



República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0708483-8 A2**

(22) Data de Depósito: 02/03/2007  
(43) Data da Publicação: 31/05/2011  
(RPI 2108)



\* B R P I 0 7 0 8 4 8 3 A 2 \*

(51) *Int.Cl.:*  
A61K 31/7048 2006.01

(54) Título: **FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS DE LATRUNCULINA**

(30) Prioridade Unionista: 01/03/2007 US 11/680.893,  
02/03/2006 US 60/779.273

(73) Titular(es): Inspire Pharmaceuticals, INC

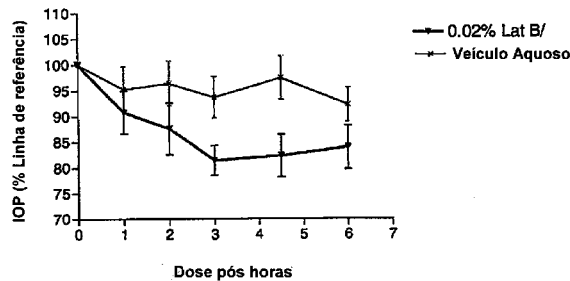
(72) Inventor(es): Leo A. Trevino, Ramesh Krishnamoorthy,  
Richard M. Evans

(74) Procurador(es): Nellie Anne Daniel Shores

(86) Pedido Internacional: PCT US2007063171 de 02/03/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/103782 de 13/09/2007

(57) **Resumo:** FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS DE LATRUNCULINA A presente invenção se refere a uma formulação farmacêutica aquosa compreendendo pelo menos uma latrunculina e a formulação não contém uma quantidade substancial de sulfóxido de dimetila. Em uma modalidade, a presente invenção esta voltada a uma formulação farmacêutica aquosa compreendendo pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, um tensoativo não jônico em uma quantidade de 0,01- 2% em peso/volume, e um agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kg, a um pH entre 4 a 8, onde a latrunculina, o tensoativo, e o agente de tonicidade são compatíveis na formulação, e a formulação não contém uma quantidade substancial de sulfóxido de dimetila. A formulação é estável durante pelo menos seis meses em temperatura refrigerada. A presente invenção também fornece um método de reduzir pressão intra-ocular, um método de tratar glaucoma, um método de inibir cura de ferida após trabeculectomia, e um método de inibir angiogênese.



## “FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS DE LATRUNCULINA”

### CAMPO TÉCNICO

Esta invenção se refere às formulações farmacêuticas, particularmente formulação oftálmica, de compostos ativos citoesquelético macrocíclicos, tal como compostos de latrunculina e seus análogos relacionados. Esta invenção também se refere aos métodos para usar tais formulações farmacêuticas na prevenção ou tratamento de doenças ou distúrbios que são afetados por modificação da integridade do citoesqueleto de actina, por exemplo, tratamento de distúrbios nos quais a pressão intra-ocular é elevada, tal como glaucoma primário de ângulo aberto e neuroproteção ocular nos humanos e outros mamíferos.

### ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Glaucoma é uma doença oftálmica que leva ao prejuízo visual irreversível. É a quarta causa mais comum de cegueira e a segunda causa mais comum de perda visual nos Estados Unidos, e a causa mais comum de perda visual irreversível entre Africanos-Americanos. Em geral, a doença é caracterizada por uma neuropatia progressiva causado pelo menos em parte por efeitos danosos que são o resultado de pressão intra-ocular aumentada no nervo ótico. Glaucoma de ângulo aberto constitui aproximadamente 90% de todo glaucoma primário e é caracterizado por resistência anormalmente elevada à drenagem de fluido (humor aquoso) do olho. A resistência normal é exigida manter uma pressão intra-ocular suficiente para manter a forma do olho para integridade óptica. Esta resistência é fornecida pelo tecido trabecular, um tecido complexo que consiste em células endoteliais especializadas, feixes de tecido conjuntivo e matriz extracelular. A resistência do tecido trabecular normalmente é tal que a pressão intra-ocular seja ~16 mm de Hg, uma pressão na qual o humor aquoso induza o olho na mesma taxa na qual ele é produzido (2,5  $\mu$ L/minuto). As pressões extremamente altas (por exemplo, 70 mm de Hg.) podem causar cegueira dentro de somente alguns dias. Veja P. L. Kaufman e T. W. Mittag, "Medical Therapy Of Glaucoma", Ch. 9, Sec. II (pp. 9.7-9.30), em P. L. Kaufman e T. W. Mittag (eds.): Glaucoma (Vol. 7 de S. M. Podos e M. Yanoff (eds): Textbook of Ophthalmology Series). London, Mosby-Year Book Europe Ltd. (1994); A. C. Guyton, Textbook of Medical Physiology (W. B. Saunders Co., Sexta Ed.), pp. 386-89 (1981).

Atualmente, o tratamento de glaucoma e controle de pressão intra-ocular elevada são abordados usando uma variedade de agentes terapêuticos por um amplo espectro de classes químicas.

As classes de droga mais freqüentemente empregadas para reduzir a pressão intra-ocular dependem da supressão de formação de humor aquoso (por exemplo, beta-bloqueadores, agonistas adrenérgicos de  $\alpha$ 2, inibidores de anidrase carbônicos) ou realce do fluxo uveoscleral (análogos de prostaglandina). Não há nenhuma droga anti-glaucoma atual em uso comum que aja diretamente sobre o tecido trabecular. Pilocarpina reduz a

resistência de fluxo através do tecido trabecular secundariamente, baseado na deformação do tecido conseqüente a contração do músculo ciliar induzida por droga, porém seu uso está limitado pela necessidade de administração diária 3-4 vezes e efeitos colaterais locais, especialmente miose. Epinefrina age aparentemente diretamente nas células de tecido para  
5 aumentar a facilidade por uma série de reações mediada por receptor adrenérgico  $\beta_2$ , porém raramente é clinicamente usada por causa do local mediado pelo receptor e efeitos colaterais sistêmicos, uma freqüência alta de alergia local, e eficácia somente modesta e variabilidade inter-paciente na sensibilidade.

Trabeculectomia é a forma mais comum de cirurgia de filtração de glaucoma e continua como a terapia de primeira linha para redução cirúrgica de pressão intra-ocular farmacologicamente descontrolada em glaucoma primário de ângulo aberto. Este procedimento estabelece uma fístula limbal pela qual o humor aquoso drena dentro do espaço subconjuntival estabelecendo uma vesícula de filtração para abaixar pressão intra-ocular. O sucesso do procedimento é altamente dependente da modulação farmacológica de cura de ferida.  
10

Um avanço principal na administração cirúrgica de glaucoma foi o uso de antimetabólitos para prevenir cicatrização depois de cirurgia de filtração de glaucoma. A cicatrização pós-operatória da vesícula de filtração é o fator mais crucial na determinação do resultado de curto e longo prazo de cirurgia de filtração de glaucoma moderna. A mitomicina de antimetabólitos C (MMC) e 5-fluorouracil (5-FU) são os agentes mais amplamente usados para  
15 suprimir a cicatrização e a falha da vesícula de filtração. Em um grande estudo retrospectivo, a trabeculectomia convencionalmente realizada mostrou uma taxa de falha de até 30% dentro de 3 meses depois da cirurgia. Para abaixar a incidência desta complicação prejudicial, foram investigados vários métodos para evitar a cicatrização de ocorrência natural da vesícula de filtração, lidando principalmente com a aplicação intra-operatória ou pós-operatória de drogas antimetabólicas -- quer dizer, 5-fluorouracil (5-FU) ou mitomicina C  
20 (MMC), os dois agentes citotóxicos mais amplamente usados.  
25

Apesar do seu efeito a longo prazo positivo em filtração prolongada, a aplicação de drogas citotóxicas a um olho cirurgicamente aberto aumenta a incidência de complicações severas tal como aumentos concomitantes em complicações de ameaça à visão. MMC e 5-FU exibem uma incidência elevada de complicações pós-aplicação severas; os seus efeitos colaterais afetam principalmente o epitélio córneo e os seus usos clínicos estão limitados a dor severa e incômodo ao paciente. Nenhum método suficiente foi estabelecido para alcançar resultados cirúrgicos a longo prazo pós-operatórios adequados somente com mínimo ou  
30 nenhum efeito colateral para o paciente.

As Patentes U.S. Nos 6.586.425; 6.110.912; e 5.798.380 descrevem um método para o tratamento de glaucoma que usa compostos que afetam a integridade de filamento de actina do olho para realçar o fluxo de humor aquoso. Estas patentes também especifi-  
35

camente descrevem inibidores de cinase e latrunculin-A, latrunculin-B, *swinholidide-A*, e jaspaquinolídeo que causam uma perturbação do citoesqueleto de actina no tecido trabecular ou a modulação de suas interações com a membrana subjacente. A perturbação do citoesqueleto e as adesões associadas reduzem a resistência do tecido trabecular ao fluxo de fluido e desse modo reduz a pressão intra-ocular.

Latrunculinas são solúveis em sulfóxido de dimetila (DMSO), porém elas têm uma solubilidade aquosa muito baixa, devido em grande parte à natureza lipofílica das latrunculinas que são compostos macrocíclicos grandes. DMSO não é permissível em uma formulação oftálmica para uso humano. Latrunculina-B é tipicamente dissolvido em DMSO como uma solução acionária, e armazenada a  $-20^{\circ}\text{C}$  para estabilidade a longo prazo (Okka, e outros, Trans. Am. Ophthalmol. Soc. 102: 251-259 (2004)). As formulações de latrunculina líquidas conhecidas não são formulações farmacêuticas aceitáveis por causa de um ou mais dos seguintes problemas: efeitos colaterais não desejados tal como toxicidade devido ao veículo ou adjuvante, baixa solubilidade da latrunculina sem o uso de DMSO, e estabilidade pobre devido à degradação de latrunculin com o passar do tempo.

Há uma necessidade por uma formulação farmacêutica que possa ser usado para tratar glaucoma, modular cura de ferida depois de trabeculectomia, e tratar outras doenças ou distúrbios que são afetados pela integridade do citoesqueleto de actina.

#### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção é voltada a uma formulação farmacêutica aquosa que compreende pelo menos uma latrunculina e a formulação não contém uma quantidade significativa de sulfóxido de dimetila. A presente invenção fornece uma formulação farmacêutica aquosa que compreende pelo menos uma latrunculina e um ou mais agentes que realçam a solubilidade de latrunculinas em um meio aquoso. A formulação não contém uma quantidade significativa de qualquer agente inaceitável para uso farmacêutico, particularmente, oftálmico. A formulação fornece latrunculinas com uma atividade suficiente para uso terapêutico e é estável durante pelo menos seis meses em temperatura refrigerada.

A presente invenção está voltada a uma formulação farmacêutica aquosa que compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, um tensoativo não iônico em uma quantidade de 0,01-2% em peso/volume, e agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG, a um pH entre 4 a 8, em que a latrunculina, o tensoativo, e o agente de tonicidade são compatíveis na formulação, e a formulação não contém uma quantidade significativa de sulfóxido de dimetila.

Em uma modalidade, a formulação farmacêutica aquosa compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, 1-100 mM de tampão adequado para manter o pH entre 4-6, 0,01-2% em peso/volume de tensoativo não iônico, e agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG. Um tampão

preferido é tampão de citrato. Os agentes de tonicidade preferidos são manitol e dextrose.

Em outra modalidade, a formulação farmacêutica aquosa compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, 5-10% de etanol e um agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG. A formulação  
5 opcionalmente compreende 1-100 mM de tampão para manter o pH entre 4-8.

Em ainda outra modalidade, a formulação farmacêutica aquosa compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0.001-2% em peso/volume, 1-10% de poli-propileno glicol, 0,02-0,25% de polaxâmero, 0,1-1% de polissorbato, e um agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG, em que o pH da formulação  
10 seja 4-8.

Em ainda outra modalidade, a formulação farmacêutica aquosa compreende 0,001-2% de latrunculina, uma ciclodextrina, 0,01-0,5% de preservativo, e agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG, em que o pH da formulação seja 4-8.

A presente invenção fornece um método para reduzir pressão intra-ocular, um método para tratar glaucoma, um método para inibir cura de ferida depois de trabeculectomia, e um método para inibir angiogênese. O método compreende a etapa de administrar a um indivíduo em necessidade do tratamento a formulação farmacêutica aquosa da presente invenção, em uma quantidade efetiva para alterar o citoesqueleto de actina, por exemplo, inibindo a polimerização de actina.  
15

## 20 BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Figura 1 mostra a pressão intra-ocular (IOP,% de linha base) vs. tempo pós-tratamento, de coelhos cingidos Holandeses tratados com 0,02% de latrunculina B em 5% de formulação de etanol, e com veículo.

Figura 2 mostra a pressão intra-ocular (IOP,% de linha base) vs. tempo pós-tratamento, de coelhos cingidos Holandese tratados com 0,02% de latrunculina B dentro solução salina tamponada por fosfato (pH ~7) contendo propileno glicol, poloxâmero 407 e polissorbato 80, e com veículo.  
25

Figura 3 mostra pressão intra-ocular (IOP,% de linha base) vs. tempo pós-tratamento, de coelhos cingidos Holandeses tratados com 0,02% de latrunculina B dentro solução tamponada de citrato (pH -5,5) contendo 4,5% em peso/volume de manitol, 1% em peso/volume de polissorbato 80, 0,05% em peso/volume de edetato de dissódio, e 0,01% em peso/volume de cloreto de benzalcônio, e com veículo.  
30

Figure 4 mostra pressão intra-ocular (IOP,% de linha base) vs. tempo pós-tratamento, de coelhos cingidos Holandeses tratados com 0,02% de latrunculina B de desmetila em 5% de formulação de etanol, e com veículo.  
35

Figura 5 mostra pressão intra-ocular (IOP,% de linha base) vs. tempo pós-tratamento, de coelhos cingidos Holandeses tratados com 0,1% de latrunculina B de cis-des-

metila em solução tamponada por citrato (pH ~5,5) contendo 4,5% em peso/volume de manitol, 1% em peso/volume de polissorbato 80, 0,05% em peso/volume de edetato de dissódio, e 0,01% em peso/volume de cloreto de benzalcônio, e com veículo.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

5 A menos que de outro modo especificado, o % da quantidade neste pedido se refere ao % (peso/volume). Os inventores descobriram uma formulação de latrunculina aquosa que não requer o uso de DMSO. Os inventores descobriram uma formulação de latrunculina aquosa de não DMSO que é estável durante um período significativo de tempo a temperatura ambiente e temperatura refrigerada. Os inventores descobriram uma formulação de la-  
10 trunculina aquosa que é útil para o tratamento de certas condições inibindo a polimerização de filamentos de actina, tal como glaucoma. Os inventores descobriram uma formulação de latrunculina aquosa que é bem tolerada para uso ocular.

Esta invenção está voltada a uma formulação farmacêutica aquosa que compreende um composto macrocíclico, especificamente latrunculinas e análogos de latrunculina.  
15 Esta invenção fornece uma formulação que contém um ou mais agentes que realçam a solubilidade de compostos de latrunculina em um meio aquoso. A formulação não contém uma quantidade significativa de agentes inaceitáveis para usos farmacêuticos, particularmente, oftálmicos. A invenção fornece uma formulação aquosa estável de latrunculinas; a formulação é adequada para uso terapêutico e permanece estável sob condições de arma-  
20 zenamento de uso normais durante um período prolongado de tempo.

As formulações farmacêuticas aquosas da presente invenção excluem o uso de adjuvantes solubilizantes impróprios tal como metanol e dimetilsulfóxido que podem causar resultados toxicológicos e dano de tecido quando usados em humanos ou mamíferos duran-  
25 te um a longo prazo. Estas formulações farmacêuticas contêm latrunculinas em uma solução aquosa a uma concentração suficiente, e mostram um efeito farmacológico na redução de pressão intra-ocular em mamíferos. Para administração tópica, uma a duas gotas destas formulações são liberadas à superfície do olho uma a quatro vezes por dia de acordo com a discricção rotineira de um clínico qualificado. Estas formulações farmacêuticas aquosas são não irritantes e toleráveis aos olhos, e são adequadas para instilação múltipla.

30 As latrunculinas são macrolidas ativas citoesqueléticas. Latrunculinas são agentes de rompimento de actina específicos e potentes que seqüestram G-actina monomérica, levando à separação de filamentos de actina. As latrunculinas naturais são isoladas de esponjas marinhas tal como *Latrunculia magnifica*, *Negombata magnifica*, e *Spongid mycofijiensis*, e de *nudibranches*, por exemplo, *Chromodoris lochi*. Os análogos de Latrunculina  
35 podem ser preparados através de métodos sintéticos (A.B. Smith III e outros, J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 2995-3007; J.D. White e M. Kawasaki, J Org. Chem. 1992, 57, 5292-5300; A. Fürstner e outros, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 5358- 5380).

As latrunculinas, como usado neste pedido, se referem às latrunculinas naturais e análogos de latrunculina. As latrunculinas preferidas desta invenção são latrunculina B, latrunculinas A, latrunculina B de des-metila, ou um sal farmaceuticamente aceitável, tautômero, solvato, ou hidrato destes.

5 Latrunculina B  
Copiar o composto da página 6.

Latrunculina A  
Copiar o composto da página 7.

10 Latrunculina B de des-metil B  
Copiar o composto da página 7.

Os análogos de Latrunculina, como usado nesta aplicação, se referem aos compostos sintéticos cujas estruturas são semelhantes às aquelas de latrunculinas naturais, como descrito em D. Blasberger, e outros, Liebigs Ann. Chem. 1171-1188 (1989); Fürstner, e outros, PNAS, 102: 8103-8108 (2005); e Publicação Patente U.S. US2006-0217427; os teores dos quais estão aqui incorporados por referências.

15 A presente invenção está voltada a uma formulação farmacêutica aquosa que compreende pelo menos uma latrunculina e a formulação não contém uma quantidade significativa de sulfóxido de dimetila. Como usado aqui, "uma quantidade significativa" se refere a mais do que 0,1%, preferivelmente 0,01%, e mais preferivelmente 0,001%. A formulação farmacêutica aquosa da presente invenção não contém mais do que 0,1%, preferivelmente 0,01%, e mais preferivelmente 0,001% em v/v de DMSO. Em uma modalidade preferida, a formulação farmacêutica aquosa da presente invenção não contém nenhum sulfóxido de dimetila.

25 A presente invenção está voltada a uma formulação farmacêutica aquosa que compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, e agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG, em que o pH da formulação é 4-9, e a formulação não contém uma quantidade significativa de sulfóxido de dimetila. Quando a formulação farmacêutica é oftalmicamente usada, o pH da formulação é preferivelmente 4-8, e a tonicidade é preferivelmente 220-380 mOsm/kG.

30 A presente invenção está voltada a uma formulação farmacêutica aquosa que compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, 1-100 mM de um tampão adequado para manter o pH entre 4-8, preferivelmente manter pH entre 4-6, 0,01-2% em peso/volume de um tensoativo não iônico, e agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG. Esta formulação farmacêutica não contém uma quantidade significativa de DMSO e preferivelmente contém não mais do que 35 5% (v/v) de etanol, e mais preferivelmente não mais do que 2%, 1%, de etanol.

É importante que os componentes da presente formulação sejam compatíveis entre

si. Compatível, como usado aqui, se refere à compatibilidade física e compatibilidade de química. Compatibilidade física significa que os componentes não formam precipitados ou co-acervados, e não causa separação de fase, sedimentação, ou descoloração. Compatibilidade química significa que os componentes não causam degradação das latrunculinas ou inativam a atividade biológica das latrunculinas.

Os tensoativos (agentes tensoativos) adequados para a presente invenção podem ser não iônicos ou iônicos. Porém, os tensoativos iônicos são menos preferidos. O uso em longo prazo de agentes catiônicos, especialmente tensoativos catiônicos, é conhecido bem por causar dano epitelial córneo. Os tensoativos aniônicos são freqüentemente não compatíveis com outros componentes da presente formulação. Os tensoativos preferidos para a presente invenção são não iônicos. Os tensoativos não iônicos adequados incluem, porém não estão limitados a polissorbato 80, polissorbato 60, polissorbato 20, tiloxapol, estearatos de polioxila, monoestearato de glicerila, óleo de rícino de polioxila, triglicerídeo caprílico de polietileno glicol, e poloxâmeros. Os tensoativos não iônicos preferidos são polissorbatos e poloxâmeros. Estes tensoativos são condensados de óxido alcalino não iônicos de um composto orgânico que contém grupos hidroxila. Os tensoativos não iônicos realçam a solubilidade de latrunculinas. Os tensoativos não iônicos freqüentemente protegem as moléculas de latrunculina de degradação química mantendo as moléculas de latrunculina em um ambiente micelar, que melhora a estabilidade física e química. A concentração do tensoativo (s) na formulação é cerca de 0,01-2%, preferivelmente 0,05-1,5%, e mais preferivelmente 0,1 -1% (peso/volume). A concentração do tensoativo apropriada é determinada pela solubilidade da latrunculina na presença do tensoativo, por neutralização dos efeitos bactericidas nos preservativos acompanhantes, e/ou pelas concentrações que podem causar irritação a um humano. As formulações farmacêuticas feitas na presença de um tensoativo não iônico podem ser ajustadas a um pH alvo de 4-8 sem comprometer a solubilidade das latrunculinas.

Nem todos os tensoativos não iônicos são adequados para a formulação de latrunculina, devido à sua não compatibilidade com latrunculinas ou outros componentes na formulação, ou devido à sua inadequação ao uso humano. Por exemplo, os tensoativos não iônicos tal como monoestearato de sorbitan, trioleato de sorbitan, monooleato de sorbitan, cocoato de glicerila de polietileno glicol, e outras classes de tensoativos não são compatíveis com a formulação de latrunculina porque estes tensoativos não formam uma solução clara e formam co-acervados e/ou precipitados quando misturados com outros componentes da formulação. Além disso, tensoativo não iônico TRITON® (éter de fenila de octila de polioxietileno) não é adequado para uso humano.

A concentração de latrunculina(s) na formulação aquosa é em geral 0,001-2%, preferivelmente 0,005-0,2%, mais preferivelmente 0,005-0,1%, e mais preferivelmente 0,005-

0,02% (peso/volume).

Os tampões adequados para manter o pH entre 4-8 incluem fosfato, tampão de citrato, tampão de acetato, tampão de maleato, tampão de tartarato, ou combinações destes. O tampão de fosfato ou tampão de citrato é preferido. Para estabilidade em longo prazo, a  
5 formulação é preferida ter um pH de 4-6. Os tampões adequados para manter o pH entre 4-6 incluem tampão de citrato, tampão de acetato, tampão de citrato/fosfato, tampão de maleato, tampão de tartarato, ou combinações destes. A concentração adequada do tampão é 1-100 mM, preferivelmente 5-50 mM, mais preferivelmente 5-25 mM, e preferivelmente 10-20 mM.

10 O agente de tonicidade está presente em uma quantidade para alcançar uma tonicidade entre 200-400, preferivelmente 220-380, e mais preferivelmente 250-340 mOsm/kg. O agente de tonicidade pode ser não iônico ou iônico. Um agente de tonicidade não iônico é preferido porque é freqüentemente mais compatível com tensoativos do que o agente de tonicidade iônico. Os agentes de tonicidade não iônicos incluem dióis, tal como glicerol,  
15 manitol, eritritol; e açúcares tal como dextrose. Outros agentes de tonicidade não iônicos tal como glicerol, polietileno glicol, propileno glicol, que também funciona como cosolventes, também podem ser usados. O agente de tonicidade não iônico está em geral em uma quantidade de 2-20%, preferivelmente 3-10%, mais preferivelmente 3,5-5% (peso/volume). Os agentes não iônicos preferidos são manitol e dextrose, em uma quantidade de 2-6%.

20 O agente de tonicidade também pode ser os agentes iônicos tal como cloreto de sódio, cloreto de potássio, ou solução de sal equilibrada. Os agentes de tonicidade iônicos podem estar presentes em uma quantidade de 0,5-0,9%, preferivelmente 0,6-0,9% (peso/volume).

O tensoativo, o agente de tonicidade, o co-solvente, e qualquer outro ingrediente introduzido na formulação tem que ter uma solubilidade boa em água, tem que ter compatibilidade com outros componentes, e tem que ter efeitos moderados na viscosidade final da  
25 formulação. A formulação precisa ter uma viscosidade final apropriada tal que a formulação possa ser liberada como uma gota tópica que usa uma garrafa de conta-gotas oftálmica típica e que seja esterelizável no filtro. A formulação é preferivelmente uma solução clara sem qualquer precipitado.

30 A formulação farmacêutica da presente invenção opcionalmente compreende um agente de quelação. Um agente de quelação é uma substância que pode formar várias ligações coordenadas a um íon de metal. Os agentes de quelação oferecem uma faixa ampla de sequestrantes para controlar íons de metal em sistemas aquosos. Formando-se os  
35 complexos estáveis solúveis em água com íons de metal multivalentes, os agentes de quelação previnem a interação indesejada bloqueando-se a reatividade normal de íons de metal. O ácido etilenodinitrilotetraacético (EDTA), ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA),

e N,N-bis(carboximetil)glicina (NTA) são exemplos de agentes de quelação para as presentes invenções. EDTA (tetraacetato de etilenodiamina) é um agente de quelação preferido.

Os regulamentos de saúde em vários países requerem que preparações oftálmicas de multi-dose incluam um preservativo. Muitos preservativos bem conhecidos que foram  
5 usados em algumas outras preparações oftálmicas na presente invenção não podem ser usados, porque esses preservativos não são considerados seguros para repetidamente uso ocular, ou eles interagem com o tensoativo empregado para formar um complexo, que reduz a atividade bactericida do preservativo. Em uma modalidade, cloreto de benzalcônio é empregado como um preservativo seguro; preferivelmente, cloreto de benzalcônio é empregado com EDTA. Outros preservativos adequados incluíram álcool de benzila, parabenos de metila, parabenos de propila, timerosal, clorobutanol, e cloreto de benzetônio. Tipicamente, tais preservativos são usados a um nível de 0,001-1%, preferivelmente, 0,01-0,25%, e preferivelmente 0,05-0,2% (peso/volume).

Em uma modalidade, a formulação farmacêutica compreende 0,5-0,9% de modificador de tonicidade iônico tal como cloreto de sódio; a formulação contém os agentes de tamponamento adicionais (tal como fosfato de sódio e/ou citrato de sódio e ácido cítrico) a 1-100 mM, um tensoativo não iônico em uma faixa de 0,01-2%, agente de quelação em uma faixa de 0,005 – 0,5% em peso/volume, e ajustadores de pH. Uma tal composição aquosa tem uma tonicidade de 250-350 mOsm/kG e é formulada a pH 4-6.

Em uma modalidade, a formulação farmacêutica compreende 4-5% de agente de tonicidade não iônico tal como manitol; a formulação contém os agentes de tamponamento (tal como fosfato de sódio e/ou citrato de sódio e ácido cítrico) em uma gama de 5-50 mM, um tensoativo em uma faixa de 0,01-2%, agente de quelação em uma faixa de 0,005-0,5% em peso/volume, e ajustadores de pH. Uma tal composição aquosa tem uma tonicidade de  
25 250-350 mOsm/kG e é formulada a pH 4 - 6. A formulação opcionalmente contém um preservativo em uma faixa de 0,001-0,1% peso/volume.

Em uma modalidade, a formulação farmacêutica compreende 0,001-2% em peso/volume de um latrunculina, 0,1-2% de polissorbato 80, e um agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200 - 400 mOsm/kG. A formulação opcionalmente compreende  
30 1-100 mM de tampão para manter o pH entre 4-6. O tampão adequado inclui fosfato, tampão de citrato, tampão de acetato, tampão de maleato, tampão de tartarato, ou combinações destes. O tampão de fosfato ou citrato é preferido.

A presente invenção está também voltada a uma formulação farmacêutica aquosa que compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, 5-25% de etanol (v/v) e agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre  
35 200-400 mOsm/kG. Para aplicação oftálmica, a concentração de etanol é preferida ser 5-10%. A formulação opcionalmente de compreende 1 - 100 mM de tampão de para manter o

pH entre 4-8. O tampão adequado inclui fosfato, tampão de citrato, tampão de acetato, tampão de maleato, tampão de tartarato, ou combinações destes. O tampão de fosfato ou tampão de citrato é preferido. A formulação não contém uma quantidade significativa de DMSO. Em uma modalidade, a formulação contém 0,005-0,02% de latrunculina, 5-10% de etanol, e 0,5-0,9% de cloreto de sódio.

A presente invenção está também voltada a uma formulação farmacêutica aquosa que compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, 1-10% (v/v) de propyileno glicol, 0,02-0,25% (peso/volume) de polaxâmero, e agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200 - 400 mOsm/kG. A formulação opcionalmente compreende 1-100 mM de tampão para manter o pH entre 4-8, e/ou 0,1-1% de tensoativo tal como polissorbato 80. O tampão adequado inclui fosfato, tampão de citrato, tampão de acetato, tampão de maleato, tampão de tartarato, ou combinações destes. O tampão de fosfato ou tampão de citrato é preferido. A formulação não contém nenhum DMSO.

A presente invenção está também voltada a uma formulação farmacêutica aquosa que compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, uma ciclodextrina em uma quantidade de 0,005-5%, preferivelmente 0,01-2% em peso/volume, preservativo tal como cloreto de benzalcônio em uma quantidade de 0,01-0,5% em peso/volume, e agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG. As ciclodextrinas que formam complexos com latrunculinas e aumentam a solubilidade aquosa de latrunculina são adequadas para a presente invenção. Por exemplo, 0,01-2% de ciclodextrina de hidroxipropil-beta ou 0,01-1% de éster sulfobutilado de ciclodextrina de hidroxipropil-beta são incluídos na formulação aquosa. A formulação opcionalmente compreende 1-100 mM de tampão para manter o pH entre 4-8. O tampão adequado inclui fosfato, tampão de citrato, tampão de acetato, tampão de maleato, tampão de tartarato, ou combinação destes. O tampão de fosfato ou citrato é preferido. A formulação não contém uma quantidade substancial de DMSO. A formulação opcionalmente compreende um tensoativo tal TWEEN® (polissorbato)-20, TWEEN® (polissorbato)-40, TWEEN® (polissorbato)-60, Span (monooleato de sorbitano)-20, Span (monooleato de sorbitano)-40, tiloxapol, pirrolidona de polivinila, e álcool de polivinila.

A presente invenção esta voltada também a uma emulsão incluindo microemulsão ou emulsão diluída, na qual são formuladas latrunculinas com adjuvantes para formar um uniforme, reproduzível, e formulação farmacêutica saudável que é fisicamente e quimicamente estável. Os adjuvantes adequados incluem tensoativos, agentes emulsificantes, e óleos sintéticos e vegetais adequados que são farmaceuticamente aceitável. A emulsão é formulada em uma solução aquosa a um pH entre 4-8, preferivelmente 4-7, e mais preferivelmente entre pH 4-6. A formulação opcionalmente compreende tampão de 1-100 mM pa-

ra manter o pH entre 4-8. O tampão adequado inclui fosfato, tampão de citrato, tampão de acetato, tampão de maleato, tampão de tartarato, ou combinação destes. O tampão de fosfato ou citrato é preferido. A formulação não contém uma quantidade substancial de DMSO. A emulsão opcionalmente contém um preservativo adequado e um ou mais agentes de anti-oxidante. Tal uma emulsão pode ser preparada empregando técnicas de emulsificação rotineiras incluindo, porém não limitado a homogeneização cisalhamento elevado, ultrasonicação, homogeneização de pressão elevada, agitação mecânica seguida por emulsificação de pressão elevada, ou técnicas tal como interações de fluido-fluido ou microfluidificação.

Em uma modalidade, a formulação de emulsão compreende 0,001-2% latrunculina, 1-10% de óleo de rícino ou 10-20% de óleo mineral, 1-5% de carbômeros ou 1-10% álcool cetílico, 0,1-1% de polissorbato 80, 0,1-1% gliceril monoestearato ou 0,1-2% estearato de polioxil, e um agente de tonicidade tal como propileno glicol ou glicerina para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG; o pH da formulação é 4-7.

As formulações farmacêuticas da presente invenção são estáveis sob temperatura de armazenamento refrigerada durante pelo menos três meses, preferivelmente 6 meses, e mais preferivelmente 12 meses. Estável, como empregado aqui, refere-se a pelo menos 70%, preferivelmente 80%, mais preferivelmente 90% das moléculas de latrunculina permanecem intacto sem degradação.

As formulações farmacêuticas da presente invenção são adequadas para armazenamento a temperatura refrigerada ou em temperatura ambiente, porém não são estáveis quando submetido a um ciclos de congelamento-descongelamento, como exibido pela não homogeneidade das moléculas de latrunculina e alterações na eficácia preservativa da formulação.

As formulações farmacêuticas da presente invenção são feitas através de técnica asséptica ou são esterilizados terminalmente. Os níveis de pureza de todos os materiais empregados na preparação excedem 90%. As soluções da invenção são preparadas misturando-se completamente a latrunculina, tampão, modificador de tonicidade, tensoativo, o agente de quelação; opcionalmente, polímeros não iônicos, agentes de complexação, agentes solubilizante, agente antioxidante e preservativos.

A formulação farmacêutica pode ser esterilizada filtrando-se a formulação através de um filtro de grau de esterilização, preferivelmente de um tamanho de poro nominal de 0,22 micron. A formulação farmacêutica pode também ser esterilizada por esterilização terminalmente empregando um ou mais técnicas de esterilização incluindo, porém não limitado a um processo térmico, ou um processo de esterilização de radiação, ou empregando luz pulsada para produzir uma formulação estéril.

Em uma modalidade, a formulação farmacêutica da presente invenção é administrada localmente ao olho (por exemplo, topicamente, intracameralmente, ou por um implan-

te) na forma de preparações oftálmicas. A formulação farmacêutica pode ser combinada com realçadores de viscosidade oftalmologicamente aceitável, ou realçadores de penetração para formar uma suspensão ou solução oftálmica. A formulação farmacêutica está pronta para uso, sem diluição adicional ou qualquer outra manipulação.

5 O glaucoma é uma doença oftálmica que conduz o comprometimento visual irreversível. O glaucoma de ângulo aberto é caracterizado por resistência elevada de anormalmente ao fluido (humor aquoso) drenagem do olho. As adesões entre células do tecido trabecular são determinantes principal da resistência para fluir. As formulações farmacêuticas da presente invenção causam uma perturbação farmacológica, transitória, de adesões de  
10 célula, principalmente por rompimento da estrutura de citoesquelético associado ou a modulação das interações com a membrana. A perturbação destas adesões reduz a resistência do tecido trabecular o fluxo de fluido e desse modo reduz a pressão intra-ocular em uma maneira útil terapêuticamente.

As formulações farmacêuticas da presente invenção são úteis para modulação de  
15 cura de ferida após trabeculectomia. As formulações farmacêuticas em geral são menos tóxicas a células de endotelial das córneas que os antimetabólitos tal como 5-fluorouracil ou mitomicina C. As formulações farmacêuticas inibem contractilidade voltada actomisinina, conduzindo a deterioração do sistema de microfilamento de actina e perturbação de seu ancoradouro de membrana, que debilita as adesões de matriz extracelulares de célula. Es-  
20 tas propriedades inibem cura de ferida e desse modo reduz a falha de vesícula seguinte a cirurgia. Angiogênese é caracterizado pelo desenvolvimento de vasculatura novo de recipientes pré-existindo e desempenham um papel central em processos fisiológicos tal como embriogênese, função reprodutiva feminina e cura de ferida, bem como casos de fisiopatológica incluindo câncer, artrite reumática e retinopatia diabético. O desenvolvimento e me-  
25 tástase de tumores são extremamente dependentes em angiogênese. A angiogênese é um processo de multi-etapa envolvendo a célula de endotelial (EC) citoesqueleto em migração, proliferação, e estabilização de barreira. Acredita-se que os requerentes de interações entre o citoesqueleto e apoptose são envolvidos nas séries de reações intracelulares pelos quais ocorrem formações de tubo angiogênica. As formulações farmacêuticas da presente inven-  
30 ção são úteis em angiogênese inibidora e tumores tratados.

As drogas anti-mitótico notadamente interfere com resposta antidiurética, fortemen-  
te indica aquela integridade de citoesqueleto é essencial a esta função. Este papel do cito-  
esqueleto controlando o transporte de epitelial é uma etapa necessária na translocação do  
canal de água contendo partícula agregada e na sua liberação para a membrana apical. O  
35 regulamento do citoesqueleto de actina é importante na modulação de transporte fluido. A reorganização dependente de osmolaridade do citoesqueleto e expressão de proteínas de tensão específicas são componentes importantes dos sistemas regulador envolvidos na a-

daptação de células de medular a tensão osmótica. As formulações farmacêuticas da presente invenção são úteis direcionalmente e transporte de fluido modulado.

5 A presente invenção fornece um método de reduzir pressão intra-ocular, um método de tratar glaucoma, um método de inibir a cura de ferida após trabeculectomia, um método de inibir angiogênese, um método de tratar câncer, e um método de função de epitelial direcionalmente e transporte fluido modulado. O método compreende a etapa de administrar a um indivíduo com necessidade de tratamento a formulação farmacêutica da presente invenção, em uma quantidade efetiva para alterar o citoesqueleto de actina, tal como inibindo-se polimerização de actina.

10 A formulação farmacêutica da presente invenção é útil como agentes para pressão intra-ocular elevada, e é desse modo útil no tratamento ou prevenção de condições oftálmicas associadas ou glaucoma.

15 A formulação farmacêutica da presente invenção é útil no tratamento ou prevenção de doenças de neurodegenerativo como uma consequência de pressão intra-ocular aumentada e danifica aos neurônios oculares.

As formulações farmacêuticas da presente invenção podem também ser empregadas na área de cosméticas para reduzir rugas, na área de preservar plaquetas sanguíneas, e na área de vasoespasmos e espasmo muscular liso por meios de e rota de administração conhecidas por aqueles versados na técnica.

20 A formulação farmacêutica descrita aqui pode ser administrada aos olhos de um topicamente paciente por quaisquer meios adequados, porém são preferivelmente administrados na forma de gotas, spray ou gel. Consequentemente, a formulação farmacêutica pode ser aplicada ao olho através de lipossomas. Além disso, a formulação farmacêutica pode ser infundida na película de lágrima através de um sistema de cateter de bomba. Em outra  
25 modalidade, a formulação farmacêutica é contida dentro de dispositivo de liberação seletiva ou contínua, por exemplo, as membranas tal como, porém não limitada a, esses empregados no Ocusert™ Sistema (Alza Corp., Palo Alto, CA) ou Retisert (Bausch & Lomb, Rochester, NY). Como uma modalidade adicional, a formulação farmacêutica pode ser contida dentro de, levado por, ou ligado a lentes de contato que são colocadas no olho. Outra modalidade da presente invenção envolve a formulação farmacêutica contida dentro de uma esponja ou cotonete que pode ser aplicado à superfície ocular. Outra modalidade da presente invenção envolve a formulação farmacêutica contida dentro de um spray líquido que pode ser aplicado à superfície ocular. Outra modalidade da presente invenção envolve uma injeção da formulação farmacêutica diretamente nos tecidos lacrimais ou sobre a superfície do  
30 olho.  
35

Em uma modalidade, a formulação farmacêutica é administrada sistemicamente a um indivíduo. O termo sistêmico como empregado aqui inclui injeção subcutânea, intrave-

noso, injeção intravítreal, injeção intracamerar, injeções de subconjuntival, administração tópica, e administração oral.

A liberação de intravítreal pode incluir injeções de intravítreal únicas ou múltiplas, ou através de um dispositivo de intravítreal de implantável que liberta compostos de alvejarmento citoesqueleto em uma capacidade contínua. A liberação de intravítreal pode também incluir liberação durante manipulações cirúrgicas como ou um suplemento para a solução de irrigação intra-ocular ou aplicar diretamente para o vítreo durante o procedimento cirúrgico. Uma aproximação similar pode ser levada para uma injeção de subconjuntival ou retrobulbar.

A invenção é ilustrada adicionalmente pelos exemplos seguintes que não devem ser interpretados como limitando a invenção no escopo para os procedimentos específicos descritos neles. Sem elaboração adicional, acredita-se que aquele versado na técnica pode, empregando a descrição precedente, utilizar a presente invenção a sua extensão completa. As seguintes modalidades específicas preferidas conseqüentemente são para ser interpretados como meramente ilustrativo, e não limitado do resto da descrição em qualquer forma.

#### Exemplos

Exemplo 1. Preparação de formulação de latrunculina B, 0,02% em uma formulação de veículo de etanol 5%

Para um frasco contendo 1 mg de latrunculina B foi adicionado 250 microlitros de etanol de graduação 200 que segue a solução foi misturado em temperatura ambiente. Para isto 750 microlitros foi adicionado de uma solução salina tamponada por fosfato cujo pH foi aproximadamente 7; a solução foi misturada em temperatura ambiente durante cerca de 5 minutos. A solução resultante foi clareada e foi 0,1% com respeito a latrunculina B. Esta solução foi empregada como é ou diluída a uma concentração de 0,02% empregando a formulação salina tamponada por fosfato.

Exemplo 2. Preparação de solução de latrunculina B em uma formulação de veículo aquoso

Para um frasco contendo 1 mg de latrunculina B foi adicionado 100 microlitros de propileno glicol que segue a solução foi misturada em temperatura ambiente. A latrunculina B imediatamente entrou em solução. A solução foi resfriada a aproximadamente 5°C em um banho de gelo. Para isto foi adicionado 450 microlitros de uma solução salina tamponada por fosfato (pH ~7) contendo 0,25% em peso/volume poloxâmero 407 e misturado durante 10 minutos ao mesmo tempo em que mantendo a temperatura às aproximadamente 5°C. Para isto foi adicionado 450 microlitros de uma solução salina tamponada por fosfato (pH ~7) contendo 1% em peso/volume de polissorbato 80 e misturado durante 10 minutos a condições de temperatura ambientes. A solução resultante foi clareada e foi 0,1% com respeito a latrunculina B. Esta solução foi empregada como é ou diluída a uma concentração

de 0,02% empregando a solução salina tamponada por fosfato (pH ~7).

Exemplo 3. Preparação de formulação de latrunculina B em uma formulação de veículo aquoso

Para um frasco contendo 1 mg de latrunculina B foi adicionado 50 microlitros de propileno glicol e 40 microlitros de glicerina que segue a solução foi misturada em temperatura ambiente. A latrunculina B entrou em solução. A solução foi resfriada a aproximadamente 5°C em um banho de gelo. A isto foi adicionado 910 microlitros de uma solução salina tamponada por fosfato (pH ~7) contendo 0,2% em peso/volume de poloxâmero 407 e 1% em peso/volume de polissorbato 80. Seguindo a adição, a solução foi misturada às 5°C durante cerca de 10 minutos e então permitiu a misturar em temperatura ambiente durante uns 10 minutos adicionais. A solução resultante foi clareada e foi 0,1% com respeito a latrunculina B. Esta solução foi empregada como é ou diluída a uma concentração de 0,02% ou menor empregando a solução salina tamponada por fosfato (pH ~7) contendo 0,2% em peso/volume de poloxâmero 407 e 1% em peso/volume de polissorbato 80.

Exemplo 4. Preparação de preparação preservada de latrunculina B em uma formulação de veículo aquoso

Para um frasco contendo 1 mg de latrunculina B foi adicionado 1 mL de um aproximadamente 10 mM de solução de tampão de citrato contendo 4,5% em peso/volume de manitol, 1% em peso/volume de polissorbato 80, 0,05% em peso/volume de edetato de disódico, e 0,1% em peso/volume de cloreto de benzalcônio (pH ~5.5) e misturado em temperatura ambiente durante cerca de 15 minutos. A solução foi clareada e incolor. A solução foi 0,1% com respeito a latrunculina B e teve um pH de aproximadamente 5,5. Esta solução foi empregado como é ou diluída a 0,02% em peso/volume ou uma concentração menor (tal como 0,005% em peso/volume) empregando a solução tamponada por citrato (pH ~5,5) contendo 4,5% em peso/volume de manitol, 1% em peso/volume de polissorbato 80, 0,05% em peso/volume de edetato de dissódico, e 0,01% em peso/volume de cloreto de benzalcônio.

As soluções contendo 0,02% (Solução A) e 0,005% (Solução B) latrunculina B foram testadas a estabilidade. A degradação de latrunculina B foi medida por HPLC. Os resultados mostram que a solução A mantém 95%, e a solução B mantém 100% da quantidade inicial de latrunculina B, após armazenamento às 2-8°C durante 6 meses.

Exemplo 5. Preparação de solução de latrunculina B de des-metil, 0,02% em uma formulação de veículo de etanol 5%

Para um frasco contendo 1 mg de latrunculina B de des-metil foi adicionado 250 microlitros de etanol de graduação 200 que segue a solução misturada em temperatura ambiente. Para isto foi adicionado 750 microlitros de uma solução salina tamponada por fosfato cujo pH foi aproximadamente 7; a solução foi misturada em temperatura ambiente durante cerca de 5 minutos. A solução resultante foi clareada e foi 0,1% com respeito a latrunculina

B. Esta solução foi empregada como é ou diluída a uma concentração de 0,02% empregando a formulação salina tamponada por fosfato formulação.

Exemplo 6. Preparação de solução de latrunculina B de cis-des-metil em uma formulação de veículo aquoso

5 Para um frasco contendo 1 mg de latrunculina B de cis-des-metil foi adicionado 1 mL de um aproximadamente 10 mM de solução de tampão de citrato contendo 4,5% em peso/volume de manitol, 1% em peso/volume de polissorbato 80, 0,05% em peso/volume de edetato de dissódico, e 0,01% em peso/volume de cloreto de benzalcônio (pH ~5,5) e misturado em temperatura ambiente durante cerca de 15 minutos. A solução foi clareada e inco-  
10 lor. A solução foi 0,1% com respeito a latrunculina B e teve um pH de aproximadamente 5,5. Esta solução foi empregada como é ou diluída a uma concentração de 0,02% ou menor empregando a solução tamponada por citrato (pH -5,5) contendo 4,5% em peso/volume de manitol, 1% em peso/volume de polissorbato 80, 0,05% em peso/volume de edetato de dis-  
sódico, e 0,01% em peso/volume de cloreto de benzalcônio.

15 Exemplo 7. Efeitos de formulações de compostos de alvejamentos citoesquelético em pressão Intra-ocular *In Vivo*

*Preparação Animal e Instrumentação:* Para todas as experiências em vivo e avaliação de tolerabilidade das formulações e estudando os efeitos dos compostos nestas formulações em pressão intra-ocular, as experiências foram administradas em coelhos tipo Ho-  
20 landês. Os animais empregados nestas avaliações foram alojados individualmente em uma criação onde eles foram expostos a um ciclo normal, luz e escuro não reserva 12-hora e têm acesso livre para alimentar e água. A medida de pressão intra-ocular foi realizada empregando um que tonômetro TonoPen XL comercialmente disponível.

*Protocolo Experimental:* Os coelhos são removidos da sua gaiola e contidos em um  
25 saco de pano durante alguns minutos antes de medidas de IOP para minimizar tensão induzidos aumentos em IOP. As córneas dos olhos dos coelhos são anestesiadas com 0,25% de proparacaina HCl. Após esperar durante cerca de 2 minutos para permitir o anestésico para fazer efeito, a pálpebra é mantida aberta o auxílio mão dominante e o Tono-Pen é tocado à córnea central múltiplas vezes em sucessão para registrar leituras. Ou uma formula-  
30 ção farmacêutica contendo latrunculina B ou um veículo de controle é administrada para cada animal como um ou mais gotas nos olhos tópicos. Tipicamente, empregando uma pipeta, 20 microlitros (2 gotas x 10 microlitros cada) é administrado à córnea central em aproximadamente 30 segundos de intervalos. O cintilante é prevenido para maximizar penetração; um volume igual da mesma solução composta de teste ou veículo é instilado em ambos  
35 os olhos. As medidas de IOP são feitas antes para instilação (-1 hora, 0 hora) e 1, 2-2,5, 3, 4,5, e 6 horas pós-instilação. Os animais são devolvidos à gaiola após cada séries de medidas. Além disso, as medidas de IOP, em exames oculares breve são realizadas antes de

dosar e durante o curso da administração e ao término do estudo. As avaliações são focalizadas para observar as condições dos olhos, sinais oculares especificamente tal como vermelhidão, quemose, descarga conjuntival, e opacidades córneas.

#### Resultados

5            Figura 1 mostra os efeitos de redução de pressão intra-ocular em coelhos tipo Hollandês tratados com 0,02% de latrunculina B em 5% de formulação de etanol e com veículo.

            Figura 2 mostra os efeitos de redução de pressão intra-ocular em coelhos tipo Hollandês tratados com 0,02% latrunculina B em solução salina tamponada por fosfato (pH ~7) contendo propileno glicol, poloxâmero 407 e polissorbato 80 e com veículo (Exemplo 3).

10            Figura 3 mostra os efeitos de redução de pressão intra-ocular em coelhos tipo Hollandês-cingidos tratados com 0,02% latrunculina B em solução tamponada por citrato (pH ~5,5) contendo 4,5% em peso/volume de manitol, 1% em peso/volume de polissorbato 80, 0,05% em peso/volume de edetato de dissódico, e 0,01% em peso/volume de cloreto de benzalcônio e com veículo (Exemplo 4).

15            Figura 4 mostra os efeitos de redução de pressão intra-ocular em coelhos tipo Hollandês tratados com 0,02% de latrunculina B de des-metil em 5% de formulação de etanol e com veículo. (Exemplo 5).

            Figura 5 mostra os efeitos de redução de pressão intra-ocular em coelhos tipo Hollandês tratados com 0,1% latrunculina B de cis-des-metil B em solução tamponada por citrato (pH ~5,5) contendo 4,5% em peso/volume de manitol, 1% em peso/volume de polissorbato 80, 0,05% em peso/volume de edetato de dissódico, e 0,01% em peso/volume de cloreto de benzalcônio e com veículo. (Exemplo 6).

25            A invenção, e a maneira e processo de fazer e empregar, são descritos agora em tal totalidade, clarear, conciso e termos exatos como para permitir qualquer pessoa versada na técnica a qual pertence, para fazer e usar o mesmo. Será entendido que as modalidades preferidas descritas anteriormente da presente invenção e que modificações podem ser feitas aqui sem afasta-se do escopo da presente invenção como apresentado nas reivindicações. Para pontos particularmente e reivindicação distintamente o material objeto considerado como invenção, as reivindicações seguintes concluir esta especificação.

## REIVINDICAÇÕES

1. Formulação farmacêutica aquosa, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, um tensoativo não iônico em uma quantidade de 0,01-2% em peso/volume, e agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG, a um pH entre 4 a 8, onde a latrunculina, o tensoativo, e o agente de tonicidade são compatíveis na formulação, e a formulação não contém uma quantidade substancial de sulfóxido de dimetila.  
5
2. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a referida formulação não contém mais do que 0,001% volume/volume de sulfóxido de dimetila.  
10
3. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a referida formulação não contém nenhum sulfóxido de dimetila.
4. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o referido tensoativo não iônico é selecionado do grupo consistindo em: polissorbatos, tiloxapol, óleo de rícino de polioxil, poloxâmeros, triglicerídeo de caprílico polietileno glicol, estearatos de polioxil, monoestearato de gliceril, e combinação destes.  
15
5. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o referido tensoativo não iônico é um polissorbato, um poloxâmero, ou uma combinação destes.  
20
6. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-5, **CARACTERIZADA** pelo fato de que adicionalmente compreende 1-100 mM de tampão adequado para manter o pH entre 4-6.  
25
7. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o tampão é tampão de citrato, tampão de acetato, tampão de citrato/fosfato, tampão de maleato, tampão de tartarato, ou combinação destes.
8. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-7, **CARACTERIZADA** pelo fato de que adicionalmente compreende um agente de quelação e/ou um preservativo.  
30
9. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-8, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o referido agente de tonicidade é um agente de tonicidade não iônico.
10. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o referido agente de tonicidade não iônico é manitol ou dextrose.  
35
11. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com qualquer uma das reivindica-

ções 1-10, **CHARACTERIZADA** pelo fato de que a referida formulação é estável durante pelo menos 6 meses às 2-8°C.

12. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com a reivindicação 1, **CHARACTERIZADA** pelo fato de que o referido tensoativo é poloxâmico em uma quantidade de 0,02-0,25% em peso/volume, e a formulação também compreende 1-10% volume/volume de propileno glicol.

13. Formulação farmacêutica aquosa, **CHARACTERIZADA** pelo fato de que compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, 5-10% volume/volume de etanol, e um agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG, onde o pH da formulação é 4-8, e a formulação não contém uma quantidade substancial de DMSO.

14. Formulação farmacêutica aquosa, **CHARACTERIZADA** pelo fato de que compreende pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, um ciclodextrina, um preservativo, e um agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG, onde o pH da formulação é 4-8, e a formulação não contém uma quantidade substancial de DMSO.

15. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-14, **CHARACTERIZADA** pelo fato de que a referida latrunculina é latrunculina A, latrunculina B, latrunculina B de des-metil, ou análogos de latrunculina.

16. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com a reivindicação 15, **CHARACTERIZADA** pelo fato de que a referida latrunculina é latrunculina A, latrunculina B, ou latrunculina de des-metil o B.

17. Formulação farmacêutica aquosa, de acordo com a reivindicação 15, **CHARACTERIZADA** pelo fato de que a referida latrunculina está em uma quantidade de 0,005-0,02% (em peso/volume).

18. Método de reduzir pressão intra-ocular em um mamífero, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que compreende a etapa de administrar a um mamífero com necessidade de tratamento a formulação farmacêutica aquosa de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-17, em uma quantidade efetiva para alterar o citoesqueleto de actina.

Figura 1

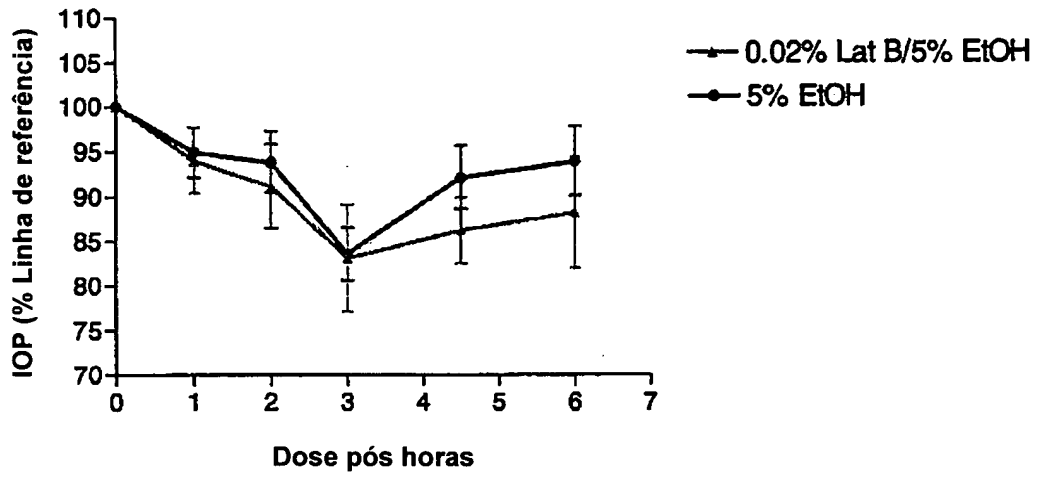


Figura 2

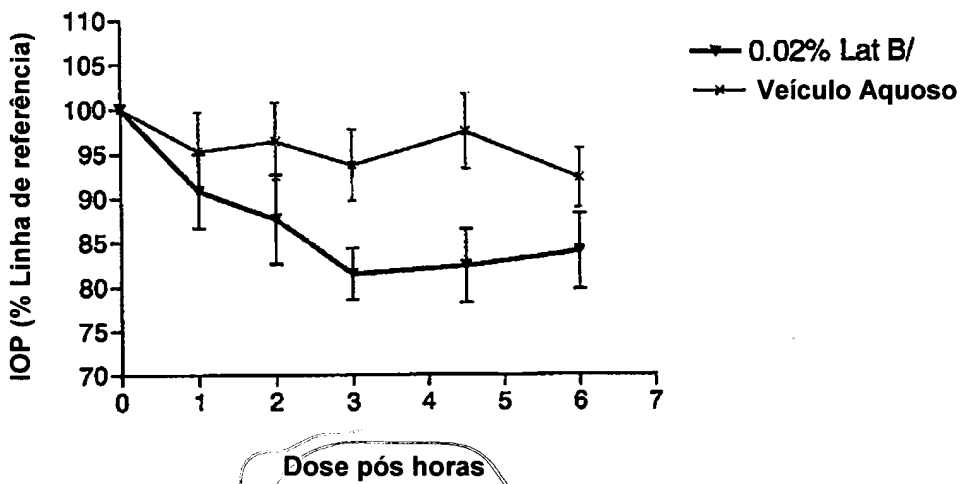


Figura 3

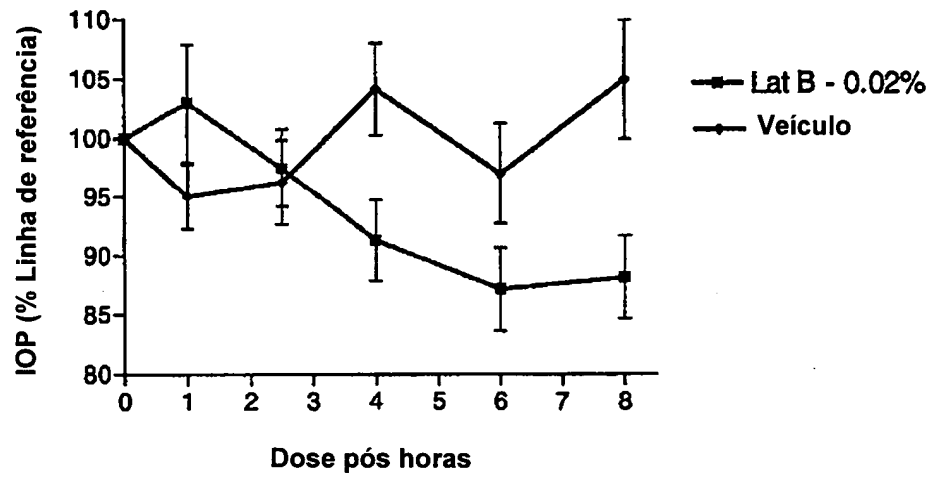


Figura 4

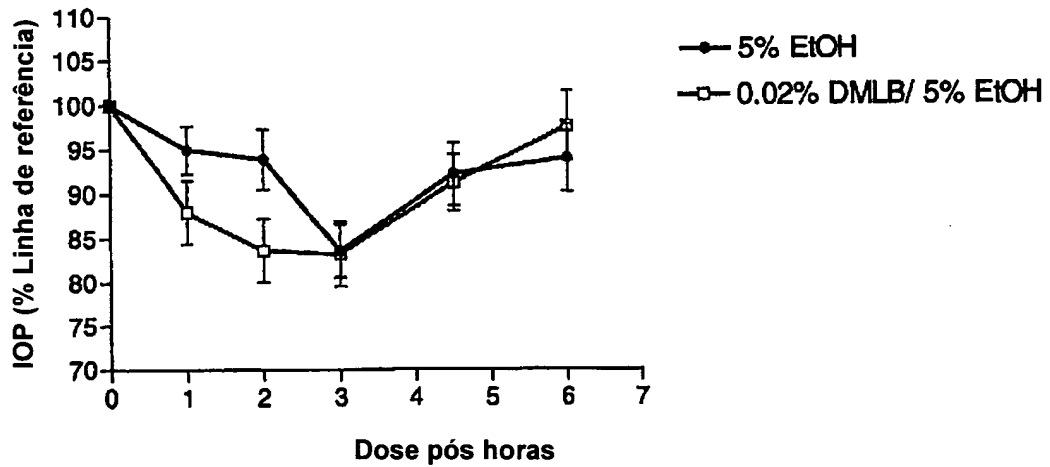
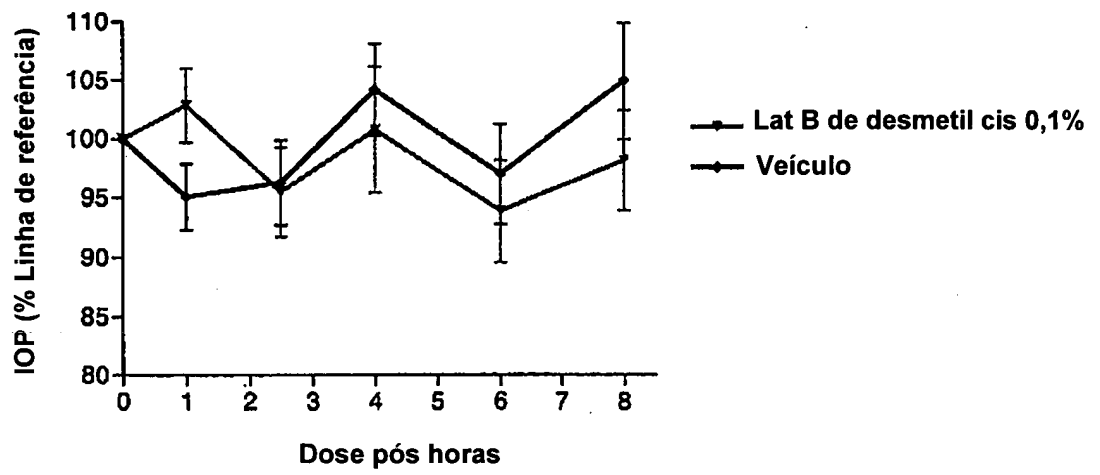


Figura 5



RESUMO**"FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS DE LATRUNCULINA"**

A presente invenção se refere a uma formulação farmacêutica aquosa compreendendo pelo menos uma latrunculina e a formulação não contém uma quantidade substancial de sulfóxido de dimetila. Em uma modalidade, a presente invenção esta voltada a uma formulação farmacêutica aquosa compreendendo pelo menos uma latrunculina em uma quantidade de 0,001-2% em peso/volume, um tensoativo não iônico em uma quantidade de 0,01-2% em peso/volume, e um agente de tonicidade para manter uma tonicidade entre 200-400 mOsm/kG, a um pH entre 4 a 8, onde a latrunculina, o tensoativo, e o agente de tonicidade são compatíveis na formulação, e a formulação não contém uma quantidade substancial de sulfóxido de dimetila. A formulação é estável durante pelo menos seis meses em temperatura refrigerada. A presente invenção também fornece um método de reduzir pressão intraocular, um método de tratar glaucoma, um método de inibir cura de ferida após trabeculectomia, e um método de inibir angiogênese.