所述药物组合物是等渗的组合物。在某些实施方案中,张度剂(例如,氯化钠)的量以所述组合物的重量计为0.1%或5%(例如,0.1%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、或任何基于这些特定数值的范围)。在本文所述的任何实施方案中,所述张度剂为眼科可接受的量。

[0070] 合适的表面活性剂可以是本领域已知的那些中的任何一种,包括离子型表面活性剂和非离子型表面活性剂。非限制性离子型表面活性剂包括十二烷基硫酸铵、十二烷基硫酸钠、十二烷基聚氧乙醚硫酸钠(sodium laureth sulfate)、肉豆蔻醇聚醚硫酸钠(sodium myreth sulfate)、二辛基硫化琥珀酸钠、全氟辛烷磺酸盐、全氟丁烷磺酸盐、直链烷基苯磺酸盐、月桂酰肌氨酸钠、全氟壬酸盐、全氟辛酸盐、奥替尼啶双盐酸盐(octenidine dihydrochloride)、十六烷基三甲基溴化铵、十六烷基三甲基氯化铵、氯化十六烷基吡啶(CPC)、苯扎氯铵(BAC)、苄索氯铵(benzethonium chloride)(BZT)、双十八烷基二甲基氯化铵、西曲溴铵、双十八烷基二甲基溴化铵、磺基甜菜碱(sultains)(例如,椰油酰胺基丙基羟基磺基甜菜碱)、磷酸酯(例如,卵磷脂)、和椰油基甜菜碱(betaines)(例如,椰油酰胺基丙基甜菜碱)。

[0071] 可用的非离子型表面活性剂的非限制性实例包括:聚氧乙烯脂肪酯(例如,聚山梨醇酯80[聚(氧乙烯)山梨醇酐单油酸酯]、聚山梨醇酯60[聚(氧乙烯)山梨醇酐单硬脂酸酯]、聚山梨醇酯40[聚(氧乙烯)山梨醇酐单棕榈酸酯]、聚(氧乙烯)山梨醇酐单月桂酸酯、聚(氧乙烯)山梨醇酐三油酸酯、或聚山梨醇酯65[聚(氧乙烯)山梨醇酐三硬脂酸酯])、聚氧乙烯氢化蓖麻油(例如,聚氧乙烯氢化蓖麻油10、聚氧乙烯氢化蓖麻油40、聚氧乙烯氢化蓖麻油50、或聚氧乙烯氢化蓖麻油60)、聚氧乙烯聚氧丙烯二醇(例如,聚氧乙烯(160)聚氧丙烯(30)二醇[Pluronic F681]、聚氧乙烯(42)聚氧丙烯(67)二醇[Pluronic P123]、聚氧乙烯(54)聚氧丙烯(39)二醇[Pluronic P85]、聚氧乙烯(196)聚氧丙烯(67)二醇[Pluronic F1271]、或聚氧乙烯(20)聚氧丙烯(20)二醇[Pluronic L-441])、硬脂酸聚氧酯40酯、蔗糖脂肪酸酯,及其组合。在某些实施方案中,所述表面活性剂是聚山梨醇酯80。药物组合物中表面活性剂的合适的量以所述组合物的重量计可以为0.01%至5%(例如,0.05%、0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、或任何基于这些特定数值的范围)。在一些实施方案中,所述表面活性剂是聚山梨醇酯80,并且聚山梨醇酯80的量以所述组合物的重量计为0.05%至5%(例如,0.05%、0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、或任何基于这些

特定数值的范围)。在某些实施方案中,聚山梨醇酯80的量以所述组合物的重量计为0.5%。在本文所述的任何实施方案中,所述表面活性剂为眼科可接受的量。然而,在某些实施方案中,所述药物组合物不含表面活性剂。虽然硫辛酸胆碱酯或其衍生物可以起到表面活性剂的作用,但是如本文所用,不将其归类为表面活性剂。

[0072] 合适的粘度改性剂可以是本领域已知的那些中的任何一种。非限制性实例包括卡波姆凝胶(carbopol gels)、纤维素剂(例如,羟丙基甲基纤维素)、聚卡波非(polycarbophil)、聚乙烯醇、葡聚糖、甘油明胶、聚乙二醇、泊洛沙姆(poloxamer) 407、聚乙烯醇和聚乙烯吡咯烷酮、及其混合物。粘度改性剂的合适的量以所述组合物的重量计可以为0.1%至5%(例如,0.1%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、或任何基于这些特定数值的范围)。在本文所述的任何实施方案中,所述粘度改性剂为眼科可接受的量。在某些实施方案中,所述药物组合物不含粘度改性剂(例如,诸如羟丙基甲基纤维素的聚合物粘度改性剂)。

[0073] 合适的抗氧化剂可以是本领域已知的那些中的任何一种。在某些实施方案中,所述抗氧化剂的氧化还原电势小于0.5mv(例如,小于0.4mv、小于0.3mv、小于0.2mv或小于0.1mv)。在某些实施方案中,所述抗氧化剂的氧化还原电势小于0.28mv(二氢硫辛酸(DHLA)的氧化还原电势)。非限制性实例包括抗坏血酸、L-抗坏血酸硬脂酸酯、 $\alpha$ -硫代甘油(alphathioglycerin)、乙二胺四乙酸、异抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸、L-肉碱、柠檬酸、醋酸生育酚酯(tocopherol acetate)、二氯异氰尿酸钾、二丁基羟基甲苯、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚、大豆卵磷脂、硫代乙醇酸钠、硫代苹果酸钠、天然维生素E、生育酚、ascorbyl palmitate、焦亚硫酸钠、丁基羟基茴香醚、1,3-丁二醇、四[3-(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)]丙酸季戊四醇酯、没食子酸丙酯、2-硫醇基苯并咪唑和硫酸羟基喹啉。抗氧化剂的合适的量以所述组合物的重量计可以为0.1%至5%(例如,0.1%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、或任何基于这些特定数值的范围)。在本文所述的任何实施方案中,所述抗氧化剂为眼科可接受的量。

[0074] 在某些实施方案中,所述药物组合物的特征在于下列一项或多项:

[0075] (a) 以所述组合物的重量计具有浓度为1%至10%(例如,1%、1.5%、3%、4%、5%、或所述特定数值之间的任何范围)的硫辛酸胆碱酯;

[0076] (b) 以所述组合物的重量计具有浓度为0.005%至0.1%(例如,0.01%)的防腐剂(例如,苯扎氯铵);

[0077] (c) 以所述组合物的重量计具有0.1%至5%(例如,0.5%)的生化能量源(例如,丙氨酸);以及

[0078] (d) 以所述组合物的重量计具有浓度为0.5%至5%(例如,2.7%)的甘油。

[0079] 在某些实施方案中,所述药物组合物中的硫辛酸胆碱酯具有选自以下的抗衡离子:氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、甲磺酸根、硝酸根、马来酸根、醋酸根、柠檬酸根、富马酸根、富马酸氢根、酒石酸根(例如,(+)-酒石酸根、(-)-酒石酸根、或其混合物)、琥珀酸根、苯甲酸根和诸如谷氨酸的氨基酸的阴离子。在某些实施方案中,所述抗衡离子是氯离子。

[0080] 在某些实施方案中,所述药物组合物包含非水性赋形剂,所述非水性赋形剂是以所述组合物的重量计浓度为2.7%的甘油。在某些实施方案中,甘油的浓度以所述组合物的重量计为3%。

[0081] 在某些实施方案中,所述药物组合物基本上由0.025重量%的乙二胺四乙酸二钠

脱水物、1.3重量%的甘油、0.5重量%的丙氨酸、0.01重量%的苯扎氯铵、1重量%的硫辛酸胆碱酯或其衍生物、以及水组成,其中所述药物组合物的pH值为4.3至4.7。

[0082] 在某些实施方案中,所述药物组合物基本上由0.025重量%的乙二胺四乙酸二钠脱水物、0.4重量%的甘油、0.5重量%的丙氨酸、0.01重量%的苯扎氯铵、3重量%的硫辛酸胆碱酯或其衍生物、以及水组成,其中所述药物组合物的pH值为4.3至4.7。

[0083] 在某些实施方案中,所述药物组合物基本上由0.025重量%的乙二胺四乙酸二钠脱水物、0.1重量%的甘油、0.5重量%的丙氨酸、0.01重量%的苯扎氯铵、4重量%的硫辛酸胆碱酯或其衍生物、以及水组成,其中所述药物组合物的pH值为4.4至4.6。

[0084] LACE与非水性赋形剂的混合

[0085] 如上所述,可以通过预先将治疗有效量的硫辛酸胆碱酯与非水性赋形剂混合以形成非水性组合物从而形成本文所述的药物组合物。随后可以进一步将所述非水性组合物与水溶液混合例如,以形成眼用制剂。在某些方面,本发明还提供了通过将所述非水性组合物与所述水溶液分开储存于例如,两部分的装置(例如,如本文所述)或试剂盒中从而长期储存所述药物组合物的系统或方法。随后可以在使用前将所述分开储存的非水性组合物与所述水溶液混合以形成“激活的”制剂。

[0086] 所述非水性组合物可以通过将硫辛酸胆碱酯和非水性赋形剂混合而形成的溶液、乳液或悬浮液。所述混合可以在加热持续的时间段下进行。在某些实施方案中,所述混合在20℃至100℃(例如,20℃、30℃、40℃、50℃、60℃、70℃、80℃、90℃、100℃、或任何基于这些特定数值的范围)的温度下进行1小时至24小时(例如,1小时、2小时、4小时、6小时、8小时、10小时、12小时、14小时、16小时、18小时、20小时、22小时、24小时、或任何基于这些指定的数值的范围)的时间段。在某些实施方案中,所述混合是在37℃至80℃的温度下进行的。在某些实施方案中,使所述混合进行8小时。

[0087] 在某些实施方案中,所述非水性组合物是溶液。在某些实施方案中,所述溶液包含硫辛酸胆碱酯。在某些实施方案中,所述溶液包含硫辛酸胆碱酯的衍生物(例如,由硫辛酸胆碱酯和非水性赋形剂(例如,丙二醇或甘油)形成的反应产物。溶液中硫辛酸胆碱酯或其衍生物的浓度可以高达在非水性赋形剂(例如,丙二醇或甘油)中的溶解度极限。在某些实施方案中,硫辛酸胆碱酯或其衍生物的浓度以所述溶液的重量计为0.1%至40%(例如,1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%,或任何基于这些特定数值的范围)。

[0088] 所述非水性组合物与水溶液的混合

[0089] 可以将本文所述的非水性组合物与pH值为4至8(例如,4.2、4.4、4.6、4.8、5.0、5.2、5.4、5.6、5.8、6.0、6.2、6.4、6.6、6.8、7.0、7.2、7.4、7.6、7.8、8.0、或任何基于这些特定数值的范围)的水溶液混合以形成眼用制剂。在某些实施方案中,混合所述非水性组合物基本上不改变所述水溶液的pH值,即,眼用制剂的pH值也是4至8。在某些实施方案中,眼用制剂的pH值为4至6(例如,4.2、4.4、4.6、4.8、5.0、5.2、5.4、5.6、5.8、6.0,或任何基于这些指定的数值的范围)。在某些实施方案中,眼用制剂的pH值为4.2至4.7(例如,4.5)。

[0090] 可以对眼用制剂进行灭菌。在某些实施方案中,在与所述水溶液混合前对所述非水性组合物进行灭菌。在某些实施方案中,也对所述水溶液进行灭菌。在某些实施方案中,将所述非水性组合物与所述水溶液(例如,经灭菌的水溶液,或未灭菌的水溶液)混合并且随后进行灭菌。

[0091] 眼用制剂可以包含选自以下的一种或多种成分:生化可接受的能量源、防腐剂、缓冲剂、张度剂、表面活性剂、粘度改性剂和抗氧化剂。合适的生化可接受的能量源、防腐剂、缓冲剂、张度剂、表面活性剂、粘度改性剂和抗氧化剂为本文所描述的那些。在某些实施方案中,在与所述非水性组合物混合前将所述一种或多种成分混合于所述水溶液中。在某些实施方案中,在与所述水溶液混合前将所述一种或多种成分混合于所述非水性组合物中。本文也描述了生化可接受的能量源、防腐剂、缓冲剂、张度剂、表面活性剂、粘度改性剂和抗氧化剂的合适的量。然而,在本文所述的任何实施方案中,所述眼用制剂也可以不含缓冲剂、表面活性剂、粘度改性剂、防腐剂、或其组合。

[0092] 在某些实施方案中,所述眼用制剂的特征在于下列一项或多项:

[0093] (a) 以所述制剂的重量计具有浓度为1%至10% (例如,1%、1.5%、3%、4%、5%、或基于所述特定数值的任何范围) 的硫辛酸胆碱酯或其衍生物;

[0094] (b) 以所述制剂的重量计具有浓度为0.005%至0.1% (例如,0.01%) 的防腐剂 (例如,苯扎氯铵);

[0095] (c) pH值为4至6 (例如,4.2,4.4,4.6,4.8,5.0,5.2,5.4,5.6,5.8,6.0,或任何基于这些特定数值的范围);

[0096] (d) 以所述制剂的重量计具有0.1%至5% (例如,0.5%) 的生化能量源 (例如,丙氨酸);

[0097] (e) 以所述制剂的重量计具有浓度为0.5%至5% (例如,2.7%) 的甘油;以及

[0098] (f) 具有大于3个月 (例如,3个月、6个月、9个月或12个月) 的保质期稳定性。

[0099] 在某些实施方案中,所述眼用制剂包含非水性赋形剂,所述非水性赋形剂是以所述组合物的重量计浓度为2.7%的甘油。在一些实施方案中,甘油的浓度以所述制剂的重量计为3%。

[0100] 在某些实施方案中,所述眼用制剂基本上由0.025重量%的乙二胺四乙酸二钠脱水物、1.3重量%的甘油、0.5重量%的丙氨酸、0.01重量%的苯扎氯铵、1重量%的硫辛酸胆碱酯或其衍生物、以及水组成,其中所述眼用制剂的pH值为4.3至4.7。

[0101] 在某些实施方案中,所述眼用制剂基本上由0.025重量%的乙二胺四乙酸二钠脱水物、0.4重量%的甘油、0.5重量%的丙氨酸、0.01重量%的苯扎氯铵、3重量%的硫辛酸胆碱酯或其衍生物、以及水组成,其中所述眼用制剂的pH值为4.3至4.7。

[0102] 在某些实施方案中,所述眼用制剂基本上由0.025重量%的乙二胺四乙酸二钠脱水物、0.1重量%的甘油、0.5重量%的丙氨酸、0.01重量%的苯扎氯铵、4重量%的硫辛酸胆碱酯或其衍生物、以及水组成,其中所述眼用制剂的pH值为4.4至4.6。

[0103] LACE制剂的储存

[0104] 由于硫辛酸胆碱酯可能易于水解和光诱导的氧化,在某些实施方案中,本发明提供了用于将硫辛酸胆碱酯储存在非水性环境、无氧环境中,和/或具有减少的曝光量的方法。在某些实施方案中,将所述硫辛酸胆碱酯储存在非水性环境中。在某些实施方案中,将所述硫辛酸胆碱酯储存在非水性环境中作为冻干粉末。在某些实施方案中,将硫辛酸胆碱酯储存在非水性环境中作为非水性组合物 (例如,如本文所述) 的形式。在某些实施方案中,将所述硫辛酸胆碱酯储存在不透明容器中的非水性环境中。在某些实施方案中,所述非水性环境基本上不含氧。

[0105] 在某些实施方案中,将硫辛酸胆碱酯储存在水性环境中(例如,在将非水性组合物与水溶液混合后),其中所述水性环境不含氧。在某些实施方案中,将所述硫辛酸胆碱酯储存在具有减少的曝光量的水性环境中(例如,在不透明容器中)。

[0106] 在某些实施方案中,本发明还提供了用于将包含活性成分的药物组合物储存于水溶液中的系统,其中所述活性成分(例如,硫辛酸胆碱酯或其衍生物)易于在水溶液中水解。

[0107] 在某些实施方案中,所述系统包括第一隔室、第二隔室和分隔所述第一隔室和第二隔室的密封物,其中第一隔室含有包含活性成分(例如,硫辛酸胆碱酯或其衍生物)的非水性组合物,第二隔室包含水溶液。在某些实施方案中,所述第一隔室中的活性成分为固体形式(例如,粉末,例如,冻干粉末)。在某些实施方案中,将所述第一隔室中的活性成分与非水性赋形剂(例如,如本文所述的)混合。在某些实施方案中,在破坏密封物并且将所述非水性溶液与所述水溶液混合后所述系统被激活。

[0108] 所述系统的实例为图4所示的改进的滴眼剂瓶。所述滴眼剂瓶包括两部分,部分1(包括第一隔室和密封物,在图4中示为插入件)和部分2(包括第二隔室)(参见图4),并且在形成用于患者激活和使用的最终制剂前,所述隔室彼此分开。在某些实施方案中,滴眼剂瓶的部分1包含本文所述的非水性组合物中的任何一种(例如,与甘油混合的硫辛酸胆碱酯或其衍生物)。在某些实施方案中,滴眼剂瓶的部分1含有包含易于在水溶液中水解的活性成分(例如,肽)的非水性组合物。

[0109] 在某些实施方案中,滴眼剂瓶的部分1包含在甘油中的硫辛酸胆碱酯或其衍生物(例如,150mg LACE/1.03uL甘油)。在某些实施方案中,滴眼剂瓶的部分2包含具有下列赋形剂的水溶液(4.8mL):0.01重量%的苯扎氯铵;2.6重量%的甘油,USP级;以及0.5重量%的丙氨酸,USP级,其中所述溶液的pH值为 $4.5 \pm 0.2$ 。

[0110] 所述插入件将所述非水性组合物与部分2分开直至激活,这允许长期储存直至开始短期眼部治疗。在某些实施方案中,所述插入件包括主插入件固定支架;内管;以及下部密封物,其中所述内管配置为包含所述非水性组合物并且下部密封物配置为防止所述非水性组合物与所述水溶液的接触。在某些实施方案中,滴眼剂瓶包括密封所述插入件的滴管尖端。在某些实施方案中,配置滴眼剂瓶使得压缩或挤压所述瓶足以使下部密封物向上移动,由此使内管穿孔暴露以将所述非水性组合物释放至所述水溶液中。

[0111] 在以上所述的任何实施方案中,在释放至水溶液之前所述包含活性药物成分(例如,硫辛酸胆碱酯或其衍生物)的非水性组合物可保质期稳定至少3个月(例如,6个月、9个月、12个月、2年、或大于2年)。在某些实施方案中,所述非水性组合物的特征在于:有2%或更少(例如,1.5%、1%、0.5%或0.2%)的活性药物成分被降解。在某些实施方案中,所述非水性组合物的特征在于:有10%或更少(例如,9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.2%)的活性药物成分被降解。在某些实施方案中,通过将所述非水性组合物释放至所述水溶液中而形成的药物组合物可保质期稳定至少3个月(例如,6个月、9个月或12个月)。

[0112] 在某些实施方案中,本发明还提供了储存易于在水溶液中水解的活性成分的方法,所述方法包括(a)在第一隔室中提供活性成分;(b)在第二隔室中提供水溶液;以及(c)分隔所述第一隔室和所述第二隔室(例如,用密封物),其中直至即将例如,通过破坏所述密封物而进行使用之前,所述第一隔室中的所述活性成分不与所述水溶液接触。在某些实施

方案中,将所述第一隔室中的活性成分与非水性赋形剂(例如,如本文所述)混合。在某些实施方案中,所述活性成分是硫辛酸胆碱酯或其衍生物、或肽。配置所述第一隔室和所述第二隔室的合适的方法包括本文所述的那些。

#### [0113] 治疗方法

[0114] 可以将包含硫辛酸胆碱酯或其衍生物(例如,如本文所述)的药物组合物用于治疗或预防与氧化性损伤相关的疾病或病症的方法中。与氧化性损伤相关的疾病或病症是已知的。

[0115] 在某些实施方案中,本发明提供了治疗需要其的个体的眼部疾病的方法,其包括向个体的晶状体或眼睛中施用治疗有效量的的本文所述的任何药物组合物。在某些实施方案中,所述眼部疾病是老花眼、白内障、黄斑变性(包括与年龄有关的黄斑变性)、视网膜病(包括糖尿病视网膜病)、青光眼或眼部炎症。在某些实施方案中,所述眼部疾病是老花眼。

[0116] 用于治疗或预防本文的眼部疾病的方法的药物组合物的合适的量可以是任何治疗有效量。在某些实施方案中,所述方法包括向个体的晶状体或眼睛施用对将晶状体的调节幅度增加至少0.1屈光度(D)(例如,0.1、0.2、0.5、1、1.2、1.5、1.8、2、2.5、3或5屈光度)有效的量的药物组合物。在某些实施方案中,所述方法包括向个体的晶状体或眼睛施用1-5滴(约40uL/滴)药物组合物。在某些实施方案中,一天用所述药物组合物治疗所述个体的晶状体或眼睛1次、2次、3次、4次、5次或多于5次,每次用1-5滴(约40uL/滴)。在某些实施方案中,每次用1滴、2滴、3滴、4滴、5滴或多于5滴的所述药物组合物治疗所述个体的晶状体或眼睛。在某些实施方案中,每天用本文的药物组合物治疗所述个体的晶状体或眼睛两次或三次,每次用1滴或2滴(约40uL/滴)。

[0117] 所述方法包括可在任何年龄的患者上进行的预防性方法。所述方法还包括可在任何年龄的患者,特别是20岁、25岁、30岁、35岁、40岁、45岁、50岁、52岁、55岁、57岁、60岁、70岁、75岁或80岁,或更年长的患者上进行治疗性方法。

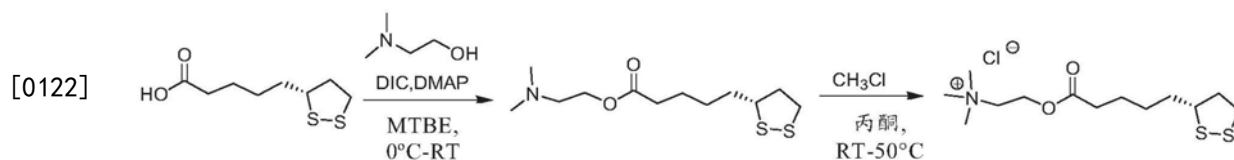
[0118] 以下实施例是示例性的并且不限制要求保护的实施方案的范围。

### 实施例

#### [0119] 实施例1

#### [0120] LACE氯化物的合成

[0121] 以下描述了硫辛酸胆碱酯氯化物的两步合成。



[0123] 在氮气下于室温将R-硫辛酸(5g, 24.3mmol)、二甲氨基乙醇(2.37g, 26.7mmol)和DMAP(0.9g, 7.3mmol)悬浮于MTBE(40mL)中。将该反应混合物冷却至0℃并且添加在MTBE(20mL)中的DIC(3.36g, 26.7mmol)。添加后,将该混合物缓慢升至室温并搅拌最少12小时。通过TLC(5%MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)监控反应。将反应混合物过滤、用MTBE洗涤,并经快速色谱法纯化以得到黄色的油(3.3g, 10.1mmol)。

[0124] 将以上获得的硫辛酸酯(0.5g, 1.8mmol)悬浮于丙酮(1.8mL)中并添加CH<sub>3</sub>Cl

(1.8mL, 1.0在MTBE中)。在氮气下于50℃在密封的管中将反应加热过夜。HPLC显示95%的转化率。

[0125] 实施例2

[0126] LACE制剂的稳定性研究

[0127] 测试各种硫辛酸胆碱酯制剂的稳定性

[0128] 设备

[0129] 用于执行HPLC测试的HPLC系统通过CGMP用IQ、OQ和PQ验证合格。使用的各个系统由Waters 2695分离模块和Waters 2487双λ吸光度检测器组成。

[0130] 在实验中使用了以下额外的设备：

[0131] Mettler AE163天平, E-000, 902

[0132] Mettler AE200天平, E-000, 903

[0133] Mettler PB3002天平, E-000, 904

[0134] Fisher ARSO Accumet pH计, E-000, 726

[0135] Precision Systems 5004J.-L0smette型渗透压计, E-000, 705、E-000, 800

[0136] Millipore A-10优势纯化水系统, E-000, 723

[0137] 容器封闭

[0138] 3mL白色瓶：

[0139] 3cc LDPE圆柱形圆瓶, 树脂:杜邦20-6064, 颜色:白色, PCC PEC17030 (WX in Mix), Alcan包装, 产品编号:20319-137 (BPN-000, 688)

[0140] 3cc LDPE圆柱形圆瓶, 树脂:Chevron PE 5104, 颜色:白色WX0200, Alcan包装, 产品编号:20319-007 (BPN-000, 441)

[0141] 3mL本色瓶：

[0142] 3cc圆柱形圆瓶, 树脂:LDPE Chevron Phillips PE 5104, 颜色:本色, 添加剂:PCC Lube-ZnSt 110445 S068, Alcan包装, 产品编号:20319-006 (BPN-000, 653)

[0143] 尖端：

[0144] 8mm可控滴管尖端, 0.020针头, 本色, 树脂:LLDPE Dow Dowlex 2517; Alcan包装; 产品编号:12208-0AA (BPN-000, 443)

[0145] 8mm可控滴管尖端, 0.020针, 本色, 树脂:LDPE Dupont 20-6064; Alcan包装; 产品编号:12208-015 (BPN-000, 492B)

[0146] 盖子：

[0147] 08/425滴管尖端盖子, 树脂:PP Sunoco FT-120-W2, 颜色:白色PCC C10054C, Alcan包装, 产品编号:15055-201 (BPN-000, 442)

[0148] 方法

[0149] 根据USP/NF<791>和SOP-00273测量pH值。根据USP/NF<785>和SOP-00084测量渗透压度。

[0150] 分析LACE氯化物的HPLC方法使用了具有5μm粒度, 100Å孔径, 2.0mm内径和50mm长度的Phenomenex Luna CN柱(PN:00B-4255-B0)。流动相由50%的0.1M醋酸钠和50%的乙腈组成。流速为1.0mL/min, 检测波长为225nm, 柱温为40℃, 进样体积为20μL, 并且运行时间为50分钟。LACE氯化物工作浓度为0.1mg/mL并且将塑料的HPLC小瓶用于分析。

[0151] 为了对LACE氯化物制剂 (BCL457-180、BCL471-189、BCL483-079、BCL483-165、BCL489-027) 的最终稳定性进行筛选,将流动相浓度错误地配制为0.01M醋酸钠。这导致较宽的LACE峰和较长的保留时间,但这似乎不影响结果。LACE标准与样品中的LACE相一致。

[0152] 制剂BCL442-110 B-H

[0153] 表1示出pH 5.5和pH 7.0的LACE氯化物眼用制剂的详细配方 (BCL442-110)。

[0154] 表1:磷酸盐缓冲液中的LACE氯化物眼用制剂

[0155]

| 组分           | BCL442-110B | BCL442-110C | BCL442-110D | BCL442-110F | BCL442-110G | BCL442-110H |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 磷酸二氢钠一水合物    | 0.07%       | 0.07%       | 0.07%       | 0.07%       | 0.07%       | 0.07%       |
| 无水磷酸氢二钠      | 0.13%       | 0.13%       | 0.13%       | 0.13%       | 0.13%       | 0.13%       |
| 甘油           | 1.5%        | 0.8%        | 0%          | 1.5%        | 0.8%        | 0%          |
| 乙二胺四乙酸二钠二水合物 | 0.10%       | 0.10%       | 0.10%       | 0.10%       | 0.10%       | 0.10%       |
| 苯扎氯铵         | 0.01%       | 0.01%       | 0.01%       | 0.01%       | 0.01%       | 0.01%       |
| 丙氨酸          | 0.10%       | 0.10%       | 0.10%       | 0.10%       | 0.10%       | 0.10%       |
| LACE氯化物      | 1.5%        | 3.0%        | 5.0%        | 1.5%        | 3.0%        | 5.0%        |

[0156] 在包含pH 5.5或pH 7.0的1.5%、3.0%和5.0%的LACE氯化物的溶液中测量pH、渗透压、外观和LACE氯化物浓度。在制备后进行四天LACE氯化物测定。溶液显示在自制备的时间直至进行测定的四天期间内,LACE氯化物在pH 7下不是很稳定。但是在pH 5.5下的溶液导致了86%至109%的回收率,这表明对于LACE氯化物制剂,较低的pH更稳定。

[0157] 制剂BCL448-053C和D

[0158] 在柠檬酸缓冲液 (BCL448-053) 中的详细的LACE氯化物眼用制剂描述于表2:

[0159] 表2:柠檬酸缓冲液中的LACE氯化物服用制剂

[0160]

| 组分           | BCL448-053 C<br>(DA-000,207) | BCL448-053 D<br>(DA-000,208) |
|--------------|------------------------------|------------------------------|
| 柠檬酸          | 0.50%                        | 0.50%                        |
| 甘油           | 0.75%                        | 0.40%                        |
| 乙二胺四乙酸二钠二水合物 | 0.10%                        | 0.10%                        |
| 苯扎氯铵         | 0.01%                        | 0.01%                        |
| 丙二醇          | 0.75%                        | 0.40%                        |
| 丙氨酸          | 0.10%                        | 0.10%                        |
| LACE氯化物      | 1.5%                         | 3.0%                         |
| pH目标         | 5.5                          | 5.5                          |

[0161] 在制备时和在5℃ (环境RH)、25℃ (40%RH)、40℃ (不超过 (NMT) 25%RH) 和57℃ (环境RH) 下储存三个月后测试溶液。评价溶液的LACE氯化物浓度以测定LACE随时间的稳定性。储存在5℃下的1.5%的LACE氯化物溶液是唯一在3个月后未显示出明显改变并且回收97%的LACE的溶液。

[0162] 制剂BCL457-180D和E

[0163] 不含缓冲剂、含有或不含有聚山梨醇酯80 (BCL457-180) 的LACE氯化物眼用制剂的细节示于表3。

[0164] 表3:不含缓冲剂的LACE氯化物眼用制剂

| [0165] | 组分           | BCL457-180 D<br>(DA-000,294) | BCL457-180 E<br>(DA-000,295) |
|--------|--------------|------------------------------|------------------------------|
|        | 甘油           | 2.0%                         | 2.0%                         |
|        | 乙二胺四乙酸二钠二水合物 | 0.025%                       | 0.025%                       |
|        | 苯扎氯铵         | 0.01%                        | 0.01%                        |
|        | 聚山梨醇酯80      | 0.0%                         | 0.5%                         |
|        | 丙氨酸          | 0.5%                         | 0.5%                         |
|        | 硫辛酸胆碱酯氯化物盐   | 1.0%                         | 1.0%                         |

[0166] 在制备时和在5℃(环境RH)、25℃(40%RH)、40℃(NMT 25%RH)和57℃(环境RH)下储存三个月后测试所述溶液。

[0167] 结果显示在5℃和25℃/40%RH下,制剂的LACE氯化物效力在3个月内是稳定的。在40℃/NMT 25%RH下的溶液在两个月后显示小于初始值的90%的效力。在含有和不含有聚山梨醇酯80的制剂之间未观察到显著的稳定性差异。

[0168] 实施例3

[0169] 含有丙二醇的LACE制剂

[0170] 制备LACE氯化物的丙二醇溶液以测定其稳定性。制备1.0%的LACE氯化物的丙二醇溶液并储存在-20℃(环境RH)、5℃(环境RH)和25℃(40%RH)。在储存3个月后,测试溶液的LACE氯化物效力。

[0171] 结果显示在5℃和25℃下储存3个月后,LACE氯化物在丙二醇中不稳定。在这些样品中,HPLC分析(使用实施例2中所述的方法)峰具有约0.73的相对保留时间(RRT)。对于储存于室温的溶液,LACE氯化物完全转化为该峰。未检测到其他峰。在柠檬酸缓冲液中的LACE氯化物溶液中未检测到0.73RRT处的峰。

[0172] 实施例4

[0173] 三个月稳定性结果

[0174] 配方

[0175] 制备三种配方的LACE眼用溶液,10mg/mL(1%);30mg/mL(3%);和40mg/mL(4%),并测试稳定性。

[0176] 1%的LACE溶液:

[0177] 0.025重量%的乙二胺四乙酸二钠脱水物,

[0178] 1.3重量%的甘油,

[0179] 0.5重量%的丙氨酸,

[0180] 0.01重量%的苯扎氯铵,

[0181] 1重量%的硫辛酸胆碱酯,

[0182] 水,以及

[0183] 氢氧化钠(1N)和/或HCl(1N)以将pH调节为4至5。

[0184] 3%的LACE溶液:

[0185] 0.025重量%的乙二胺四乙酸二钠脱水物,

[0186] 0.4重量%的甘油,

[0187] 0.5重量%的丙氨酸,

[0188] 0.01重量%的苯扎氯铵,

- [0189] 3重量%的硫辛酸胆碱酯，  
[0190] 水，以及  
[0191] 氢氧化钠 (1N) 和/或HCl (1N) 以将pH调节为4至5。  
[0192] 4%的LACE溶液：  
[0193] 0.025重量%的乙二胺四乙酸二钠脱水物，  
[0194] 0.1重量%的甘油，  
[0195] 0.5重量%的丙氨酸，  
[0196] 0.01重量%的苯扎氯铵，  
[0197] 4重量%的硫辛酸胆碱酯，  
[0198] 水，以及  
[0199] 氢氧化钠 (1N) 和/或HCl (1N) 以将pH调节为4至5。  
[0200] HPLC方法  
[0201] 设备：  
[0202] Waters 2695分离模块或等同物，其包含能够输送1.0mL/min的梯度流速的泵或等同物、以及自动进样器。  
[0203] Waters 2987多波长检测器或能够检测225nm处的单波长检测器或等同物。  
[0204] 柱:YMC Pack ODS AQ, 250x4.6mm, PN:AQ125052546WT  
[0205] 试剂：  
[0206] 乙腈，HPLC级或同等级别  
[0207] 甲醇，HPLC级或同等级别  
[0208] 磷酸二氢钠一水合物，USP级或同等级别  
[0209] 1-庚烷磺酸钠盐，HPLC级或同等级别  
[0210] 三乙胺，HPLC级或同等级别  
[0211] 磷酸，NF级或同等级别  
[0212] 纯化水  
[0213] 分析天平  
[0214] 各种A类容量瓶  
[0215] 各种A类移液管  
[0216] 各种有刻度的量筒，HPLC小瓶  
[0217] HPLC系统参数：  
[0218] 柱:YMC Pack ODS AQ, 250×4.6mm, 5um, 12nm, PN:AQ 125052546WT  
[0219] 流动相：  
[0220] A:0.05M磷酸钠,0.005M 1-庚烷磺酸钠盐,0.2%三乙胺,pH 4.5 (±0.2) (用磷酸调节的)  
[0221] D:乙腈  
[0222] 梯度：

[0223]

| 时间(min) | %A | %D |
|---------|----|----|
| 0       | 90 | 10 |
| 29.0    | 50 | 50 |
| 30.0    | 50 | 50 |
| 30.5    | 90 | 10 |
| 50.0    | 90 | 10 |

[0224]

流速: 1.0 mL/min  
 波长: 225 nm  
 柱温: 60 °C  
 进样体积: 10 uL (效力), 50 uL (RS)  
 大约运行时间\*: 50 min  
 大约保留时间\*: 21 min

[0225] \*运行时间和保留时间会根据柱的年龄和使用的仪器的类型而改变

[0226] 洗针液 水:乙腈 (90:10)

[0227] 稀释液 0.05M磷酸钠

[0228] 结果

[0229] 将所述制剂储存在四种不同的条件下,即,在环境RH、5°C下;在40%RH、25°C下;在不超过25%RH、40°C下;以及在环境RH、-20°C下。在时间0、1个月和3个月时采集样品用于测试EDTA含量、BAK含量、pH和LACE效力。结果示于下表4-7。外观测试也在时间0、1个月和3个月时进行(参见表8)。通过HPLC分析药物相关的杂质。表9A-9D示出在时间0、1个月和3个月时形成的药物相关的杂质的量(表中仅报道了量大于0.05%的杂质)。

[0230] 表4. EDTA测定结果

[0231]

| 制剂                | EV06眼用溶液, 空白对照 | EV06眼用溶液, 10 mg/mL | EV06眼用溶液, 30 mg/mL | EV06眼用溶液, 40 mg/mL |
|-------------------|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 批号                | BCL545-129A    | BCL545-129B批次      | BCL545-129C批次      | BCL545-129D批次      |
| 规格                | 80.0 %至120.0 % | 80.0 %至120.0 %     | 80.0 %至120.0 %     | 80.0 %至120.0 %     |
| 5 °C /环境RH        | 0              | 97.8%              | 98.9%              | 98.5%              |
|                   | 1              | 101.0%             | 100.4%             | 100.1%             |
|                   | 3              | 99.3%              | 98.2%              | 99.7%              |
| 25°C/40 % RH      | 1              | 102.8%             | 100.5%             | 100.1%             |
|                   | 3              | 99.5%              | 96.5%              | 93.9%              |
| 40°C/ NMT 25 % RH | 1              | 100.8%             | 93.1%              | 91.3%              |
|                   | 3              | 101.1%             | 54.5%              | 16.3%              |
| -20°C/环境RH        | 1              | IP                 | IP                 | IP                 |

[0232] 表5. BAK结果

[0233]

| 制剂                  |   | EV06眼用溶液，<br>空白对照 | EV06眼用溶液，<br>10 mg/mL | EV06眼用溶液，<br>30 mg/mL | EV06眼用溶液，<br>40 mg/mL |
|---------------------|---|-------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 批号                  |   | BCL545-129A       | BCL545-129B批次         | BCL545-129C批次         | BCL545-129D批次         |
| 规格                  |   | 80.0 %至120.0 %    | 80.0 %至120.0 %        | 80.0 %至120.0 %        | 80.0 %至120.0 %        |
| 5°C/环境RH            | 0 | 96.9%             | 94.4%                 | 95.0%                 | 95.6%                 |
|                     | 1 | 96.3%             | 93.4%                 | 94.5%                 | 96.0%                 |
|                     | 3 | 96.5%             | 93.5%                 | 93.5%                 | 94.3%                 |
| 25°C/40 % RH        | 1 | 96.6%             | 94.4%                 | 94.3%                 | 95.9%                 |
|                     | 3 | 96.6%             | 93.1%                 | 93.5%                 | 93.6%                 |
| 40°C/NMT 25 %<br>RH | 1 | 98.2%             | 94.0%                 | 92.8%                 | 94.8%                 |
|                     | 3 | 96.4%             | 94.0%                 | 38.3%                 | 164.5%                |
| -20°C/环境RH          | 1 |                   |                       |                       |                       |

[0234]

表6.pH结果

[0235]

| 制剂                  |   | EV06眼用溶液，<br>空白对照 | EV06眼用溶液，<br>10 mg/mL | EV06眼用溶液，<br>30 mg/mL | EV06眼用溶液，<br>40 mg/mL |
|---------------------|---|-------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 批号                  |   | BCL545-129A       | BCL545-129B批次         | BCL545-129C批次         | BCL545-129D批次         |
| 规格                  |   | 4.0至5.0           | 4.0至5.0               | 4.0至5.0               | 4.0至5.0               |
| 5°C/环境RH            | 0 | 4.6               | 4.6                   | 4.5                   | 4.5                   |
|                     | 1 | 4.6               | 4.5                   | 4.9                   | 4.4                   |
|                     | 3 | 4.6               | 4.5                   | 4.5                   | 4.4                   |
| 25°C/40 %<br>RH     | 1 | 4.5               | 4.5                   | 4.4                   | 4.3                   |
|                     | 3 | 4.7               | 4.7                   | 4.6                   | 4.1                   |
| 40°C/NMT 25 %<br>RH | 1 | 4.5               | 4.3                   | 4.2                   | 4.1                   |
|                     | 3 | 4.6               | 4.5                   | 4.7                   | 3.8                   |
| -20°C/环境RH          | 1 | 4.6               | 4.4                   | 4.4                   | 4.3                   |

[0236]

表7.LACE效力结果

[0237]

| 测试物编号                |   | STA-000,325           |        | STA-000,326        |        | STA-000,327           |        |
|----------------------|---|-----------------------|--------|--------------------|--------|-----------------------|--------|
| 制剂                   |   | EV06眼用溶液，<br>10 mg/mL |        | EV06眼用溶液， 30 mg/mL |        | EV06眼用溶液，<br>40 mg/mL |        |
| 批号                   |   | BCL545-129B批次         |        | BCL545-129C批次      |        | BCL545-129D批次         |        |
| 规格                   |   | 初始值的90.0%至110.0%      |        | 初始值的90.0%至110.0%   |        | 初始值的90.0%至110.0%      |        |
| 结果                   |   | 标签声称值的<br>%           | 初始值的%  | 标签声称值的<br>%        | 初始值的%  | 标签声称值的<br>%           | 初始值的%  |
| 5°C/环境RH             | 0 | 98.1%                 | N/A    | 94.0%              | N/A    | 91.5%                 | N/A    |
|                      | 1 | 98.9%                 | 100.8% | 98.0%              | 104.3% | 100.8%                | 110.2% |
|                      | 3 | 99.4%                 | 101.3% | 95.9%              | 102.0% | 94.5%                 | 103.3% |
| 25°C/40 %<br>RH      | 1 | 102.2%                | 104.2% | 97.3%              | 103.5% | 98.4%                 | 107.5% |
|                      | 3 | 94.2%                 | 96.0%  | 92.8%              | 98.7%  | 89.8%                 | 98.1%  |
| 40°C/ NMT 25<br>% RH | 1 | 93.5%                 | 95.3%  | 92.5%              | 98.4%  | 94.2%                 | 103.0% |
|                      | 3 | 79.3%                 | 80.8%  | 73.6%              | 78.3%  | 68.1%                 | 74.4%  |
| -20°C/环境RH           | 1 | 92.3%                 | 94.1%  | 91.6%              | 97.4%  | 80.0%                 | 87.4%  |

[0238]

表 8. 外观结果

| 制剂                       | EV06眼用溶液, 空白对照               | EV06眼用溶液, 10 mg/mL                               | EV06眼用溶液, 30 mg/mL                          | EV06眼用溶液, 40 mg/mL                           |
|--------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------|
| 批号                       | BCL545 - 129A                | BCL545 - 129B批次                                  | BCL545 - 129C批次                             | BCL545 - 129D批次                              |
| 规格                       | 透明, 无色溶液                     | 透明, 无色至黄色溶液                                      | 透明, 无色至黄色溶液                                 | 透明, 无色至黄色溶液                                  |
| 0<br>5°C/环境RH            | 透明, 无色溶液                     | 透明, 黄色溶液<br>孟塞尔: 5Y 9/1                          | 透明, 黄色溶液<br>孟塞尔: 5Y 9/2                     | 透明, 黄色溶液<br>孟塞尔: 5Y 9/2                      |
|                          | 透明, 无色溶液<br>在 500 nm处99.9% T | 透明, 微黄色溶液<br>在 500 nm处99.7%T<br>孟塞尔: 10YR9/0.5   | 透明, 微黄色溶液<br>在 500 nm处98.7%T<br>孟塞尔: 5Y9/1  | 透明, 微黄色溶液<br>在 500 nm处98.0%T<br>孟塞尔: 5Y9/1.5 |
|                          | 透明, 无色溶液<br>100.6%T          | 透明, 微黄色溶液<br>100.1%T<br>孟塞尔: 10YR9/0.5           | 透明, 微黄色溶液<br>99.5%T<br>孟塞尔: 5Y9/1           | 透明, 微黄色溶液<br>99.1%T<br>孟塞尔: 5Y9/1            |
| 1<br>25°C/40 % RH        | 透明, 无色溶液<br>在 500 nm处100.1%T | 透明, 微黄色溶液<br>在 500 nm处99.7%T<br>孟塞尔: 10YR9/0.5   | 透明, 微黄色溶液<br>在 500 nm处98.7%T<br>孟塞尔: 5Y9/1  | 透明, 微黄色溶液<br>在 500 nm处98.9%T<br>孟塞尔: 5Y9/1.5 |
|                          | 透明, 无色溶液<br>100.7%T          | 透明, 微黄色溶液<br>在 500 nm处100.3 %T<br>孟塞尔: 10YR9/0.5 | 透明, 微黄色溶液<br>99.7%T 孟塞尔:10YR9/1             | 透明, 微黄色溶液<br>99.3%T<br>孟塞尔: 5Y9/1            |
| 1<br>40°C/NMT 25 %<br>RH | 透明, 无色溶液<br>在 500 nm处99.8%T  | 透明, 微黄色溶液<br>在 500 nm处99.6%T<br>孟塞尔: 10YR9/0.5   | 透明, 微黄色溶液<br>在 500 nm处99.1%T<br>孟塞尔: 5Y9/1  | 透明, 微黄色溶液<br>在 500 nm处98.1%T<br>孟塞尔: 5Y9/1.5 |
|                          | 透明, 无色溶液<br>100.6%T          | 透明, 微黄色溶液<br>100.1%T<br>孟塞尔: 10YR9/1             | 透明, 微黄色溶液<br>13.4%T<br>孟塞尔: 5Y9/1           | 浑浊, 微黄色溶液<br>3.0%T<br>孟塞尔: 5Y9/1             |
| 1<br>-20°C/环境RH          | 透明, 无色溶液<br>99.6%T           | 透明, 淡黄色溶液<br>在 500 nm处98.4%T<br>孟塞尔: 5Y 9/0.5    | 透明, 淡黄色溶液<br>在 500 nm处96.3%T<br>孟塞尔: 5Y 9/1 | 透明, 淡黄色溶液<br>在 500 nm处96.8%T<br>孟塞尔: 5Y 9/1  |

[0239]

表 9A.对照溶液中的药物相关的杂质

| 批号                |   | BCL545 - 129A 批次          |           |      |           |           |      |      |      |           |       |       |  |
|-------------------|---|---------------------------|-----------|------|-----------|-----------|------|------|------|-----------|-------|-------|--|
| 规格                |   | ≥ 0.05 % 的各个杂质的报告 RRT 总报告 |           |      |           |           |      |      |      |           |       |       |  |
| 5°C/环境 RH         | 0 | 0.65-0.66                 | 0.67-0.68 | 0.68 | 0.80-0.81 | 1.08-1.09 | 1.12 | 1.17 | 1.19 | 1.21-1.22 | 1.29  | 总计    |  |
|                   | 1 |                           |           |      |           |           |      |      |      |           |       |       |  |
|                   | 3 | ND                        | ND        | ND   | ND        | ND        | ND   | ND   | ND   | ND        | 0.08% | 0.08% |  |
| 25°C/40 % RH      | 1 |                           |           |      |           |           |      |      |      |           |       |       |  |
|                   | 3 |                           |           |      |           |           |      |      |      |           |       |       |  |
| 40°C/ NMT 25 % RH | 1 |                           |           |      |           |           |      |      |      |           |       |       |  |
|                   | 3 | ND                        | ND        | ND   | 0.15%     | ND        | ND   | ND   | ND   | ND        | ND    | 0.15% |  |

表 9B. 1% LACE 溶液中的药物相关的杂质

| 批号                |   | BCL545 - 129B 批次          |           |           |           |           |           |      |      |           |      |        |  |
|-------------------|---|---------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|------|-----------|------|--------|--|
| 规格                |   | ≥ 0.05 % 的各个杂质的报告 RRT 总报告 |           |           |           |           |           |      |      |           |      |        |  |
| 5°C/环境 RH         | 0 | 0.65-0.66                 | 0.67-0.68 | 0.68-0.69 | 0.80-0.81 | 1.08-1.09 | 1.12-1.14 | 1.17 | 1.19 | 1.20-1.22 | 1.29 | 总计     |  |
|                   | 1 | 0.44%                     | 0.38%     | ND        | ND        | 0.13%     | ND        | ND   | ND   | ND        | ND   | 0.95%  |  |
|                   | 3 | 0.65%                     | 0.25%     | 0.42%     | ND        | 0.33%     | ND        | ND   | ND   | 0.05%     | ND   | 1.70%  |  |
| 25°C/40 % RH      | 1 | 1.68%                     | 1.36%     | ND        | 0.14%     | ND        | 0.89%     | ND   | ND   | 0.24%     | ND   | 4.31%  |  |
|                   | 3 | 1.48%                     | 0.15%     | ND        | ND        | 0.82%     | ND        | ND   | ND   | ND        | ND   | 2.45%  |  |
| 40°C/ NMT 25 % RH | 1 | 1.46%                     | 1.57%     | ND        | ND        | 0.09%     | 2.49%     | ND   | ND   | 0.30%     | ND   | 5.91%  |  |
|                   | 3 | 4.26%                     | 0.22%     | 0.10%     | ND        | 2.59%     | ND        | ND   | ND   | 0.06%     | ND   | 7.23%  |  |
| -20°C/环境 RH       | 1 | 4.23%                     | 1.85%     | ND        | ND        | 0.27%     | 7.25%     | ND   | ND   | 0.37%     | ND   | 13.97% |  |
|                   | 3 | ND                        | 0.34%     | 0.06%     | ND        | ND        | 0.49%     | ND   | ND   | 0.11%     | ND   | 1.00%  |  |

[0240]

表 9C. 3% LACE 溶液中的药物相关的杂质

| 批号               |   | BCL545 - 129C 批次               |           |           |           |           |           |      |      |           |      |       |
|------------------|---|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|------|-----------|------|-------|
| 规格               |   | ≥ 0.05 % 的各个单个杂质的报告 RRT<br>总报告 |           |           |           |           |           |      |      |           |      |       |
| 5°C/环境 RH        | 0 | 0.65-0.66                      | 0.67-0.68 | 0.68-0.69 | 0.80-0.81 | 1.08-1.09 | 1.12-1.14 | 1.17 | 1.19 | 1.20-1.22 | 1.29 | 总计    |
|                  | 1 | 0.24%                          | 0.31%     | ND        | ND        | 0.11%     | ND        | ND   | ND   | ND        | ND   | 0.66% |
|                  | 3 | 0.56%                          | 0.12%     | 0.11%     | ND        | 0.30%     | ND        | ND   | ND   | 0.05%     | ND   | 1.14% |
| 25°C/40 % RH     | 0 | 0.54%                          | 1.20%     | ND        | ND        | ND        | 0.69%     | ND   | ND   | 0.27%     | ND   | 2.70% |
|                  | 1 | 1.40%                          | 0.14%     | ND        | ND        | 0.83%     | ND        | ND   | ND   | ND        | ND   | 2.37% |
|                  | 3 | 1.28%                          | 1.10%     | ND        | ND        | ND        | 1.56%     | ND   | ND   | 0.16%     | ND   | 4.10% |
| 40°C/NMT 25 % RH | 0 | 3.97%                          | 0.14%     | ND        | ND        | 2.75%     | ND        | ND   | ND   | ND        | ND   | 6.86% |
|                  | 1 | 3.56%                          | 0.81%     | ND        | 0.09%     | ND        | 3.10%     | ND   | ND   | 0.13%     | ND   | 7.69% |
|                  | 3 | 0.06%                          | 0.30%     | 0.08%     | ND        | ND        | 0.28%     | ND   | ND   | 0.10%     | ND   | 0.81% |
| -20°C/环境 RH      |   | 1                              | 0.06%     | 0.30%     | 0.08%     | ND        | 0.28%     | ND   | ND   | 0.10%     | ND   | 0.81% |

[0241] 实施例5

[0242] Dioptin™ 滴眼剂降低小鼠晶状体弹性

表 9D. 4% LACE 溶液中的药物相关的杂质

| 批号               |   | BCL545 - 129D 批次               |             |           |           |           |           |       |       |           |      |       |
|------------------|---|--------------------------------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|-------|-----------|------|-------|
| 规格               |   | ≥ 0.05 % 的各个单个杂质的报告 RRT<br>总报告 |             |           |           |           |           |       |       |           |      |       |
| 5°C/环境 RH        | 0 | 0.65 - 0.66                    | 0.67 - 0.68 | 0.68-0.69 | 0.80-0.81 | 1.08-1.09 | 1.12-1.14 | 1.17  | 1.19  | 1.20-1.22 | 1.29 | 总计    |
|                  | 1 | 0.21%                          | 0.28%       | ND        | ND        | 0.11%     | ND        | ND    | ND    | ND        | ND   | 0.60% |
|                  | 3 | 0.53%                          | 0.17%       | ND        | ND        | 0.33%     | ND        | ND    | ND    | 0.10%     | ND   | 1.13% |
| 2°C/40 % RH      | 0 | 0.47%                          | 1.13%       | ND        | 0.14%     | 0.24%     | 0.57%     | 0.05% | 0.05% | 0.11%     | ND   | 2.76% |
|                  | 1 | 1.32%                          | 0.15%       | ND        | ND        | 0.78%     | ND        | ND    | ND    | ND        | ND   | 2.25% |
|                  | 3 | 1.25%                          | 1.01%       | ND        | 0.14%     | 0.14%     | 1.07%     | ND    | ND    | 0.13%     | ND   | 3.74% |
| 40°C/NMT 25 % RH | 0 | 3.72%                          | 0.16%       | ND        | ND        | 2.67%     | ND        | ND    | ND    | ND        | ND   | 6.55% |
|                  | 1 | 3.20%                          | 0.63%       | ND        | 0.06%     | 0.22%     | 2.62%     | ND    | ND    | 0.09%     | ND   | 6.82% |
|                  | 3 | ND                             | 0.27%       | 0.05%     | ND        | ND        | 0.39%     | ND    | ND    | 0.08%     | ND   | 0.80% |
| -20°C/环境 RH      |   | 1                              | 0.27%       | 0.05%     | ND        | ND        | 0.39%     | ND    | ND    | 0.08%     | ND   | 0.80% |

### [0243] 方法

[0244] 体外测试:将八个月大的小鼠晶状体(C57BL/6J)在补充有选定水平(0-500 $\mu$ M)的硫辛酸(LA)的培养基中孵育12小时。使用已知的盖玻片法测量晶状体弹性。弹性测量后,将晶状体在包含烷基化剂1(游离SH改性)的解离培养基中均质化。将均浆过滤并用还原剂(TCEP)和烷基化剂2(S-S SH改性的)处理经冲洗、再悬浮的滞留物。过滤和冲洗后,测定滞留物2中的烷基化的SH基团的水平。牛血清蛋白是巯基分析的阳性对照。

[0245] 体内测试:将八个月大的C57BL/6J小鼠用2.5 $\mu$ L的5%LACE(Dioptin<sup>TM</sup>)的制剂以8小时间隔每日三次在右眼中治疗5周。最后的治疗后,移除晶状体并放置在包含HBSS的透明小容器中。用提供Z工作台以1 $\mu$ m增量向上移动的计算机控制的仪器测定弹性,并且用Harvard Apparatus F10等长力传感器进行伴随力的测量。测定来自8周大的C57BL/6J小鼠的晶状体的弹性用于对比。

### [0246] 结果

[0247] LA治疗导致晶状体蛋白质二硫化物的浓度-依赖性减少,同时晶状体弹性增加。二硫化物和弹性的变化均为负相关( $R=0.87$ ,  $p=0.006$ )。两种效果的 $[LA]_{50}$ 为 $50\pm 10\mu$ M,并且最大效果在100 $\mu$ M LA。用Dioptin<sup>TM</sup>进行局部眼部治疗后,老的小鼠的经治疗的眼睛的晶状体相比未经治疗的眼睛的晶状体更有弹性,即,在未经治疗的眼睛的晶状体中相似的Z位移所需的相对力更高。在大多数情况下,经治疗的眼睛的晶状体甚至相比8周大的小鼠更有弹性。

[0248] 由于人晶状体的中央周围弹性随着年龄而降低,人失去了调节的能力。此处的结果表明通过减少二硫化物而增加晶状体弹性的局部眼部治疗将同时恢复调节幅度。

### [0249] 实施例6

#### [0250] 滴眼剂眼部安全性的EV06 Draize试验

[0251] 通过Draize试验评价EV06的安全性以评价其在高达5%的浓度下的用途。Draize试验是由食品和药物管理局(FDA)毒理学家John H.Draize和Jacob M.Spines在1944设计的急性毒性试验。最初用于测试化妆品,程序包括将0.5mL或0.5g试验物质应用于行动受限的、有意识的动物的眼睛或皮肤,并且随后在将其冲洗干净并记录其效果之前的设置的时间内不管它。使用由Draize等人, J.Pharmacol.&Exp.Therapeutics, 82:377-390 (1944)]所述的等级评价角膜、虹膜和结膜的响应。由于角膜对视觉的重要性,73%的Draize得分是基于角膜损伤的。正常得分为0,增加的损伤量导致更高的得分,且可能的最大得分为110。在各个观察时间通过平均全部经测试的兔子的总得分而计算Draize得分。在治疗后24小时、48小时和72小时进行观察并记录。

[0252] 该试验包括将30 $\mu$ L至50 $\mu$ L的产品徐徐滴入6只新西兰白兔的一只眼睛中,和对其监控以观察任何异常的临床征状,例如结膜发红、肿胀,或可以指示刺激的增加的眨眼。EV06测试浓度(3%-5%)表明没有不良反应(Draize兔眼试验得分 $2.0\pm 0.6$ )并因此被认为“不腐蚀或不刺激”。

### [0253] 实施例7

#### [0254] Dioptin<sup>TM</sup>用于老花眼者调节的恢复

### [0255] 方法

[0256] 进行筛选研究以测定当局部应用于兔眼时的最高耐受浓度,并结合EV06及其代谢

物的角膜浓度、房水浓度和晶状体浓度的生物分析。在GLP兔子研究中,用局部的0%、1%、3%或4%Dioplin™溶液每日三次治疗动物90个连续日。在给药前基线处和给药1天、30天和90天后进行裂隙灯检查和眼底检查。每日进行临床观察、摄食量、体重、临床病理学和毒物代谢动力学。还进行全面尸检和眼部组织病理学。

#### [0257] 结果

[0258] 兔眼对Dioplin™眼用制剂可良好地耐受。在GLP研究的任何时间点未观察到剂量相关的眼部毒性征状。眼部检查正常,除了在给药的第一天在给予3%或4%Dioplin™的一些动物中观察到轻微的(1+)结膜充血和(1+)排出物,所述轻微的(1+)结膜充血和(1+)排出物在整个给药期间持续存在,但并未恶化。报告无全身反应或不利事件。EV06的血浆水平在检测极限处或检测极限以下,指示快速代谢。

[0259] Dioplin™是有前景的对老花眼的新治疗,具有恢复若干屈光度的调节的潜力。在临床前研究中,已经表明EV06在通过减少晶状体蛋白质二硫化物而增加晶状体弹性方面是有效的。眼用制剂是无刺激性的,并且已经在每日三次局部剂量高达4%的90天的GLP眼部毒理学研究中证明了全身安全性和眼部安全性。

#### [0260] 实施例8

[0261] Dioplin™滴眼剂以治疗老花眼:角膜渗透和眼部药代动力学

#### [0262] 方法

[0263] 在兔子中评价硫辛酸的酯的角膜渗透。还使用HPLC-ESI/MS/MS (LOD > 2ng/ml) 将兔子用来测定LACE (LA前药) 的代谢、吸收和分布。

#### [0264] 结果

[0265] 已发现LACE相比于硫辛酸改善渗透。将LACE的原型滴眼剂制剂作为Dioplin™测试。其快速地被内源性丁基胆碱酯酶降解并提供升高的LA的眼部组织水平。与未经治疗的对照眼相比,使用3%Dioplin™治疗的晶状体DHLA (以LA测量) 和LACE均显著升高 [ $P < 0.05$ ]; 分别为 $22.6 \pm 9.1$  (5) 和 $142.3 \pm 31.9$  (5) nM/L。

[0266] 如图2A所示,Dioplin™升高眼部组织样品中LACE (前药) 和LA (活性的) (ESI/LC/MS/MS); 重要的是在晶状体中的LACE (前药) 和LA (活性的)。可以将LA以6,8-双(甲硫基)-辛酸(BMOA)的形式清除。

[0267] LACE代谢的示意图示于图2B。吸收进角膜的LACE分子在角膜中通过假性胆碱酯酶(PCHE)转化成非表面活性剂天然产物(硫辛酸和胆碱),这使在运输到房水的过程中的角膜损伤最小化。重要的是,随后该角膜分离过程允许将这些中间物转移至房水中。与不可降解的阳离子表面活性剂相比,该快速降解至硫辛酸允许将更高浓度的LACE应用至眼睛,例如,BAK的眼部使用的安全极限为<0.01%。

[0268] 为了对比,在人中,在向眼睛应用硫辛酸制剂后,吸收百分比(曲线下面积或4小时内总计)仅为0.37% (Cagini); 而在使用EV06制剂的分离的动物研究(兔子和小鼠)中,2.2%的应用的滴剂渗透到房水中,以LA测得。参见图3。

[0269] 总之,Dioplin™为二硫酚化合物的改善的水性递送提供了方便的眼部递送平台以减少蛋白质二硫化物,从而软化晶状体并恢复调节幅度,这对老花眼的治疗是有用的。

#### [0270] 实施例9

[0271] 含有甘油的LACE制剂

[0272] 将硫辛酸胆碱酯混于纯的甘油(无水)中并短暂的加热至80℃保持8小时。在最终的透明溶液中发现了高浓度的硫辛酸胆碱酯。最终的透明溶液是稳定的。

[0273] 实施例10

[0274] 单瓶两部分递送系统

[0275] 描述了用于两部分稳定的长期制造的制剂的单瓶两部分递送系统。该递送瓶使用了市售的瓶、滴管尖端和盖子。将插入件放置在市售的标准瓶(图4,左上)中,所述插入件使两部分分开直至激活。

[0276] 容量:4mL;径口:15-415

[0277] 材料:带有白色盖子的本色透明LDPE瓶

[0278] 提供试剂的可靠的可重复的配药;灵活的非接触式瓶允许容易的内容识别

[0279] 优异的耐化学性;材料适用于大多数生物技术诊断和药学应用递送40μl的滴(基于水;粘度影响滴的大小),每次一滴

[0280] 制造商:Thermo Fisher Nalgene®

[0281] 制造商零件编号:2750-9125

[0282] 部分1和部分2的组成示于以下表10中:

[0283] 表10:部分1和部分2的组成

|         |            |
|---------|------------|
| LACE    | 3%         |
| 部分 1    |            |
| LACE/甘油 | 1454 mg/ml |
| LACE    | 150 mg     |
| 甘油      | 130 mg     |
| 甘油      | 0.103 ml   |

|              |         |        |
|--------------|---------|--------|
| 部分 2         | ml      | 5      |
| 丙氨酸          | 12.5 mg |        |
| BAK          | 0.35 mg |        |
| 部分 1+2 “激活的” |         |        |
|              | mg/ml   | %      |
| LACE         | 30.00   | 3.00%  |
| 甘油           | 26.00   | 2.60%  |
| 丙氨酸          | 2.50    | 0.250% |
| BAK          | 0.07    | 0.007% |

[0285] 部分1的制备

[0286] 将150mg固态硫辛酸胆碱酯氯化物放置在103uL医用级甘油中并在80℃下加热6小时。形成无定形胶束。

[0287] 示于图4中的插入件(左图)具有以下组装部件:主插入件固定支架1;包含非水解性溶剂并且还包含去除微粒的过滤器的内管2;在内管中的包含液体的下部密封物3;以及用于在灭菌前密封插入件的滴管尖端5。将部分-1组合物中的活性剂添加至内管2,如图4所示。随后放置滴管尖端。使用γ-辐射对部分1灭菌。

[0288] 组装部分1和部分2

[0289] 部分-2包含单独灭菌的水溶液。一旦对插入件和水溶液适当地灭菌后,使它们在

无菌受控的制造环境中组合(去除盖子)(图4,中间图)。将部分-1插入件放置在部分-2容器中。一旦组装,可以长期储存而不需要仔细控制的温度条件( $<45^{\circ}\text{C}$ )。

[0290] 激活

[0291] 如图4(右图)所示,为了激活,患者仅需要压缩或“挤压”瓶以将部分-1释放至部分-2水溶液中。该步骤将下部密封物3(图4)向上移动以暴露内管2(图4)穿孔。随后部分-1组合物流入部分-2水溶液中。用短暂的摇晃使溶液容易地溶解。在激活期间盖子仍然存在。最终制剂(约5mL)包含:

[0292] 3%的硫辛酸胆碱酯;

[0293] 0.01%的苯扎氯铵;

[0294] 2.7%的甘油,USP级;以及

[0295] 0.5%的丙氨酸,USP级;

[0296] 具有 $4.5 \pm 0.2$ 的pH值。

[0297] 这为BID 60-天治疗(40uL/滴)提供了充足的制剂。

[0298] 最终制剂足够稳定以维持预测的结果。当冷冻( $5^{\circ}\text{C}$ ) 30天时,最终制剂是稳定的,而没有 $>0.5\%$ 的活性化合物的降解。

[0299] 维持在两部分瓶中部分1和部分2提供了长期保质期,对 $<45^{\circ}\text{C}$ 的热降解耐受2年。

[0300] 具体实施方案的前述描述将如此充分揭示发明的一般特性使得其他人可以,通过应用本领域技术内的知识,在不背离本申请的一般概念的情况下,容易地修改和/或将此类具体实施方案改编用于各种应用而没有过度的实验。因此,基于本文呈现的教导和指导,此类改编和修改意欲在所公开的实施方案的等同物的意义和范围内。应理解,本文的措辞和术语是为了说明的目的而不是限制的目的,使得技术人员鉴于教导和指导理解本说明书的术语或措辞。

[0301] 本发明的宽度和范围不应受任何上述示例性实施方案的限制,但应该仅根据以下权利要求及其等同物限定。

[0302] 本文描述的各种方面、实施方案和选项可以以任何变体或所有变体的形式组合。

[0303] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请以仿佛每一个单独的出版物、专利或专利申请都特别和独自被表明通过引用并入的相同的程度通过引用并入本文。

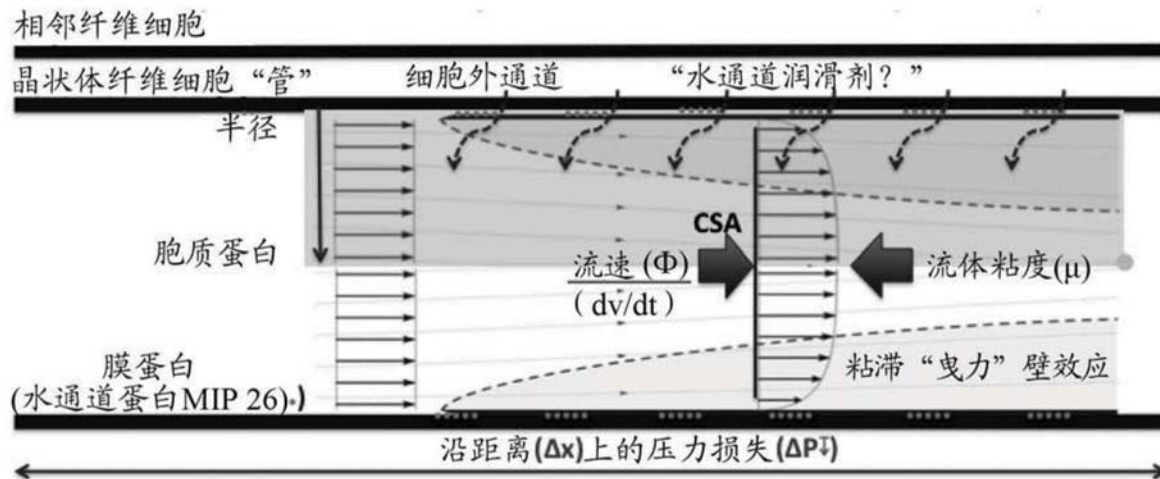


图1

兔子眼部Dioptin™ (1滴3%制剂, 在45 min时)的代谢物分布:  
LACE、LA和胆碱(nM/L)

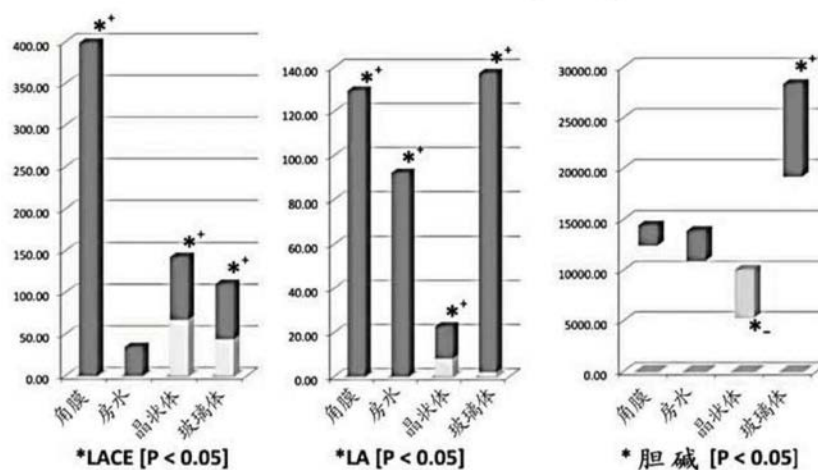


图2A

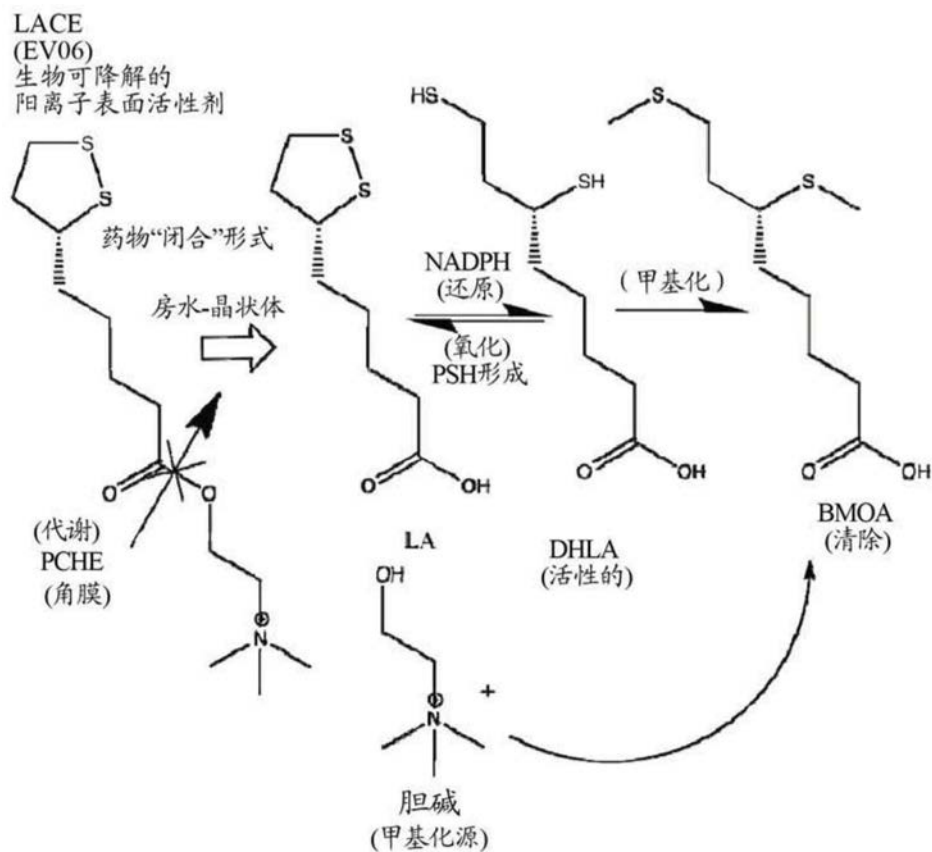


图2B

## 滴眼剂渗透

| 治疗  | LA    |     | DIOPTIN |      |     |  |
|-----|-------|-----|---------|------|-----|--|
| 实验组 | 渗透百分比 |     |         | 增强因子 |     |  |
| 兔子  | 3.0%  |     | 17.8%   | 6.0  |     |  |
| 小鼠  | 3.0%  |     | 16.2%   | 5.92 |     |  |
| 人   | 0.37% | (1) | 2.2%    | 5.96 | 估算的 |  |

## 参考文献

- (1) Carlo Cagini et al "Study of alpha-lipoic acid penetration in the human aqueous humour after topical administration" Clinical and Experimental Ophthalmology; 1% lipoic acid (LA)

图3

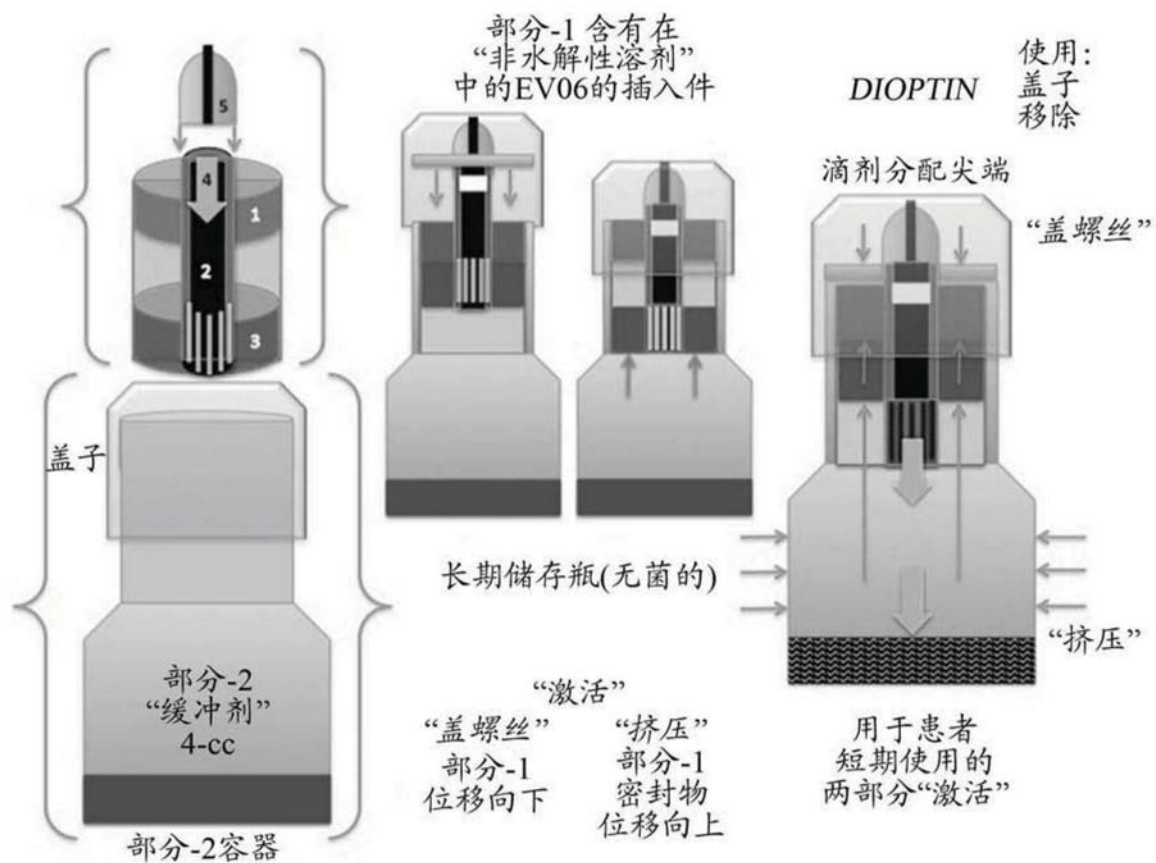


图4