

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6889165号  
(P6889165)

(45) 発行日 令和3年6月18日(2021.6.18)

(24) 登録日 令和3年5月24日(2021.5.24)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 31/385 (2006.01)	A 6 1 K 31/385
A 6 1 K 47/10 (2006.01)	A 6 1 K 47/10
A 6 1 K 47/18 (2006.01)	A 6 1 K 47/18
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 9/08
A 6 1 K 9/14 (2006.01)	A 6 1 K 9/14

請求項の数 11 (全 37 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-535822 (P2018-535822)  
 (86) (22) 出願日 平成28年9月23日 (2016.9.23)  
 (65) 公表番号 特表2018-536018 (P2018-536018A)  
 (43) 公表日 平成30年12月6日 (2018.12.6)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/053225  
 (87) 国際公開番号 W02017/053646  
 (87) 国際公開日 平成29年3月30日 (2017.3.30)  
 審査請求日 令和1年9月4日 (2019.9.4)  
 (31) 優先権主張番号 62/222,844  
 (32) 優先日 平成27年9月24日 (2015.9.24)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関  
 米国 (US)

(73) 特許権者 504389991  
 ノバルティス アーゲー  
 スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ  
 35  
 (74) 代理人 100092783  
 弁理士 小林 浩  
 (74) 代理人 100120134  
 弁理士 大森 規雄  
 (74) 代理人 100194423  
 弁理士 植竹 友紀子  
 (74) 代理人 100104282  
 弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 リポ酸コリンエステル組成物および生体適合性眼用製剤の作製方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

0.1 ~ 10 重量% のリポ酸コリンエステルの薬学的に許容される塩、0.1 ~ 2 重量% の浸透圧調整剤、0.05% ~ 1.0 重量% のアラニン、酢酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、およびこれらの混合物からなる群から選択される緩衝液、および水を含む、薬学的組成物であって、前記薬学的組成物は防腐剤を含まず、かつ、グリセロールを含まず、前記薬学的組成物は 3.5 ~ 5 の範囲の pH を有する、薬学的組成物。

【請求項 2】

前記リポ酸コリンエステルの薬学的に許容される塩が塩化物塩、臭化物塩、またはヨウ化物塩である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

少なくとも 3 カ月、少なくとも 6 カ月、少なくとも 9 カ月、または少なくとも 1 年の貯蔵安定性を有する、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

非刺激性点眼溶液である、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の薬学的組成物を生成する方法であって、前記リポ酸コリンエステルの薬学的に許容される塩を細かく粉碎することと、5 ppm 未満、好ましくは 2 ppm 未満の酸素を有する水に粉碎された前記塩を加えることと、

6～8時間、好ましくは8時間室温で混合して、混合物を形成することと、  
 眼用ボトルに前記混合物を充填し、キャッピング前に不活性ガスのオーバーレイを加えることと、

充填およびキャッピングされた前記眼用ボトルをガス不透過性パウチにパッケージングすることと、

前記パッケージを2～8で保管することと

を含む、方法。

【請求項6】

前記パウチが酸素捕捉剤を含有する、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記リポ酸コリンエステルの薬学的に許容される塩が、5mm以下の平均粒径を有する粉末に粉碎される、請求項5または6に記載の方法。

【請求項8】

混合温度が20～25の間である、請求項5から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

前記不活性ガスが窒素である、請求項5から8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

前記眼用ボトルが、低密度ポリエチレン(LDPE)、ポリエチレンテレフタレート(PET)、またはポリテトラフルオロエチレン(PTFE)ボトルである、請求項5から9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

前記眼用ボトルが、吹き込み-充填-密封ユニットである、請求項5から10のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は一般に、眼用リポ酸コリンエステル組成物および生体適合性であり安定であり非刺激性である点眼製剤を生成するためのプロセスに関する。本明細書における組成物は、(限定されないが)老視、ドライアイ、白内障、および加齢性黄斑変性症などの眼障害のための治療薬として企図される。

【背景技術】

【0002】

リポ酸コリンエステル(LACE)は、R- -リポ酸の化学的に合成された誘導体である。

【0003】

チオクト酸としても知られるリポ酸は、ジスルフィド結合が6番炭素と8番炭素とを結合して1,2-ジチオラン環を形成している炭素数8の脂肪酸である。この酸は光学異性を形成し、その中でも異性体R- -リポ酸が最も生物学的に活性である。

【0004】

リポ酸コリンエステル(LACE、化学構造は図1を参照されたい)は、カチオン性コリン頭部基の組み込みによって生体膜を透過するように設計された。リポ酸は角膜を透過しないが、リポ酸のコリンエステル誘導体は角膜を透過し、角膜エステラーゼによって加水分解され、生物学的に活性なりポ酸に変換される。LACEは、老視を治療するための点眼薬として1日2回適用される眼用溶液に製剤化されている。

【0005】

リポ酸およびコリンからなるプロドラッグであるLACEは、老視を治療するための独特の分子である。リポ酸(LA)は活性成分であり、コリン頭部基は眼への透過性を助ける働きをする。LAとコリンとの間の結合は、点眼薬が投与された後に涙膜および角膜のエステラーゼによって加水分解される。遊離リポ酸は眼に入り、最終的に水晶体に達する。水晶体において、リポ酸は、内在性の酸化還元酵素によりジヒドロリポ酸に還元され、

10

20

30

40

50

これにより次に、表面の細長い水晶体細胞内における細胞質タンパク質の加水分解が起こる。このタンパク質切断により、サイトゾルの自由な流れ、および水晶体の加齢性硬化に関連する酸化的プロセスの逆転が可能になる。LACEから調製された眼用溶液は、遠近調節の加齢性損失である老視を有する人々の遠近調節を可能にし、近見視力の焦点を改善させることが期待されている。

【0006】

老視とは、加齢に関連して近くの物体に焦点を合わせることができなくなることであり、この状態は、目に見える物体に焦点を合わせるための水晶体の焦点距離および湾曲の自動調整における柔軟性の損失をもたらす、水晶体の微細構造の生理学的変化によって引き起こされる。この状態は、補正レンズによって補正される。リポ酸コリンエステル（「LACE」）（例えば、米国特許第8,410,462号を参照されたい）は、近見視力を回復させようと報告されている。

10

【0007】

この主張の裏付けとなるのは、水晶体の軟化が、ヒトドナーの水晶体ではタンパク質ジスルフィド還元剤のジチオスレイトール（DTT）を使用し、またマウスの水晶体ではリポ酸を用いて、薬理的に誘発されうることを実証したエクスピボ研究である。

【0008】

この作用機序により、複数の眼疾患および眼障害の治療を企図することが可能になる。これらの障害は、限定されないが、老視、加齢性黄斑変性症、白内障、およびドライアイである。

20

【0009】

LACEの製剤を問題のあるものにしていない問題点は、分子の活性を損なう酸化種を形成するジチオラン結合の開環によって不安定化する傾向である。室温においてLACEは急速に分解して酸化種になる（「HPLC Chromatogram of LACE Ophthalmic Solution with Degradation Products」参照、図2参照）。冷蔵温度で保管したときでさえ、早ければ1週間の保管で急速な酸化が起こり、薬品としての分子の有用性が損なわれる。LACE眼用溶液（別称EV06眼用溶液）を薬品としてのその可能性の限界まで利用するためには、水性製剤が保管および使用中に安定化されることが重要であった。

【0010】

LACE眼用溶液の薬学的発展を阻んだ別の問題点は、ウサギ刺激モデルにおいてインスピボで観察された眼表面刺激の発生であった。本発明は、眼球刺激に寄与したかまたは眼球刺激を引き起こした予想外のパラメータ、およびこれらのパラメータを排除するかまたは最小限に抑えるためのプロセスを詳述する。これらのパラメータは、通常は眼球刺激に関連または起因する要因である原薬の製剤組成または特性に関連しなかった。

30

【0011】

本明細書に記載される組成物および方法は、眼用LACE製剤を長期間安定化させるための方法を説明する。また、特定のプロセス条件下で製剤化されたLACE製剤の刺激の原因に関する予期せぬ発見も説明する。最終の快適なLACEの眼用溶液（EV06眼用溶液）の作製における主要な要因として特定された重要なプロセスパラメータも非自明的である。

40

【0012】

最終的なプロセス条件は分解種の形成を最小限に抑え、眼球刺激に起因する種の形成を最小限に抑えた。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】リポ酸コリンエステルの化学構造を示す図である。

【図2】1、3、および4時間混合した製剤KW-LACE-01-86-2の8.1分でのLACEミセル種を示す図である。

【図3】6、8、および24時間混合した製剤KW-LACE-01-86-2の8.1分でのLACEミセル種を示す図である。

50

【図4】ミセルLACE種(矢印により表されるピーク)は冷蔵温度で混合したときに最も高いことを示す図である。

【図5A】高いミセルLACE濃度(HPLCで7.9~8.5分の間の大きなピークによって表される)が「集塊のある(clumped)」LACE塩化物のAPIと関連することを示す図である。

【図5B】低いミセルLACE(矢印により表されるピーク)が集塊のないLACE APIと関連することを示す図である。

【図6】アラニンおよびpHの効果を示す図である。

【図7】次の可変要素を比較する製剤のプロットである:(a)対照(原物)と、対照+0.25%塩化ナトリウム、グリセリンを含まない対照+0.25%塩化ナトリウムとの対比、(b)対照(原物)と塩化ベンザルコニウム(BAC)を含まない対照との対比、(c)対照(原物)とグリセリンを含まない原物の製剤との対比。

【図8】57におけるLACE安定性に対する亜硫酸塩の効果を示す図である。亜硫酸塩含有製剤は、pH4および4.5において、亜硫酸塩0.05%(黒四角、黒三角)および亜硫酸塩0.1%(x)の濃度で調製した。亜硫酸塩の添加は、原物の製剤(黒菱形)を安定化させなかった。

【図9】塩化ベンザルコニウムを排除することによる安定化効果の可能性をさらに探索する図である。塩化ベンザルコニウムを含まない製剤変化形態は全て、対照の原物の製剤(pH4.5)よりも優れていた。製剤変化形態は、pH4、4.5(黒三角、黒四角)のBAC不含組成物、グリセリンなし/BACなし+0.9%塩化ナトリウム(x)、pH4および4.5のBACなし+0.05%亜硫酸塩(黒丸、黒四角)であった。

【図10】グリセリンの排除がLACE安定性に与える効果を示す図である。

【図11】緩衝組成物がLACE安定性に与える効果を示す図である。

【図12A】HPLC-UVにより測定されたLACEミセル種%と刺激スコア(ウサギ刺激モデルにおける)の相関性を示す図である。

【図12B】HPLC-ELSDにより測定されたLACEミセル種%と刺激スコア(ウサギ刺激モデルにおける)の相関性を示す図である。

【図13】グリセロールオスモル濃度標準曲線を示す図である。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0014】

本発明は、2つの主な目的、すなわち(a)2~5の冷蔵保管温度で少なくとも1年間安定であるLACEの眼用溶液を作製すること、および(b)眼に対して非刺激性であるLACEの眼用溶液を調製するためのプロセスパラメータを作製し最適化することを達成する。

【0015】

LACEの化学構造は、2つの分解点を示す。1つはジチオラン環の開環であり、もう1つは酸化および加水分解的な分解である。先に言及したように、LACEは酸素と相互作用して酸化種を急速に発生させる。水中では、LACEはまた、リポ酸およびコリンを発生させるエステル結合の加水分解を受けやすい。加水分解が起こる速度は温度に相関し、加水分解は低い温度およびpHにおいて少ない。

【0016】

ガス透過性である透過性低密度ポリエチレン(LDPE)点眼器ボトルに保管された、EV06眼用溶液とも呼ばれるLACE眼用溶液誘導体に関する研究が行われた。本明細書には、調合されたLACE溶液の保管中の酸化を最小限に抑えるために本発明者らが開発した方法が記載される。

【0017】

さらに、LACEを含む賦形剤混合物の広範な適合性研究は、安定化因子としての特定の賦形剤の重要性、水中でのLACEの加水分解の安定化におけるpHの役割、ならびに塩化ナトリウムおよびグリセロールなどのオスモル濃度調整剤の効果を証明した。最も重

10

20

30

40

50

要なことには、クエン酸塩、リン酸塩、およびホウ酸塩に対立するものとして、LACEに対するアラニンの安定化効果が本発明において説明された。

【0018】

刺激の原因を探求している間に、LACEが水に溶解すると、本質的に両親媒性である化合物に一般的なミセルおよびミセル凝集体が生じることが発見された。定義として、ミセル形成化合物の例は、ホスファチジルコリン、ペグ化ホスファチジルコリン、ステアリン酸PEG、ソルビトールなどである。この分子には両親媒性の性質があるため、LACEのミセル形成現象は予想外ではないが、より低い温度でのこれらの凝集体の形成は意外であった。凝集体の存在は、組織内で開発されたRP-HPLC法によって測定された。この測定は、HPLC-UV(図3A)およびHPLC-ELSD(図3B)の両方で行うことができた。

10

【0019】

LACE水溶液は、冷蔵温度(2~5)でゲル様の構造を形成した。また、ミセル形成薬物の濃度の上昇とともに、これらのミセル集合体の数および凝集が増加することが予想される。本発明者らは、LACEのミセル凝集の程度と眼表面の刺激との相関性を示した。ミセルビヒクルは不溶性化合物のための薬物送達系として企図されることが多いため、これは予想外であり驚くべき結果である。したがって、ミセル凝集体との刺激の相関を報告する記述はこれが初めてである。この現象は、発見された以上、快適さと相関する調合方法によって最小限に抑える必要があった。

【0020】

20

ミセル凝集体の形成は、調合温度と相関しているようであった(図4)。自己集合体の形成は、最小化されたエネルギー状態を達成するための表面自由エネルギーの効率的な低下と相関する熱力学的現象である。LACEをより低い温度(5)の水中で調合すると、ゲル様の稠度を有した凝集体が形成された。冷蔵温度で製剤化した組成物は、眼に対して極度に刺激性であった。凝集の状態は、RP-HPLC法によって定量化することができた(図3A~3Bに示されるクロマトグラムを参照されたい)。一連の調査実験は、広範なサイズ排除クロマトグラフィ(SEC)によって測定したとき、ポリマーまたはオリゴマーの存在を示さなかった。他の調査では、周囲空気の下または窒素の下で実施されたプロセスに応じた眼球刺激を試験した。空気または窒素との刺激の相関性は存在しなかった。分解生成物は空気の下でより高かったものの、室温で製剤化したとき、両者は等しく快適であった。LACEを室温で調合したとき、HPLC法で定量化するとミセル凝集はより低かった。室温で調合したLACEは、快適であり非刺激性の溶液を作製した。

30

【0021】

ミセル凝集体の「ほぐれ(disentangling)」も予期せぬものであった。LACE水性組成物中に生じた凝集体は、HPLCによって測定した場合に、溶液を室温で卓上に放置して平衡化させると「ほぐれる」ことができた。さらなる実験は、勢いよい混合が脱凝集を達成したことを示した。したがって、これらの種は共有結合を有する恒久的な種ではないことが証明され、むしろ、LACE凝集体の自己集合は5と比較して室温でより低い濃度を有するようであった。LACE水溶液は、凍結すると粘質の稠度を生じた。これらの溶液は、室温まで上昇させてこの温度で保管したとき、再び均質な溶液のように見え、自己集合の温度依存性の概念の信憑性がさらに高まった。

40

【0022】

しかしながら、凝集体を含まないLACE溶液は、ひとたび調合されれば、冷蔵条件下で保管して酸化および加水分解的な分解を最小限に抑えることができた。安定性研究を通じて、分解事象を最小限に抑えるのに理想的なLACEの保管温度は2~5であることが証明された。

【0023】

刺激が最も少ない溶液をもたらすために理想的な調合条件は室温(22~25)であると決定され、老視のための安定で快適なLACEの眼用溶液を得るために理想的な保管

50

条件は 2 ~ 5 の間であると決定された。

【 0 0 2 4 】

L A C E から調製された眼用溶液の安定化をさらに助けるため、酸素捕捉剤パッケージを L D P E 眼用ボトルとともにマイラー製の不透過性パウチに入れて酸化誘発性分解を防止した。広範な安定性研究は、E V 0 6 眼用溶液の 1 年間の安定性の達成を実証した。

【 0 0 2 5 】

また、本発明では、薬物を安定化させることを主な目的として調合されたリポソーム、エマルジョンといった他の種類の水性調製物を含む、L A C E を安定化させる様々な組成物の実施形態が記載される。

【発明を実施するための形態】

10

【 0 0 2 6 】

A . 用語の定義

「E V 0 6」、「L A C E」、または「リポ酸コリンエステル」という用語は、図 1 に示される化学構造を有するものと理解される。

【 0 0 2 7 】

本明細書で使用される場合、L A C E 製剤とは、リポ酸コリンエステル製剤を指す。例えば、L A C E 1 . 5 % 製剤とは、製剤の 1 . 5 重量%のリポ酸コリンエステルを有する製剤を指す。あるいは、E V 0 6 眼用溶液、1 . 5 %とは、1 . 5 %のリポ酸コリンエステルを含む製剤を指す。

【 0 0 2 8 】

20

本明細書で使用される場合、リポ酸コリンエステルの「誘導体」とは、リポ酸コリンエステルを非水性の薬学的賦形剤と反応させることにより形成される、リポ酸およびコリンを除く任意の化合物または化合物の混合物として理解される。

【 0 0 2 9 】

本明細書で使用される場合、「自己集合」という用語は、最も安定なエネルギー状態を達成するための分子の熱力学的集合を表す。自己集合の一例は、典型的には疎水性構成成分および親水性構成成分を含む分子により形成される、水中で形成されるミセルである。分子の親水性構成成分がミセルの表面にあり、一方で内部は疎水性部分を含有する。L A C E では、コリン頭部基がミセルの表面にある。

【 0 0 3 0 】

30

明確に記述される場合または文脈から明らかである場合を除いて、本明細書で使用される場合「賦形剤」という用語は、薬学的に許容される賦形剤を指す。

【 0 0 3 1 】

「治療する」という用語は、疾患もしくは障害に関連する状態、症状、またはパラメータを改善させるために有効な量、様式、または形態で治療薬を投与することを指す。

【 0 0 3 2 】

「防止する」という用語は、統計的に有意な程度または当業者にとって検出可能な程度のいずれかまで、患者が障害に罹ることを防ぐこと、患者により長い期間障害のない状態を維持させること、または障害の進行を停止することを指す。

【 0 0 3 3 】

40

「治療有効量」という用語は、対象の眼疾患または眼障害（例えば老視）の発症の防止もしくは遅延またはその症状の寛解、あるいは遠近調節の幅もしくは病態を示す別の好適なパラメータの改善といった所望の生物学的成果の実現をもたらす、活性成分（例えば L A C E またはその誘導体）の量を指す。

【 0 0 3 4 】

本明細書で使用される場合、「貯蔵安定性」または「貯蔵安定の」という用語は、保管の際に実質的に変化しない組成物もしくは活性成分（例えば L A C E またはその誘導体）の特徴として、またはそれを特徴付けるものとして理解される。かかる貯蔵安定性を決定するための方法は公知であり、例えば、貯蔵安定性を H P L C によって測定して、製剤を特定の期間保管した後に残る、または製剤中で分解した、組成物もしくは活性成分（例え

50

ばリポ酸コリンエステル)の百分率を決定することができる。例えば、貯蔵安定の薬学的組成物とは、医薬品規格(ICH)に従って保管した後、HPLCによって測定した場合に少なくとも90%(例えば91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または99%超)の活性成分(例えばリポ酸コリンエステル)が組成物中に存在する組成物を指しうる。

【0035】

本明細書で使用される場合、化合物の「相対保持時間」または「RRT」という用語は、「 $RRT = (t_2 - t_0) / (t_1 - t_0)$ 」の方程式を使用して計算することができ、式中、 $t_0$ はボイド時間であり、 $t_1$ は、HPLCによって測定した場合のリポ酸コリンエステルの保持時間であり、 $t_2$ は化合物の保持時間である。

10

【0036】

本明細書で使用される「対象」という用語は、一般に、動物(例えばペット)あるいは健全なヒトまたは特定の疾患もしくは障害(例えば老視)を有する患者を含むヒトを指す。

【0037】

VI. LACE組成物および実施形態

本明細書に記載されるように、提案される本発明は、治療有効量のリポ酸コリンエステル、賦形剤、緩衝液、および適合性の条件を含む薬学的組成物、ならびに眼用点眼薬として好適である生体適合性(非刺激性)で安定な溶液をもたらす方法およびプロセスの実施形態を提示する。

20

【0038】

本薬学的組成物中のリポ酸コリンエステルまたはその誘導体の濃度は、組成物の0.01~0.1重量%、0.1重量%~10重量%(例えば0.1重量%、1重量%、2重量%、3重量%、4重量%、5重量%、6重量%、7重量%、8重量%、9重量%、10重量%、またはこれらの指定数値に基づく任意の範囲)の任意の濃度とすることができる。いくつかの実施形態では、本薬学的組成物中のリポ酸コリンエステルの濃度は1%である。いくつかの実施形態では、本薬学的組成物中のリポ酸コリンエステルの濃度は3%である。いくつかの実施形態では、本薬学的組成物中のリポ酸コリンエステルの濃度は4%である。本組成物中のLACEの好ましい範囲は1~3%である。この範囲において、好ましい組成範囲は1.5~4%である。

30

【0039】

別の実施形態では、提案される本発明の有効な組成物は、LACEおよびアラニンを含む水性製剤であり、アラニンは、0.1~0.5%、0.5%~1%、1%~1.5%、1.5%~3%の間の濃度である。この範囲において、好ましい組成は、アラニン0.5%およびLACE1.5%である。

【0040】

好ましい実施形態では、有効なLACEおよびアラニンを含む組成物は、防腐剤として塩化ベンザルコニウムを30~150ppmの間の濃度で含有する。

【0041】

別の実施形態では、ポリクオタニウム、SoftZiaといった他の防腐剤が、ヒトへの使用のためにFDAにより認可されている濃度で防腐剤としてLACE水性製剤中に含まれる。他の防腐剤は、2-フェニルエタノール、ホウ酸、エデト酸二ナトリウムであってもよい。

40

【0042】

別の実施形態では、LACE含有眼用溶液は、防腐剤を含まない単回用量の無菌生成物である。

【0043】

高い濃度で水中に溶解したLACEの自己集合ミセル溶液はいくらかの刺激を示しうるため、生体適合性溶液をもたらすための一方法は、リポソームでの被包でありうる。この場合、LACEはリポソームの内部に含まれる。リポソームは一般に、眼表面との生体適

50

合性がある。

【 0 0 4 4 】

別の実施形態では、本薬学的組成物は、0.1%～10%の濃度のグリセロールを有する。好ましい実施形態では、本組成物は、0.1～5%のグリセロール濃度を有する。

【 0 0 4 5 】

いくつかの実施形態では、防腐剤は塩化ベンザルコニウムであり、生化学的エネルギー源はアラニンである。いくつかの実施形態では、リボ酸コリンエステルは、塩素イオン、臭化物イオン、ヨウ化物イオン、硫酸イオン、メタンスルホン酸イオン、硝酸イオン、マレイン酸イオン、酢酸イオン、クエン酸イオン、フマル酸イオン、フマル酸水素イオン、酒石酸イオン（例えば、(+) - タートレート、(-) - タートレート、またはそれらの混合物）、酒石酸水素イオン、コハク酸イオン、安息香酸イオン、およびグルタミン酸などのアミノ酸のアニオンからなる群から選択される対イオンを有する。

10

【 0 0 4 6 】

好適な緩衝剤は、本薬学的組成物のために所望のpHを達成することのできる当該技術分野で知られるもののうちのいずれか（例えば本明細書に記載のもの）でありうる。非限定的な例としては、リン酸緩衝液（例えば、リン酸一ナトリウム水和物、リン酸二ナトリウム（無水））、酢酸緩衝液、クエン酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、およびHBS（ハンクス平衡塩類溶液）が挙げられる。緩衝剤の好適な量は、所望のpHに基づいて容易に計算することができる。本明細書に記載の実施形態のうちのいずれかにおいて、緩衝剤は、眼用生成物として許容される量におけるものである。しかしながら、いくつかの実施形態では、本薬学的組成物は緩衝剤を含まない。いくつかの実施形態では、水溶液または最終的な薬学的組成物のpHは、酸（例えば塩酸）または塩基（例えば水酸化ナトリウム）によって所望のpH範囲（例えば本明細書に記載のもの）に調整される。

20

【 0 0 4 7 】

他の実施形態では、緩衝系は、ホウ酸緩衝液、リン酸緩衝液、カルシウム緩衝液、ならびにそれらの組合せおよび混合物から選択されうる。好ましい実施形態では、緩衝液はアミノ酸緩衝液である。別の好ましい実施形態では、アミノ酸緩衝液はアラニンを含む。

【 0 0 4 8 】

いくつかの実施形態では、リボ酸コリンエステルは、塩素イオン、臭化物イオン、ヨウ化物イオン、硫酸イオン、メタンスルホン酸イオン、硝酸イオン、マレイン酸イオン、酢酸イオン、クエン酸イオン、フマル酸イオン、フマル酸水素イオン、酒石酸イオン（例えば、(+) - タートレート、(-) - タートレート、またはそれらの混合物）、コハク酸イオン、安息香酸イオン、およびグルタミン酸などのアミノ酸のアニオンからなる群から選択される対イオンを有する。他の対イオンは、ステアリン酸イオン、プロピオン酸イオン、およびフロ酸イオンである。

30

【 0 0 4 9 】

いくつかの実施形態では、本眼用製剤は、4～8のpHを有する。いくつかの実施形態では、本眼用製剤は、4.5のpHを有する。いくつかの実施形態では、本眼用製剤は、生化学的に許容されるエネルギー源、防腐剤、緩衝剤、等張化剤、界面活性剤、粘度調節剤、および抗酸化剤からなる群から選択される少なくとも1つの成分を含む。

40

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態では、本薬学的組成物は、抗酸化剤を含有する。いくつかの好ましい実施形態では、抗酸化剤は、アスコルビン酸を含む。別の好ましい実施形態では、抗酸化剤は、グルタチオンを含有する。好適な抗酸化剤は、当該技術分野で知られるもののうちのいずれでもよい。非限定的な例としては、アスコルビン酸、L - アスコルビン酸ステアリン酸エステル、アルファチオグリセリン、エチレンジアミン四酢酸、エリトルビン酸、システイン塩酸塩、N - アセチルシステイン、L - カルニチン、クエン酸、酢酸トコフェロール、二塩化イソシアヌル酸カリウム、ジブチルヒドロキシトルエン、2,6 - ジ - t - ブチル - 4 - メチルフェノール、ダイズレシチン、チオグリコール酸ナトリウム、チオリンゴ酸ナトリウム、天然ビタミンE、トコフェロール、アスコルビルパステミネート

50

(ascorbyl pashyminate)、ピロ亜硫酸ナトリウム、ブチルヒドロキシアニソール、1,3-ブチレングリコール、ペンタエリスリチルトetraキス[3-(3,5-ジ-t-ブチル-4-ヒドロキシフェニル)]プロピオネート、没食子酸プロピル、2-メルカプトベンズイミダゾール、および硫酸オキシキノリンが挙げられる。抗酸化剤の好適な量は、組成物の0.1重量%~5重量%の範囲(例えば0.1重量%、0.5重量%、1重量%、2重量%、3重量%、4重量%、5重量%、またはこれらの指定数値に基づく任意の範囲)とすることができる。本明細書に記載の実施形態のうちのいずれかにおいて、抗酸化剤は、眼科的に許容される量におけるものである。

【0051】

いくつかの実施形態では、本薬学的組成物は、高純度の窒素またはアルゴンなどの不活性環境下で調合することによって調製される。好ましい実施形態では、本薬学的組成物は、2 ppm未満の酸素を含む窒素環境下で調合される。

10

【0052】

いくつかの実施形態では、本薬学的組成物は、20~25 °Cの間の温度で調合することによって調製される。

【0053】

好ましい実施形態では、固体LACE分子は、微粉末状に粉碎される。好ましくは、固体LACE分子は、集塊のない粉末状に粉碎される。ある実施形態では、粒径は、500ミクロン未満である。別の好ましい実施形態では、粒径は、100ミクロン未満である。

【0054】

20

好ましい実施形態では、本薬学的組成物は、室温(20~25 °C)に維持した水溶液をまず脱気し、次にこの溶液中に賦形剤を溶解させ、続いて、低速の窒素スパージ下で勢いよく溶解させながら固体LACEを分けてゆっくりと添加することによって調製される。

【0055】

一実施形態において、本薬学的組成物は、4時間~24時間勢いよく攪拌される。好ましい実施形態では、本薬学的組成物は、4時間~8時間勢いよく攪拌される。別の好ましい実施形態では、本薬学的組成物は、8時間勢いよく攪拌される。

【0056】

いずれの方法によって調製された薬学的組成物も、少なくとも3カ月(例えば3カ月、6カ月、9カ月、1年、または1年超)の貯蔵安定性を有しうる。

30

【0057】

本薬学的組成物はまた、5年間で特定の期間保管した後に、薬物関連分解物の好ましいプロファイル(例えば全薬物関連不純物、または特定の薬物関連不純物の量)を有しうる。製剤中の薬物関連分解物の量を測定するための分析ツール(例えばHPLC)は公知である。

【0058】

好適な生化学的に許容されるエネルギー源は、当該技術分野で知られるもののうちのいずれでもよい。例えば、生化学的に許容されるエネルギー源は、エネルギー代謝経路、特にグルコース代謝経路の中間体として関与することにより還元を促進することのできるもののうちのいずれでもよい。好適な生化学的に許容されるエネルギー源の非限定的な例としては、アミノ酸またはその誘導体(例えばアラニン、グリシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、2-オキソグルタル酸、グルタミン酸、およびグルタミンなど)、糖またはその代謝物(例えばグルコース、グルコース-6-リン酸(G6P))、ピルビン酸エステル(例えばピルビン酸エチル)、ラクトース、乳酸塩、またはそれらの誘導体)、脂質(例えば脂肪酸またはその誘導体、例えばモノグリセリド、ジグリセリド、およびトリグリセリド、ならびにリン脂質)、および他のもの(例えばNADH)が挙げられる。生化学的に許容されるエネルギー源の好適な量は、組成物の0.01重量%~5重量%の範囲(例えば0.05重量%、0.1重量%、0.2重量%、0.5重量%、1重量%、2重量%、3重量%、4重量%、5重量%、またはこれらの指定数値に基づく任意の範囲)とすることができる。いくつかの実施形態では、生化学的エネルギー源はピルビン酸エチル

40

50

である。いくつかの実施形態では、生化学的エネルギー源はアラニンである。いくつかの実施形態では、ピルビン酸エチルまたはアラニンの量は、組成物の0.05重量%～5重量%の範囲（例えば0.05重量%、0.1重量%、0.2重量%、0.5重量%、1重量%、2重量%、3重量%、4重量%、5重量%、またはこれらの指定数値に基づく任意の範囲）である。いくつかの実施形態では、アラニンの量は、組成物の0.5重量%である。本明細書に記載の実施形態のうちいずれかにおいて、生化学的に許容されるエネルギー源は、眼科的に許容される量におけるものである。

#### 【0059】

好適な防腐剤は、当該技術分野で知られるもののうちのいずれでもよい。非限定的な例としては、塩化ベンザルコニウム（BAC）、セトリモニウム、クロロブタノール、エデト酸二ナトリウム（EDTA）、ポリクオタニウム-1（Polyquad（登録商標））、ポリヘキサメチレンピグアニド（PHMB）、安定化オキシクロロ複合体（PURITE（登録商標））、過ホウ酸ナトリウム、およびSoftZia（登録商標）が挙げられる。本薬学的組成物中の防腐剤の好適な量は、組成物の0.005重量%～0.1重量%の範囲（例えば0.005、0.01、0.02重量%、0.05重量%、0.1重量%、またはこれらの指定数値に基づく任意の範囲）とすることができる。いくつかの実施形態では、防腐剤は塩化ベンザルコニウムである。いくつかの実施形態では、塩化ベンザルコニウムは、組成物の0.003重量%～0.1重量%（例えば0.003、0.01、0.02重量%、0.05重量%、0.1重量%、またはこれらの指定数値に基づく任意の範囲）の量におけるものである。いくつかの実施形態では、塩化ベンザルコニウムは、組成物の0.01重量%の量におけるものである。本明細書に記載の実施形態のうちいずれかにおいて、防腐剤は、眼科的に許容される量におけるものである。いくつかの実施形態では、本薬学的組成物は、防腐剤を含まない。

#### 【0060】

好適な等張化剤は、当該技術分野で知られるもののうちのいずれでもよい。非限定的な例としては、塩化ナトリウム、塩化カリウム、マンニトール、デキストロース、グリセリン、プロピレングリコール、およびそれらの混合物が挙げられる。本薬学的組成物中の等張化剤の好適な量は、200～460mOsm（例えば、260～360mOsmまたは260～320mOsm）のオスモル濃度を達成することのできる任意の量である。いくつかの実施形態では、本薬学的組成物は、等張性組成物である。いくつかの実施形態では、等張化剤（例えば、塩化ナトリウム）の量は、組成物の0.1重量%～5重量%（例えば、0.1重量%、0.5重量%、1重量%、2重量%、3重量%、4重量%、5重量%、またはこれらの指定数値に基づく任意の範囲）である。本明細書に記載の実施形態のうちいずれかにおいて、等張化剤は、眼科的に許容される量におけるものである。

#### 【0061】

好適な界面活性剤は、イオン性界面活性剤および非イオン性界面活性剤を含め、当該技術分野で知られるもののうちのいずれでもよい。有用な非イオン性界面活性剤の非限定的な例としては、ポリオキシエチレン脂肪エステル（例えば、ポリソルベート80 [ポリ（オキシエチレン）ソルビタンモノオレエート]、ポリソルベート60 [ポリ（オキシエチレン）ソルビタンモノステアレート]、ポリソルベート40 [ポリ（オキシエチレン）ソルビタンモノパルミテート]、ポリ（オキシエチレン）ソルビタンモノラウレート、ポリ（オキシエチレン）ソルビタントリオレエート、またはポリソルベート65 [ポリ（オキシエチレン）ソルビタントリステアレート]）、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油（例えば、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油10、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油50、またはポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60）、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール（例えば、ポリオキシエチレン（160）ポリオキシプロピレン（30）グリコール [Pluronic F681]、ポリオキシエチレン（42）ポリオキシプロピレン（67）グリコール [Pluronic P123]、ポリオキシエチレン（54）ポリオキシプロピレン（39）グリコール [Pluronic P85]、ポリオキシエチレン（196）ポリオキシプロピレン（67）グ

10

20

30

40

50

リコール [ Pluronic F1271 ]、またはポリオキシエチレン ( 20 ) ポリオキシプロピレン ( 20 ) グリコール [ Pluronic L-441 ] )、ポリオキシリ 40 ステアレート、スクロース脂肪エステル、およびそれらの組合せが挙げられる。いくつかの実施形態では、界面活性剤はポリソルベート 80 である。本薬学的組成物中の界面活性剤の好適な量は、組成物の 0.01 重量% ~ 5 重量% の範囲 ( 例えば、0.05、0.1、0.2 重量%、0.5 重量%、1 重量%、2 重量%、3 重量%、4 重量%、5 重量%、またはこれらの指定数値に基づく任意の範囲 ) とすることができる。いくつかの実施形態では、界面活性剤はポリソルベート 80 であり、ポリソルベート 80 の量は、組成物の 0.05 重量% ~ 5 重量% の範囲 ( 例えば、0.05、0.1、0.2 重量%、0.5 重量%、1 重量%、2 重量%、3 重量%、4 重量%、5 重量%、またはこれらの指定数値 10 に基づく任意の範囲 ) である。いくつかの実施形態では、ポリソルベート 80 の量は、組成物の 0.5 重量% である。本明細書に記載の実施形態のうちのいずれかにおいて、界面活性剤は、眼科的に許容される量におけるものである。しかしながら、いくつかの実施形態では、本薬学的組成物は、界面活性剤を含まない。

#### 【 0062 】

好適な粘度調節剤は、当該技術分野で知られるもののうちのいずれでもよい。非限定的な例としては、カルボポールゲル、セルロース系薬剤 ( 例えばヒドロキシプロピルメチルセルロース )、ポリカルボフィル、ポリビニルアルコール、デキストラン、ゼラチングリセリン、ポリエチレングリコール、ポロキサマー 407、ポリビニルアルコール、およびポリビニルピロリドン、ならびにそれらの混合物が挙げられる。粘度調節剤の好適な量は、組成物の 0.1 重量% ~ 5 重量% の範囲 ( 例えば 0.1 重量%、0.5 重量%、1 重量%、2 重量%、3 重量%、4 重量%、5 重量%、またはこれらの指定数値に基づく任意の範囲 ) とすることができる。本明細書に記載の実施形態のうちのいずれかにおいて、粘度調節剤は、眼科的に許容される量におけるものである。いくつかの実施形態では、本薬学的組成物は、粘度調節剤 ( 例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどのポリマー 20 粘度調節剤 ) を含まない。

#### 【 0063 】

いくつかの実施形態では、本薬学的組成物は、以下：

- ( a ) 組成物の 0.1 重量% ~ 10 重量% ( 例えば 0.1 重量%、1.0 重量%、1.5 重量%、3 重量%、4 重量%、5 重量%、または指定数値間の任意の範囲 ) のリポ酸コリン 30 エステル濃度を有すること、
  - ( b ) 組成物の 0.003 重量% ~ 0.1 重量% ( 例えば 0.01 重量% ) の防腐剤 ( 例えば塩化ベンザルコニウム ) 濃度を有すること、
  - ( c ) 組成物の 0.1 重量% ~ 5 重量% ( 例えば 0.5 重量% ) の生化学的エネルギー源 ( 例えばアラニン ) 濃度を有すること、および
  - ( d ) 組成物の 0.5 重量% ~ 5 重量% ( 例えば 2.7 重量% ) のグリセロール濃度を有すること
- のうちの 1 つまたは複数を特徴とする。

#### 【 0064 】

いくつかの実施形態では、本薬学的組成物は、1 ~ 3 重量% のグリセリン、0.5 重量% のアラニン、0.005 ~ 0.01 重量% の塩化ベンザルコニウム、1 ~ 3 重量% のリポ酸コリンエステル、および水から本質的になり、本薬学的組成物の pH は 4.3 ~ 4.7 である。 40

#### 【 0065 】

一実施形態において、本眼用組成物は、対象の各眼に 1 日 1 回、1 日 2 回、1 日 3 回、および 1 日 4 回投薬される。

#### 【 0066 】

いくつかの実施形態では、本発明は、水溶液中で加水分解を受けやすい活性成分 ( 例えばリポ酸コリンエステルまたはその誘導体 ) を含む薬学的組成物を水溶液中に保管するためのシステムも提供する。好ましい実施形態では、本薬学的組成物は、LDPE 眼用点眼 50

器ボトルに保管され、充填プロセス中に窒素でオーバーレイされ、キャッピングされてから、酸素吸収剤を含む二次的なマイラー製のガス不透過性パウチに詰められる。

【0067】

別の実施形態では、点眼器ボトルまたはユニットは、ポリエチレンテレフタレート（PET）である。別の実施形態では、点眼器ボトルは、低いガス透過性を有する材料で作られたものである。

【0068】

他の実施形態では、点眼器ボトルは、低いガス透過性を有する任意の材料で作られていてよい。別の実施形態では、点眼器ボトルは、吹き込み、充填、密封技術によって充填される単位用量でありうる。

【0069】

一実施形態において、本薬学的組成物は、3カ月～2年の期間2～5で保管される。

【0070】

#### VII. 治療の方法

リポ酸コリンエステルまたはその誘導体を含む薬学的組成物（例えば本明細書に記載のもの）は、酸化的損傷に関連した疾患または障害を治療または防止するための方法に用いることができる。酸化的損傷に関連した疾患または障害は公知である。

【0071】

いくつかの実施形態では、本発明は、本明細書に記載される薬学的組成物のいずれかを治療有効量で対象の眼に投与することを含む、眼疾患の治療を必要とする対象の眼疾患を治療する方法を提供する。

【0072】

いくつかの実施形態では、眼疾患は、老視、ドライアイ、白内障、黄斑変性症（加齢性黄斑変性症を含む）、網膜症（糖尿病性網膜症を含む）、緑内障、または眼炎症である。いくつかの実施形態では、眼疾患は老視である。

【0073】

本明細書における眼疾患を治療または防止する方法のための薬学的組成物の好適な量は、任意の治療有効量とすることができる。いくつかの実施形態では、本方法は、水晶体の遠近調節の幅を少なくとも0.1ジオプター（D）（例えば0.1、0.2、0.5、1、1.2、1.5、1.8、2、2.5、3、または5ジオプター）増加させるために有効な量の薬学的組成物を対象の眼に投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法は、1～5滴（1滴当たり約40 $\mu$ L）の薬学的組成物を対象の眼に投与することを含む。いくつかの実施形態では、対象の眼は、1日1回、2回、3回、4回、5回、または5回よりも多く、各回につき1～5滴（1滴当たり約40 $\mu$ L）の薬学的組成物で治療される。いくつかの実施形態では、対象の水晶体または眼は、各回につき1滴、2滴、3滴、4滴、5滴、または5滴超の薬学的組成物で治療される。いくつかの実施形態では、対象の眼は、1日当たり2回または3回、各回につき1滴または2滴（1滴当たり約40 $\mu$ L）の、本明細書の薬学的組成物で治療される。

【0074】

本方法は、任意の年齢の患者に行うことのできる予防法を含む。本方法は、任意の年齢の患者、特に20～75歳の間の患者に行うことのできる治療法も含む。

【0075】

以下の実施例は例示であり、特許請求される実施形態の範囲を限定するものではない。

#### 実施例

【実施例1】

【0076】

10

20

30

40

## 【表 1】

表 1: リポ酸コリンエステル(LACE)の一般的特性

外見:		
溶解度プロファイル:	水中で>50mg/mL アセトニトリル中で>4mg/mL	
溶液の pH	7~7.5	10
Log P	<2	
比旋光度:	70.3°	
旋光度:	アセトニトリル中 0.005g/mL で 25°Cにて 0.338	
スペクトル特性:	UVλ <sub>最大</sub> 333nm	
吸湿性:	高度に吸湿性	20
結晶化度:	鋭い結晶融解転移は観察されず、主に非晶質	
多形:	この時点では不明	
粒径:	D <sub>50</sub> : 100~200 mm	
融点/沸点範囲:	230~235°Cで熱転移が観察された	30

## 【実施例 2】

## 【0077】

LACE 処理溶液の混合時間と相関したミセル種の動態

本節に記載される実験は、LACE ミセル種が 25 における長期の混合時間にわたり安定化し減少することを実証する。その結果は、ミセルおよびミセル凝集体などの自己集合系に特徴的なこれらの種の可逆的性質を示した。

## 【0078】

分子の自発的な自己集合によって形成されるミセル種は、平衡系の全自由エネルギーによって推進される。この実験は、より長い混合期間でのこの平衡状態の達成の動態を示した。

## 【0079】

目的:

- ・成長するミセル種が安定化したかを証明することによって処理時間の階層区分を確立すること。
- ・「保持時間」を確立すること。

## 【0080】

手順:

- ・通気した窒素でビヒクルを脱酸素した後、25 にて 1.5% の LACE 200 g を 2 バッチ調製した。窒素は、LACE の溶解の間、連続的に通気した。

10

20

30

40

50

・一方のバッチは、相当の集塊を含むGMPバッチ2番(G2-14LAC)をそのまま使用して調製し、他方は、乳鉢および乳棒を使用して微粉末状に粉碎されたG2-14LACの試料を使用して調製した。

・LACEの溶解およびpH調整の後、一定の窒素オーバーレイを用い、溶解酸素を(8.2ppmの飽和溶解度に対して)約1.6ppmに維持しながら、これらのバッチを24時間撹拌した。1h、3h、4h、6h、8h、9h、および24hの時点で、約5~15mLをシリンジにより取り出し、ボトルに窒素オーバーレイがない状態で点眼器ボトルに滅菌濾過した(5mL/ボトル)(装置はバルクバッチのために使用中であった)。

・全ての時点における試料を10mg/gに希釈し、次に、バルク溶液から取り出した30分以内にELSD検出を用いたRP-HPLC分析のために注入した。

・24時間時点の後、バルク溶液を滅菌濾過し、それぞれを2つの約50mL分量に分割した。一方は5に保ち、他方の50mL分量は25に保った。全ての分量は、容器に吹き込んだ窒素でオーバーレイした。

・さらなる24時間の保持時間の終わりに、ボトルに窒素オーバーレイがある状態で点眼器ボトルに各分量を充填した。

#### 【0081】

##### 溶解の所見

・集塊のあるG2-14LACの分量を約5分間にわたって製剤KW-LACE-01-86-1に加えたところ、集塊の一部は溶解するのにさらに20分間必要であった。

・粉末状のG2-14LACは約15分間にわたって製剤KW-LACE-01-86-2に加えた。これは、各スパチュラ1杯分が、表面に浮遊する材料の薄いラフト状に凝集し、直ちに分散しなかったためである。したがって、前の分量が渦に引き込まれるまで別の分量は加えなかった。いずれか1つの分量が溶解するのにかかる推定時間は約10分間であり、プロセス全体はおよそ25分間かかった。

#### 【0082】

##### 結果

・RT=8分におけるピーク(ミセル種と関連している)は、測定した第1の時点の両製剤で明白であった。

・2つのバッチ間で8分ピーク(ミセル種)の面積%に一貫した差はなかったが、粉末状LACEを用いて作った第2のバッチは、いくつかの時点でより高いレベルのミセル種を有した。

・8分ピークの面積%は、以下の表に示されるように、24時間で著しく低減していた。

・最終的なpHは両バッチで4.54であった。

#### 【0083】

10

20

30

## 【表 2】

表 2:

広範な混合を行った場合の LACE ミセル種の形成および解凝集の動態

	RT=8 分の広いピーク(LACE ミセル種)のパーセント面積	
	LACE および関連するピークの総面積 (結果は注記なき限り HPLC バイアルからの第 1 の注入に 関するものである)	
	KW-LACE-01-86-1	KW-LACE-01-86-2
	集塊を含む 1.5%の LACE	粉碎された 1.5%の LACE
混合時間 (時間)	8 分におけるミセル種の%	8 分におけるミセル種の%
1 時間	0.30%	0.63%
2 時間	0.51%	0.56%
3 時間	0.56%	0.67%
4 時間	0.50%	0.44%
6 時間	0.64% *	0.70% *
8 時間	0.47%	0.44%
9 時間	0.42%	0.44%
24 時間	0.07%	0.17%
48h (5°C 保持)	不検出	0.09%
48h (25°C 保持)	不検出	不検出

10

## 【 0 0 8 4 】

この結果は、8 . 1 分での L A C E ミセル種が長期の混合時間で最小限に抑えられることを示す。8 . 1 分におけるピークは、より長い混合時間で劇的に減少する。

## 【 0 0 8 5 】

溶液のそれぞれで、リポ酸コリンエステルの分解物も測定した。先に述べたように、L A C E の分解機序は酸化のおよび加水分解的であり、酸化種および加水分解種をもたらす。

## 【 0 0 8 6 】

30

【表 3】

表 3 : 混合に応じた EV06 眼用溶液の不純物(関連物質)分析

	時点→	1 時間	3 時間	4 時間	6 時間	8 時間	9 時間
KW-LACE-01-86-1: 集塊を含む G2-14LAC 関連化合物	明細	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57
	個別: 報告値≧0.1% (面積%)	0.28% 0.14% 0.16%	0.37% 0.16% 0.18%	0.38% 0.16% 0.18%	0.43% 0.17% 0.19%	0.47% 0.17% 0.20%	0.49% 0.18% 0.20%
	合計:報告値	0.77%	0.91%	0.91%	0.98%	1.02%	1.05%
KW-LACE-01-86-1: 集塊を含む G2-14LAC 関連化合物	時点→	24 時間	48 時間 初めの 24h 後 5°C の保持	48 時間 初めの 24h 後 25°C の保持			
	明細	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57	RRT 0.50 RRT 0.54 RRT 0.57
	個別: 報告値≧0.1% (面積%)	0.65% 0.20% 0.25%	0.68% 0.17% 0.20%	0.89% 0.21% 0.27%	0.89% 0.21% 0.27%	0.89% 0.21% 0.27%	0.89% 0.21% 0.27%
合計:報告値	1.31%	1.27%	1.61%				

10

20

30

40

【 0 0 8 7 】

このデータは、LACEの分解生成物が長期の混合時間とともに増加することを示す。したがって、EV06眼用溶液の調合のための最終的なプロセス条件は、分解物が最小限に抑えられた非刺激性溶液を達成するために最大で8時間を必要とした。

【実施例 3】

【 0 0 8 8 】

ミセルLACE種の存在と混合温度の相関性

図4に示されるデータは、アルゴン下および冷蔵条件下で製剤化されたLACE塩化物の溶液のものである。この溶液は、眼表面に対して極めて刺激性であった。パーセントミセル種は主なLACE APIピークの8~10%であり(ミセル種は7.9~8.1分

50

の保持時間において矢印で表されている)、これは室温で混合された溶液では通常観察されない濃度である。

【実施例 4】

【0089】

ミセル L A C E 種の形成と集塊の相関性

図 5 A は、固体の「集塊」を有した L A C E バッチから調製された E V 0 6 眼用溶液の R P - H P L C 塩化物のクロマトグラムである。このロットの A P I (有効活性成分、固体 L A C E 原薬) から調製された溶液は、粉状の A P I のロットから調製された溶液 (図 5 B) よりも高い百分率 (10 ~ 15%) のミセル L A C E 種 (矢印で示されている) を示した。したがって、両方の溶液が完全に溶解したように見えたものの、集塊のない A P I から製剤化された溶液は、より低い濃度のミセル L A C E 種を有した。眼球刺激と相関させると、図 5 A に示される溶液は、ウサギモデルにおいてより高い刺激スコアを有した。このため、調合前に粉末状材料にするための脱集塊形成手順を組み込んだ。

10

【実施例 5】

【0090】

L A C E との賦形剤の適合性研究

要旨

これらの実験の目的は、製剤組成および微小環境 (例えば pH) の系統的変動を通じて、製剤を不安定化させる可能性のある可変要素を導き出すことであった。リボ酸、およびリボ酸のあらゆる誘導体は、熱、光、および酸素中で分解および重合を受け、ジチオラン環の開環をもたらすことになる。したがって、酸化的なフリーラジカルの切断を誘発することのできる賦形剤の存在が不安定化因子となりうる。製剤グリッド 1 および 2 では、製剤中に既に存在する賦形剤の効果を可能性のある不安定化因子として系統的に調査した。

20

【0091】

これらの実験における L A C E の製剤化は、精製水中に原薬、アラニン、グリセリン、塩化ベンザルコニウムを含み、4.4 ~ 4.6 の間の pH および 290 ~ 300 m O s m / k g のオスモル濃度を達成するために、1 N 水酸化ナトリウムまたは 1 N 塩酸を添加した。本文書に記載された実験は、L A C E 眼用溶液を安定化させることのできる賦形剤を特定するための適合性研究であった。

【0092】

製剤グリッド 1 番では、以下の (a) ~ (e) に提示する可変要素を試験した。製剤は、窒素フラッシュしたグローブボックス内で調製し、滅菌濾過した。全ての製剤は 57 の促進条件下で試験し、T = 0 日、3.5 日、および 7 日におけるアッセイおよび不純物を H P L C によって試験した。グリッド 1 番では、合計 19 個の製剤を試験した。

30

(a) pH の効果: pH 3.5、4、および 5 で製剤を調製し、pH 4.5 の対照製剤と比較した。図 6 に示されるように、L A C E の分解速度は、3.5 ~ 5 の範囲の全ての pH レベルで同等であった。

(b) アラニンの効果: 分解速度を原物の製剤 (対照) と比較することにより、製剤中のアラニンの役割を推論した。図 6 に示されるように、アラニンの非存在は、L A C E の分解速度を加速させるようであった。したがって、アラニンは E V 0 6 眼用製剤において重要な賦形剤である。

40

(c) 塩化ベンザルコニウムおよびグリセリンの効果: グリセリンに含まれる過酸化物は酸化を触媒すると仮定した。同様に、B A C は、フリーラジカルの切断およびその後の酸化が理由で原薬を不安定化させると仮定した。図 7 に見られるように、塩化ベンザルコニウム不含製剤は、対照よりも実質的に安定性があった。グリセリン不含のプロトタイプも、対照よりも安定性があった。さらに、(オスモル濃度を調整するためにグリセロールの代わりに) 製剤に加えた塩化ナトリウムは、不安定化効果を有するようであった (これもまた図 7 に示されている)。グリセリン、塩化ナトリウム、亜硫酸塩、および pH の様々な組合せを用い、全ての変化形態で塩化ベンザルコニウム不含であった別の実験において、塩化ベンザルコニウム不含製剤の全てが対照よりも安定性があったことは注目に値

50

した(図5)。図7および9の実験は、LACEの塩化ベンザルコニウムを排除することが製剤を安定化させることを示す。EV06眼用組成物では、塩化ベンザルコニウム含有量を50ppmに最小化することが、主な安定化因子を有しうる。塩化ナトリウムは不安定化効果を示したため、最終的なEV06組成物中の等張化剤としてはグリセロールがより好適であるとみなされた。

(d) 亜硫酸塩の効果：様々なレベルの亜硫酸塩を組み合わせ、亜硫酸塩を用いた様々な実験を行った(図8)。亜硫酸塩を様々なpHレベル(4、4.5)および濃度で抗酸化剤として製剤に加えた(図8)。亜硫酸塩の存在は、LACEの安定性を実質的に改善させないようであった。製剤中0.1%の亜硫酸塩は対照と同等であったため、有害作用が存在したかどうかは明らかでなかった。

(e) グリセリンの効果：グリセリンを系統的に排除することにより、グリセリンの効果を様々な製剤の組合せで調査した。図7および10に示されるように、グリセリン不含の組合せは、対照よりも安定性があるようであった。しかしながら、塩化ナトリウムの不安定化効果が高いため、浸透圧調整のための重要な賦形剤としてグリセリンを選択した。

(f) 緩衝液の効果：様々な緩衝組成物を試験した。酢酸緩衝液および酢酸+ホウ酸は、製剤を安定化させるようであった。

#### 【0093】

##### 実験

a) HPLC法の設定：HPLCアッセイは、(A)リン酸でpH4.5に調整した0.05Mのリン酸一ナトリウム、0.005Mの1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム塩、0.2%v/vのトリエチルアミン、および(B)アセトニトリルで構成された50分の移動相勾配からなった。使用した分析カラムは、YMC Pack ODS AQ(4.6×250mm、5μm、120)、P/N AQ125052546WTであり、分析の検出波長は225nmである。

##### b) 製剤

LACEのAPIが酸素または熱に曝露されないことを確実にするよう細心の注意を払って製剤を調製した。APIの一定分量をグローブバッグ内の不活性N<sub>2</sub>雰囲気下で清潔なガラスバイアルにとり、アルミ箔に包んで使用まで-20の冷凍庫で保管した。これらの製剤は、高純度の賦形剤および無菌のガラス製品を用いて調製した。全ての賦形剤は保存液中で予め調製し、APIの添加および最終的なpH調整の前に一緒に混合した。これらの製剤は付録Aで一覧になっている。

#### 【0094】

##### II. 結果および詳解

図6は、pH3.5、4、4.5(原物)、5で調製した製剤、およびアラニンを含まない対照を系統的に比較する、57における日数に対する(T=0日、3.5日、および7日にわたる)LACEのAPIの%のプロットである。T=0においてさえ、アラニンを含まない製剤は、API含有量がかなり劣化した。図6に見られるように、製剤は、pH3.5~5のこれらの条件下で同等であった。図7は、製剤の次の可変要素を比較するプロットである：(a)対照(原物)と、対照+0.25%塩化ナトリウム、グリセリンを含まない対照+0.25%塩化ナトリウムとの対比、(b)対照(原物)と塩化ベンザルコニウムを含まない対照との対比、(c)対照(原物)とグリセリンを含まない原物の製剤との対比。

#### 【0095】

図7に見られるように、原物の製剤への塩化ナトリウムの添加は、製剤を安定化させなかった。

#### 【0096】

図8は、57におけるLACE安定性に対する亜硫酸塩の効果を示す。亜硫酸塩含有製剤は、pH4および4.5において、亜硫酸塩0.05%(黒四角、黒三角)および亜硫酸塩0.1%(x)の濃度で調製した。亜硫酸塩の添加は、原物の製剤(黒菱形)を安定化させなかった。

10

20

30

40

50

## 【0097】

図9は、塩化ベンザルコニウムを排除することによる安定化効果の可能性をさらに探索するものである。塩化ベンザルコニウムを含まない製剤変化形態は全て、対照の原物の製剤(pH 4.5)よりも優れていた。製剤変化形態は、pH 4、4.5(黒三角、黒四角)のBAC不含組成物、グリセリンなし/BACなし+0.9%塩化ナトリウム(x)、pH 4および4.5のBACなし+0.05%亜硫酸塩(黒丸、黒四角)であった。

## 【0098】

図7および10は、pH、亜硫酸塩、および塩化ナトリウムに応じた様々な組成物におけるグリセリンの排除の効果を比較する。塩化ナトリウムおよび亜硫酸塩の存在下におけるグリセリンなし、BACなしの製剤(+)、およびグリセリンなし、BACありの製剤(\*)は、原物の製剤(黒菱形)よりも優れていた。

10

## 【0099】

図11は、LACE安定性に対する様々な緩衝組成物の使用を探索したものである。原物の製剤(pH 4.5)を、酢酸緩衝液組成物(黒四角、x、\*、黒丸)およびpH 7.5のホウ酸塩と比較した。抗酸化剤として加えたエデト酸ナトリウムは、製剤を安定化させなかった。酢酸緩衝液および酢酸緩衝液+ホウ酸は、対照製剤よりも優れているようであった。

## 【0100】

まとめると、塩化ベンザルコニウムの排除は、安定性を一貫して向上させるようであった。グリセロールの排除は、プラスのステップでもありうる。グリセロールは、場合によりAPIの分解につながる残留したホルムアルデヒドが存在することで知られる。興味深いことに、エデト酸塩または亜硫酸塩の添加は、プラスの効果を有しなかった。アスコルビン酸ナトリウムなどの別の抗酸化剤もプラスの効果を有しうる。

20

## 【0101】

【表 4 - 1】

表 4:  
適合性実験製剤

製剤番号 1				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.1849	0.9253
アラニン	0.5	0	2.0254	0.5068
グリセリン	0.1	0	0.401	0.0996
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.0378	0.0094
超純水(第 1 の添加)	75	15	12.338	61.7409
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.0815	0.0143
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量	4.9149	24.5948
合計	100	20	19.9835	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4.5	4.55			

10

製剤番号 2				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.1977	0.9923
アラニン	0	0	0	0.0000
グリセリン	0.1	0	0.4009	0.0998
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.0386	0.0097
超純水(第 1 の添加)	75	15	14.4079	72.3176
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.1185	0.0209
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量	4.7595	23.8894
合計	100	20	19.9231	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4.5	4.48			

20

製剤番号 3				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.1993	0.9935
アラニン	0.5	0	2.0227	0.5042
グリセリン	0.1	0	0.4031	0.0997
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.0409	0.0102
超純水(第 1 の添加)	75	15	12.414	61.8862
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.0653	0.0114
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量	4.9141	24.4977
合計	100	20	20.0594	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
3.5	3.59			

30

40

【 0 1 0 2 】

【表 4 - 2】

製剤番号 4				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.2036	1.0357
アラニン	0.5	0	2.021	0.5141
グリセリン	0.1	0	0.4012	0.1013
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.0402	0.0102
超純水(第 1 の添加)	75	15	12.3097	62.6215
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.0289	0.0052
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量	4.6527	23.6691
合計	100	20	19.6573	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4	4.07			

10

製剤番号 5				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.2368	1.1813
アラニン	0.5	0	2.0239	0.5048
グリセリン	0.1	0	0.4016	0.0994
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.041	0.0102
超純水(第 1 の添加)	75	15	12.3029	61.3746
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.0129	0.0023
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量	5.0265	25.0753
合計	100	20	20.0456	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
5	5.01			

20

製剤番号 6				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.2013	1.0040
アラニン	0.5	0	2.0216	0.5041
塩化ナトリウム	0.25	0	0.5282	0.2635
グリセリン	0.1	0	0.4025	0.0996
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.04	0.0100
超純水(第 1 の添加)	75	15	11.8086	58.8963
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.0208	0.0036
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量	5.0268	25.0716
合計	100	20	20.0498	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4	4.01			

30

40

【 0 1 0 3 】

【表 4 - 3】

製剤番号 7				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.2004	0.9999
アラニン	0.5	0	2.0209	0.5042
塩化ナトリウム	0.9	0	1.8409	0.9186
グリセリン	0	0	0	0.0000
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.0402	0.0100
超純水(第 1 の添加)	75	15	10.9219	54.4961
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.009	0.0016
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量	5.0083	24.9895
合計	100	20	20.0416	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4	4.12			

10

製剤番号 8				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.1956	0.9784
アラニン	0.5	0	2.022	0.5057
亜硫酸ナトリウム	0.05	0	0.2068	0.0517
グリセリン	0.1	0	0.4005	0.0994
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.0401	0.0100
超純水(第 1 の添加)	75	15	12.16	60.8219
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.1008	0.5042
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量	4.867	24.3438
合計	100	20	19.9928	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4	4.03			

20

製剤番号 9				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.2205	1.0953
アラニン	0.5	0	2.027	0.5035
亜硫酸ナトリウム	0.05	0	0.2062	0.0512
グリセリン	0.1	0	0.3996	0.0985
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.0392	0.0097
超純水(第 1 の添加)	75	15	12.1982	60.5944
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.0995	0.4943
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量	4.9407	24.5429
合計	100	20	20.1309	100.0000
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4.5	4.03			

30

40

【 0 1 0 4 】

【表 4 - 4】

製剤番号 10				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リボ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.1973	0.9873
アラニン	0.5	0	2.0249	0.5066
亜硫酸ナトリウム	0.1	0	0.4136	0.1035
グリセリン	0.1	0	0.4013	0.0996
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.041	0.0102
超純水(第 1 の添加)	75	15	11.9708	59.9031
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.1921	0.9613
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量	4.7426	23.7325
合計	100	20	19.9836	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4.5	4.35			
製剤番号 11				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リボ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.2097	0.9746
アラニン	0.5	0	2.0437	0.4749
塩化ナトリウム	0.9	0	1.8022	0.8376
亜硫酸ナトリウム	0.05	0	0.2116	0.0492
グリセリン	0	0	0	0.0000
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.0384	0.0089
超純水(第 1 の添加)	75	15	17.0628	79.3025
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.1477	0.0241
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量		
合計	100	20	21.5161	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
3.5	3.52			
製剤番号 12				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リボ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.1953	0.9703
アラニン	0.5	0	2.0402	0.5068
塩化ナトリウム	0.9	0	1.7998	0.8943
亜硫酸ナトリウム	0.05	0	0.2135	0.0531
グリセリン	0	0	0	0.0000
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.0423	0.0105
超純水(第 1 の添加)	75	15	15.6996	78.0031
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.1362	0.0238
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量		
合計	100	20	20.1269	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4	4			

【 0 1 0 5 】

【表 4 - 5】

製剤番号 13				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.1997	0.9946
アラニン	0.5	0	2.0386	0.5077
塩化ナトリウム	0.9	0	1.8033	0.8982
亜硫酸ナトリウム	0.05	0	0.2152	0.0536
グリセリン	0	0	0	0.0000
塩化ベンザルコニウム	0.01	0	0.0397	0.0099
超純水(第 1 の添加)	75	15	15.6858	78.1239
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.0958	0.0168
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量		
合計	100	20	20.0781	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4.5	4.48			
製剤番号 14				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.1976	0.9873
アラニン	0.5	0	2.0425	0.5103
グリセリン	0.1	0	0.4158	0.1031
塩化ベンザルコニウム	0	0	0	0.0000
超純水(第 1 の添加)	75	15	17.3172	86.5237
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.0413	0.0073
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量		
合計	100	20	20.0144	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4	4.05			
製剤番号 15				
成分	所望の%w/w	必要なグラム	使用したグラム	実際の w/w%
リポ酸コリンエステル(LACE)	1	0	0.215	1.0757
アラニン	0.5	0	2.0453	0.5117
グリセリン	0.1	0	0.4078	0.1012
塩化ベンザルコニウム	0	0	0	0.0000
超純水(第 1 の添加)	75	15	17.2993	86.5545
1N NaOH	最終的な水の添加の前に所望の pH に調整するために使用		0.0192	0.0034
1N HCl				
超純水(第 2 の添加)	適量	適量		
合計	100	20	19.9866	
所望の pH	最終的な pH	mOsm/L		
4.5	4.52			

## 【実施例 6】

## 【0106】

パーセントミセル L A C E 種と眼球刺激の相関性

図 1 2 A および 1 2 B は、一般に、調合したいいくつかのバッチでのミセル L A C E 種と刺激の相関性の寸評を提示する。

## 【実施例 7】

## 【0107】

グリセロールを用いたオスモル濃度の調整方法

薬物含有製剤およびプラセボに必須のオスモル濃度の範囲は、280 ~ 320 mOsm / kg である。好ましくは、全ての L A C E 製剤は、290 ~ 310 mOsm / Kg の範

10

20

30

40

50

圏内である必要がある。

【0108】

LACEはオスモル濃度に寄与するため、各製剤は、必須のオスモル濃度を達成するために様々な濃度のグリセロールを有することになる。

【0109】

I．要旨：最終的な調整された組成物

【0110】

【表5】

表5:

グリセロール濃度を調整したEV06 眼用溶液の最終組成

LACE 濃度	グリセロール (%)	アラニン(%)	塩化ベンザルコニウム(%)	実際の総オスモル濃度 (mOsm/kg)
0%	2.07%	0.5%	0.005%	295
1%	1.56%	0.5%	0.005%	299
2%	1.07%	0.5%	0.005%	296
2.5%	0.80%	0.5%	0.005%	302
3.0%	0.53%	0.5%	0.005%	308

10

20

【0111】

II．実験詳細：

A．グリセロール含有プラセボ

一連のプラセボを調製した。全てのプラセボ、およびその後調製したLACE含有溶液は、様々な量のグリセロールとともに次のものを含有した。

- ・アラニン 0.5% (5 mg / g)
- ・塩化ベンザルコニウム 0.005% (0.05 mg / g)
- ・pHを4.5に調整するための1N水酸化ナトリウム、1N塩酸、少量
- ・注射用水（最終的な重量に合わせて添加）。

30

【0112】

【表6】

表6:

グリセロール含有プラセボ(グリセロール濃度の効果)

グリセロールパーセント	オスモル濃度(mOsm/kg)
0.5%	114
1.0%	172
1.5%	233
2.0%	292
2.5%	354

40

【0113】

B．LACE含有製剤

上記のグリセロールオスモル濃度標準曲線(表6参照)、およびLACE 1%毎にさらに44~55 mOsm/kg(平均48 mOsm/kg)を示した出願人らの観察に基

50

づき、LACEの浸透圧への実際の寄与を確認するために一連の溶液を調製した。全オスモル濃度の標的は300mOsm/kgであった。

【0114】

【表7】

表7:

EV06 組成物のグリセロール濃度

LACE 濃度	LACE を含まない 標的オスモル濃度	標的オスモル濃度 のためのグリセロール%	実際の 総オスモル濃度(mOsm/kg)
0%	300	2.06%	295
1%	250	1.64%	308
2%	203	1.25%	324

10

【0115】

これらのデータは、オスモル濃度に対するLACEの効果が1%毎に約57~60mOsm/kgと、予想をいくらか超えることを示す。したがって、十分な一連の溶液を、LACEを含まない溶液のためにわずかに変更された標的オスモル濃度、ひいては異なる標的グリセロール含有量で調製した。全ての溶液は、プラセボに使用したものと同一アラニン/塩化ベンザルコニウム、pH4.5の保存液を使用して調製し、最終組成が一貫して次の通りになるようにした。

20

アラニン0.5%(5mg/g)

塩化ベンザルコニウム0.005%(0.05mg/g)

pHを4.5に調整するための1N水酸化ナトリウム、1N塩酸、少量

注射用水(最終的な重量が製剤当たり5.0gとなるように添加)

【0116】

【表8】

表8:

EV06 組成物のオスモル濃度の調整

LACE 濃度 (実際の%)	LACE を含まない 標的オスモル濃度	標的オスモル濃度 のために使用した実際 のグリセロール%	実際の総オスモル 濃度(mOsm/kg)
0%	300	2.06%	295
1% (1.01%)	242	1.56%	299
2% (2.04%)	180	1.06%	296
2.5% (2.51%)	150	0.80%	302
3.0% (2.94%)	120	0.56%	308

30

40

【0117】

C. 無菌調製物

これらの実験結果に基づき、以下の組成を標的として、滅菌濾過した各製剤の10.0

50

g のバッチを調製し、滅菌点眼器ボトルにパッケージングした（ボトル当たり 2 mL）。

【 0 1 1 8 】

【表 9】

表 9:

EV06 組成物の最終組成グリッド

LACE 濃度	グリセロール(%)	アラニン(%)	塩化ベンザルコニウム(%)
0%	2.07%	0.5%	0.005%
1%	1.56%	0.5%	0.005%
2%	1.07%	0.5%	0.005%
2.5%	0.80%	0.5%	0.005%
3.0%	0.53%	0.5%	0.005%

10

【実施例 8】

【 0 1 1 9 】

L A C E 薬学的組成物の調製方法

20

L A C E 薬学的組成物の調製方法は次の通りである。

- ・室温にて、バッチ重量の 80% の注射用水（WFI）をガラス調合容器に加える。この水を窒素でパージして酸素を 10 ppm にする。
- ・段階的に、アラニン、グリセリン、および BAC を添加し、溶解するまで混合する。
- ・HCl または NaOH で pH を 4.4 ~ 4.6 に調整する。
- ・窒素下で乳鉢および乳棒で L A C E を粉碎して脱集塊形成し、混合しながらゆっくりと添加する。
- ・脱酸素した注射用水を加えて、最終的なバッチの標的重量を達成する。
- ・バッチを合計 8 時間混合して、完全な分散および溶解を確実にする。
- ・必要であれば、NaOH または HCl で pH を 4.4 ~ 4.6 に調整してもよい。
- ・必要であれば、グリセロールでオスモル濃度を 290 ~ 310 に調整してもよい。
- ・8 時間の混合後、EV06 バルク薬品溶液をカプセル型 SHC0.5 / 0.2 μm 滅菌フィルタに通して保持バッグに無菌的に濾過する。
- ・保持バッグ内のバルク生成物溶液を冷蔵または氷浴によって 5℃ に保つ。
- ・フィルタの完全性を確実にするために、フィルタ泡立ち点試験を行う。
- ・滅菌濾過されたバルク溶液をクラス 100 の部屋に無菌的に移し、予め滅菌したボトルに充填する。
- ・窒素オーバレイ下でボトルに無菌のチップおよびキャップを適用する。
- ・密封したボトルをトレイに移し、窒素パージとともにバッグに入れ、5℃ の保管場所に直ちに移す。

30

40

【実施例 9】

【 0 1 2 0 】

L A C E 製剤の安定性研究

初期の製剤プロトタイプは、エデト酸ナトリウムおよび 0.01% の塩化ベンザルコニウムを含有した。これらの賦形剤ありおよびなしの安全性研究は、エデト酸ナトリウムが L A C E を安定化させなかったことを実証した。過剰の塩化ベンザルコニウムの存在は、薬物をわずかに不安定化させた。したがって、最終的な製剤はエデト酸ナトリウムを含まず、0.005% の塩化ベンザルコニウムを含む。微生物学的試験により、現在の製剤組成中 0.004% の塩化ベンザルコニウムが、薬品中の防腐剤として効果的であることが示された。

50

## 【 0 1 2 1 】

薬物製剤をさらに安定化させる試みで、中規模の R & D バッチの系統的安定性研究（ 5 、 2 5 、 および 4 0 ）を、ジップロック、蒸気不透過性箔のパウチに含まれた酸素捕捉パケットの存在下および非存在下で、ボトルに入った E V 0 6 眼用溶液に行った。再密封可能な箔パウチに密封された酸素捕捉パケットの存在下で 5 にて保管された生成物のボトルは、 1 2 カ月の安定性を示した。

## 【 0 1 2 2 】

開発プロセス全体を通して、周囲の酸素への曝露および非冷蔵条件に起因する分解に対して最終的な製剤を安定化させるため、さらなる予防措置をとった。窒素下での原薬の取扱（酸素の排除、および水分の最小化）、および窒素ブランケット下での調合を行って、酸素への曝露を最小限に抑えた。調合後、生成物を蒸気不透過性の保持バッグに充填し、ボトリングが行われるまで冷蔵条件下で保管する。バルク溶液を含む保持バッグは充填中低温に保つ。窒素ブランケットを各ボトル内の薬物溶液上に配し、酸素曝露を最小限に抑える。

## 【 0 1 2 3 】

【表 10 - 1】

表 10: EV06 眼用溶液(3.0%)の安定性

容器:ポリエチレン点眼器ボトル、6cc 二次的な容器:箱パウチ		EV06 眼用溶液、3.0%の安定性の表 クローゼット・点眼器先端およびキャップ 酸素吸着剤:酸素吸着剤パケットが存在							
試験	方法	合格基準	T=0	2週間	1ヵ月	2ヵ月	3ヵ月	6ヵ月	12ヵ月
5℃									
外見	ATM-1095	異物または粒子状物質を本質的に含まない透き通った淡黄色から黄色の溶液	適合する	適合する	適合する	適合する	適合する	適合する	適合する
アッセイ、LACE	ATM-1405	ラベルグレームに対して 90.0~110.0%	101.1%	107.1%	106.7%	98.9%	98.1%	95.0%	94.7%
関連化合物	ATM-1405	個別報告値 ≥0.05%(面積%) 合計報告値	RRT 0.57:0.05% RRT 0.59:0.21% RRT 0.64:0.13% RRT 0.83:0.06% RRT 1.23:0.14% 合計: 0.8%	RRT 0.58:0.17% RRT 0.63:0.09% RRT 0.66:0.17% RRT 0.83:0.06% RRT 1.23:0.16% LA: 0.06% 合計: 0.7%	RRT 0.59:0.21% RRT 0.64:0.09% RRT 0.67:0.15% RRT 0.83:0.06% RRT 1.18:0.05% RRT 1.20:0.10% LA: 0.10% 合計: 0.8%	RRT 0.61:0.10% RRT 0.66:0.07% RRT 0.86:0.07% RRT 1.21:0.08% RRT 1.27:0.09% LA: 0.17% 合計: 0.6%	RRT 0.65:0.08% RRT 0.67:0.15% RRT 0.71:0.12% RRT 0.74:0.16% RRT 0.83:0.05% RRT 1.09:0.07% RRT 1.15:0.09% LA: 0.22% 合計: 0.9%	RRT 0.61:0.34% RRT 0.67:0.21% RRT 0.69:0.23% RRT 0.84:0.06% RRT 1.14:0.08% RRT 1.20:0.10% LA: 0.32% 合計: 1.3%	RRT 0.59:0.07% RRT 0.63:0.12% RRT 0.68:0.09% RRT 0.72:0.12% RRT 0.89:0.05% RRT 1.38:0.06% RRT 1.42:0.09% LA: 0.38% 合計: 1.0%
アッセイ、防錆剤	ATM-1406	報告値	0.0447mg/mL	0.0443mg/mL	0.0446mg/mL	0.0447mg/mL	0.0440mg/mL	0.0441mg/mL	0.0504mg/mL
pH	USP<79>	報告値	4.6	4.5	4.5	4.5	4.5	4.4	4.3
オスモール濃度	USP<78>	250~350mOsm/kg	262mOsm/kg	263mOsm/kg	263mOsm/kg	262mOsm/kg	262mOsm/kg	261mOsm/kg	255mOsm/kg

【表 10 - 2】

25°C±5°									
外見	ATM-1095	異物または粒子状物質を本質的に含まない透き通った淡黄色から黄色の溶液 ラベルクレームに対して 90.0~110.0%	適合する	適合する	適合する	適合する	適合する	適合する	適合する
アッセイ、LACE	ATM-1405		101.1%						87.1%
関連化合物	ATM-1405	個別報告値 ≥0.05%(面積%) 合計報告値	RRT 0.56:0.05% RRT 0.58:0.22% RRT 0.63:0.12% RRT 0.66:0.21% RRT 0.83:0.07% RRT 1.23:0.09% RRT 1.25:0.07% LA: 0.35% 合計: 1.2%	RRT 0.59:0.27% RRT 0.64:0.12% RRT 0.67:0.18% RRT 0.83:0.07% RRT 1.20:0.16% RRT 1.35:0.09% LA: 0.65% 合計: 1.5%	RRT 0.59:0.18% RRT 0.66:0.09% RRT 0.86:0.07% RRT 1.21:0.08% RRT 1.27:0.19% LA: 0.94% 合計: 1.6%	RRT 0.66:0.28% RRT 0.72:0.15% RRT 0.74:0.21% RRT 0.83:0.06% RRT 1.09:0.07% RRT 1.15:0.20% RRT 1.21:0.27% RRT 1.27:0.09% LA: 1.05% 合計: 2.4%	RRT 0.61:0.58% RRT 0.69:0.30% RRT 0.84:0.06% RRT 1.14:0.08% RRT 1.20:0.29% RRT 1.26:0.51% RRT 1.34:0.18% LA: 1.18% 合計: 3.2%		
アッセイ、防腐剤	ATM-1406	報告値	0.0447mg/mL	0.0447mg/mL	0.0438mg/mL	0.0435mg/mL	0.0462mg/mL		
pH	USP<79>	報告値	4.4	4.4	4.3	4.2	4.1		
オスモール濃度	USP<78>	250~350mOsm/kg	264mOsm/kg	264mOsm/kg	263mOsm/kg	261mOsm/kg	259mOsm/kg		

関連化合物:LA=R-α-リポ酸(USP規格)

本発明は次の実施態様を含む。

10

20

30

40

50

[ 請求項 1 ]

0.1 ~ 10 重量%のリポ酸コリンエステルの薬学的に許容される塩、0.1 ~ 2 重量%の浸透圧調整剤、0.003 ~ 0.01 重量%の防腐剤、0.05% ~ 1.0 重量%の生化学的エネルギー源、および水を含む、老視の治療のための薬学的組成物。

[ 請求項 2 ]

前記リポ酸コリンエステルの薬学的に許容される塩が塩化物塩、臭化物塩、またはヨウ化物塩である、請求項 1 に記載の組成物。

[ 請求項 3 ]

前記浸透圧調整剤がグリセロールである、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

[ 請求項 4 ]

前記防腐剤が塩化ベンザルコニウムである、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の組成物。

[ 請求項 5 ]

前記生化学的エネルギー源がアラニンである、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の組成物。

[ 請求項 6 ]

少なくとも 3 カ月、少なくとも 6 カ月、少なくとも 9 カ月、または少なくとも 1 年の貯蔵安定性を有する、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の組成物。

[ 請求項 7 ]

非刺激性点眼溶液である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の組成物。

[ 請求項 8 ]

請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の薬学的組成物を生成する方法であって、前記リポ酸コリンエステルの薬学的に許容される塩を細かく粉碎することと、5 ppm 未満、好ましくは 2 ppm 未満の酸素を有する水に粉碎された前記塩を加えることと、

6 ~ 8 時間、好ましくは 8 時間室温で混合して、混合物を形成することと、  
眼用ボトルに前記混合物を充填し、キャッピング前に不活性ガスのオーバーレイを加えることと、

充填およびキャッピングされた前記眼用ボトルをガス不透過性パウチにパッケージングすることと、

前記パッケージを 2 ~ 8 で保管することと  
を含む、方法。

[ 請求項 9 ]

前記パウチが酸素捕捉剤を含有する、請求項 8 に記載の方法。

[ 請求項 10 ]

前記リポ酸コリンエステルの薬学的に許容される塩が、5 mm 以下の平均粒径を有する粉末に粉碎される、請求項 8 または 9 に記載の方法。

[ 請求項 11 ]

混合温度が 20 ~ 25 の間である、請求項 8 から 10 のいずれか一項に記載の方法。

[ 請求項 12 ]

前記不活性ガスが窒素である、請求項 8 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

[ 請求項 13 ]

前記眼用ボトルが、低密度ポリプロピレン (LDPE)、ポリエチレンテレフタレート (PET)、またはポリテトラフルオロエチレン (PTFE) ボトルである、請求項 8 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

[ 請求項 14 ]

前記眼用ボトルが、吹き込み - 充填 - 密封ユニットである、請求項 8 から 13 のいずれか一項に記載の方法。

[ 請求項 15 ]

請求項 8 から 14 のいずれか一項に記載の方法によって調製された、貯蔵安定かつ / ま

10

20

30

40

50

たは非刺激性の点眼溶液。

【 図 1 】

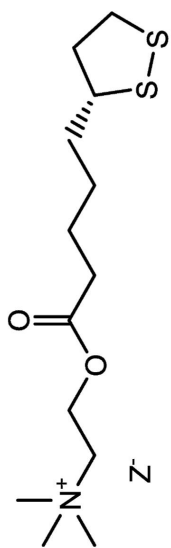


図 1

【 図 2 】

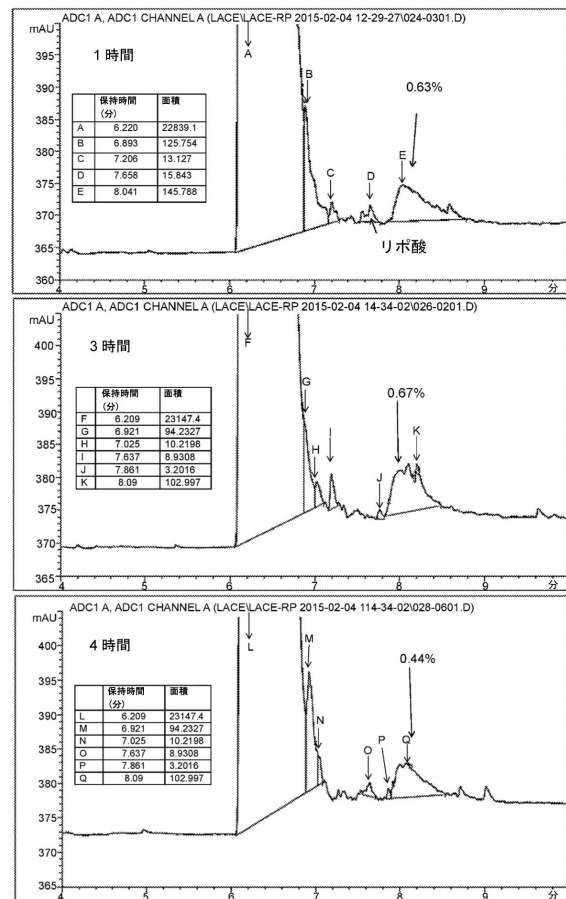


図 2

【 図 3 】

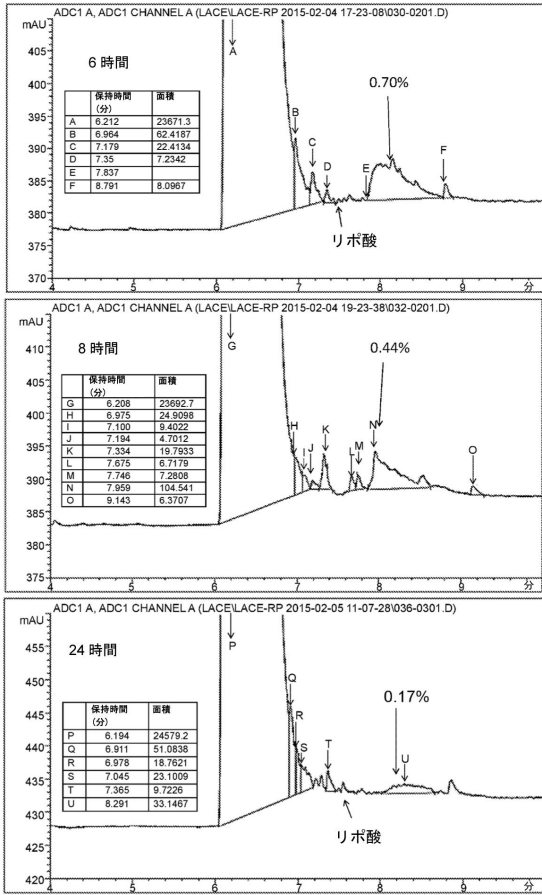


図 3

【 図 4 】

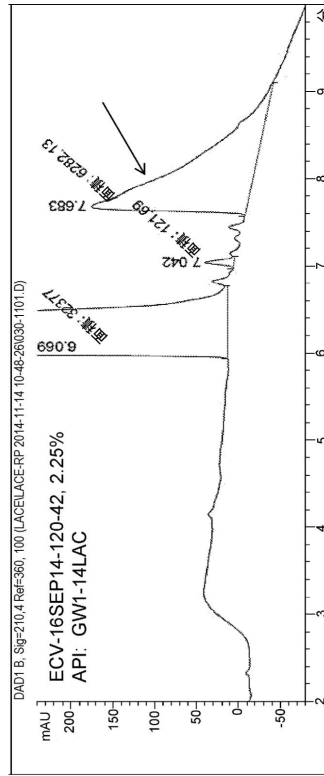


図 4

【 図 5 A 】

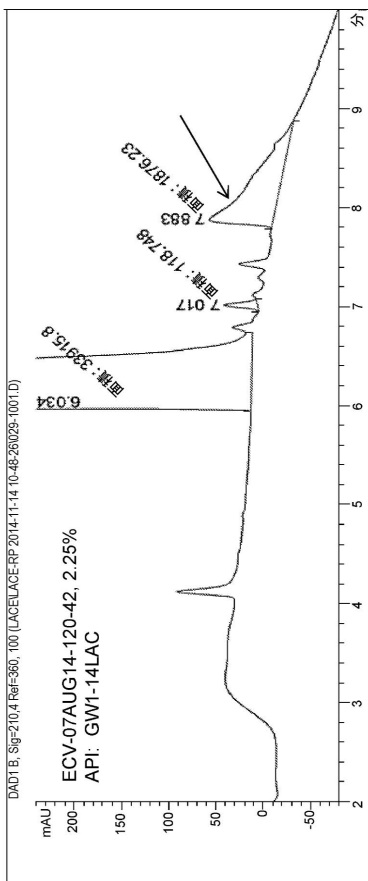


図 5A

【 図 5 B 】

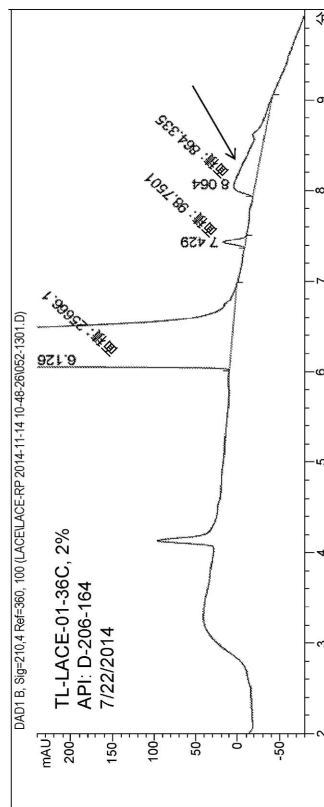


図 5B

【 図 6 】

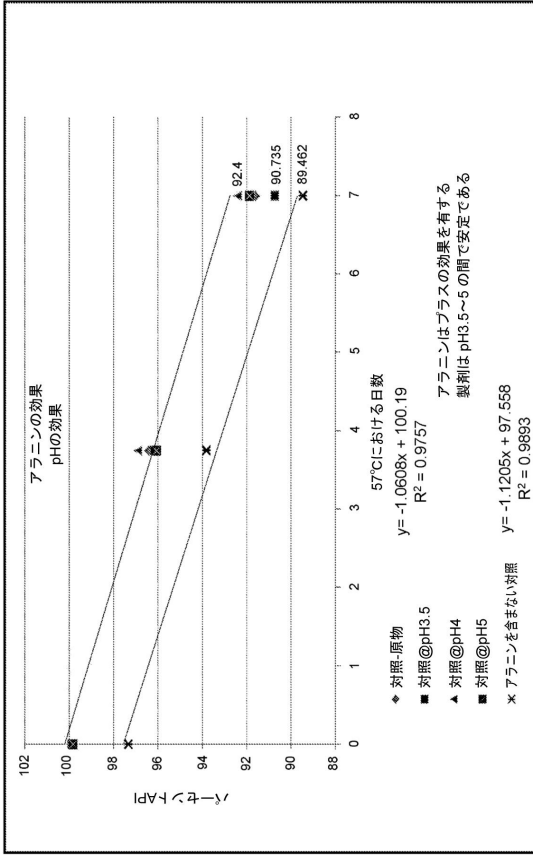


図6

【 図 7 】

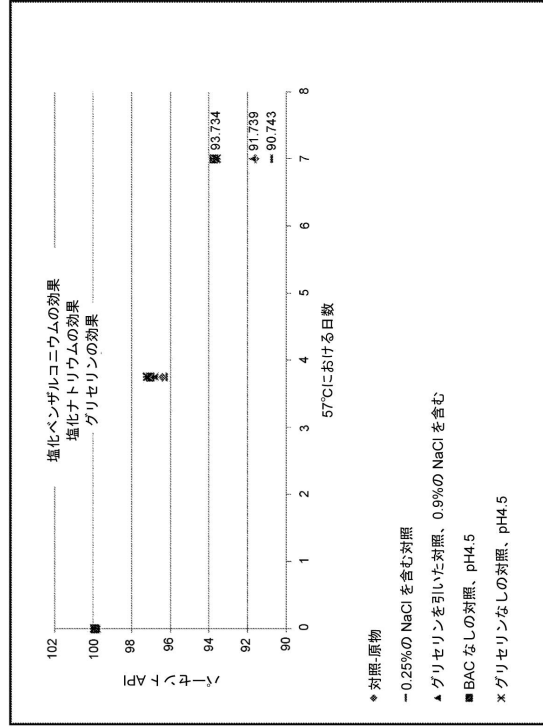


図 7

【 図 8 】

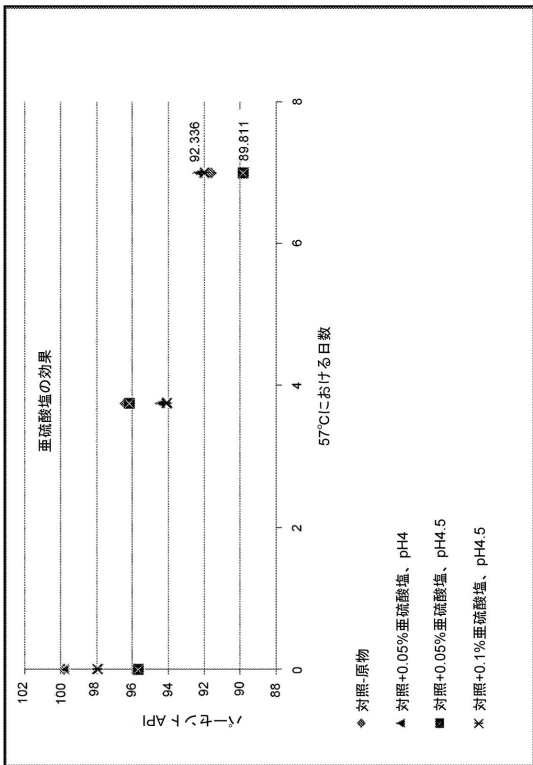


図 8

【 図 9 】

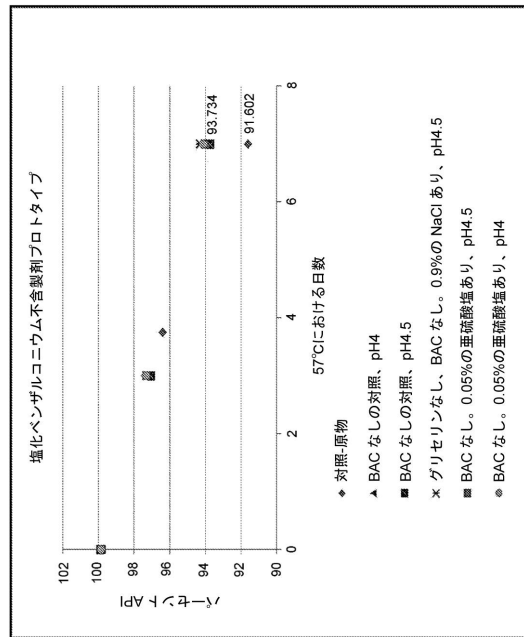


図 9

【 図 1 0 】

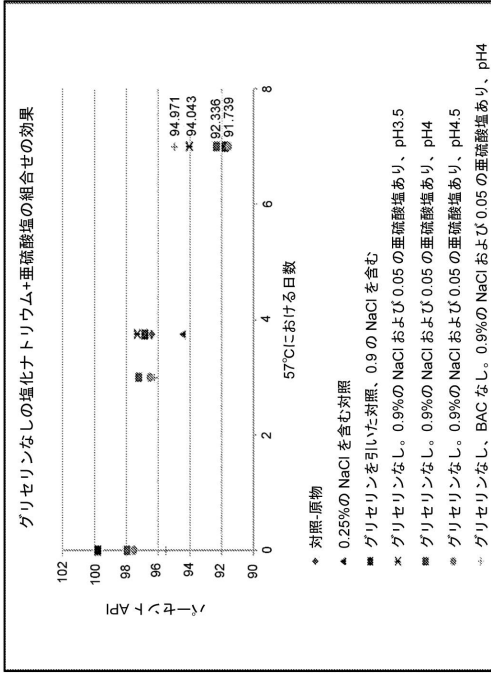


図 10

【 図 1 1 】

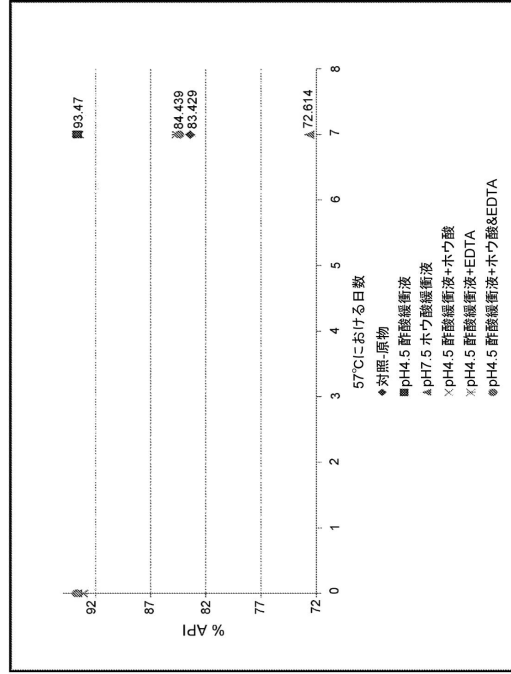


図 11

【 図 1 2 A 】

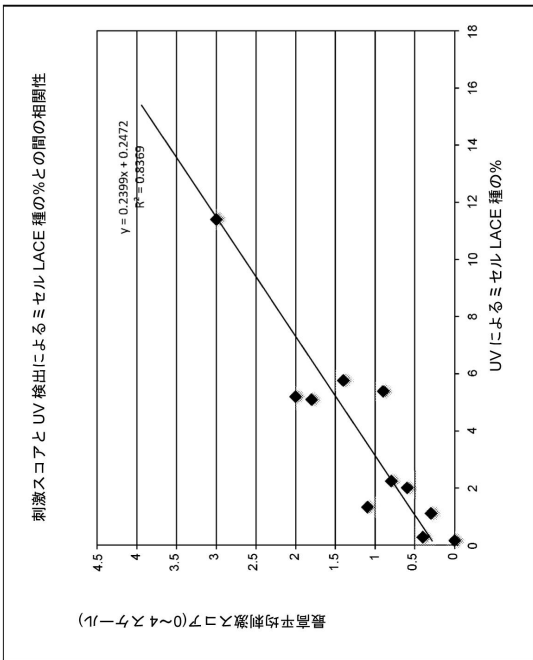


図 12A

【 図 1 2 B 】

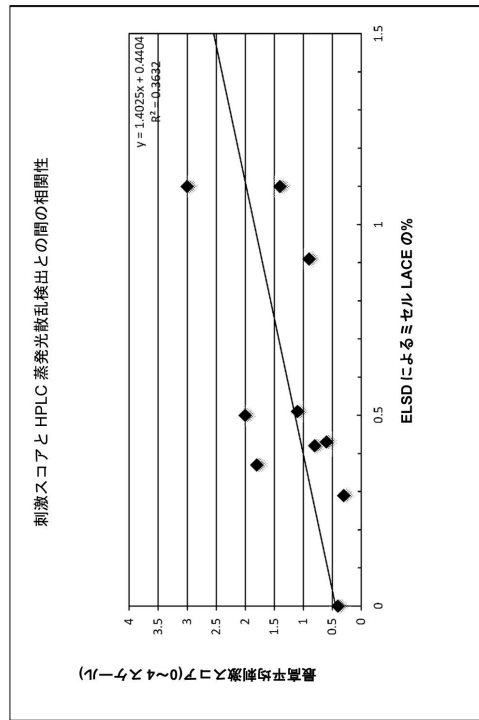


図 12B

【 図 13 】

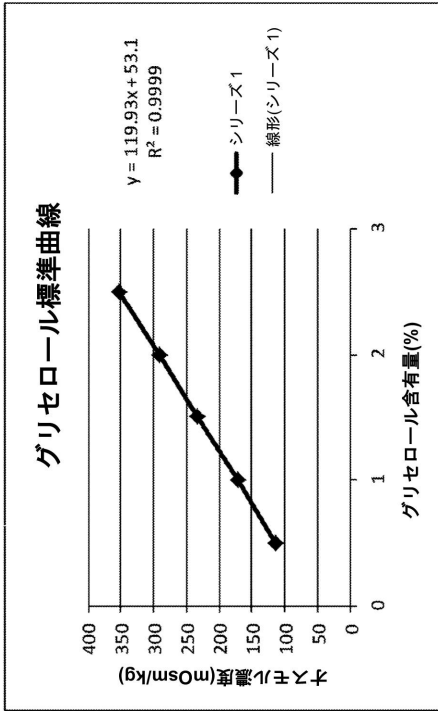


図 13

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 27/02
A 6 1 P 27/04	(2006.01)	A 6 1 P 27/04
A 6 1 P 27/12	(2006.01)	A 6 1 P 27/12

- (72)発明者 バルマン, シクハ ピー.  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 01730, ベッドフォード, 2 ポニーヴェイル ドライブ
- (72)発明者 ウォード, ケビン エル.  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02476, アーリントン, 106 クレアモント アベニュー
- (72)発明者 クロフォード, キャスリン エス.  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 01810, アンドーヴァー, 20 アイビー レーン
- (72)発明者 バーンズ, ウィリアム アール.  
アメリカ合衆国 テキサス州 76180, ノース リッチランド ヒルズ, 8024 ブリッジストリート

審査官 榎本 佳予子

- (56)参考文献 国際公開第2015/134510(WO, A1)  
粉碎, 2007年, Vol.50, p.62-69

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K	31/00 - 33/44
A 6 1 K	9/00 - 9/72
A 6 1 K	47/00 - 47/69
A 6 1 P	1/00 - 43/00

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )