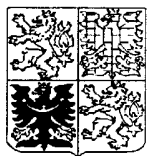


PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

287 497

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1997 - 4237

(22) Přihlášeno: 30.12.1997

(40) Zveřejněno: 14.07.1999

(Věstník č. 7/1999)

(47) Uděleno: 10.10.2000

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 13.12.2000

(Věstník č. 12/2000)

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl.⁷:

A 61 K 47/34

A 61 K 31/585

A 61 K 38/13

A 61 P 27/02

(73) Majitel patentu:

GALENA, A. S., Opava, CZ;

(72) Původce vynálezu:

Stuchlík Milan RNDr., Opava, CZ;

Jegorov Alexandr RNDr., České Budějovice, CZ;

Mařha Vladimír ing. CSc., České Budějovice, CZ;

Stuchlík Josef ing., Hrabyně, CZ;

(74) Zástupce:

Jírotková Ivana Ing., Nad Štolou 12, Praha 7, 17000;

(54) Název vynálezu:

Topické oční přípravky s imunosupresivními látkami

(57) Anotace:

Léčivé přípravky k topické oční aplikaci, obsahující 0,02 až 5,0 % imunosupresivních léčiv, patřících do skupin monocyklických undekapeptidů, makrolidových laktonů nebo kortikosteroidů ve vehikulu, obsahujícím do 10 % polyalkylenglykol-polyuretanové kopolymery. Tyto kopolymery jsou tvořeny v hydrofilním vehikulu s výhodou poly(oxy-1,2-ethandiyl)- α -hydro- ω -hydroxypolymery s 1,1'-methylen-bis-(4-izokyanátocyklohexanem) o střední molekulové hmotnosti 1000 až 3000 a v lipofilním vehikulu s výhodou poly[oxy(methyl-1,2-ethandiyl)]- α -hydro- ω -hydroxypolymery s 1,1'-methylen-bis-(4-izokyanátocyklohexanem) o střední molekulové hmotnosti 1600 až 18 000. Léčivé přípravky dále mohou obsahovat další excipienty, obvyklé v topických aplikačních formách.

CZ 287497 B6



CZ 287497B6
Batch : DEC2000

Topické oční přípravky s imunosupresivními látkami

Oblast techniky

5

Vynález se týká léčivých přípravků, určených k topické oční aplikaci lipofilních, imunosupresivních léčiv, rozpuštěných nebo dispergovaných ve fyziologicky vhodném vehikulu, obsahujícím excipienty, zvyšující průnik léčiv do očních tkání.

10

Dosavadní stav techniky

Za topickou oční aplikaci se považuje zevní podání léčivých přípravků do spojivkového vaku pod víčko a na rohovku, i injekční subkonjunktivální a retrobulbární podání.

15

Účinnost topicky aplikovaných léčiv k léčení očních chorob je vedle anatomicko-fyziologických vlastností oka ovlivňována zejména fyzikálně-chemickými vlastnostmi léčiva a charakterem aplikační formy a jejím složením. Je všeobecně známo, že transport léčiv do očních tkání znesnadňují obranné mechanismy oka, jako je zvýšené slzení a mrkání, které snižuje koncentraci léčiva v prekorneální oblasti. Absorpci léčiva umožňuje prodloužený kontakt s rohovkou a schopnost léčiva penetrovat rohovkou. Biodostupnost léčiv po topické aplikaci na oko činí obvykle jen 1 až 10 % podané látky.

20

Typickými lipofilními, imunosupresivními léčivy, jež jsou užívána k léčení očních chorob, jsou např. protizánětlivé a imunosupresivně působící látky ze skupiny monocyklických poly-N-methylovaných undekapeptidů, laktonových makrolidů nebo kortikosteroidů. Undekapeptidy, vhodné k léčení oka, tvoří skupina cyklosporinů, zejména ciclosporin, [Nva]²-ciclosporin, [Val]²-ciclosporin a dihydro[Val]²-ciclosporin.

25

Makrolidová antibiotika, vhodná k léčení očních chorob, představují zejména tacrolimus a sirolimus. Tacrolimus a jemu strukturálně podobné deriváty jsou souhrnně označovány jako askomyciny; sirolimus a jemu strukturálně podobné deriváty jsou souhrnně označovány jako rapamyciny.

30

Skupinu kortikosteroidů, používaných k topické aplikaci v očním lékařství, tvoří látky, jako jsou např. cortison a hydrocortison, prednisolon a methyl prednisolon, dexamethason a fluoromethalon.

35

Terapeutická účinnost vzpomínaných cyklosporinů při topické aplikaci je prokázána zejména při rizikových transplantacích rohovky a autoimunitních onemocněních, jako jsou keratokonjunktivitis sicca, chronická keratitis, Behcetův syndrom, Sjögrenův syndrom, endogenní uveitis, ale také ulcerativních chorob rohovky, jako je např. Morenův vřed.

40

Makrolidová antibiotika prokázala svoji vysokou imunosupresivní účinnost při orgánových i tkáňových transplantacích a jsou příslibem pro keratoplastiky. Kortikosteroidní léčiva jsou používána v terapii zánětů po očních operacích a rovněž tlumí imunologické reakce po transplantacích rohovky.

45

Všechny tři skupiny účinných látek, uváděné v tomto vynálezu, jsou podávány k léčení zánětlivých a autoimunitních chorob očí také systémovým způsobem. Pro závažné vedlejší účinky této léčby je však systémové podávání použitelné jen v omezené míře. Při racionální topické aplikaci lze snížit nebo vyloučit vedlejší účinky, spojené se systémovým podáním tím, že aktivita přípravku je soustředěna jen na ošetřovanou lokalitu a její nejbližší okolí.

50

Léčiva ze skupin N-metylových cyklických undekapeptidů, makrolidových laktonů a kortikosteroidů jsou ve své neionizované formě jen velmi málo rozpustná ve vodě nebo hydrofilních nosi-

55

čích, fyziologicky přijatelných pro oční aplikaci. To prakticky znesnadňuje přípravu klasických hydrofilních očních kapek. Pro ilustraci, rozpustnost skupiny cyklosporinů ve vodě se pohybuje v rozmezí 16 až 30 µg/ml při 25 °C, přičemž polárnější molekula [Thr]²-ciklosporinu je ve vodě více rozpustná než méně polární [NVa]²-ciklosporin. Pro vzájemné posouzení lipofility účinných látek z uvedených skupin lze použít hodnotu rozdělovacího koeficientu P mezi vodnou fází a lipofilní fází, představovanou n-oktanolem. Pro kortikosteroidní léčiva leží např. hodnota log P mezi 1,2 (prednisolon) až 4,3 (flurbiprofen). Ve skupině cyklosporinů se pohybuje log P pro imunosupresivně aktivní látky mezi 1,1 až 3,1. Pro askomyciny a rapamyciny nejsou hodnoty rozdělovacích koeficientů publikovány, ale lze předpokládat z údajů o rozpustnosti ve vodě, že budou srovnatelné s cyklosporiny.

Jedny z prvních patentů, věnovaných oční topické aplikaci léčiv ze skupiny cyklosporinů jako metodě léčení fakoanafylaktických endoofalmitid a uveitid v předním a zadním očním segmentu nebo očních chorob, projevujících se sníženou produkcí slz, jsou US patenty 4 649 047 a 4 839 342. Oba patenty blíže nespecifikují aplikační formu a předpokládají použití roztoků, suspenzí i masť s farmaceuticky přijatelným vehikulem, obsahujícím rostlinné, živočišné, minerální a silikonové oleje; liposomy a dále pak alkoholy, dimethylsulfoxid a polyoxyethylovaný ricinový olej. Ve zmíněných patentech nejsou ani v příkladech provedení ani v patentových nárocích zveřejněny hmotnostní poměry vhodných excipientů.

Ke skupině kortikosteroidů, cyklosporinů a antibiotik k oční aplikaci se vztahuje US patent 4 865 846, chránící transportní systémy, ve kterých jsou roztoky léčiv v kapalném nebo masťovém základě přítomny spolu s částicemi biodegradibilních materiálů, obsahujících tatáž nebo i jiná léčiva, a způsob přípravy těchto transportních systémů. Z příkladů provedení tohoto patentu vyplývá, že příprava trojrozměrných částic o velikosti 0,4 až 1,0 mm z bioerodibilních materiálů, jako jsou kolagen, želatina, polyvinylalkohol a methylcelulózové deriváty, suspendace těchto částic v kapalném nebo masťovém základě i způsob vpravení léčiv do těchto bioerodibilních částic je velmi pracný a málo vhodný pro validovatelný výrobní postup.

Topické přípravky k aplikaci na oko a přilehlé tkáně obsahující cyklosporiny ve vehikulu, složeném ze směsi rostlinných olejů a vazelíny, jsou popsány v UK patentu 2 224 205. Léčivé přípravky, vyrobené postupy, popsanými v tomto patentu, však obsahují jako emulgátory látky, založené zejména na steroidních látkách z ovčí vlny. V současné době je již zaznamenán odklon od používání těchto látek pro možné alergizující a dráždivé účinky možných insekticidních reziduí, obsažených v tuku v ovčí vlny.

Oční přípravky s nízkými koncentracemi cyklosporinu ve vodném vehikulu, obsahující tenzidy ze skupiny polyethoxylovaných esterů mastných kyselin, polyethoxylovaných alkyletherů a polyethoxylovaných alkylfenyletherů, popisuje mezinárodní přihláška vynálezu WO 93/23010. Emulzní oční formulace se specifickou afinitou k slzným žlázám, obsahující cyklosporiny, popisuje mezinárodní přihláška vynálezu WO 95/31211.

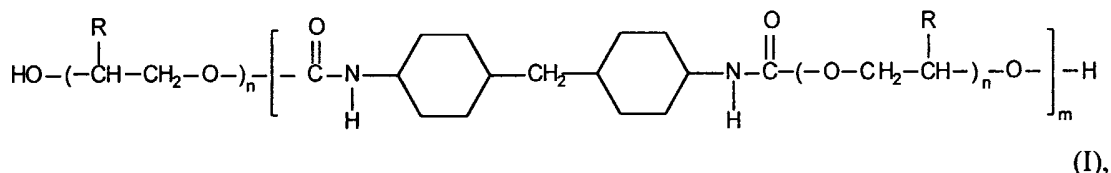
Euacidní a izotonické nanoemulze, vhodné k aplikaci, obsahující 0,01 % až 5 % léčiv, mezi nimiž jsou kortikoidy i cyklosporiny, popisuje evropská patentová přihláška EP 0 696 452 A1. Žádný z těchto výše uvedených patentů neřeší konkrétní problém zvýšení penetrace léčiva přes rohovku do vnitřních očních struktur, jako je komorová voda, duhovka, případně uvea.

Podstata vynálezu

Vynález si klade za cíl zvýšit prostupnost rohovkou u topicky aplikovaných léčiv a docílit tak terapeuticky účinných hladin léčiva ve vnitřních tkáních oka použitím zvláště vhodných pomocných látek v léčivých přípravcích. Tento úkol je mimořádně ztížen u léčiv, velmi obtížně rozpustných v tělních tekutinách a tkáních. Za léčiva, velmi obtížně rozpustná ve vodě, se považují látky, které potřebují k rozpuštění 1 hmotnostního dílu 1000 až 10 000 objemových dílů

vody. Takovými léčivými jsou zejména imunosupresiva ze skupiny monocyklických undekapeptidů, reprezentovaná ciclosporinem nebo [Nva]²-ciclosporinem, ze skupiny laktonů s makrolidovou strukturou, reprezentovaná sirolimusem nebo tacrolimusem a ze skupiny kortikoidů, reprezentovaná např. prednisolem nebo dexamethasonem.

Předmětem vynálezu jsou topické oční přípravky s imunosupresivními látkami, které jsou podle vynálezu charakterizovány přítomností 0,02 až 5,0 % hmotnostních imunosupresivních léčiv, rozpuštěných nebo dispergovaných ve fyziologicky přijatelném vehikulu, obsahujícím do 10 % hmotnostních polyalkylenglykol-polyurethanových kopolymerů obecného vzorce I



kde n je 8 až 51, m je 1 až 4 a R znamená skupinu CH₃ nebo H.

Z chemického hlediska správné CAS názvy těchto látek jsou dále v popisu vynálezu uváděny zkráceně v CTFA nomenklatuře:

CAS názvosloví	CTFA názvosloví
Poly (oxy 1,2-ethandiyl)-α-hydro-ω-hydroxy polymer s 1,1'-methylen-bis-(4-izokyanátocyklohexanem) CAS No. 39444-87-6	kopolymer PEG-8/SMDI
Poly[oxy (methyl 1,2-ethandiyl)]-α-hydro-ω-hydroxy polymer s 1,1'-methylen-bis-(4-izokyanátocyklohexanem) CAS No. 9042-82-4 CAS No. 9042-82-4	kopolymer PPG-12/SMDI kopolymer PPG-51/SMDI

V CFTA názvosloví odpovídá zkratkám PEG a PPG označení polyethylenglykol a polypropylen-glykol a zkratce SMDI označení saturovaný methylen difenyldiizokyanát.

Tyto látky jsou uváděny do oběhu např. pod obchodním názvem Polyolprepolymer-2 (kopolymer PPG-12/SMDI); Polyolprepolymer-14 (kopolymer PPG-51/SMDI) a Polyolprepolymer-15 (kopolymer PEG-8/SMDI) a jsou vyráběny firmou PENEDERM Incorporated.

V dermatálním použití jsou tyto kopolymery známy. Mají silnou aktivitu k pokožce a vytváří snadno depozita ve stratum corneum. Tím se vytváří dlouho přetrvávající kapalná rezervoár léčiv mezi korneocyty a umožňují tak protražované působení léčiv v pokožce.

Použití polyolprepolymerů v dermatálních a kosmetických přípravcích chrání např. US patenty 4 971 800, 5 045 317 a 5 051 260.

Přes značně odlišnou anatomickou skladbu pokožky od anatomické skladby oční rohovky bylo s překvapením zjištěno, že polyalkylenglykol-polyurethanové kopolymery výrazně zvyšují penetraci velmi obtížně rozpustných imunosupresivních léčiv přes rohovku. Tento jev byl prokázán u očních přípravků, kdy výše uvedená léčiva jsou vpravena v přítomnosti řečených kopolymerů jak do hydrofilních, tak do hydrofobních, fyziologicky nezávadných vehikul.

S překvapením bylo rovněž zjištěno, že léčivé přípravky podle vynálezu s obsahem excipientů polyalkylenglykol-polyurethanových kopolymerů nepůsobí v použitelných koncentracích až do 10 hmotnostních % zvýšení oční dráždivosti, i když dochází k prokazatelnému zvýšení průniku

terapeuticky účinných imunosupresivních léčiv do vnitřních očních struktur. Ani histologické vyšetření očních struktur po opakovaném podávání přípravků podle vynálezu nenaznačuje možnost jejich poškození. Naproti tomu projevy oční dráždivosti a toxicity jsou popsány již při aplikaci 0,1 % a vyšších koncentrací azonu, což je známá látka, používaná ke zlepšení permeability léčiv oční rohovkou (Ismail I. M. et al., Pharm. Res., 9(6), 817–821, 1992).

Dosažení příznivých biologických vlastností je podmíněno kvalitativními vlastnostmi kopolymerů podle vynálezu, zejména reziduálními koncentracemi nezreagované diizokyanátové složky a příslušných polyalkylenglykolů. Typické vlastnosti kopolymerů jsou uvedeny v následujícím přehledu:

	kopolymer PPG-12/SMDI	kopolymer PPG-51/SMDI	kopolymer PEG-8/SMDI
mol. hmotnost (hmotn. průměr)	4000	18 000	1800
viskozita mPa.S při 37 °C	2500 – 4500	2500 – 6000	2500 – 5000
nezreagovaný diizokyanát	max. 0,1 %	max. 0,1 %	max. 0,1 %
Reziduální obsah PEG	max. 20 %	max. 20 %	–
obsah PEG	–	–	max. 20 %
obsah těžkých kovů	max. 20 ppm	max. 20 ppm	max. 20 ppm
obsah vody	max. 0,1 %	max. 0,1 %	max. 0,1 %

Polyalkylenglykol–polyurethanové kopolymery obsahují směs oligomerů, jejichž zastoupení vyjadřuje hodnota indexu „m“ v obecném vzorci, která činí převážně 1 až 4.

Pro jednotlivé druhy vyráběných kopolymerů platí typické distribuce molekulových hmotností, stanovených gelovou permeační chromatografií. Například pro kopolymer PPG-12/SMDI představuje podíl molekulových hmotností:

- 22 až 23 % (pro pík s molekulovou hmotností 1500 až 2000),
- 16 až 25 % (pro pík s molekulovou hmotností 2400 až 3300),
- 28 až 45 % (pro pík s molekulovou hmotností ≥ 3700).

Oba typy kopolymerů, obsahující v polyalkylenglykolové části koncové hydroxylové skupiny, výrazně zvyšují deponování vzpomínaných léčiv do střední části rohovky (stromatu), která obsahuje vysoký podíl vody. V důsledku odstupňované lipofility frakcí kopolymeru s rozdílnou molekulovou hmotností se v rohovce vytváří koncentrační gradient, který je příčinou toho, že ve vodě velmi těžce rozpustná imunosupresivní léčiva nejsou fixována jen v silně lipofilní vrstvě rohovkového epitelu, tvořeného přibližně jen 5 horními vrstvami živých buněk.

Podle vynálezu je výhodné, jestliže při použití hydrofilního vehikula jsou polyalkylenglykol–polyurethanovými kopolymery poly(oxy-1,2-ethandiyl)- α -hydro- ω -hydroxypolymery s 1,1'-methylen-bis-(4-izokyanátocyklohexanem) o střední molekulové hmotnosti 1000 až 3000, a při použití lipofilního vehikula jsou polyalkylenglykol–polyurethanovými kopolymery poly[oxy-(methyl-1,2-ethandiyl)]- α -hydro- ω -hydroxypolymery s 1,1'-methylen-bis-(4-izokyanátocyklohexanem) o střední molekulové hmotnosti 1600 až 18 000.

Přípravky podle vynálezu výhodně jako imunosupresivní léčiva obsahují léčiva, patřící do skupin monocyklických undekapeptidů nebo makrolidových laktonů nebo kortikosteroidů, používaná buď jednotlivě nebo se vzájemně libovolných směsích, přednostně ciclosporin a/nebo [Nva]²-ciclosporin v množství 0,1 až 2,0 % hmotnostních a/nebo tacrolimus a/nebo sirolimus v množství

0,05 až 2,0 % hmotnostních a/nebo dexamethason a/nebo prednisolon v množství 0,02 až 1,0 % hmotnostních.

Lipofilní oční vehikula tvoří jednak rostlinné nebo živočišné triacylglyceroly (např. ricinový, 5 kukuřičný, sezamový, případně rybí olej) a jejich hydrogenované formy. Uhlovodíkové směsi, jako jsou např. nasycené uhlovodíky hexamethyltetraakosaheptaen, známé pod názvem vazelína, nebo nenasycené rozvětvené uhlovodíky, známé pod názvem squalen, či jeho hydrogenovaná forma – squalan, mohou být v omezeném množství vpraveny také mezi triacylglyceroly. Do lipofilních vehikul se řadí rovněž strukturované lipidy, tvořené triglyceryl estery se středně 10 dlouhými acylovými zbytky C_8 až C_{12} v kombinacích s dlouhými acylovými zbytky C_{14} až C_{22} . Také polyglyceryl estery mastných kyselin C_{14} až C_{22} , jejichž hodnota hydrofilně-lipofilní rovnováhy (HLB) je menší než 6, mající olejovitý charakter, jsou použitelné jako nedráždivá lipofilní oční vehikula. Rovněž mastné alkoholy s délkou uhlovodíkového řetězce C_{12} až C_{23} jsou k tomuto účelu použitelné.

15 Hydrofilní oční vehikula pro přípravky podle vynálezu jsou tvořena vodou nebo alkylenglykoly, jako jsou zejména glycerol či polyethylenglykoly. Použitelné jsou rovněž blokové kopolymery ethylenoxidu s propylenoxidem, známé jako poloxamery nebo meroxapoly.

20 Oba typy očních vehikul jsou charakterizovány také tím, že při teplotách 15 až 37 °C mají kapalnou nebo polotuhou konzistenci.

Dodatkové excipienty mohou být přítomny ve vehikulech topických očních přípravků podle vynálezu v množství technologicky nezbytném a jejich volba je podmíněna výběrem konkrétní 25 aplikační formy. V případě roztoků to jsou pro oko fyziologicky přijatelná rozpouštědla a solubilizační látky kapalně či polotuhé konzistence. U disperzních přípravků emulzních i suspenzních to jsou navíc ještě stabilizační přísady přítomných fází. U více dávkových balení očních přípravků bývají obvyklé antimikrobiální přísady.

30 Jelikož molekulová hmotnost kopolymeru PEG-8/SMDI nepřesahuje 3000, je vhodné v přípravcích s hydrofilním vehikulem zohlednit jeho příspěvek k hodnotě osmotického tlaku a v případě potřeby obvyklým způsobem dodatkovými excipienty ionogenního nebo neionogenního charakteru upravit tonicitu.

35

Přehled obrázků na výkresech

Na připojených výkresech je graficky znázorněn vliv přísady 1 % kopolymeru PPG-51/SMDI 40 v topických očních přípravcích podle příkladu 3 na absorpci ciklosporinu do rohovky (graf 1) a jeho průnik do duhovky (graf 2), komorové vody (graf 3) a uvey (graf 4). Ve skupinách pigmentovaných králíčích samců i samic došlo k signifikantnímu zvýšení absorpce. Průměrně se zvýšila koncentrace ciklosporinu po 12 aplikacích jedné kapky přípravku do oka proti kontrolám následně:

45 rohovka 3,30x; duhovka 5,24x; komorová voda 5,08x a uvea 5,2x.

Je rovněž připojena tabulka I s uvedením schématu hodnocení reakce oka.

Příklady provedení vynálezu

50 V následujících příkladech provedení jsou uvedena možná složení přípravku podle vynálezu s léčivy ze všech typických skupin, aniž by měla jakkoliv omezující význam.

55

Příklad 1

Oční kapky

1%

2%

Ciclosporin	1,000 kg	2,000 kg
Kopolymer PPG-12/SMDI	1,00 kg	1,00 kg
Diglyceryl monooleát	2,50 kg	5,00 kg
Chlorbutanol	0,50 kg	0,50 kg
Kukuřičný olej	do 100,00 litrů	do 100,00 litrů

5 Ve 100 l kotli s magnetickým míchadlem typu Steridose Systems AB se smíchá kopolymer PPG-12/SMDI a diglyceryl monooleát s kukuřičným olejem. Ve směsi se za obvyčejné teploty rozpustí čerstvě přesublimovaný chlorbutanol a ciclosporin. Roztok se asepticky filtruje do sterilizovaného zásobníku přes membránový filtr s odlučivostí 0,2 μ m. Plní se do polyethylenových nádobek o objemu 5 ml na zařízení, pracujícím systémem BFS.

10 Obě koncentrační varianty přípravku byly hodnoceny na oční dráždivost u králíků dle popsané metody.

15 Oční kapky podle příkladu provedení 1 s obsahem 1 % a 2 % ciclosporinu a jim odpovídající placebo bez kopolymeru byly hodnoceny na oční dráždivost metodikou, doporučenou výborem ETAD pro toxikologii.

20 Oční kapky byly testovány vždy na 6 králících plemene novozélandský bílý. Zvířata byla konvenční kvality s hmotností 2,19 až 4,62 kg, odpovídající jejich věku. Králíci byli ustájeni individuálně v kovových klecích a aklimatizováni na podmínky vivaria (teplota 22 ± 2 °C, relativní vlhkost vzduchu 50 až 70 %). Králíkům byla podávána standardní krmná směs KKK/L a pitná voda ad libitum.

25 Oční kapky byly aplikovány jednorázově v množství 50 μ l do každého oka, rozděleně do dvou po sobě následujících částí po 25 μ l. Stav oka (spojivky, rohovky, duhovky a produkce slz) byl sledován před aplikací a 24, 48 a 72 hodin po aplikaci. K vyšetření rohovky byl použit komerčně dostupný roztok fluoresceinu při modrém bodovém osvětlení. Po 24 hodinách byl do očí aplikován stejným způsobem a ve stejném množství fyziologický roztok. Změny na spojivce, rohovce duhovce a produkce slz byly hodnoceny podle schématu, uvedeného v tabulce I. Kumulativní hodnoty změn, zjištěných za 24, 48 a 72 hodin u všech 6 králíků jsou následující:

30

	1% oční kapky		2% oční kapky	
	Přípravek	Placebo	Přípravek	Placebo
Změny na rohovce [A x B x 5]	0	0	0	0
Změny na duhovce [A x 5]	0	0	0	0
Změny na spojivce [A x b x C] x 2	32	10	16	0
Výsledný stupeň dráždění	1,78	0,56	0,89	0
Závěrečný posudek	nedráždí	nedráždí	nedráždí	nedráždí

$$\text{Výsledný stupeň dráždění} = \frac{\Sigma \text{změn na rohovce, duhovce a spojivce}}{[3 \times 6]}$$

35

Klasifikace podráždění:

5	výsledný stupeň	0 až 10	nedráždí
		11 až 25	lehce dráždí
		26 až 56	mírně dráždí
		57 až 110	silně dráždí

Příklad 2

10

Oční kapky

A

B (placebo)

Ciclosporin	2,000 g	2,000 g
Kopolymer PPG-51/SMDI	2,000 g	–
Decaglyceryl pentaoleát	5,000 g	5,000 g
Tokoferyl linoleát	0,700 g	0,700 g
Kukuřičný olej	do 100,000 ml	do 100,000 ml

U přípravků byla hodnocena snášenlivost při 19 denním podávání u psů dle popsané metodiky s histopatologickým vyšetřením a byla zhodnocena penetrace ciclosporinu do očních tkání.

- 15 K pokusu bylo použito 10 psů plemene Beagle – samců o stáří 12 až 16 měsíců. Psi byli v pravidelných intervalech ošetřeni. V příslušném období byli ošetřeni vakcínami Canvac, Dohyvac-Parvo a Lyscelin.

- 20 Zvířata byla umístěna individuálně v koticích o rozměrech 0,9 x 1,0 m v konvenčních podmínkách. Krmena byla standardní peletovanou dietou Ro XIII v denní dávce 300 g na psa. Pitnou vodu měli psi k dispozici ad libitum.

- 25 Zkoušené přípravky – dle příkladu provedení 2 byly aplikovány čtyřikrát denně 5 psům (pokusná skupina) ve dvouhodinových intervalech na rohovku každého oka po jedné kapce kapátkem ze standardního balení. Po zakápnutí bylo lehkým sevřením víček docíleno rozptýlení přípravku po rohovce. Kontrolní skupině (5 psů) bylo stejným způsobem aplikováno placebo. Oba přípravky byly aplikovány 19 po sobě následujících dní. Před začátkem aplikace a na konci aplikačního období bylo provedeno oftalmologické vyšetření. Oční snášenlivost byla opět posuzována dle schématu v tabulce I, denně před první aplikací. Posuzována byla přítomnost a velikost případného zakalení rohovky (stupeň 0 až 4), stav a reakce duhovky (stupeň 0 až 2), přítomnost zarudnutí či otoku spojivek (stupeň 0 až 4) a přítomnost sekrece (stupeň 0 až 3). Varianty A i B byly klasifikovány jako nedráždivé.

- 35 Pro histopatologické vyšetření byli použiti dva psi, kterým byla do spojivkového vaku obou očí 4x denně aplikována 1 kapka přípravku dle příkladu provedení 2. Dále byl v pokuse pes kontrolní, kterému bylo stejným způsobem podáváno placebo. Pokus trval 19 dní.

- 40 Hodinu po poslední aplikaci byli psi utraceni vykrvácením v thiopentalové narkóze. Oční bulby byly opatrně vyjmuty z orbity a fixovány v 10% neutrálním formolu. Ostrou žiletkou byl proveden každým okem řez, který směřoval od vstupu očního nervu k okraji rohovky. Z většího očního segmentu byla pak pořízena lamela o šíři asi 8 mm, která obsahovala rohovku, pupilu, čočku a optický nerv. Vedle očního bulbu byla vždy ze zevní části orbity odebrána příslušná slzná žláza.

- 45 Histologické preparáty byly zhotoveny standardní parafínovou technikou, krájeny v síle asi 6 µm a barveny hematoxylinem–eosinem, metodou PAS na mukopolysacharidy, kreslovou violetí, alciánovou modří, metodou podle Van Giesona a Halle–Müllerovou technikou.

Na histotopogramech obou očních bulbů kontrolního psa ani u obou psů s aplikovaným přípravkem dle příkladu provedení č. 2 nebyly na žádné zachycené oční struktury (rohovka, bělma, spojivka, cévnatka, sítnice, řasnaté tělísko, duhovka, čočka, přední a zadní oční komora, optický nerv, průřezy okohybných svalů a peribulbární pletivo) nalezeny žádné odchylky. Změněna nebyla ani spojivka, vystylající zadní plochu horního očního víčka, ani slzná žláza.

Penetrace do očních tkání

V pokusu byly použity skupiny 4 psů Beagle ve stáří 12 až 16 měsíců. Třem z nich byl do obou očí aplikován přípravek A nebo B podle příkladu 2, specificky značený tritiovým ciclosporinem s aktivitou 2 mCi/ml v množství 0,03 ml. Aplikace byly prováděny 4x denně ve dvouhodinových intervalech po dva dny, třetí den byl přípravek aplikován 3x. Celkem bylo provedeno 11 aplikací. Čtvrtý pes obdržel ve stejném množství a frekvenci přípravek podle příkladu 2 bez specifického značení.

Hodinu po poslední aplikaci byli psi utraceni vykrvácením z velkých krčních cév v thiopentalové anestézii. Poté jim byly vyjmuty obě oči, včetně spojivek a slzných žláz. Pravé oči všech 5 psů byly zalaty 2% gelem karboxymethylcelulózy a zmrazeny ve směsi n-hexan a suchý led pro autoradiografické vyšetření. Z levých očí byly odebrány vzorky 25 % jednotlivých tkání, zváženy a potom rozpuštěny v 1 ml 25% KOH ve 20% ethanolu. Měření radioaktivity bylo provedeno na kapalně scintilačním spektrofotometru Wallac Rackbeta. Naměřené hodnoty aktivity (dpm) byly přepočítány na ng podané látky/g tkáně.

	A		B	
	Prům. konc. (n = 3)	Směr. odch.	Prům. konc. (n = 3)	Směr. odch.
Rohovka	15 743,4	± 2730,2	5100,2	± 1474,1
Spojivka	4350,2	± 192,3	750,0	± 97,7
Duhovka	633,5	± 62,2	120,9	± 44,5
Slzná žláza	146,6	± 44,1	30,8	± 23,0
Komorová voda	62,0	± 7,9	11,7	± 3,4

Ve sklivci, čočce, bělimě a sítnici se zjištěné hodnoty ciclosporinu pohybovaly na úrovni pozadí.

Příklad 3

Oční kapky

	A	B
Ciclosporin	2,00 g	2,00 g
Kopolymer PPG-51/SMDI	1,00 g	–
Diglyceryl monooleát	4,00 g	5,00 g
Kukuřičný olej	do 100,00 ml	do 100,00 ml

Obě formulace byly označeny tritiovým ciclosporinem v dávce 1 MBq/mg účinné látky. Oba přípravky byly aplikovány skupině 6 králíků o hmotnosti 3 až 3,5 kg, tvořené 3 samci (M) a 3 samicemi (F). Přípravek A byl vkapáván do levého oka vždy na rohovku (nikoliv do spojivkového vaku).

Aplikace se prováděla každých 15 minut po dobu 3 hodin (celkem 12 aplikací) v množství 15 µl přípravku pomocí mikropipety (celkem 3,6 mg ciclosporinu). Za 15 minut po poslední aplikaci byla zvířata usmrcena, ze všech očí byla odebrána komorová voda a byla vypreparována rohovka, duhovka a uvea.

Vzorky tkání byly zváženy a upraveny pro měření radioaktivity na kapalinově scintilačním spektrofotometru Wallac Rackbeta. Naměřené hodnoty aktivity (dpm) byly přepočítány na koncentrace ng ciclosporinu/g tkáně.

- 5 Průměrné hodnoty tkáňových koncentrací ciclosporinu (n = 6) u obou přípravků jsou následující:

	A	B
Rohovka	14 246,1 ng/g	5832,1 ng/g
Duhovka	915,9 ng/g	174,8 ng/g
Komorová voda	293,1 ng/g	57,8 ng/g
Úvea	107,4 ng/g	20,3 ng/g

Příklad 4

10

Oční mast

[Nva] ² -ciclosporin	0,50 g
Kopolymer PPG-51/SMDI	2,00 g
RRR- α -tokoferol	0,40 g
Hydrogenový ricinový olej	26,9 g (CUTINA [®] HR fy HENKEL)
Ricinový olej	70,00 g

- 15 K sterilizované směsi ricinového oleje a hydrogelovaného oleje se při teplotě 60 °C rozpustí tokoferol, kopolymer a účinná látka. Za tepla se zfiltruje za aseptických podmínek a plní se do tub s očním aplikátorem.

Příklad 5

20

Oční kapky

Sirolimus	0,50 g
Kopolymer PPG-12/SMDI	1,00 g
Sorbitan trioleát	2,00 g
Askorbyl palmitát	0,02 g
Sojový olej	do 100,00 ml

- 25 Připravený roztok se filtruje přes přepážku s odlučivostí 0,2 μ m a plní se do skleněných lahvíček s očním aplikátorem.

Příklad 6

- 30 Oční kapky

Dexamethazon	0,100 g
Kopolymer	6,000 g
PEG-50 stearat	5,000 g (Myrj [®] 53 fy ICI)
K ₂ HPO ₄	0,061 g
NaOH 0,1 M roztok	q.s. pH 6,9
Fenylethyl alkohol	0,300 g
Sterilní voda	do 100,00 ml

Přípravený roztok se filtruje přes filtrační přepážku s odlučivostí 0,2 µm a plní se do polyethylenových nádobek s očním aplikátorem.

5

Průmyslová využitelnost

Vynález nachází uplatnění ve farmaceutickém průmyslu při výrobě topických očních přípravků. Přípravky dle vynálezu se vyznačují vysokým průnikem imunosupresivních léčiv do očních tkání a velmi dobrou snášenlivostí.

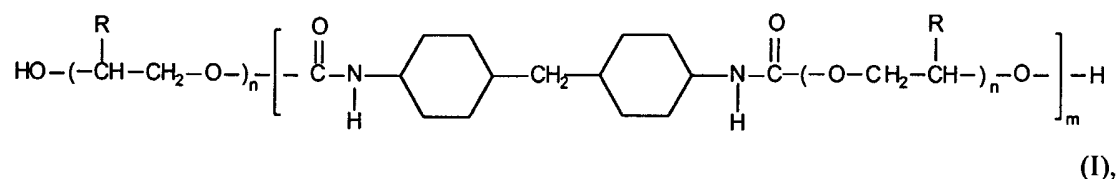
10

15

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Topické oční přípravky s imunosupresivními látkami, **vyznačující se tím**, že jsou tvořeny 0,02 až 5,0 % hmotnostními imunosupresivních léčiv, rozpuštěných nebo dispergovaných ve fyziologicky přijatelném vehikulu, obsahujícím do 10 % hmotnostních polyalkylen-glykol-polyurethanových kopolymerů obecného vzorce I

20



25

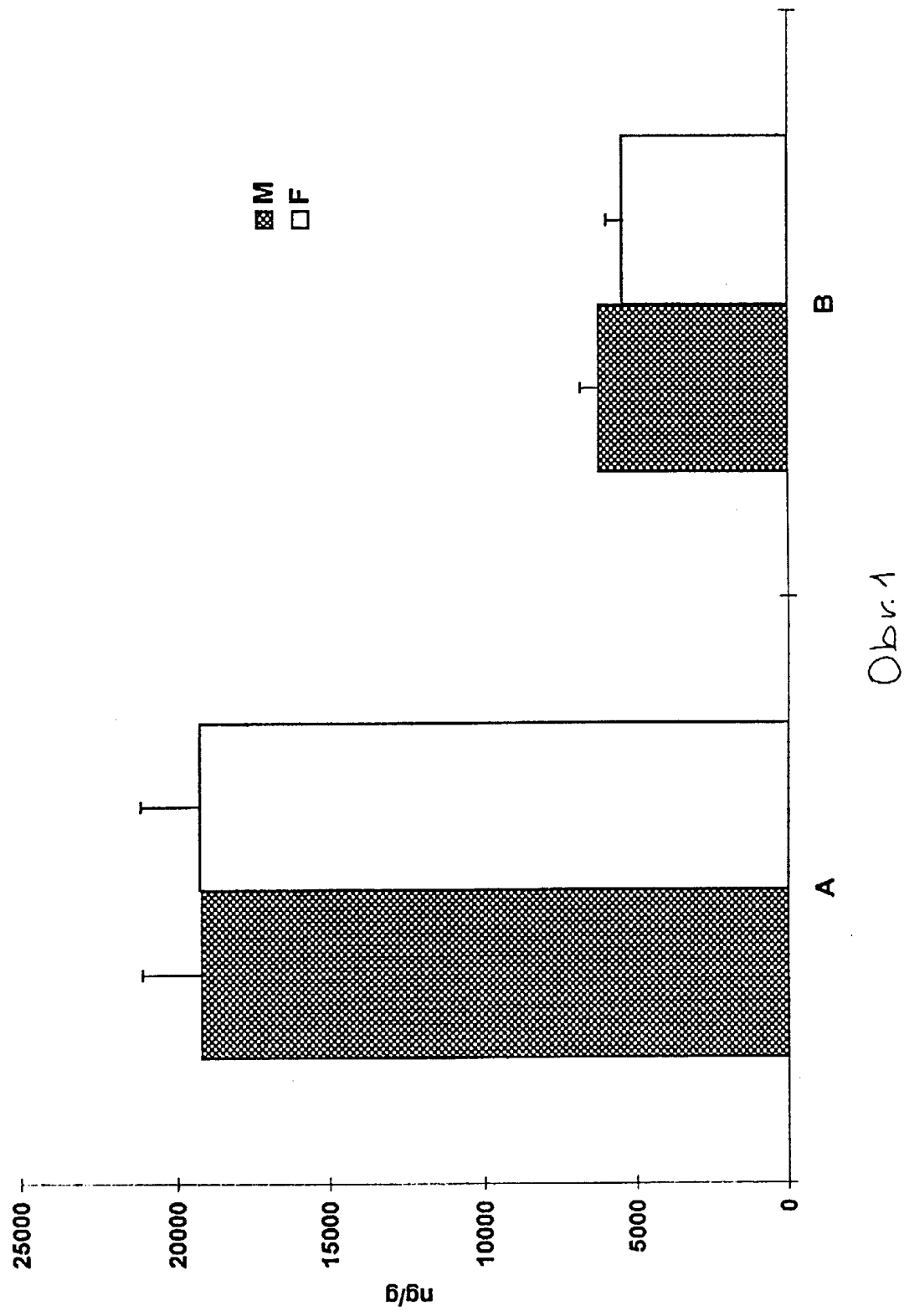
kde n má hodnotu 8 až 51, m je 1 až 4 a R je skupina CH₃ nebo vodík,

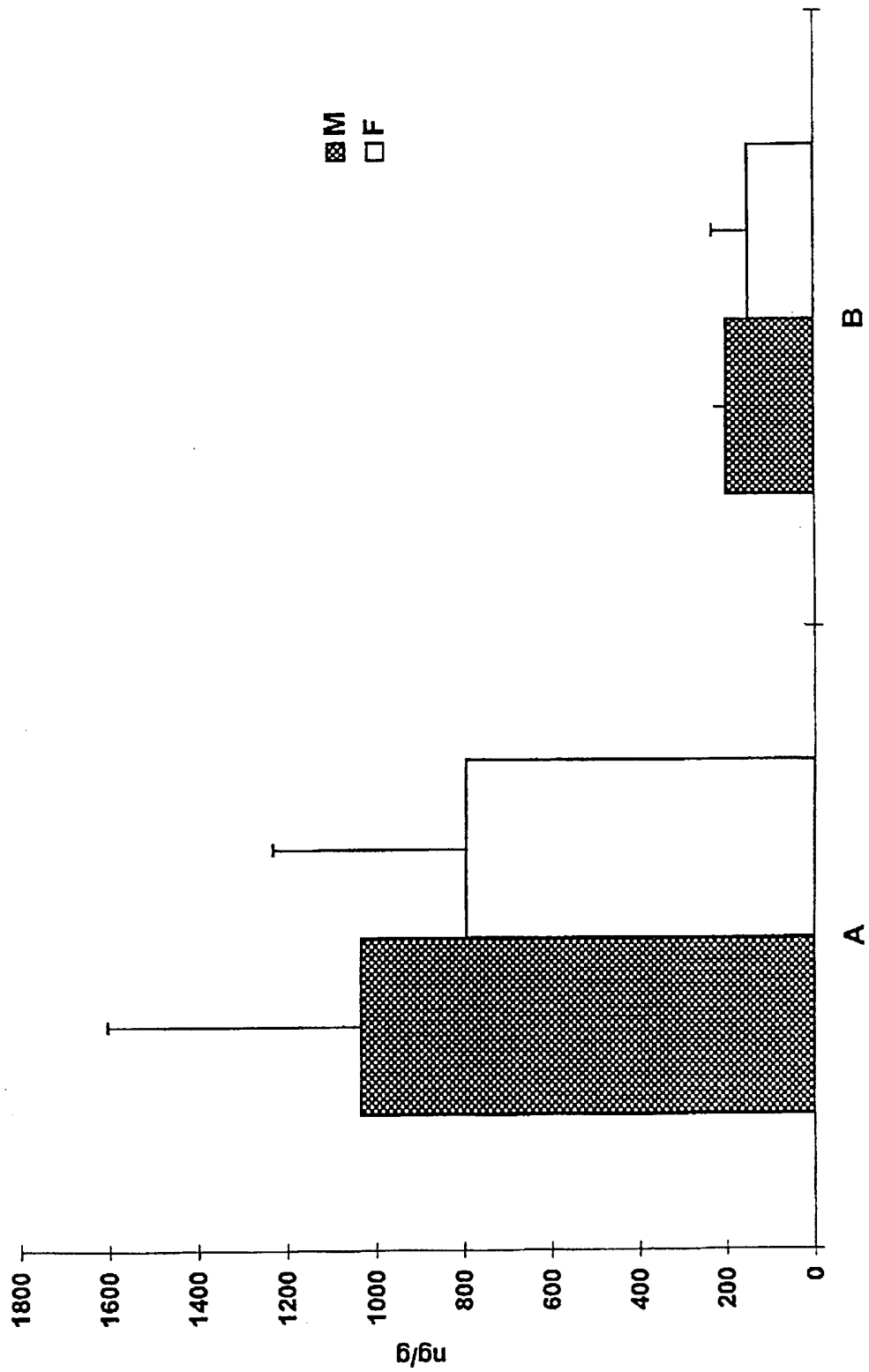
případně spolu s dalšími excipienty, obvyklými v topických aplikačních formách.

2. Přípravky podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že při použití hydrofilního vehikula jsou polyalkylen-glykol-polyurethanovými kopolymery poly(oxy-1,2-ethandiyl)-α-hydro-ω-hydroxypolymery s 1,1'-metylen-bis-(4-izokyanátocyklohexanem) o střední molekulové hmotnosti 1000 až 3000.
3. Přípravky podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že při použití lipofilního vehikula jsou polyalkylen-glykol-polyurethanovými kopolymery poly[oxy(methyl-1,2-ethandiyl)]-α-hydro-ω-hydroxypolymery s 1,1'-metylen-bis-(4-izokyanátocyklohexanem) o střední molekulové hmotnosti 1600 až 18 000.
4. Přípravky podle nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že jako imunosupresivní léčiva obsahují léčiva, patřící do skupin monocyklických undekapeptidů nebo makrolidových laktonů nebo kortikosteroidů, používaná buď jednotlivě nebo ve vzájemně libovolných směsích.
5. Přípravky podle nároků 1 až 4, **vyznačující se tím**, že jako imunosupresivní léčiva obsahují ciclosporin a/nebo [Nva]²-ciclosporin v množství 0,1 až 2,0 % hmotnostních a/nebo tacrolimus a/nebo sirolimus v množství 0,05 až 2,0 % hmotnostních a/nebo dexamethason a/nebo prednisolon v množství 0,02 až 1,0 % hmotnostních.

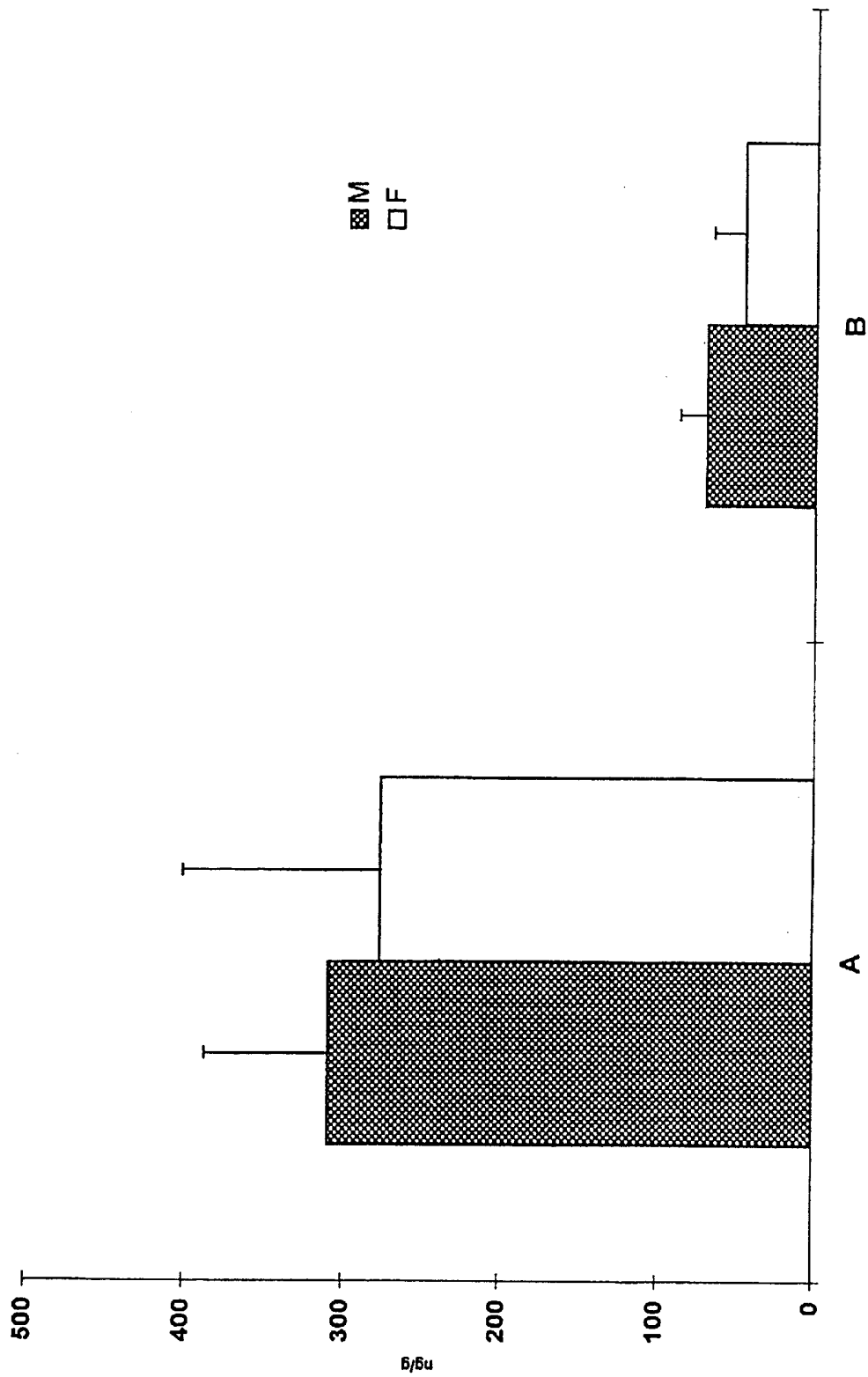
50

5 výkresů





Obr. 2



Obr. 3

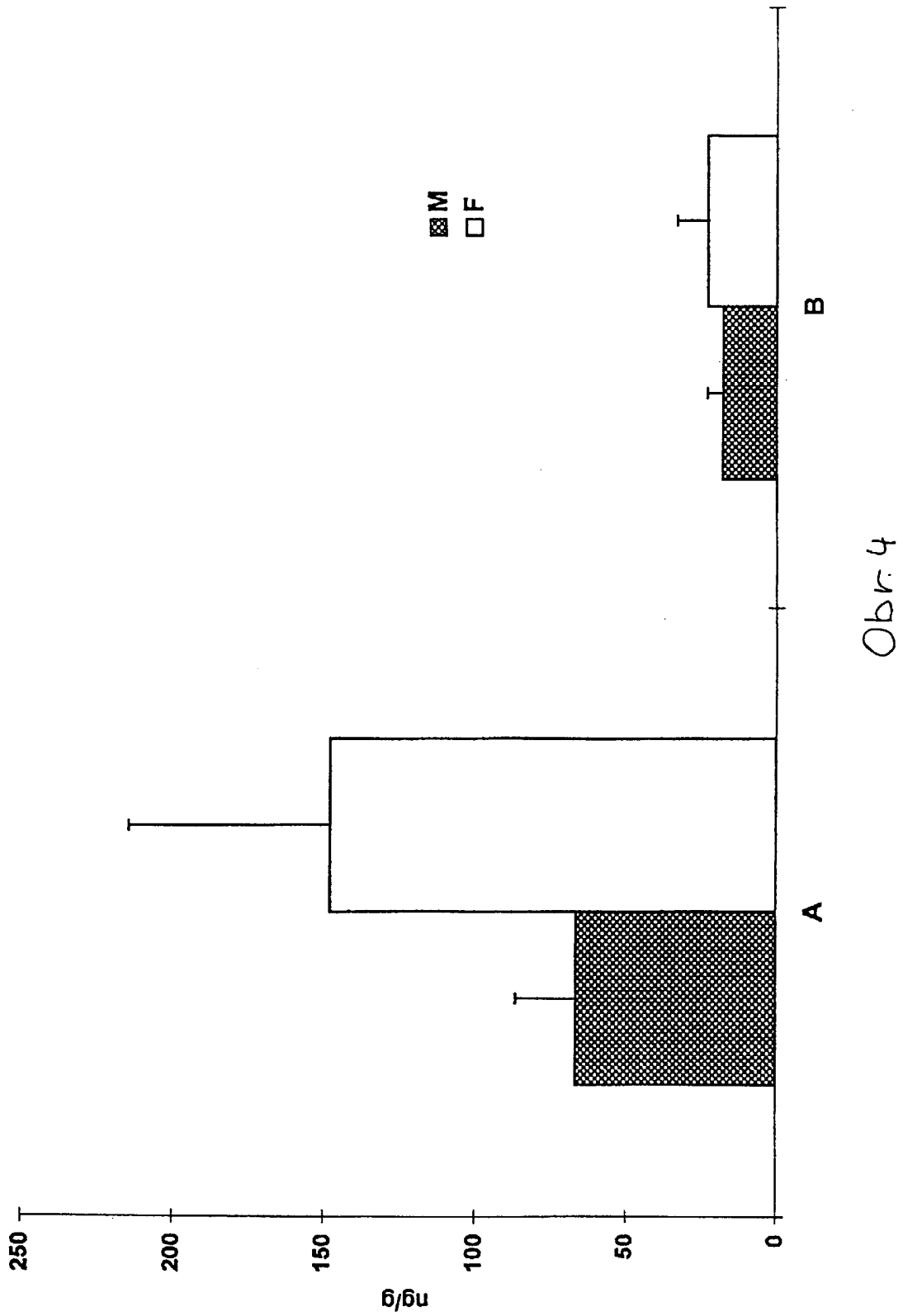


Schéma hodnocení reakce oka

Rohovka			
[výpočet změn na rohovce A x B x 5; max hodnota 80]			
stupeň	A Zakalení	B Plocha změn na rohovce	
0	Žádné zakalení	Žádná plocha	
1	Roztroušená nebo rozptýlená oblast zakalení, detaily duhovky jasně patrné	Jedna čtvrtina a méně (ne však žádná)	
2	Snadno rozlišitelné oblasti zakalení, detaily duhovky lehce nejasné	Více než čtvrtina až polovina	
3	Opaleskující oblasti, nejsou rozlišitelné detaily duhovky, velikost pupily stěží	Více než polovina až tři čtvrtiny	
4	Zakalený povrch, duhovka není zřetelná	Více než tři čtvrtiny až celá plocha	

Spojivka			
[výpočet hodnot změn na spojivce (A+B+C) x 2 ; max. hodnota 20]			
stupeň	A Zarudnutí víček a očí	B Edém	C Slzení
0	Žádné zarudnutí	Žádné zduření	Fyziologická tvorba slz
1	Mírně nasítknuté cévy spojivkového vaku	Mírný edém (většně mžurky)	Mírně zvýšené slzení (nezahrnuje mírné zvýšení produkce slz pozorované v koutku oka)
2	Difúzní zarudnutí spojivky, jednotlivé cévy těžko rozlišitelné	Zřetelné zduření s částečným odchlopením víčka	Slzení se zvýšením víček a řas
3	Difúzní tmavé zarudnutí	Zduření se zúžením oční štěrbin na přibližně polovinu	Slzení se zvýšením víček, řas a okolí oka
4		Zduření se zúžením oční štěrbin na přibližně polovinu nebo jsou víčka zcela přivřená	

Duhovka	
[výpočet změn na duhovce A x 5; max. hodnota 10]	
stupeň	A Hodnocení změn
0	Fyziologický stav duhovky
1	Řasení bez změn, srůst, zduření, nasítknuté cévy (všechny uvedené změny, nebo některé z nich) duhovka ještě reaguje na změny
2	Hemorhagie, velké destrukce, duhovka nereaguje na světlo (všechny uvedené změny, nebo některé z nich)

Konec dokumentu