

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 033811

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2019.11.27

(21) Номер заявки
201590807

(22) Дата подачи заявки
2013.10.23

(51) Int. Cl. A01N 43/48 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)

(54) СТАБИЛЬНЫЕ БЕСКОНСЕРВАНТНЫЕ МИДРИАТИЧЕСКИЕ И
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ РАСТВОРЫ ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ

(31) 61/718,026; 61/736,179

(32) 2012.10.24; 2012.12.12

(33) US

(43) 2015.11.30

(86) PCT/US2013/066349

(87) WO 2014/066485 2014.05.01

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ОМЕРОС КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:
Демопулос Грегори А., Шэнь Хуэй-
Жун, Тедфорд Кларк Э. (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) US-A1-20100311705
US-A1-20110105450
US-A1-20100311688
US-A1-20120022094

(57) Настоящее изобретение относится к стабильным бесконсервантным и безантиоксидантным жидким композициям фенилэфрина и кеторолака для инъекций.

033811

B1

033811

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к стабильным, не содержащим консервантов и антиоксидантов жидким фармацевтическим составам кеторолака и фенилэфрина для введения в интраокулярные офтальмологические ирригационные растворы.

Уровень техники

Офтальмологическая хирургия часто требует применения физиологического ирригационного раствора для защиты и поддержания физиологической целостности внутриглазных тканей. Примеры офтальмологических хирургических операций, которые обычно требуют применения ирригационных растворов, включают операции по удалению катаракты и замене хрусталика и рефракционной замене хрусталика, операции по пересадке роговицы и витреоретинальные операции, а также трабекулэктомии при глаукоме. При внутриглазной операции зрачок пациента должен быть достаточно расширен, чтобы обеспечить обзор операционного поля и ограничить повреждение, которое может быть связано с операцией.

Расширение зрачка (мидриаз) обычно обеспечивают при дооперационном расширении глазного зрачка посредством наружного введения мидриатического средства. Дооперационное применение мидриатических средств, которые, как правило, можно вводить, включают симпатомиметики, такие как агонисты альфа-1 адренергических рецепторов, и антихолинергические средства, такие как антимускариновые средства. Антихолинергические средства могут быть выбраны в случае необходимости более длительного действия, поскольку они одновременно обеспечивают циклоплегию (паралич ресничной мышцы) и мидриаз, например, тропикамид имеет полупериод выведения приблизительно 4-6 ч. Однако во многих операциях альфа-1 адренергетики будут предпочтительны, потому что они обеспечивают мидриаз, но не вызывают циклоплегии. Альфа-1 адренергетики, таким образом, действуют менее продолжительно, вызывая мидриаз в течение хирургической операции и позволяя зрачку возвращаться в нормальное состояние вскоре после завершения операции.

Во время хирургической операции, поскольку концы хирургических инструментов введены в переднюю камеру глаза, сфинктер зрачка стремится сузиться (миоз), уменьшая просвет, определяемый зрачком. Если диаметр зрачка не поддерживать на нужном уровне в течение всей операции, то возрастает риск повреждения структур внутри глаза, а время, требуемое для проведения операции, часто увеличивается. Клинически значимые уменьшения диаметра зрачка связаны с увеличением операционных осложнений, включающих разрывы задней стенки капсулы, присутствие остаточных фрагментов хрусталика и истечение стекловидного тела.

Многие хирурги-офтальмологи могут вводить эпинефрин в интраокулярный ирригационный раствор для поддержания зрачка в расширенном состоянии. Токсический синдром переднего отрезка глаза (ТСПО) является острым неинфекционным воспалением переднего сегмента глаза. ТСПО - тяжелое осложнение, которое может быть связано с вмешательством в переднем сегменте глаза, обычно операцией по удалению катаракты. Различные контаминанты рассматривались в качестве причин ТСПО. Применение эпинефрина, содержащего консерванты, в интраокулярных ирригационных растворах является одним из множества факторов, связываемых с возникновением ТСПО после хирургического удаления катаракты. См., например, <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5625a2.htm> (по состоянию на 9 июля 2012 г.). Даже "бесконсервантный" эпинефрин, т.е. эпинефрин, который не содержит противомикробное средство, все же содержит метабисульфит натрия в качестве антиоксиданта, который также рассматривался офтальмологами как связанный с вероятной токсичностью для эндотелия роговицы (Slack, et al., A bisulfite-free intraocular epinephrine solution, Am. J. Ophthalmol.; 110(1):77-82 (1990)).

Фенилэфрин является другим альфа-1 адренергическим средством, которое иногда применяют наружно до хирургической операции, чтобы вызвать мидриаз, но он не одобрен в США для применения в формах, не содержащих консерванты и антиоксиданты, для разовых инъекций. Примеры одобренных растворов фенилэфрина HCl включают 0,01% хлорид бензалкония (AK-DILATE™ производства Akorn, доступный в пластмассовых флаконах-капельницах объемом 2 и 5 мл, и производства Falcon Pharmaceuticals и Alcon Laboratories во флаконах-капельницах многократного применения объемом 3 мл и 5 мл) и "бесконсервантную" форму, которая не содержит противомикробный консервант, но все же содержит 2 мг метабисульфита натрия в качестве антиоксиданта (Neo-Synephrine® производства InterMed Medical Ltd., доступный во флаконе с распылителем).

Также желательно уменьшить послеоперационную боль и раздражение глаз для комфорта пациента. Вследствие этого пациенты могут до или после операции получать нестероидный противовоспалительный препарат (НПВП). Хотя обычно хирургическое удаление катаракты (например) не связывают с послеоперационной болью высокой интенсивности, существует потребность минимизировать количество пациентов, входящих в небольшую группу пациентов, которые действительно испытывают более сильную послеоперационную боль. Это важно, потому что такие пациенты ощущают дискомфорт и могут иметь опасения по поводу того, что их операция завершилась неудачно, и потому что пациенты могут нуждаться в повторном обследовании в качестве предупредительной меры, чтобы гарантировать отсутствие тяжелого осложнения, приводящего к возникновению боли.

Традиционно используются различные способы доставки глазных средств, таких как НПВП, при

этом каждый из них имеет ограничения. Эти ограничения могут включать токсичность для роговицы и конъюнктивы, повреждение тканей, перфорацию глазного яблока, повреждение зрительного нерва, окклюзию центральной артерии и/или вены сетчатки, прямую ретинальную токсичность лекарственного средства и системные побочные эффекты. Например, препараты для наружного применения, которые вводят по каплям, часто не достигают целевого участка глаза вследствие наличия у глаза естественной защитной поверхности. Во многих случаях довольно малый процент лекарственного препарата, нанесенного на поверхность глаза, фактически достигает нужного терапевтического участка действия.

Для достижения достаточной концентрации лекарственного средства, поступающего в заднюю часть глаза, такие лекарственные препараты, как НПВП, часто вводят системно в очень высоких дозах. Такие уровни требуются для преодоления гематоретинального барьера, который защищает заднюю часть глаза от молекул некоторых лекарственных средств, поступающих с током крови. В случае хирургических операций растворы лекарственных средств для инъекций иногда вводят непосредственно в заднюю часть глаза. Субконъюнктивальные и околобуглярные окологлазные инъекции используются в случаях, когда необходимы более высокие локальные концентрации и когда требуется ввести лекарственные средства с низкой проникающей способностью. В хирургии катаракты используются внутрикамерные инъекции непосредственно в переднюю камеру глаза.

Кеторолак - НПВП, который коммерчески доступен в форме для глазного применения, содержащей консерванты. Acular® производства Allergan представляет собой раствор кеторолака трометамин, который содержит 0,01% хлорида бензалкония в качестве консерванта и доступен во флаконах-капельницах объемом 3 мл и 6 мл. Bedford Laboratories также поставляет кеторолака трометамин в концентрированной форме (15 или 30 мг в 1 мл либо 60 или 300 мг в 10 мл) для инъекций для внутрисосудистого или внутримышечного введения. Allergan поставляет бесконсервантный глазной раствор 0,45% кеторолака трометамин, в который входит натрий карбоксиметилцеллюлоза, хлорид натрия, дегидрат цитрата натрия, в тубиках одноразового применения под торговой маркой Acuvail®.

Хотя внутрикамерная инъекция обеспечивает быстрый способ достижения концентрации, она может быть связана с корнеальной токсичностью. Впрочем, данный способ имеет недостаток, который связан с тем, что эти лекарственные средства быстро выводятся в результате естественного процесса кровообращения глаза. Таким образом, растворы для инъекций быстро теряют свои терапевтические преимущества, нередко требуя частых инъекций высоких доз, что может сопровождаться риском токсичности. Лекарственные формы замедленного высвобождения, такие как вязкоупругие гели, содержащие микрокапсулы, можно вводить интраокулярно с целью обеспечения большей продолжительности действия. Однако при достижении локальной терапевтической концентрации лекарственного средства может присутствовать некоторая задержка. Следовательно, существует потребность в способах контролируемой глазной доставки во время офтальмологических операций.

Растворы, которые использовали в офтальмологической хирургической ирригации, включают физиологический раствор, раствор Рингера с лактатом и раствор Хартманна (Рингера с лактатом), но они не оптимальны вследствие вероятного нежелательного действия на роговицу и эндотелий. Другие водные растворы, которые включают такие вещества, как электролиты, буферные вещества для регуляции pH, глутатион и/или источники энергии, такие как декстрозу, лучше защищают ткани глаза, но не соответствуют другим физиологическим процессам, связанным с хирургией. Одним из обычно используемых растворов для офтальмологической ирригации является раствор из двух компонентов: буферного электролита и глутатиона, раскрытый в патенте США 4550022 (Garabedian et al.), описание которого настоящим прямо включено посредством отсылки. Два компонента этого раствора смешивают непосредственно перед применением, чтобы обеспечить стабильность. Такие растворы приготавливают с целью сохранения нормального состояния глазных тканей в ходе хирургической операции.

Другой пример модифицированного раствора раскрыт в международной заявке PCT WO 94/08602 за авторством Gan et al., описание которой настоящим прямо включено посредством отсылки. В этой заявке раскрыто включение мидриатического средства, такого как эпинефрин, в глазные ирригационные растворы. Еще один пример представлен в международной заявке PCT WO 95/16435 за авторством Cagle et al., в которой раскрыто включение нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) в офтальмологический ирригационный раствор.

Сущность изобретения

В настоящем изобретении предложен стерильный жидкий, не содержащий антиоксидантов и консервантов состав мидриатического средства, фенилэфрина и противовоспалительного средства, кеторолака, для инъекций. Состав соответственно можно вводить в интраокулярный ирригационный носитель и применять для ирригации глазных тканей во время хирургической операции. Состав исключает потенциальную токсичность, которая может быть связана с консервантами и антиоксидантами, но при этом все же обладает достаточной стабильностью.

В одном варианте осуществления изобретения предложен стерильный жидкий фармацевтический состав без антиоксиданта и консерванта, включающий фенилэфрин, кеторолак и буферную систему в водном носителе, который является стабильным в течение по меньшей мере шести месяцев в случае хра-

нения при температуре от 5 ± 3 до $25\pm 2^\circ\text{C}$. Предпочтительно состав стабилен в течение по меньшей мере 24 месяцев в случае хранения при температуре от 5 ± 3 до $25\pm 2^\circ\text{C}$.

В одном аспекте изобретения буферная система выбрана из системы натрий-фосфатного буфера и системы натрий-цитратного буфера. Предпочтительно буферная система является системой натрий-цитратного буфера, такой как система приблизительно 20 мМ натрий-цитратного буфера. В другом аспекте изобретения состав имеет pH от 5,8 до 6,8.

В другом аспекте изобретения состав содержится в контейнере одноразового применения, таком как флакон, который закрыт крышкой, через которую можно отбирать содержимое, и предварительно заполненный шприц.

Подходящий состав настоящего изобретения включает от 46 до 76 мМ фенилэфрина и от 8,5 до 14 мМ кеторолака и в качестве одного из примеров может содержать приблизительно 60,75 мМ фенилэфрина и приблизительно 11,25 мМ кеторолака. Составы настоящего изобретения могут включать фенилэфрин и кеторолак в молярном отношении фенилэфрина к кеторолаку от 1:1 до 13:1 и соответственно могут включать указанные средства в молярном отношении фенилэфрина к кеторолаку от 3:1 до 10:1.

В другом варианте осуществления изобретения предложен стерильный жидкий фармацевтический состав без антиоксиданта и консерванта, включающий фенилэфрин, кеторолак и буферную систему в водном носителе, и интраокулярный ирригационный носитель, в который инъецируют состав, при этом после введения фенилэфрин присутствует в концентрации от 30 до 720 мкМ, а кеторолак присутствует в концентрации от 44 до 134 мкМ. В другом аспекте изобретения после инъецирования в интраокулярный ирригационный носитель фенилэфрин присутствует в концентрации от 240 до 720 мкМ, а кеторолак присутствует в концентрации от 10 до 270 мкМ.

В другом варианте осуществления изобретения предложен стерильный жидкий фармацевтический состав, который по существу состоит из фенилэфрина, кеторолака и буферной системы в водном носителе, где состав стабилен в течение по меньшей мере шести месяцев в случае хранения при температуре от 5 ± 3 до $25\pm 2^\circ\text{C}$. Предпочтительно состав стабилен в течение по меньшей мере 24 месяцев в случае хранения при температуре от 5 ± 3 до $25\pm 2^\circ\text{C}$.

В одном аспекте изобретения буферная система выбрана из системы натрий-фосфатного буфера и системы натрий-цитратного буфера. Предпочтительно буферная система является системой натрий-цитратного буфера, такой как система приблизительно 20 мМ натрий-цитратного буфера. В другом аспекте изобретения композиция имеет pH от 5,8 до 6,8.

В другом аспекте изобретения состав содержится в контейнере одноразового применения, таком как флакон, который закрыт крышкой, через которую можно отбирать содержимое, и предварительно заполненный шприц.

В другом аспекте изобретения предложена стерильная жидкая дозированная форма для инъекций, включающая фенилэфрин, кеторолак, буферную систему и водный носитель, содержащиеся в контейнере одноразового применения для инъекций.

В другом аспекте изобретения предложен стерильный жидкий фармацевтический состав, который включает фенилэфрин, кеторолак, буферную систему и интраокулярный ирригационный носитель, в который включен фенилэфрин в концентрации от 30 до 720 мкМ и кеторолак в концентрации от 10 до 270 мкМ, или предпочтительно фенилэфрин включен в концентрации от 90 до 720 мкМ, а кеторолак включен в концентрации от 44 до 134 мкМ. Этот состав также может не содержать консерванта и антиоксиданта.

Также раскрыт способ изготовления стерильного жидкого фармацевтического состава без антиоксиданта и без консерванта, включающего фенилэфрин, кеторолак и буферную систему в водном носителе, который является стабильной в течение по меньшей мере шести месяцев в случае хранения при температуре от 5 ± 3 до $25\pm 2^\circ\text{C}$. Предпочтительно состав стабилен в течение по меньшей мере 24 месяцев в случае хранения при температуре от 5 ± 3 до $25\pm 2^\circ\text{C}$.

Кроме того, раскрыт способ изготовления стерильного жидкого фармацевтического состава, включающего фенилэфрин, кеторолак, буферную систему и интраокулярный ирригационный носитель, в которую включен фенилэфрин в концентрации от 30 до 720 мкМ и кеторолак в концентрации от 10 до 270 мкМ, или предпочтительно фенилэфрин включен в концентрации от 90 до 720 мкМ, а кеторолак включен в концентрации от 44 до 134 мкМ. Этот состав также может не содержать консервант и антиоксидант.

Краткое описание фигур

Далее настоящее изобретение будет описано более подробно посредством примеров со ссылкой на сопровождающие чертежи, где:

на фиг. 1-12 представлены результаты исследования стабильности комбинированных составов фенилэфрина и кеторолака в различные временные точки в течение периода продолжительностью 12 месяцев, в случае хранения при регулируемой температуре от 2-8 до 60°C , полученные при измерении процента специфических примесей, связанных с деградацией активных фармацевтических компонентов, при переменных концентрациях активных фармацевтических компонентов, различных буферных системах, с

добавкой консерванта ЭДТА и добавкой консерванта ЭДТА с антиоксидантом метабисульфитом натрия; на фиг. 13-14 представлены результаты исследования по оценке влияния наслоения азота на стабильность двух комбинированных составов фенилэфрина и кеторолака, с или без консерванта ЭДТА, в различные временные точки в течение периода продолжительностью один год, в случае хранения при регулируемых температурах от 4 до 60°C;

на фиг. 15-18 представлены результаты исследования по оценке влияния различных антиоксидантов на стабильность комбинированных составов фенилэфрина и кеторолака во временных точках в течение периода продолжительностью один месяц, после хранения образцов при температурах в пределах от 2-8 до 60°C;

на фиг. 19 представлен результат исследования по оценке стабильности состава с высокой концентрацией фенилэфрина в течение периода продолжительностью четыре месяца, в случае хранения при температурах от 4 до 40°C;

на фиг. 20А и 20В показана активность фенилэфрина и кеторолака соответственно в комбинированном составе фенилэфрина и кеторолака при хранении в течение 30 месяцев при 2-8°C;

на фиг. 21-25 показаны результаты исследования эффективности при различных концентрациях на не относящихся к человеку приматах, в котором фенилэфрин и кеторолак оценивали при отдельном введении и в комбинации, посредством интраокулярной ирригации в сбалансированном солевом растворе (BSS) в процессе операции фактоэмульсификации с извлечением и заменой хрусталика, с наблюдением показателей мидриаза (фиг. 21 и 22) и опалесценции (фиг. 23-25);

на фиг. 26-28 показаны результаты исследования на не относящихся к человеку приматах, в котором оценивали влияние комбинированного состава фенилэфрина и кеторолака на мидриаз (фиг. 26) и опалесценцию (фиг. 27-28) при введении посредством интраокулярной ирригации в BSS в процессе операции фактоэмульсификации с извлечением и заменой хрусталика;

на фиг. 29 показаны результаты исследования с изменением доз, в котором оценивали влияние различных концентраций фенилэфрина и кеторолака в комбинированных составах на мидриаз при введении в BSS в процессе операции фактоэмульсификации с извлечением и заменой хрусталика у не относящегося к человеку примата.

Подробное описание

В настоящем изобретении предложены стерильные составы ирригационных растворов для периодического местного применения на глазных тканях, включая внутриглазное и наружное применение, которые включают фенилэфрин в качестве мидриатического средства и кеторолак в качестве противовоспалительного средства. Указанные составы не содержат консервантов и антиоксидантов, но при этом демонстрируют неожиданно хорошую стабильность. Предпочтительно их фасуют в контейнеры однократного применения для инъекций, при этом их можно инъецировать в больший объем интраокулярного ирригационного носителя до и использовать во время внутриглазных операций, таких как операции по удалению катаракты и замене хрусталика, и рефракционной замене хрусталика.

Определения.

"Консервант", при использовании в настоящем описании, означает противомикробное средство, которое добавляют в фармацевтический продукт для сохранения стабильности и предотвращения разложения вследствие роста микроорганизмов. Обычные противомикробные консерванты, которые могут быть включены в фармацевтические композиции, включают сорбиновую кислоту и ее соли, бензойную кислоту и ее соли, пропионат кальция, нитрит натрия (и нитрат натрия, который превращается в нитрит натрия "in situ"), сульфиты (диоксид серы, бисульфит натрия, гидросульфит калия и т.д.) и хелатообразователь этилендиаминтетраацетат натрия, также называемый эдетат динатрия, ЭДТА или Na_2 ЭДТА.

"Антиоксидант", при использовании в настоящем описании, относится к веществу, которое предпочтительно реагирует с кислородом и, таким образом, защищает фармацевтический продукт, в который его добавляют, от разложения вследствие окисления. Примеры водо- или маслорастворимых антиоксидантов, которые могут быть включены в фармацевтическую композицию, включают бисульфит натрия, сульфит натрия, метабисульфит натрия, тиосульфит натрия, формальдегидсульфоксилат натрия, L- и D-аскорбиновую кислоту, ацетилцистеин, цистеин, тиоглицерин, тиогликолевую кислоту, тиомолочную кислоту, тиомочевину, дитиотреитол, глутатион, пропилгаллат, бутилированный гидроксианизол, бутилированный гидрокситолуол, третичный бутилгидрохинон, аскорбилпальмитат, нордигидрогваяретовую кислоту и альфа-токоферол.

"Бесконсервантный" раствор относится к раствору, который не содержит хлорид бензалкония или другое противомикробное средство.

"Безантиоксидантный" раствор относится к раствору, который не содержит метабисульфит натрия или другое средство, которое было включено из-за единственной функции или применения в качестве антиоксиданта, хотя безантиоксидантный раствор может включать pH-регулирующую буферную систему, один компонент которой может обладать антиоксидантной активностью.

"Кеторолак" означает кеторолак в форме соли, такой как кеторолака трометамин [(±)-5-бензоил-2,3-дигидро-1H-пирролизин-1-карбоновая кислота:2-амино-2(гидроксиметил)-1,3-пропандиол (1:1)].

"Фенилэфрин" означает фенилэфрин в форме соли, такой как фенилэфрина HCl [(-)-м-гидрокси-а-

[(метиламино)метил]бензилового спирта гидрохлорид].

"Специфические примеси", относительно данного фармацевтического компонента, относятся к веществам, которые образуются в результате разложения компонента, выражаемым в процентах от полной концентрации фармацевтического компонента в композиции. При использовании в настоящем описании в отношении настоящего изобретения "общее содержание специфических примесей" относится к общему количеству всех специфических примесей, образующихся в результате разложения активных фармацевтических компонентов кеторолака и фенилэфрина в композиции, выраженному в процентах от полной концентрации фармацевтического компонента в композиции. Любую специфическую примесь, которая присутствует на уровне ниже минимального предела количественного обнаружения, например 0,1%, анализа, используемого для измерения специфических примесей, не включают в суммирование при определении общего содержания специфических примесей. В фигурах, сопровождающих примеры в настоящем описании, ссылка на специфические примеси для компонента означает, что для компонента не было никаких специфических примесей, которые присутствовали на уровне выше минимального предела количественного обнаружения, например 0,1%, для анализируемого вещества.

"Стабильный" относится к жидкому фармацевтическому составу, который в конце указанного срока хранения содержит меньше 5% общих специфических примесей. В одном варианте осуществления стабильный жидкий состав стабилен при температуре от $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ (т.е. $2-8^{\circ}\text{C}$) до $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ (т.е. $23-27^{\circ}\text{C}$) в течение по меньшей мере шести месяцев. В предпочтительном варианте осуществления стабильный жидкий состав стабилен при температуре от 5 ± 3 до $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение по меньшей мере одного года. В предпочтительном варианте осуществления стабильный жидкий состав стабилен при температуре от 5 ± 3 до $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение по меньшей мере 24 месяцев. В предпочтительном варианте осуществления стабильный жидкий состав стабилен при температуре от 5 ± 3 до $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение по меньшей мере 30 месяцев. В предпочтительном варианте осуществления изобретения стабильные составы согласно изобретению содержат меньше 1,0% общих специфических примесей по истечении данного срока хранения.

Термин "приблизительно", как подразумевается, означает, что в концентрации компонента описанной композиции может быть вариация, которая может составлять до 5, 10, 15 или до 20% включительно от указанного значения. Например, фраза "состав, содержащий приблизительно 20 мМ цитрата натрия", как подразумевается, означает, что состав может содержать от 16 до 24 мМ цитрата натрия.

Термин "стерильный" относится к фармацевтическому продукту, который был обработан в асептических условиях и который не содержит жизнеспособных бактерий, грибов или других микроорганизмов.

Фармацевтические средства.

В настоящем изобретении предложены стабильные жидкие бесконсервантные и безантиоксидантные фармацевтические составы комбинации двух активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) фенилэфрина в качестве мидриатического средства и НПВС кеторолака в качестве противовоспалительного средства.

Кеторолак.

"Кеторолак" в предпочтительном составе настоящего изобретения содержится в виде соли кеторолака трометаминa [(±)-5-бензоил-2,3-дигидро-1H-пирролизин-1-карбоновой кислоты:2-амино-2 (гидроксиметил)-1,3-пропандиола (1:1)]. Кеторолак является представителем пирроло-пиррольной группы нестероидных противовоспалительных средств. Кеторолак HCl представляет собой рацемическую смесь R-(+) и S-(-) энантиомеров, которые могут существовать в трех кристаллических формах, одинаково растворимых в воде. Это средство изменяет цвет после длительного воздействия света, и, таким образом, для упаковки композиций настоящего изобретения может соответственно применяться светозащитная упаковка (например, дополнительная упаковка или использование флаконов из желтого стекла).

Фенилэфрин.

"Фенилэфрин" означает фенилэфрин в форме соли, такой как фенилэфрина HCl [(-)-м-гидрокси-а-[(метиламино)метил]бензилового спирта гидрохлорид]. Фенилэфрин является симпатическим агонистом альфа-рецепторов. Фенилэфрин HCl легко растворим в воде и спирте.

Водные носители.

АФИ добавляют в водный растворитель в качестве носителя, и авторы изобретения решили, что солилюбилизирующие агенты не требуются. Водный носитель является соответственно водой для инъекций (WFI), которая является стерильным препаратом дистиллированной воды, не содержащим растворенных веществ. В альтернативе могут использоваться другие водные носители, которые не опасны для внутриглазных тканей и которые не оказывают нежелательного влияния на стабильность композиции, такие как деионизованная вода, или после первоначальной оценки потенциального влияния на стабильность солевой раствор или сбалансированный солевой раствор такой, как описано ниже.

Буферные системы.

Композицию настоящего изобретения доводят до pH от 5, 8 до 6,8 и предпочтительно до приблизительно 6,3. При необходимости могут быть добавлены гидроксид натрия и соляная кислота для доведения композиции до этого pH. Нужный pH предпочтительно поддерживают при помощи буферной систе-

мы. Одной из таких подходящих систем является цитратный буфер, содержащий моногидрат лимонной кислоты и безводный цитрат натрия, и другой подходящей системой является натрий-фосфатный буфер, содержащий двухосновный фосфат натрия и одноосновный фосфат натрия. Любая буферная система может использоваться при подходящей концентрации в пределах 10-100 мМ и предпочтительно может иметь концентрацию 20 мМ. Как описано ниже в примере 1, цитрат натрия является предпочтительным буфером для применения в бесконсервантной композиции. Лимонная кислота в цитратном буфере, которая обладает способностью образовывать хелаты двухвалентных катионов и, таким образом, может также предотвращать окисление, обеспечивает антиоксидантный эффект наряду с буферным эффектом. Впрочем, ее присутствие не снижает стабильность, как в случае других антиоксидантов (пример 3 ниже). При использовании в настоящем описании термин "безантиоксидантный" исключает применение других антиоксидантов, но не исключает применение буферного вещества, такого как лимонная кислота, которая входит в буферную систему.

Отсутствие других вспомогательных веществ.

В другом аспекте изобретения, в дополнение к отсутствию в составе каких-либо консервантов или антиоксидантов, композиция в соответствии с настоящим изобретением также не содержит никаких вспомогательных веществ помимо буферной системы. Например, не используются никакие солюбилизирующие агенты, такие как этанол (т.е. композиция не содержит солюбилизирующих агентов). Предпочтительные композиции настоящего изобретения состоят по существу из двух АФИ и буферной системы в воде для инъекций, что дает очень чистую композицию с пониженным потенциалом токсичности для внутриглазных тканей.

Контейнеры одноразового применения.

В другом аспекте изобретения комбинированная композиция фенилэфрина и кеторолака согласно настоящему изобретению содержится в количестве, достаточном для одноразового применения в ходе внутриглазной операции, в контейнере, который позволяет выполнять такое одноразовое применение и не позволяет выполнять многократное введение. Таким образом, достаточное количество лекарственной композиции, изготовленной в соответствии с настоящим изобретением, которое равно или лишь немного превышает (т.е. не более чем на 25%) количество лекарственной композиции, которое требуется добавлять в стандартный контейнер интраокулярного ирригационного носителя, содержится в контейнере одноразового применения, который позволяет вводить лекарственную композицию при инъекции. Например, требуемое количество комбинированной лекарственной композиции фенилэфрина и кеторолака для одноразового применения может быть помещено в стеклянный флакон, закрытый колпачком или другой крышкой, которая включает мембрану, через которую может быть введена игла для подкожных инъекций с целью отбора лекарственной композиции, или может быть помещено в предварительно заполненный шприц. Одним из примеров системы подходящей тары и укупорки является 5 мл флакон типа 1 USP из боросиликатного стекла или флинта с 20 мм серой пробкой West из бутилкаучука и съемным 20 мм колпачком.

Перед укупоркой контейнера может потребоваться, в зависимости от результатов, описанных в примере 2 ниже, подвергнуть лекарственную композицию, изготовленную в соответствии с настоящим изобретением, наслоению азота (т.е. вытеснению воздуха из пространства над продуктом во флаконе азотом перед укупоркой флакона). Также могут использоваться другие способы удаления воздуха и его вытеснения инертным газом, такие как пропускание инертного газа через раствор.

Интраокулярные ирригационные носители.

Комбинированную лекарственную композицию фенилэфрина и кеторолака (т.е. комбинированный лекарственный продукт) предпочтительно вводят в мешок, бутылку или другой контейнер с интраокулярным ирригационным раствором до применения посредством интраокулярной или наружной ирригации или лаважа. Подходящие интраокулярные ирригационные растворы включают солевой раствор, Рингер лактат, сбалансированный солевой раствор или любой другой ирригационный раствор, который совместим с водной композицией и не опасен для глазных тканей. Один из подходящих интраокулярных ирригационных носителей включает одно или более и предпочтительно все из следующих вспомогательных веществ: достаточное количество электролитов для получения сбалансированного физиологического солевого раствора, источник клеточной энергии, буферное вещество и акцептор свободных радикалов. Один из подходящих растворов (указанный в примерах ниже как "сбалансированный солевой раствор" или "BSS") включает: электролиты от 50 до 500 мМ ионов натрия, от 0,1 до 50 мМ ионов калия, от 0,1 до 5 мМ ионов кальция, от 0,1 до 5 мМ ионов магния, от 50 до 500 мМ хлорид-ионов и от 0,1 до 10 мМ фосфатов, бикарбонат в качестве буфера в концентрации от 10 до 50 мМ, источник клеточной энергии, выбранный из декстрозы и глюкозы, в концентрации от 1 до 25 мМ, и глутатион в качестве акцептора свободных радикалов (т.е. антиоксиданта) в концентрации от 0,05 до 5 мМ.

В одном примере подходящего способа разведения и введения комбинированной лекарственной композиции настоящего изобретения применяется композиция настоящего изобретения, описанная как состав 2 в табл. 2 ниже. Аликвота 4,5 мл этого раствора, содержащая 4,0 мл в качестве установленного количества для одноразового применения и 0,5 мл избытка, содержится в стерильном закрытом флаконе одноразового применения и предназначена для смешивания с ирригационным раствором для введения в

течение внутриглазной операции. Из флакона шприцем отбирают 4 мл и смешивают с 500 мл BSS путем введения в 500 мл мешок или бутылку с BSS, с получением конечной концентрации 483 мкМ фенилэфрина и 89 мкМ кеторолака в ирригационном растворе для местного введения в глаз.

В другом аспекте изобретения может быть предложен стерильный жидкий фармацевтический состав для ирригации, в которой фенилэфрин и кеторолак уже смешаны с интраокулярным ирригационным носителем так, что он разведен до такой концентрации каждого активного фармацевтического компонента, которая необходима для местного введения во внутриглазные ткани в ходе операции, и содержится в стерильном мешке, бутылке или другом ирригационном контейнере одноразового применения. Например, такой состав для ирригации может включать фенилэфрин в концентрации от 30 до 720 мкМ и кеторолак в концентрации от 10 до 270 мкМ или предпочтительно может включать фенилэфрин в концентрации от 90 до 720 мкМ и кеторолак в концентрации от 44 до 134 мкМ. В одном варианте осуществления комбинация фенилэфрина и кеторолака смешана со сбалансированным солевым раствором, таким как описан выше, в качестве внутриглазного ирригационного носителя. Этот фармацевтический состав для ирригации соответственно может быть полностью бесконсервантным и безантиоксидантным или необязательно может включать только антиоксидант, который обычно добавляют в не содержащий лекарственного средства интраокулярный ирригационный носитель, например, глутатион в сбалансированном солевом растворе, описанном выше, но без консерванта.

Примеры составов.

Как описано выше, стабильные жидкие фармацевтические составы настоящего изобретения включают фенилэфрин и кеторолак в буферном водном носителе. Подходящие концентрации фенилэфрина в комбинированных лекарственных композициях настоящего изобретения изменяются в пределах от 10 до 500 мМ и предпочтительно от 45 до 112 мМ. Подходящие концентрации кеторолака в комбинированных лекарственных композициях настоящего изобретения изменяются в пределах от 2 до 75 мМ и предпочтительно от 8,5 до 24 мМ. Буферная система, такая как натрий-цитратная буферная система, желательна включена в концентрации от 10 до 100 мМ и предпочтительно приблизительно 20 мМ. Два примерных состава в соответствии с настоящим изобретением представлены в табл. 1 и 2 ниже. В каждом случае в процессе изготовления состава при необходимости могут быть добавлены гидроксид натрия и/или соляная кислота для доведения pH до приблизительно 6,3.

Таблица 1

Пример состава 1

Компонент (USP) , добавляемый в воду для инъекций	Предпочти- тельная концентрация		Подходящие концентрации		Типичная концентрация разведенной дозы (μM)	
	мг/мл	мМ	мг/мл	мМ	Предпоч- тительная	Подходя- щая
Фенилэфрина HCl	18,33	90	13,7-22,9	68-112	720	360-1080
Кеторолака трометамин	4,24	11,25	3,2-5,3	8,5-14	89	44-134
Моногидрат лимонной кислоты	0,24*		0,12- 1,20**			
Дигидрат цитрата натрия	5,48*		2,74- 27,4**			

* Соответствует 20 мМ цитратному буферу.

** Соответствует 10-100 мМ цитратному буферу.

Таблица 2

Пример состава 2

Компонент (USP) , добавляемый в воду для инъекций	Предпочти- тельная концентрация		Подходящие концентрации		Типичная концентрация разведенной дозы (µM)	
	мг/мл	мМ	мг/мл	мМ	Предпоч- тительная	Подхо- дющая
Фенилэфрина HCl	12,37	60,75	9,2-15,5	45-76	483	240-720
Кеторолака триметамин	4,24	11,25	3,2-5,3	8,5-14	89	44-134
Моногидрат лимонной кислоты	0,24*		0,12- 1,20**			
Дигидрат цитрата натрия	5,48*		2,74- 27,4**			

* Соответствует 20 мМ цитратному буферу.

** Соответствует 10-100 мМ цитратному буферу.

Количества фармацевтически активных компонентов, включенных в состав, могут быть выражены в молярных отношениях. Молярное отношение фенилэфрина к кеторолаку может изменяться в пределах от 1:1 до 13:1 и более желательно может изменяться в пределах от 3:1 до 10:1. Примерное молярное отношение фенилэфрина и кеторолаку, как представлено составом 1 в табл. 1 выше, составляет 8:1 фенилэфрина к кеторолаку. Другое примерное молярное отношение фенилэфрина к кеторолаку, как представлено составом 2 в табл. 2 выше, составляет 5,4:1 фенилэфрина к кеторолаку.

После разведения состава настоящего изобретения в интраокулярном ирригационном носителе для местного применения концентрация дозы фенилэфрина может составлять от 3 до 7200 мкМ, более желательно от 30 до 720 мкМ, более предпочтительно от 90 до 720 мкМ, еще более предпочтительно от 240 до 720 мкМ и наиболее предпочтительно приблизительно 483 мкМ. После разведения состава настоящего изобретения в интраокулярном ирригационном носителе для местного применения концентрация дозы кеторолака может составлять от 3 до 900 мкМ, более желательно от 10 до 270 мкМ, более предпочтительно от 44 до 134 мкМ, еще более предпочтительно от 30 до 90 мкМ и наиболее предпочтительно приблизительно 90 мкМ.

Способы применения.

Стабильные жидкие составы настоящего изобретения могут применяться после смешивания с интраокулярным ирригационным носителем в ряде офтальмологических процедур. Они включают операции по удалению катаракты и замене хрусталика и рефракционной замене хрусталика, операции по пересадке роговицы и витреоретинальные операции, а также трабекулэктомии при глаукоме.

В одном из примеров подходящего способа разведения и введения комбинированной лекарственной композиции настоящего изобретения применяется состав настоящего изобретения, описанный как состав 2 в табл. 2 выше. Предложен стерильный флакон одноразового применения объемом 5 мл, содержащий 4,5 мл композиции, из которого 4 мл композиции отбирают шприцем и смешивают с 500 мл BSS посредством инъектирования в мешок на 500 мл или бутылку с BSS, с получением конечной концентрации 483 мкМ фенилэфрина и 89 мкМ кеторолака. Этот раствор применяют для ирригации через переднюю камеру глаза при постоянной концентрации в течение всей операции. Таким образом, в данном примере лекарственный продукт в течение операции вводят только внутрикамерно.

Активные фармацевтические средства включают в разведенных концентрациях в интраокулярный ирригационный носитель. Концентрации средств определены в соответствии с описанием изобретения для прямого, местного применения на глазных тканях в течение хирургической операции. Применение раствора может быть выполнено периоперационно, т.е. во время операции, до и во время операции, во время и после операции, или до, во время и после операции.

Следует отметить, что при использовании в настоящем описании и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают множественные ссылки, если из контекста прямо не следует иное. Таким образом, например, ссылка на "вспомогательное вещество" (an excipient) включает множество таких вспомогательных веществ и их эквиваленты, известные специалистам в данной области, и т.д.

Публикации, обсуждаемые в настоящем описании, приведены исключительно ради их содержания до даты подачи заявки на настоящий патент. Ничто в настоящем описании не следует считать допущением того, что настоящее изобретение не имеет права предшествовать такой публикации в силу приоритета изобретения.

Кроме того, приведенные даты публикации могут отличаться от фактических дат публикации, что может требовать независимого подтверждения. Все цитаты включены в настоящую заявку посредством отсылки.

Примеры

Примеры 1-5.

В исследованиях, описанных в следующих примерах 1-5, присутствие специфических примесей (RS) и активность измеряли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектором (ВЭЖХ-УФ) в качестве подтверждения стабильности, при этом обнаружение увеличения процента специфических примесей указывало на присутствие продуктов деградации. В этих исследованиях для ВЭЖХ-УФ использовали колонку Zorbax XDB-C8, 5 см, 4,6 мм×150 мм с объемной скоростью 1,2 мл/мин. Подвижные фазы А и В были следующими: подвижная фаза А: 650 мл 1,1 мг/мл 1-октансульфоновой кислоты, рН 3,0; 50 мл воды Milli-Q; 300 мл метанола. Вода Milli-Q; 300 мл метанола; подвижная фаза В: 300 мл 1,1 мг/мл 1-октансульфоновой кислоты, рН 3,0; 50 мл воды Milli-Q; 650 мл метанола. Используемым растворителем являлась подвижная фаза А. Использовали градиент от 100% А к 100% В за 40 мин. Использовали УФ-детектор 280 нм.

Пример 1.

Сравнение стабильности составов в зависимости от использования консерванта и антиоксиданта и использования различных буферов.

Исследование проводили с целью сравнить различные комбинированные составы двух активных фармацевтических ингредиентов (АФИ): фенилэфрина HCl (PE) и кеторолака трометамин (KE), каждый в равной концентрации, 5 или 1 мМ, в водном растворе. Использовали две различные буферные системы для поддержания раствора при трех различных рН: 20 мМ натрий-фосфатный буфер (двухосновный фосфат натрия и одноосновный фосфат натрия) с рН 7,4; 20 мМ натрий-цитратный буфер (моногидрат лимонной кислоты и безводный цитрат натрия) с рН 6,5 и 20 мМ натрий цитратный буфер с рН 5,5. Разработали четыре бесконсервантных и безантиоксидантных состава указанных АФИ, каждый фасовали во множество флаконов по 1 мл для хранения и анализа следующим образом.

Таблица 3

Обозначение состава	рН	Буфер	Концентрация АФИ
F1	7,4	Фосфат Na	5 мМ KE
			5 мМ PE
F2	6,5	Цитрат Na	5 мМ KE
			5 мМ PE
F3	5,5	Цитрат Na	5 мМ KE
			5 мМ PE
F4	4,5	Цитрат Na	1 мМ KE
			1 мМ PE

Затем были приготовлены дополнительные составы без консервантов или антиоксидантов (контрольная группа) или с добавлением консерванта этилендиаминтетраацетата натрия (также называемого эдетатом динатрия или ЭДТА) или ЭДТА плюс антиоксидант метабисульфит натрия, следующим образом.

Таблица 4

Группа исследования	Условия исследования			
Группа 1 (G1)	F1	F2	F3	F4
Группа 2 (G2)	F1 + 0,05% в/об ЭДТА	F2 + 0,05% в/об ЭДТА	F3 + 0,05% в/об ЭДТА	F4 + 0,05% в/об ЭДТА
Группа 3 (G3)	F1 + 0,05% в/об ЭДТА + 0,05% в/об метабисульфита Na	F2 + 0,05% в/об ЭДТА + 0,05% в/об метабисульфита Na	F3 + 0,05% в/об ЭДТА + 0,05% в/об метабисульфита Na	F4 + 0,05% в/об ЭДТА + 0,05% в/об метабисульфита Na

Затем образцы различных составов в каждой из этих групп хранили в светозащищенных условиях при регулируемой температуре 2-8, 25, 40 или 60°C. Образцы каждого состава отбирали в различные временные точки в течение 12 месяцев и анализировали на разложение АФИ, которое определяли по содержанию специфических примесей для каждого АФИ. Результаты данного исследования представлены в таблицах на фиг. 1-12, при этом были сделаны следующие выводы.

По результатам оценок стабильности после одного месяца хранения:

1) контрольная группа (G1) продемонстрировала, что оба АФИ были стабильны в Na фосфатном

буфере при pH 7,4 и в Na цитратном буфере при pH 6,5 и 5,5. Контрольная группа показала некоторое разложение при 60°C, наиболее проявившееся при pH 4,5 (цитрат Na);

2) группа G2 по сравнению с группой G1 продемонстрировала, что ЭДТА ингибирует разложение PE при более высоких температурах;

3) группа G3 неожиданно продемонстрировала, что метабисульфит Na значительно усиливал разложение АФИ, особенно KE, при повышенных температурах. Более того, через один месяц некоторые образцы G3, хранившиеся при 40 и 60°C, стали желтоватыми.

По результатам оценок стабильности после шести месяцев хранения:

4) неожиданно оказалось, что ЭДТА не оказывал существенного влияния на стабильность любого АФИ, особенно в цитратном буфере при pH 6,5;

5) наибольшее увеличение процента специфических примесей через 6 месяцев наблюдалось в образцах, выдерживаемых при 60°C;

6) оба АФИ оказались стабильными при 4 и 25°C, с небольшим увеличением процента специфических примесей при 40°C, особенно в цитратном буфере при pH 6,5;

7) через 6 месяцев образцы при 40 и 60°C становились ярко-желтыми, но без видимого образования осадка или кристаллизации.

Пример 2.

Влияние наслоения азота на стабильность.

Далее проводили исследование с целью определить влияние наслоения азота (т.е. вытеснения воздуха из пространства над продуктом во флаконе азотом перед укупоркой флакона). Оценивали состав F2 из примера 1 (5 мМ кеторолака, 5 мМ фенилэфрина в натрий цитратном буфере, доведенном до pH 6,5 в водном растворе) без добавления консерванта или антиоксиданта (группа 1, G1) или с добавлением 0,05% вес./об. ЭДТА в качестве консерванта (группа 2, G2). Специфические примеси для каждого АФИ измеряли в различных временных точках после хранения образцов в течение одного года при температурах в пределах от 4 до 60°C.

Результаты данного исследования показаны на фиг. 13 и 14 и демонстрируют, что применение наслоения азота по сравнению с присутствием воздуха, содержащего кислород, значительно уменьшало разложение обоих АФИ, особенно при повышенных температурах 40 и 60°C. В случае использования наслоения азота присутствие или отсутствие ЭДТА вносило малое различие в стабильности АФИ.

Пример 3.

Влияние различных антиоксидантов на стабильность.

Далее проводили исследование с целью оценить эффект добавления альтернативных антиоксидантов в состав F2 из примера 1 (5 мМ кеторолака, 5 мМ фенилэфрина в натрий цитратном буфере, доведенном до pH 6,5 в водном растворе), который также включал 0,05% вес./об. ЭДТА в качестве консерванта (группа 2, G2). Оцениваемыми антиоксидантами являлись 0,1% (A1) аскорбиновая кислота, 0,1% L-цистеина HCl моногидрат (A2), 0,1% L-глутатион, восстановленный (A3) и 0,1% монотиоглицерат (A4). Специфические примеси для каждого АФИ измеряли в различных временных точках после хранения образцов в течение одного месяца при температурах в пределах от 2-8 до 60°C.

Результаты данного исследования показаны на фиг. 15-18 и демонстрируют, что во временной точке через один месяц каждый из указанных четырех антиоксидантов неожиданно повышал разложение каждого АФИ, особенно при повышенных температурах 40 и 60°C.

Пример 4.

Оценка стабильности фенилэфрина при более высоких концентрациях.

Для оценки, могла ли быть увеличена концентрация фенилэфрина в комбинированном составе фенилэфрина HCl и кеторолака трометамин без нежелательного влияния на стабильность фенилэфрина, приготовили водную композицию 450 мМ фенилэфрина в кальций-цитратном буфере, доведенном до pH 6,5, без добавления консервантов, антиоксидантов или других вспомогательных веществ, и исследовали образцы при хранении при температурах в пределах 4 и 40°C в течение 4 месяцев.

Результаты данного исследования представлены на фиг. 19. Такая композиция с высокой концентрацией фенилэфрина была стабильна при температуре от 4 до 30°C в течение 4 месяцев.

Пример 5.

Оценка длительной стабильности комбинации фенилэфрина и кеторолака.

Исследование длительной стабильности выполняли для состава с фиксированной комбинацией фенилэфрина HCl (12,37 мг/мл) и кеторолака трометамин (4,24 мг/мл) в 20 мМ натрий цитратном буфере, доведенном до pH 6,5, без добавления каких-либо консервантов или антиоксидантов. Образцы состава фасовали в 5 мл стеклянные флаконы типа 1 USP, закрывали 20 мм пробками Daiko D777-1, покрытыми пленкой Flurotec®, и хранили в перевернутом положении и обернутыми в фольгу для защиты от света, а затем выдерживали в условиях длительного хранения (5±3°C) и ускоренного старения (25±2°C/60±5% RH). Каждый флакон содержал 4,5 мл раствора, включая 0,5 мл избыток.

Не было обнаружено никакого измеримого изменения внешнего вида продукта, pH раствора или активности при измерении по истечении 30 месяцев хранения при указанных условиях. В указанной

временной точке через 30 месяцев хранения при 5 и 25°C привело в общей сложности к образованию 1,17 и 1,36% специфических примесей соответственно. Графическое представление измеренной активности фенилэфрина HCl и кеторолака трометамин для этой композиции, выдержанной при указанных условиях хранения от 2 до 8°C, представлены на фиг. 20А и 20В соответственно. Как видно из этих фигур, в течение 30 месяцев не наблюдали никакого существенного снижения активности (в каждой временной точке исследовали по три флакона).

Примеры 6-9.

В следующих примерах 6-9 представлены результаты *in vivo* исследований комбинированных составов фенилэфрина HCl и кеторолака трометамин в соответствии с настоящим изобретением, которые разводили при инъектировании в ирригационный раствор, которое затем использовали для интраокулярной ирригации в ходе операции по удалению и замене хрусталика. В этой серии исследований оценивали следующие составы: (а) фенилэфрин HCl отдельно (РЕ), (b) кеторолака трометамин отдельно (КЕ), (с) комбинацию фенилэфрина HCl и кеторолака трометамин (РЕ-КЕ) или (d) без активных фармацевтических ингредиентов (контроль средой разведения), в каждом случае приготовленные в водном растворе, содержащем 20 мМ натрий цитратный буфер, доведенный до pH 6,5, без добавления консервантов или антиоксидантов, в каждом случае представленные в аликвотах по 2,5 мл. В каждом случае аликвоту композиции вводили в сбалансированный солевой раствор (BSS, Baxter Healthcare, код продукта 1A7233) в качестве ирригационного носителя до определенной конечной концентрации для введения, как описано ниже. В исследованиях также использовали пропаракатин HCl (0,5%, Bausch & Lomb), тропикамид (1,0%, Bausch & Lomb) и ципрофлоксацин HCl (3%, Alcon) в количестве, описанном ниже.

Мидриатические и противовоспалительные свойства тестируемых средств оценивали в модели операции факоэмульсификации у человека на африканской зеленой мартышке. До операции проводили определение базовых показателей и оценок на обоих глазах у каждой обезьяны с целью определить диаметр зрачка, целостность хрусталика и радужной оболочки, толщину роговицы, опалесценцию в передней камере глаза и количество клеток с помощью качественного биомикроскопического исследования и количественной фотометрии опалесценции при использовании системы Kowa FM-500. Операцию факоэмульсификации с заменой хрусталика искусственной линзой из полиметилметакрилата (РММА) проводили с использованием факоэмульсификационной машины Storz Premier. Процедуру проводили только на правом глазу, чтобы минимизировать вариацию от положения операции, используя левый глаз в качестве контроля, и минимизировать последствие любой возможной потери зрения, вызванной операцией.

Подопытные животные были помещены в лежачее положение под анестезией кетамин/ксилазином, усиленной одной каплей пропаракатина наружно. В роговой оболочке правого глаза сделали небольшой разрез с помощью копьевидного скальпеля 20 G MVR, через который в переднюю камеру глаза вводили 0,4-0,6 мл вискоэластика (2% гидроксипропилметилцеллюлоза, EyeCoat, Eyekon Medical) с помощью инъектора для вискоэластика. Разрез роговицы произвели за 1,0 мм до лимба, используя 2,65 мм прямой глазной двусторонний скальпель. Ирригацию производили с помощью факоэмульсификационной насадки для удаления вискоэластика и введения тестируемого перфузата. После ирригации в течение в общей сложности 4 мин, ирригацию остановили и снова наполнили переднюю камеру вискоэластиком. Выполняли капсулорексис и факоэмульсификационный наконечник повторно ввели в переднюю камеру глаза с применением энергии факоэмульсификации для разрушения хрусталика с последующей аспирацией и удалением фрагментов хрусталика. Ирригацию продолжали в течение некоторого времени после удаления хрусталика, чтобы стандартизировать интраокулярную доставку перфузата между всеми группами лечения (в общей сложности 14 мин ирригации в течение этой части факоэмульсификации). После процедуры факоэмульсификации и ирригации имплантировали интраокулярную оптическую линзу из РММА (ИОЛ) и выполнили дополнительную ирригацию в течение 2 мин, после чего на разрез роговицы наложили два шва 12.0 нейлоновой нитью. Ирригацию тестируемой жидкостью или контрольной средой, как описано ниже, проводили в общей сложности в течение 20 мин при объемной скорости 20 мл/мин до, во время и после факоэмульсификации и замены хрусталика.

В этих исследованиях лазерную фотометрию опалесценции проводили в начале, через 4,5, 24, 48 ч и через 1 неделю после начала операции, используя Kowa FM-500 (Kowa Company, Tokyo, Japan). Kowa FM-500 измеряет рассеяние лазерного излучения для количественного определения опалесценции влаги передней камеры глаза. Лазер направляют в переднюю камеру и молекулы белка, попавшие в переднюю камеру в процессе воспалительной реакции, проходят через фокус, рассеивая излучение лазера. Это световое рассеяние определяют количественно с помощью фотоумножителя в фотонах в миллисекунду. В каждой точке наблюдения измерения производили, пока не было получено семь приемлемых показаний (различие между двумя фоновыми измерениями <15%), и исключали самое низкое и самое высокое значения, после чего вычисляли среднее значение $\pm$ стандартное отклонение, как указано производителем.

Длительность мидриатического эффекта регистрировали посредством видеорегистрации зрачка в течение процедуры перфузии. Диаметр зрачка и фиксированную ширину векорасширителя (11 мм) измеряли по изображению на мониторе, чтобы вычислить диаметр зрачка в миллиметрах. Измерения производили через периодические интервалы в течение процедуры перфузии согласно хронометражу видео для каждой зарегистрированной процедуры.

Основными показателями эффективности являлись диаметр зрачка и показатели опалесценции, измеренные с помощью лазерного фотометра. Основные показатели эффективности анализировали в протокольной выборке (все субъекты, которые завершили исследование без нарушений протокола), используя метод однофакторного дисперсионного анализа с повторными измерениями, с апостериорным критерием Стьюдента-Ньюмана-Кейлса при использовании SAS (SAS Institute Inc.). Элементы дисперсионного анализа включали последовательность (= время, совмещенное с действием предыдущей терапии), глаз, обезьяну и терапию. Соответствующие сравнения на основе модели использовали для выявления различия терапии на уровне значимости $p < 0,05$ для диаметра зрачка и показателей опалесценции во всех временных точках.

Пример 6.

Исследование с различными концентрациями фенилэфрина и кеторолака после интраоперационной ирригации в модели операции факоемульсификации.

Исследование вне стандарта GLP проводили как исследование эффективности при переменных концентрациях с целью оценки PE и KE при отдельном применении и в комбинации посредством интраокулярной ирригации в BSS во время операции по удалению катаракты. Задачи состояли в оценке эффективности каждого средства в отношении мидриатического и воспалительного критериев эффективности.

В первой серии экспериментов, обозначенных как фаза 1, 16 животных распределяли в группы по четыре и исследовали, чтобы установить максимально эффективную концентрацию фенилэфрина в ирригационном растворе BSS в данной модели операции факоемульсификации. Четыре обезьяны в когорте фазы 1 получали тропикамид, антимукариновый мидриатик, в качестве положительного контроля, что позволяло определять целевые показатели конечной точки в условиях достаточного расширения зрачка при стандартном наружном предоперационном пути доставки. Группы терапии фенилэфрином получали низкую (3 мкМ), промежуточную (10 мкМ), высокую (30 мкМ) и максимальную (90 мкМ) концентрацию содержащего фенилэфрин BSS перфузата. Группы низкой и максимальной терапии состояли из 2 животных каждая, поскольку было принято решение исследовать более высокую концентрацию фенилэфрина, так как часть фазы 1 находилась в процессе выполнения. Основным критерием эффективности фенилэфрина являлся мидриаз. Также оценивали воспалительные критерии после операции.

BSS перфузат подавали через факоемульсификационную иглу либо без фенилэфрина, либо содержащий фенилэфрин в концентрациях 3,0, 10, 30 или 90 мкМ (см. табл. 1). Ирригацию на стадии 1 (0:00-2:00 мин) применяли для удаления вискоэластика и оценки мидриатического эффекта фенилэфрина и продолжали до ирригации на стадии 2 (2:00-4:00 мин), после чего вискоэластик повторно вводили в переднюю камеру и выполняли капсулорексис. Ирригацию на стадии 3 (4:00-18:00 мин) начинали после капсулорексиса и продолжали в общей сложности в течение 14 мин, при этом на начальном этапе хрусталик фрагментировали и аспирировали с применением энергии факоемульсификации. Ирригация на стадии 4 проходила после введения линзы PMMA для удаления вязкоупругого материала, введенного для этой процедуры, и удаления любых дополнительных фрагментов хрусталика. Контрольных животных на тропикамиде предварительно обрабатывали двумя каплями 1% тропикамида за 20 мин до начала ирригации передней камеры глаза чистым BSS.

После первых операций у нескольких животных, продолжительность начальной ирригации до факоемульсификации была увеличена с 2 до 4 мин, чтобы захватить максимальное расширение зрачка.

Во второй серии экспериментов, обозначенных как фаза 2, оценивали мидриаз и воспаление после операции факоемульсификации, в которой использовали BSS перфузат, содержащий низкую, среднюю и высокую концентрацию кеторолака или не содержащий кеторолака (отрицательный контроль). Перфузии передней камеры начинали без использования мидриатического средства в ирригационном растворе для оценки мидриатического действия кеторолака и BSS отдельно. Через 2 мин ирригации и оценки мидриаза, концентрацию фенилэфрина (30 мкМ), которую сочли эффективной для достижения мидриаза в экспериментах фазы 1, включали в перфузионный раствор для обеспечения достаточного расширения в проводимой операции факоемульсификации. Дополнительным критерием эффективности кеторолака являлся мидриаз, а первичным критерием являлась лазерная фотометрия опалесценции, признанный показатель воспаления передней камеры глаза.

BSS перфузат подавали через факоемульсификационную иглу либо без кеторолака, либо с содержанием кеторолака в концентрациях 3,0, 10 или 30 мкМ (см. табл. 1). Ирригацию на стадии 1 (0:00 -2:00 мин) применяли для удаления вискоэластика и оценки мидриатического действия кеторолака. Затем фенилэфрин в высокой концентрации добавляли в бутылку с перфузатом (с достижением концентрации 30 мкМ), линии промывали и продолжали ирригацию на стадии 2 (2:00-4:00 мин), после чего вискоэластик повторно вводили в переднюю камеру и выполняли капсулорексис. Ирригацию на стадии 3 (4:00-18:00 мин) начинали после капсулорексиса и продолжали в общей сложности в течение 14 мин, при этом на начальном этапе применяли энергию факоемульсификации. Ирригация на стадии 4 проходила после введения линзы PMMA.

Результаты.

После первоначального расширения зрачка порядка 1-2 мм, в течение первой минуты после начала

перфузии передней камеры глаза, диаметр зрачка асимптотически приближался к максимальному расширению в течение приблизительно 5 мин для всех групп лечения (см. фиг. 21 и 22) с существенным влиянием времени на диаметр ($F=2,75$, $P<0,0001$). В первой серии экспериментов тенденции указывают на то, что присутствие фенилэфрина в BSS перфузате способствует зависимому от концентрации увеличению диаметра зрачка. Первоначальное расширение (0-2 мин), показанное в контрольной группе, которая получала тропикамид наружно за 20 мин до ирригации чистым BSS, вероятно, не являлось фармакологическим эффектом и отражало то, что компонент расширения, измеренного в течение первых 2 мин после начала ирригации передней камеры во всех группах, был связан с выведением вискоэластика, введенного с целью выполнения разреза роговицы и возможного гидродинамического эффекта ирригации/аспирации. Впрочем, следует отметить, что раннее дополнительное расширение в контрольной группе тропикамида начиналось с базового расширения, которое было больше, чем во всех остальных группах лечения ($F=7,73$, $P<0,0001$), в начале процедуры, и привело к более низкому максимальному расширению, чем было показано в группах фенилэфрина средней, высокой и максимальной концентрации. Различия между группами максимальной, высокой и средней концентрации фенилэфрина и группой низкой концентрации фенилэфрина были значимыми в точках 6:00, 8:00, 10:00, 14:00, 18:00 и 19:00 мин ($F=2,41$, $p<0,043$; $F=2,66$, $p<0,0315$; $F=3,24$, $p<0,0136$; $F=6,62$, $p<0,0002$; $F=9,26$, $p<0,0001$; $F=3,79$, $p<0,005$ соответственно; критерий Стьюдента Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=23$, см. фиг. 21), что подтверждает зависимое от концентрации действие перфузата с фенилэфрином на амплитуду интраоперационного мидриаза. Различия между группами максимальной, высокой и средней концентрации фенилэфрина с группой низкой концентрации фенилэфрина и контрольной группой тропикамида были значимыми во временных точках 14:00 и 18:00 мин ($F=6,62$, $p<0,0002$; $F=9,26$, $p<0,0001$ соответственно; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=23$, см. фиг. 21), что указывает на зависимое от концентрации действие фенилэфрина на продление интраоперационного мидриаза. Различия между всеми остальными группами во всех остальных временных точках не были значимыми в соответствии с критериями Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, но тенденции, наблюдаемые при среднем диаметре зрачка в группах, указывают на зависимость от концентрации скорости начала и амплитуды мидриатического эффекта в группах фенилэфрина. В последующих временных точках среднее расширение в группе лечения с высокой концентрацией фенилэфрина приближается к анатомическому пределу мидриаза глазного зрачка, 8,3 мм, у взрослой особи этого вида (соответствующего внутреннему диаметру лимба роговицы).

Во второй серии экспериментов, в которых переднюю камеру промывали BSS, содержащим 3-30 мкМ кеторолака или чистым BSS в течение 2 мин перед введением 30 мкМ фенилэфрина, наблюдали быстрое увеличение диаметра зрачка на 1-2 мм в течение 30 с после начала перфузии, сопровождаемое менее быстрым, независимым от концентрации повышением в интервале между 30 с и 2 мин. Никаких статистических различий не выявили между группами, получавшими кеторолак, и животными, получавшими BSS, в течение первых 2 мин. Учитывая, что такую же реакцию демонстрировала BSS контрольная группа, вполне вероятно, что такое первоначальное расширение связано с выведением вискоэластика и гидродинамическими эффектами ирригации/аспирации, что подтверждалось реакцией групп фенилэфрина и контрольной группы тропикамида в первой серии экспериментов. После введения 30 мкМ фенилэфрина всем животным, получившим кеторолак и BSS, во всех группах через 2 мин наблюдали последующее быстрое увеличение диаметра зрачка, достигающее максимального расширения через 4 мин.

Максимальное расширение сохранялось в оставшееся время перфузии после небольшого уменьшения диаметра зрачка в интервале между 4 мин после начала перфузии и началом факоэмульсификации, когда выполняли капсулорексис. Не было никаких статистически значимых различий между группами, кроме различий между группами низкой концентрации и средней концентрации кеторолака в сравнении с группами BSS и высокой концентрации кеторолака во временных точках 14:00 и 18:00 мин (низкая и средняя > BSS и высокой; $F=6,62$, $p<0,0002$; $F=9,26$, $p<0,0001$ соответственно; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=23$, см. фиг. 2). Распределение по группам лечения данного различия, впрочем, может указывать, что это различие не было обусловлено действием кеторолака, а было, вероятно, связано с ограниченным объемом выборки и отражает различия между животными и между операциями. Во всех группах лечения, в обеих сериях экспериментов зрачок сужался после имплантации линзы в конце процедуры.

Базовые дооперационные показатели опалесценции влаги в передней камере изменялись в пределах от 3,0 до 12,7 фотонных единиц/мс (среднее=6,0±2,4 SD) во всех группах лечения в оперируемом (правом) глазу. Показатели опалесценции в контрольном (левом) глазу оставались в пределах этого диапазона в течение всего исследования. Указанные показатели соответствовали оценкам опалесценции передней камеры, выполненным при помощи биомикроскопии с использованием щелевой лампы, подтверждая пригодность лазерного фотометра опалесценции для количественного определения плотности белка в передней камере неподвижного глаза. Во всех группах лечения присутствовало существенное влияние времени на измерения опалесценции в оперируемом глазу ($F=2,16$, $p<0,0034$), что дополнительно подтверждает применимость фотометрии опалесценции в количественном определении воспаления, связан-

ного с оперативным вмешательством (см. фиг. 23, 24 и 25). Показатели опалесценции в оперируемых глазах при базовом уровне в сравнении с 4,5 и 24 ч в сравнении с 48 и 168 ч значительно различались во всех группах лечения ($F=2,16$, $p<0,0034$; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=75$). Различия между контролем и оперируемым глазом были различными во всех временных точках послеоперационного обследования у всех субъектов ($F=236,64$, $P<0,0001$; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=195$).

В первой серии экспериментов продолжительность факоемульсификации в группах лечения отличалась, поскольку идеальные параметры были исключены. Было установлено, что в первых 4 операциях время факоемульсификации вызывало тяжелую воспалительную реакцию, и уменьшение продолжительности факоемульсификации согласовывалось с этим. Анализ групп большей продолжительности факоемульсификации (45-55 с) в сравнении с группами меньшей продолжительности (15-25 с) по точкам 4,5 и 24 ч показал статистически значимое увеличение показателей опалесценции при увеличении продолжительности факоемульсификации ($F=4,42$, $p<0,0018$; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=14$; см. фиг. 24), что подтверждает применимость лазерной фотометрии опалесценции при количественном определении степени повреждения и воспаления в передней камере глаза. Это различие исчезало во временных точках 48 ч и 1 неделя.

Анализ с исключением субъектов с высокой энергией факоемульсификации, которые включали 2 обезьян в каждой из групп с высокой концентрацией фенилэфрина и тропикамидом, не выявил никакого эффекта лечения в отношении показателей опалесценции у фенилэфрина в сравнении с контролем на тропикамиде во всех временных точках (критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=7$).

Во второй серии экспериментов, несмотря на небольшие размеры группы, присутствовала устойчивая тенденция к снижению значений опалесценции в группах со средней и высокой дозами кеторолака. Наблюдали статистически значимое различие между показателями опалесценции в контрольной группе BSS в сравнении с группами со средней и высокой концентрацией кеторолака, которые достигли значимости во временной точке 4,5 ч, когда эти две группы лечения объединяли для повышения мощности анализа ($F=5,17$, $P<0,0223$; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=13$; см. фиг. 25). Значения опалесценции в группе высокой дозы и средней дозы кеторолака оставались более низкими по сравнению с контрольной группой во временных точках 24 и 48 ч, но указанные различия не достигали статистической значимости, независимо от того, как анализировали группы высокой дозы и средней дозы кеторолака, в комбинации или по отдельности, с учетом мощности анализа. Через одну неделю между группами лечения не было статистически значимого различия, но группа высокой концентрации кеторолака сохраняла подобную тенденцию.

Выводы.

Модель факоемульсификации на африканских зеленых мартышках обеспечила возможность количественного определения мидриатических и воспалительных показателей, соответствующих клиническим критериям у человека. Из указанных показателей оценки диаметра зрачка по видео и фотометрия опалесценции передней камеры глаза в наибольшей степени отвечали на эффекты лечения во временных точках, в которых производили оценку. Данные видеорегистрации зрачка продемонстрировали, что интраоперационная доставка фенилэфрина в перфузат в передней камере глаза приводила к быстрому наступлению мириаза, который сохранялся в течение всей операции. Максимальный достигаемый уровень мириаза зависел от концентрации, причем достаточный для проводимой операции факоемульсификации мириаз достигался при всех тестируемых концентрациях. Концентрации, равные или превышающие 10 мкМ, приводили к мириазу, который превышал мириаз, полученный в случае дооперационного наружного применения 1% тропикамида, терапевтического стандарта при операциях по поводу катаракты. Показатели фотометрии опалесценции и пахиметрии не показали уменьшения воспаления в передней камере глаза или отека роговицы, связанного с добавлением фенилэфрина в перфузат передней камеры.

Данные видеорегистрации зрачка продемонстрировали, что интраоперационная доставка кеторолака в перфузат передней камеры глаза не приводила к изменению мириаза, существенно отличающемуся от наблюдаемого в случае чистого BSS. Впрочем, при добавлении фенилэфрина в концентрации 30 мкМ в перфузат происходило быстрое расширение, что подтверждает предварительно продемонстрированную полезность интраоперационной доставки фенилэфрина. Показатели фотометрии опалесценции показали положительное действие кеторолака на воспаление в передней камере непосредственно через 4,5 ч после операции.

Пример 7.

Исследование комбинации фенилэфрина и кеторолака в хирургической модели факоемульсификации.

Исследование вне стандарта GLP проводили с ирригационным раствором, содержащим 90 мкМ РЕ и 30 мкМ КЕ, для оценки действия комбинации при введении посредством интраокулярной ирригации во время операции по поводу катаракты на критерии мириаза и воспаления. В этой серии экспериментов 14 обезьян распределяли в группы по семь и исследовали для определения эффективности чистого BSS в сравнении с BSS перфузатом, содержащим комбинацию РЕ и КЕ. Критерии эффективности вклю-

чали мидриаз и лазерную фотометрию опалесценции в качестве показателя воспаления в передней камере глаза. Контрольная группа дополнительно получала антимукаринный мидриатик тропикамид до-операционно, чтобы обеспечить достаточное расширение зрачка для использования модели операции факоэмульсификации на африканских зеленых мартышках.

Результаты.

У животных, подвергнутых ирригации с применением комбинации РЕ-КЕ, достигли расширения зрачка 6,0-6,5 мм в течение приблизительно 60 с ирригации (см. фиг. 26). Эти значения были эквивалентны полученным после дооперационной терапии тропикамидом. После первоначального расширения зрачка порядка 3,0-4,0 мм, в течение первой минуты после начала перфузии передней камеры, диаметр зрачка стабилизировался в пределах приблизительно 2,5 и 3,5 мин и в группе контроля на тропикамиде, и в группах лечения РЕ-КЕ соответственно (см. фиг. 1), со значительным влиянием времени на диаметр зрачка ($F=86,69$, $P<0,0001$; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=12$). Начальное расширение (0-2 мин), показанное в контрольной группе, которая получала тропикамид наружно за 20 мин до ирригации чистым BSS, вероятно, не являлось фармакологическим эффектом и отражало гидродинамические эффекты ирригации/аспирации и/или расширения зрачка, связанного с выведением вискоэластика, введенного для выполнения разреза роговицы. Впрочем, следует отметить, что раннее дополнительное расширение в контрольной группе на тропикамиде начиналось с большего базового расширения зрачка, чем в группе лечения ($F=86,69$, $P<0,0001$; см. фиг. 26) на начало процедуры, и это приводило к более низкому максимальному расширению, чем было показано в группе лечения РЕ-КЕ. Расширение зрачка, вызванное РЕ-КЕ, превысило расширение, достигнутое при дооперационном введении тропикамида в течение 90 с после начала ирригации передней камеры глаза. Различия между контрольной группой и группой лечения, получавшей РЕ-КЕ, были значимыми во временных точках 0:00, 3:30, 4:00, 4:30, 5:00, 5:30, 6:00, 8:00, 10:00, 12:00, 12:30 и 13:00 мин ($F=25,08$, $p<0,003$; $F=5,61$, $p<0,0355$; $F=9,95$, $p<0,0083$; $F=14,71$, $p<0,0024$; $F=18,01$, $p<0,0011$; $F=9,93$, $p<0,0084$; $F=10,39$, $p<0,0073$; $F=14,77$, $p<0,0023$; $F=14,77$, $p<0,0023$; $F=28,65$, $p<0,0002$; $F=20,51$, $p<0,0007$; $F=8,66$, $p<0,0134$; $F=5,48$, $p<0,0391$ соответственно; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=12$; см. фиг. 26).

Наблюдаемые различия между группами подтверждали эффект лечения РЕ-КЕ перфузатом, содержащим фенилэфрин и кеторолак, в отношении амплитуды интраоперационного мидриаза и пролонгации интраоперационного мидриаза. Различия между этими двумя группами в ранних временных точках не были значимыми в соответствии с критериями Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, отражая вариацию внутри групп, однако тенденции, наблюдаемые в среднем диаметре зрачка, указывают на эффект лечения в отношении скорости начала и амплитуды мидриатического эффекта. В более поздних временных точках среднее расширение зрачка у некоторых субъектов в группе лечения РЕ-КЕ приблизилось к анатомическому пределу мидриаза зрачка ~10,5 мм у взрослой особи данного вида (соответствующему внутреннему диаметру лимба роговицы).

Базовые дооперационные показатели опалесценции передней камеры глаза варьировали от 1,6 до 9,9 фотонных единиц/мс (среднее=5,3±2,3) в обеих группах лечения в оперируемом (правом) глазу. В обеих группах лечения наблюдали существенное влияние времени на значения опалесценции в оперируемом глазу, что также подтверждает применимость фотометрии опалесценции при количественном определении воспаления, связанного с оперативным вмешательством (см. фиг. 27). Показатели опалесценции в оперируемых глазах на базовом уровне в сравнении с 2, 4,5, 24, 48 ч и 1 неделей значимо отличались в обеих группах лечения ($F=4,94$, $p<0,0008$; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=59$).

Группа лечения РЕ-КЕ имела более низкие значения показателей опалесценции во времени относительно контрольной группы на тропикамиде, но они не достигали статистической значимости ни в одной временной точке ($F=3,32$, $P<0,0935$; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=12$; см. фиг. 27), частично отражая высокую вариацию ответа субъектов на экспериментальное вмешательство. Один субъект, получавший РЕКЕ, показал более ограниченное расширение зрачка в процессе ирригации передней камеры глаза, что усложнило удаление хрусталика. Анализ показателей опалесценции с исключением этого животного показал статистически значимое различие между группой лечения РЕ-КЕ и контрольной группой на тропикамиде во временных точках 2, 4,5, 24 и 48 ч ($F=9,74$, $P<0,0097$; критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=11$; см. фиг. 28). Через одну неделю между группами лечения не было статистически значимого различия.

Выводы.

Модель факоэмульсификации на африканских зеленых мартышках обеспечила возможность количественного определения мидриатических и воспалительных показателей, соответствующих клиническим критериям у человека. Из указанных показателей оценки диаметра зрачка по видео и фотометрия опалесценции передней камеры глаза в наибольшей степени отвечали на эффекты лечения во временных точках, в которых производили оценку.

Данные видеорегистрации зрачка продемонстрировали, что интраоперационная доставка РЕ-КЕ в перфузат в передней камере глаза приводила к быстрому наступлению мидриаза, который сохранялся в

течение всей операции. Достижимый уровень мириаза соответствовал проводимой операции фако-эмульсификации в течение первых 60 с ирригации. Степень мириаза была выше, чем полученная при дооперационном наружном применении 1% тропикамида, терапевтического стандарта при операциях по поводу катаракты. Показатели фотометрии опалесценции указывают на положительный эффект РЕ-КЕ в отношении воспаления в передней камере глаза непосредственно после операции.

Пример 8.

Исследование эффекта дозы комбинации фенилэфрина и кеторолака в хирургической модели фако-эмульсификации.

Это исследование вне стандарта GLP проводили для определения дозозависимости и длительности мириаза после внутрикамерной доставки ирригационных растворов, содержащих РЕ и КЕ в низкой, средней и высокой концентрации, африканским зеленым мартышкам. Композиция РЕ-КЕ содержала 45 мМ фенилэфрина и 15 мМ кеторолака в фиксированном отношении 3:1 в 20 мМ натрий цитратном буфере (рН 6,5). Дополнительную концентрированную композицию 450 мМ фенилэфрина HCl (РЕ) обеспечивали для повышения концентрации фенилэфрина в группе высокой дозы. Длительность мириаза оценивали по видео у четырех обезьян после внутрикамерного введения ирригационного раствора с низкой концентрацией РЕ и КЕ (90:30 мкМ), у четырех обезьян после введения раствора со средней концентрацией (268:89 мкМ) и у четырех обезьян после введения раствора с высокой концентрацией (1165:89 мкМ). Объемы всех внутрикамерных введений составили 150 мкл с введением объема шприца в переднюю камеру глаза, происходившим в течение приблизительно 5 с.

Для смешивания низкой концентрации (РЕ:КЕ в соотношении 90:30 мкМ) 1,0 мл из одного флакона лекарственной композиции РЕКЕ отбирали и вводили в 500 мл бутылку с ирригационным раствором BSS. В случае средней концентрации (РЕ:КЕ в соотношении 268:89 мкМ) использовали три флакона лекарственной композиции РЕ-КЕ с отбором по 1,0 мл из каждого флакона и введением в 500 мл бутылку с ирригационным раствором BSS. Для группы высокой концентрации (РЕ:КЕ в соотношении 1165:89 мкМ) дополнительное количество фенилэфрина HCl добавляли к РЕ:КЕ в растворе BSS.

Результаты.

У обезьян, которым вводили внутрикамерный ирригационный раствор РЕ/КЕ, было достигнуто расширение зрачка приблизительно 6-7 мм в течение 60 с ирригации. Как показано на фиг. 29, после первоначального быстрого расширения зрачка диаметр зрачка стабилизировался во временной точке приблизительно 1 мин, с существенным влиянием времени на диаметр зрачка во всех группах лечения ($F=64,33$, $p<0,0001$). Различия между группой низкой дозы (90:30 мкМ) и группой высокой дозы (1165:89 мкМ) были статистически значимыми во временных точках 1:30, 3:00 и 3:30 мин (критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=9$).

Выводы.

Модель мириаза на африканских зеленых мартышках обеспечила возможность количественного определения реакций зрачка, которые соответствуют клиническим критериям у человека. Данные видеорегистрации зрачка продемонстрировали, что внутрикамерная доставка РЕ-КЕ в переднюю камеру приводила к быстрому наступлению мириаза, который сохранялся в течение десятиминутного периода, в течение которого производили видеорегистрацию. Достигнутый уровень мириаза соответствовал проводимой операции факоэмульсификации в течение первых 60 с после введения. Степень мириаза была выше, чем было получено в контрольной группе в предыдущих исследованиях эффективности при дооперационной наружной доставке 1% тропикамида (средний диаметр зрачка 5,9 мм), терапевтического стандарта при операциях по поводу катаракты.

Пример 9.

Исследование безопасности комбинации фенилэфрина и кеторолака в хирургической модели фако-эмульсификации.

Доклиническое токсикологическое исследование стандарта GLP проводили на африканских зеленых мартышках. В данном исследовании двенадцать самцов и двенадцать самок обезьян подвергали операции факоэмульсификации с заменой хрусталика и двухнедельным восстановлением. В течение операции проводили постоянную ирригацию ирригационным раствором РЕ-КЕ по всей передней камере и прилегающим структурам глаза, что представляет собой предполагаемый путь введения данного продукта. Тестировали три концентрации: 720 мкМ РЕ и 90 мкМ КЕ (720:90 мкМ) в группе низкой концентрации, 2160 мкМ РЕ и 270 мкМ КЕ (2160:270 мкМ) в группе средней концентрации и 7200 мкМ РЕ и 900 мкМ КЕ (7200:900 мкМ) в группе высокой концентрации.

Также оценивали отдельную контрольную группу. Равное число самцов и самок распределяли в каждую группу в соответствии с показателями веса, чтобы получить сбалансированный средний вес. Всех животных подвергали операции в день 0 с заменой хрусталика интраокулярной линзой.

Результаты.

Все животные хорошо переносили операции с нормальным послеоперационным восстановлением и выживали до момента запланированного усыпления и вскрытия. Никаких связанных с лечением эффектов не наблюдали при исследовании дыхательной и сердечно-сосудистой системы и во всех клинических лабораторных параметрах.

Начальная внутрикамерная доставка 150 мкл каждого ирригационного раствора PE/KE приводила к быстрому расширению зрачка в течение 30 с, с дозозависимым увеличением расширения до $6,76 \pm 0,15$ – $7,29 \pm 0,15$ мм (среднее $\pm$ SD). Через 30 с после внутрикамерной доставки 150 мкл чистого BSS диаметр зрачка в контрольной группе тропикамида составил $5,18 \pm 0,18$ мм.

Группа лечения низкой концентрации имела более низкие значения показателей опалесценции по сравнению с контрольной группой тропикамида в 4,5 ч и 14 дней, но они не достигали статистической значимости ни в одной временной точке, тогда как ответ опалесценции в группе лечения высокой концентрации был практически идентичен данному показателю контрольной группы во всех временных точках. Группа лечения средней концентрации имела более высокие показатели опалесценции по сравнению с контролем на тропикамиде, низкой концентрацией и высокой концентрацией во всех временных точках после операции, достигая значимости в 2, 4,5 и 24 ч. Эти данные сочли вызванными более сильным хирургическим повреждением в группе лечения средней концентрации. Никакие зависимые от концентрации эффекты в отношении опалесценции не были отмечены. Через две недели между группами лечения не было статистически значимого различия.

В контрольной группе, группах лечения низкой концентрации и высокой концентрации наблюдали уменьшение внутриглазного давления после операции факоэмульсификации, однако различия относительно базового уровня не достигали значимости. Во временной точке 4,5 ч внутриглазное давление в группе лечения средней концентрации было значительно выше, чем в других группах лечения, но не отличалось от базового уровня. Наблюдали общую тенденцию к уменьшению послеоперационного внутриглазного давления.

Базовые клинические показатели зрачка, роговой оболочки, хрусталика и радужной оболочки находились в пределах нормальных уровней в оперируемом (правом) и не оперируемом (левом) глазу у всех животных. Диаметр зрачка возвращался к базовому уровню за 24 ч, указывая на минимальный остаточный, связанный с лечением мидриатический или миотический эффект.

Пример 10.

Клиническое исследование.

В клиническом исследовании фазы 2b на людях оценивали комбинированную лекарственную композицию кеторолака и фенилэфрина, изготовленную в соответствии с составом 1 настоящего изобретения, в отношении ее действия по поддержанию интраоперационного мидриаза (расширения зрачка) и уменьшения послеоперационной боли и воспаления вследствие операции по поводу катаракты и других операций с заменой хрусталика. Комбинированную лекарственную композицию разводили в сбалансированном солевом растворе, ирригационном носителе, перед интраокулярным введением во время интраокулярных операций.

Данное исследование фазы 2b являлось рандомизированным исследованием в параллельных группах, с контролем по среде разведения, с факториальной схемой, которое проводили с целью сравнения фенилэфрина (PE), кеторолака (KE) и комбинированной лекарственной композиции, содержащей PE и KE, у субъектов, подвергаемых одностороннему удалению катаракты с заменой хрусталика (CELR) при использовании процесса коаксиальной факоэмульсификации с имплантированием акриловой линзы. Применение тестируемых ирригационных растворов проводили двойным слепым методом. В исследовании, проводимом по полнофакторной схеме в четырех группах, оценивали вклад двух активных фармацевтических ингредиентов (PE и KE отдельно и в комбинации) в поддержание мидриаза и послеоперационное уменьшение боли при введении в сбалансированном солевом растворе (BSS). В исследовании также изучали влияние комбинированной лекарственной композиции PE и KE на послеоперационное воспаление. Субъектов рандомизировали в одну из следующих четырех групп лечения в соотношении 1:1:1:1:

- a) среда BSS;
- b) 483 мкМ PE в BSS;
- c) 89 мкМ KE в BSS;
- d) комбинированная лекарственная композиция, содержащая 483 мкМ PE и 89 мкМ KE в BSS.

Все субъекты в данном исследовании дооперационно получали мидриатики и анестетики. В каждой из четырех групп соответствующую ирригационную терапию применяли в виде однократной ирригации передней камеры глаза во время операции CELR, со средней экспозицией в данном исследовании 8 мин. Кроме того, в конце операции переднюю камеру глаза заполняли ирригационным раствором. Измеряли изменение диаметра зрачка с течением времени с базового уровня перед операцией (непосредственно до хирургического разреза) до завершения операции (наложение швов), а также послеоперационную боль в день операции при измерении по визуальной аналоговой шкале (VAS) в 2, 4, 6, 8 и 10-12 ч и в другое время, регистрируемую пациентом до приема обезболивающего препарата.

В этом клиническом исследовании фазы 2b с 223 пациентами субъекты, получавшие комбинированную лекарственную композицию, демонстрировали статистическую значимость ($p < 0,0001$) и клинически значимое поддержание мидриаза в течение всей операции по удалению катаракты или по сравнению с BSS, или по сравнению с группами KE. Поддержание мидриаза особенно важно для благополуч-

ного и умелого выполнения замены хрусталика, с учетом того, что офтальмолог проводит операцию через зрачок. Если мидриаз не поддерживается в течение всей операции, возрастает риск повреждения структур в глазу, и время, требуемое для проведения операции, часто увеличивается. Любое уменьшение просвета зрачка в ходе операции может помешать применению хирургической техники. В данном исследовании средний диаметр зрачка во время разреза составлял 8,3 мм. Уменьшение на 2,5 мм или больше ("предельное сужение") представляет собой потерю 30% диаметра и 52% площади среднего зрачка с потенциальной вероятностью радикального влияния на процедуру. Неожиданно данное исследование продемонстрировало, что 21% субъектов в группе BSS и 21% субъектов в группе KE испытывали такое предельное сужение по сравнению лишь с 4% субъектов в группе комбинированной лекарственной композиции.

Риск осложнений во время операции возрастает, если диаметр зрачка в ходе операции с заменой хрусталика меньше 6 мм. Категориальный анализ интраоперационного диаметра зрачка у всех рандомизированных субъектов проводили для идентификации пропорций субъектов, участвующих в исследовании, которые испытывали указанный уровень сужения зрачка. В данном исследовании комбинированная лекарственная композиция статистически значительно превосходила другие группы в предотвращении такой степени сужения зрачка, т.е. миоза до диаметра меньше 6 мм, по сравнению с другими тремя группами лечения.

Таблица 5

Субъекты с диаметром зрачка <6 мм в ходе CELR

BSS (n=54)	Комбинация KE/PE (n=49)	KE (n=52)	PE (n=49)
25 (46%)	3 (6%)	18 (35%)	11 (22%)
p<0,0001*		p=0,0005*	p=0,0404*

* FET сравнение с комбинацией PE-KE.

Клинически значимые уменьшения диаметра зрачка связаны с увеличением связанных с операцией осложнений, включая последующие разрывы задней стенки капсулы, присутствие остаточных фрагментов хрусталика и истечение стекловидного тела. Эти данные демонстрируют, что фенилэфрин и кеторолак вносят вклад и действуют синергически при предотвращении клинически значимого миоза.

Это обнаружение неожиданно, потому что фенилэфрин сильное мидриатическое средство и, как следовало бы ожидать, должен ингибировать миоз сам по себе. Неожиданно кеторолак также обеспечивал антимиотическое действие на пике действия фенилэфрина.

Кроме того, комбинированная лекарственная композиция также значительно уменьшала боль в ранний послеоперационный период (10-12 ч после операции) по сравнению с группами PE (p=0,0089) или BSS (p=0,0418). Неожиданно комбинированная лекарственная композиция также уменьшала частоту жалоб на умеренную и сильную боль (в 2,5 раза больше жалоб у субъектов, получавших BSS). Лекарственная композиция была безопасна и хорошо переносилась в данном исследовании.

Это исследование демонстрирует, что композиция и применение изобретения, заявленного в представленном описании, предотвращают неожиданную степень предельного сужения зрачка, а также приводят к неожиданному уменьшению умеренной и сильной послеоперационной боли через 10-12 ч после операции после нескольких минут воздействия исследуемого лекарственного средства в течение операции.

Хотя изобретение было довольно подробно описано посредством иллюстраций и примеров в целях ясности понимания, среднему специалисту в данной области, с учетом принципов настоящего изобретения, будет очевидно, что в него могут быть внесены некоторые изменения и модификации без отступления от сущности или объема прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Жидкий фармацевтический состав, состоящий из фенилэфрина, кеторолака и буферной системы в водном носителе с отрегулированным pH, где состав является бесконсервантным и безантиоксидантным, при этом состав представляет собой раствор, который не содержит солибилизирующих агентов и свободен от видимого образования осадка и кристаллизации.

2. Фармацевтический состав по п.1, где буферная система выбрана из системы натрий-фосфатного буфера и системы натрий-цитратного буфера.

3. Фармацевтический состав по п.2, где буферная система включает систему приблизительно 20 mM натрий-цитратного буфера.

4. Фармацевтический состав по п.1, где фармацевтический состав имеет pH от 5,8 до 6,8.

5. Фармацевтический состав по п.1, где состав включает от 46 до 76 mM фенилэфрина и от 8,5 до 14 mM кеторолака.

6. Фармацевтический состав по п.5, где состав включает приблизительно 60,75 mM фенилэфрина и приблизительно 11,25 mM кеторолака.

7. Фармацевтический состав по п.1, дополнительно включающий интраокулярный ирригационный носитель, в который инъектирован состав, где фенилэфрин после инъектирования присутствует в концентрации от 30 до 720 мкМ, а кеторолак присутствует в концентрации от 44 до 134 мкМ.

8. Фармацевтический состав по п.1, дополнительно включающий интраокулярный ирригационный носитель, в который инъектирован состав, где фенилэфрин после инъектирования присутствует в концентрации от 240 до 720 мкМ, а кеторолак присутствует в концентрации от 10 до 270 мкМ.

9. Фармацевтический состав по п.1, где фенилэфрин и кеторолак включены в молярном отношении от 1:1 до 13:1 фенилэфрина к кеторолаку.

10. Фармацевтический состав по п.1, где фенилэфрин и кеторолак включены в молярном отношении от 3:1 до 10:1 фенилэфрина к кеторолаку.

11. Жидкая дозированная форма для инъекций, состоящая из фенилэфрина, кеторолака и буферной системы в водном носителе с отрегулированным pH, фасованная в контейнер одноразового применения для инъекций, где дозированная форма является бесконсервантной и безантиоксидантной, при этом дозированная форма представляет собой раствор, который не содержит солюбилизующих агентов и свободен от видимого образования осадка и кристаллизации.

12. Дозированная форма по п.11, где дозированная форма включает наложение инертного газа для вытеснения воздуха из контейнера.

F1, G1, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na фосфат, pH 7,4,
без вспомогательных веществ
или добавок

Результаты анализа специфических примесей для F1, G1, pH 7,4

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
до фильтрации		0.00		
после фильтрации		0.00		
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.21
2	0.00	0.00	0.00	2.26
3	0.00	0.00	0.25	1.74
4	0.00	0.00	0.40	2.68
6	0.00	0.21	1.22	5.64
9	0.00	0.00	0.29	8.85
12	2.09	1.36	1.90	16.97

Результаты анализа специфических примесей для F1, G1, pH 7,4

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
до фильтрации		0.09		
после фильтрации		0.00		
0		0.09		
0.5	0.08	0.08	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.09
2	0.00	0.00	0.00	0.67
3	0.00	0.00	0.00	0.74
4	0.00	0.00	0.23	1.12
6	0.00	0.21	0.66	3.51
9	0.00	0.05	0.36	2.65
12	0.00	0.00	0.64	3.30

Фиг. 1

033811

F1, G2, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na фосфат, pH 7,4, ЭДТА

Результаты анализа специфических примесей для F1, G2, pH 7,4

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.36
3	0.00	0.00	0.00	1.17
4	0.00	0.00	0.50	1.82
6	0.00	0.00	0.77	2.85
9	0.00	0.00	0.47	2.70
12	0.99	1.01	1.38	5.19

Результаты анализа специфических примесей для F1, G2, pH 7,4

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.07		
0.5	0.07	0.00	0.00	0.00
1	0.11	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.28	0.51
4	0.00	0.00	0.13	1.07
6	0.10	0.00	0.43	3.05
9	0.00	0.00	0.13	1.47
12	0.00	0.00	0.33	1.78

Фиг. 2

F1, G3, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na фосфат, pH 7,4,
ЭДТА + метабисульфит Na

Результаты анализа специфических примесей для F1, G3, pH 7,4

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.12	0.29	0.32
1	0.00	0.27	0.46	1.20
2	0.34	0.22	0.44	0.90
3	0.40	0.82	1.77	2.90

Результаты анализа специфических примесей для F1, G3, pH 7,4

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.56		
0.5	1.65	1.71	2.74	1.31
1	2.91	3.38	3.84	4.72
2	2.60	2.64	3.22	4.33
3	4.03	4.97	4.76	5.37

Фиг. 3

033811

F2, G1, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 6,5,
без вспомогательных веществ
или добавок

Результаты анализа специфических примесей для F2, G1, pH 6,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° С	25° С	40° С	60° С
до фильтрации		0.00		
после фильтрации		0.00		
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.44
2	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.15
4	0.22	0.00	0.33	0.32
6	0.00	0.00	0.87	3.24
9	0.00	0.00	0.48	1.97
12	0.27	0.00	0.93	5.53

Результаты анализа специфических примесей для F2, G1, pH 6,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° С	25° С	40° С	60° С
до фильтрации		0.00		
после фильтрации		0.05		
0		0.00		
0.5	0.09	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.20
2	0.00	0.00	0.00	0.49
3	0.00	0.00	0.00	0.61
4	0.17	0.33	0.00	1.72
6	0.00	0.00	0.41	1.99
9	0.00	0.00	0.18	1.99
12	0.00	0.00	0.25	2.32

Фиг. 4

033811

F2, G2, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 6,5, ЭДТА

Результаты анализа специфических примесей для F2, G2, pH 6,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.53
3	0.00	0.00	0.00	0.09
4	0.00	0.00	0.32	1.26
6	0.16	0.16	0.40	1.58
9	0.00	0.00	0.48	1.97
12	0.00	0.00	0.76	2.83

Результаты анализа специфических примесей для F2, G2, pH 6,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.08		
0.5	0.00	0.17	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.04	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.51
3	0.00	0.00	0.10	0.09
4	0.37	0.23	0.24	0.97
6	0.00	0.00	0.12	1.62
9	0.00	0.00	0.19	0.70
12	0.00	0.00	0.44	0.94

Фиг. 5

F2, G3, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 6,5,
ЭДТА + метабисульфит Na

Результаты анализа специфических примесей для F2, G3, pH 6,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.08	0.38
1	0.00	0.00	0.71	0.73
2	0.00	0.18	1.30	1.76

Результаты анализа специфических примесей для F2, G3, pH 6,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.31	0.62	0.60	0.94
1	0.74	1.35	3.02	4.55
2	1.64	1.93	3.97	4.32

Фиг. 6

033811

F3, G1, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 5,5,
без вспомогательных
веществ или добавок

Результаты анализа специфических примесей для F3, G1, pH 5,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° С	25° С	40° С	60° С
до фильтрации		0.00		
после фильтрации		0.00		
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.00	0.65
1	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.00	0.00	0.00	0.74
6	0.00	0.00	0.44	1.73
9	0.00	0.00	0.09	0.63
12	0.20	0.00	1.25	4.39

Результаты анализа специфических примесей для F3, G1, pH 5,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° С	25° С	40° С	60° С
до фильтрации		0.00		
после фильтрации		0.00		
0		0.20		
0.5	0.18	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.08	0.00	0.22
2	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.52
4	0.07	0.00	0.50	3.43
6	0.00	0.00	0.47	3.37
9	0.17	0.15	0.33	0.32
12	0.00	0.00	0.98	3.74

Фиг. 7

033811

F3, G2, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 5,5

Результаты анализа специфических примесей для F3, G2, pH 5,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.52
3	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.00	0.00	0.00	1.04
6	0.00	0.00	0.13	1.74
9	0.00	0.05	0.35	2.17
12	0.00	0.14	0.45	4.28

Результаты анализа специфических примесей для F3, G2, pH 5,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.18	0.00	0.00
1	0.21	0.00	0.00	0.15
2	0.00	0.00	0.00	0.30
3	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.16	0.10	0.16	0.75
6	0.00	0.00	0.00	3.45
9	0.00	0.00	0.35	1.42
12	0.00	0.00	0.52	3.59

Фиг. 8

F3, G3, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 5,5,
ЭДТА + метабисульфит Na

Результаты анализа специфических примесей для F3, G3, pH 5,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.27	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	1.02

Результаты анализа специфических примесей для F3, G3, pH 5,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.04	0.26	1.03
1	0.12	0.15	0.67	3.44
2	0.00	0.64	2.48	3.59

Фиг. 9

033811

F4, G1, 1 мМ кетор/1 мМ фен,
На цитрат, pH 4,5,
без вспомогательных
веществ или добавок

Результаты анализа специфических примесей для F4, G1, pH 4,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° С	25° С	40° С	60° С
до фильтрации		0.00		
после фильтрации		0.00		
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.16	0.70
1	0.00	0.00	0.00	1.06
2	0.15	0.13	0.82	3.09

Результаты анализа специфических примесей для F4, G1, pH 4,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° С	25° С	40° С	60° С
до фильтрации		0.18		
после фильтрации		0.09		
0		0.00		
0.5	0.13	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.11	1.03

Фиг. 10

F4, G2, 1 мМ кетор/1 мМ фен,
На цитрат, pH 4,5, ЭДТА

Результаты анализа специфических примесей для F4, G2, pH 4,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° С	25° С	40° С	60° С
0		0.00		
0.5	0.00	0.09	0.00	0.42
1	0.00	0.00	0.00	0.52
2	0.14	0.00	0.68	2.34

Результаты анализа специфических примесей для F4, G2, pH 4,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° С	25° С	40° С	60° С
0		0.07		
0.5	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.15
2	0.00	0.00	0.00	0.40

Фиг. 11

F4, G3, 1 мМ кетор/1 мМ фен,
Na цитрат, pH 4,5,
ЭДТА + метабисульфит Na

Результаты анализа специфических примесей для F4, G3, pH 4,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.24	0.17
2	0.00	0.00	0.00	0.89

Результаты анализа специфических примесей для F4, G3, pH 4,5

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.19	0.38	0.56	1.12
1	0.15	0.67	1.12	2.52
2	0.88	3.61	5.07	10.08

Фиг. 12

F2, G1, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 6,5,
без вспомогательных
веществ или добавок

F2, G2, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 6,5, ЭДТА

Временная точка	F2, G1 w/фенилэфрин с O2				F2, G1 w/кеторолак с O2			
	4° C	25° C	40° C	60° C	4° C	25° C	40° C	60° C
День 0		0.00				0.00		
День 14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
День 28	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12
День 60	0.00	0.00	0.00	1.46	0.00	0.00	0.06	1.79
День 90	0.47	0.36	0.25	0.60	0.77	0.64	0.53	0.80
День 120	0.00	0.00	0.18	3.20	0.11	0.07	0.14	2.18
День 180	0.00	0.00	0.58	6.38	0.00	0.00	0.25	2.84
День 270	0.15	0.16	0.63	9.60	0.00	0.00	0.19	3.43
День 365	2.61	0.70	1.71	15.85	0.00	0.03	0.34	4.17

Временная точка	F2, G2 w/фенилэфрин с O2				F2, G2 w/кеторолак с O2			
	4° C	25° C	40° C	60° C	4° C	25° C	40° C	60° C
День 0		0.00				0.00		
День 14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
День 28	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.23
День 60	0.42	0.23	0.59	1.41	0.15	0.00	0.30	2.33
День 90	0.33	0.37	0.36	0.62	0.41	0.21	0.27	1.38
День 120	0.00	0.00	0.77	3.20	0.04	0.04	0.54	3.63
День 180	0.00	0.13	1.09	4.97	0.00	0.00	0.52	5.52
День 270	0.00	0.14	2.21	6.55	0.00	0.06	0.59	6.36
День 365	0.47	2.47	7.61	10.34	0.00	0.16	2.35	6.77

Фиг. 13

F2, G1, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
На цитрат, pH 6,5,
без вспомогательных
веществ или добавок

F2, G2, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
На цитрат, pH 6,5, ЭДТА

Временная точка	F2, G1 w/фенилэфрин с N2				F2, G1 w/кеторолак с N2			
	4° C	25° C	40° C	60° C	4° C	25° C	40° C	60° C
День 0						0.00		
День 14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00
День 28	0.00	0.00	0.00	0.44	0.00	0.00	0.00	0.20
День 60	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.49
День 90	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.00	0.61
День 120	0.22	0.00	0.33	0.32	0.17	0.33	0.00	1.72
День 180	0.00	0.00	0.87	3.24	0.16	0.16	0.40	1.58
День 270	0.00	0.00	0.09	4.68	0.00	0.00	0.18	1.99
День 365	1.13	0.89	2.14	7.10	0.00	0.00	0.27	2.74

Временная точка	F2, G2 w/фенилэфрин с N2				F2, G2 w/кеторолак с N2			
	4° C	25° C	40° C	60° C	4° C	25° C	40° C	60° C
День 0		0.00				0.10		
День 14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.22	0.00	0.00
День 28	0.00	0.00	0.00	0.53	0.00	0.00	0.04	0.00
День 60	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.51
День 90	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.10	0.09
День 120	0.00	0.00	0.32	1.26	0.37	0.23	0.24	0.97
День 180	0.00	0.00	0.41	1.99	0.13	0.07	0.12	1.62
День 270	0.00	0.00	0.48	1.97	0.00	0.00	0.19	0.70
День 365	0.00	0.66	2.29	4.43	0.00	0.00	0.47	0.94

Фиг. 14

F2, G2, A1, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
На цитрат, pH 6,5,
ЭДТА + аскорбиновая кислота,
без наслонения N2

Результаты анализа специфических примесей для f5/5_F2, G2, A1

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		1.71		
0.5	6.45	6.20	6.03	12.73
1	5.87	4.30	11.59	15.72

Результаты анализа специфических примесей для f5/5_F2, G2, A1

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.74		
0.5	20.69	27.61	24.13	43.65
1	20.54	23.31	26.53	37.17

Фиг. 15

033811

F2, G2, A2, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 6,5,
ЭДТА + цистеин, без наслоения N2

Результаты анализа специфических примесей для f5/5_F2, G2, A2

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.57	24.16
1	0.00	0.00	3.85	25.24

Результаты анализа специфических примесей для f5/5_F2, G2, A2

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	9.78	38.77
1	0.00	2.05	20.47	56.81

Фиг. 16

F2, G2, A3, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 6,5,
ЭДТА + глутатион,
без наслоения N2

Результаты анализа специфических примесей для f5/5_F2, G2, A3

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	0.08	3.31
1	0.00	0.00	0.71	10.05

Результаты анализа специфических примесей для f5/5_F2, G2, A3

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	1.90	16.08
1	0.72	1.20	8.21	34.62

Фиг. 17

033811

F2, G2, A4, 5 мМ кетор/5 мМ фен,
Na цитрат, pH 6,5,
ЭДТА + моноглицерат,
без наслоения N2

Результаты анализа специфических примесей для f5/5_F2, G2, A4

Время (месяцы)	% специфических примесей для фенилэфрина			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.00	1.72	9.50
1	0.00	0.51	2.76	5.77

Результаты анализа специфических примесей для f5/5_F2, G2, A4

Время (месяцы)	% специфических примесей для кеторолака			
	2-8° C	25° C	40° C	60° C
0		0.00		
0.5	0.00	0.42	10.84	29.94
1	0.31	10.23	20.00	29.06

Фиг. 18

450 мМ РЕ, Na цитрат, pH 6,5,
без вспомогательных
веществ или добавок

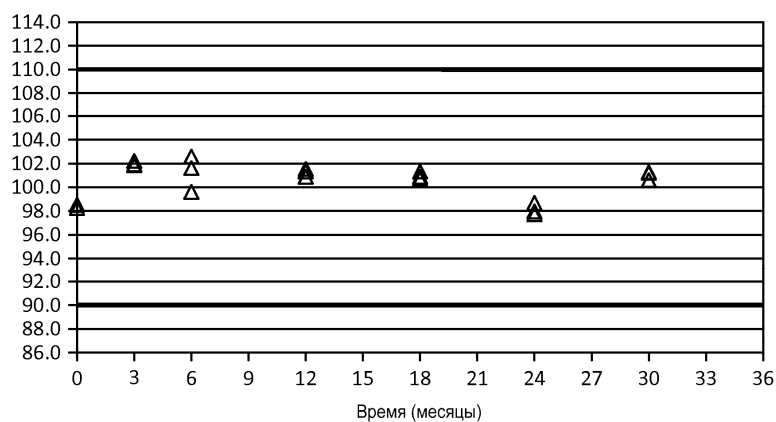
Результаты анализа специфических примесей для РЕ-f450, партия 1050193

Время (месяцы)	Специфические примеси для фенилэфрина				Общее количество специфических примесей			
	4° C	25° C	30° C	40° C	4° C	25° C	30° C	40° C
0		0.00				0.00		
0.5								
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
4	0.01	0.00	0.00	0.06	0.01	0.00	0.00	0.06

Фиг. 19

Заявленный на этикетке
% фенилэфрина HCl

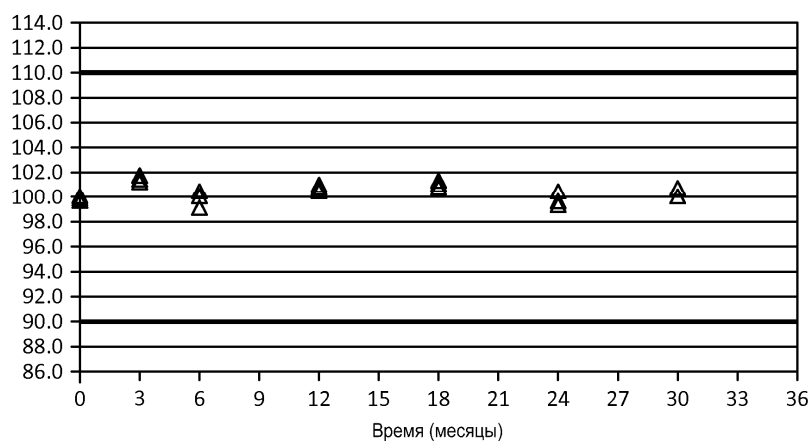
Активность фенилэфрина HCl



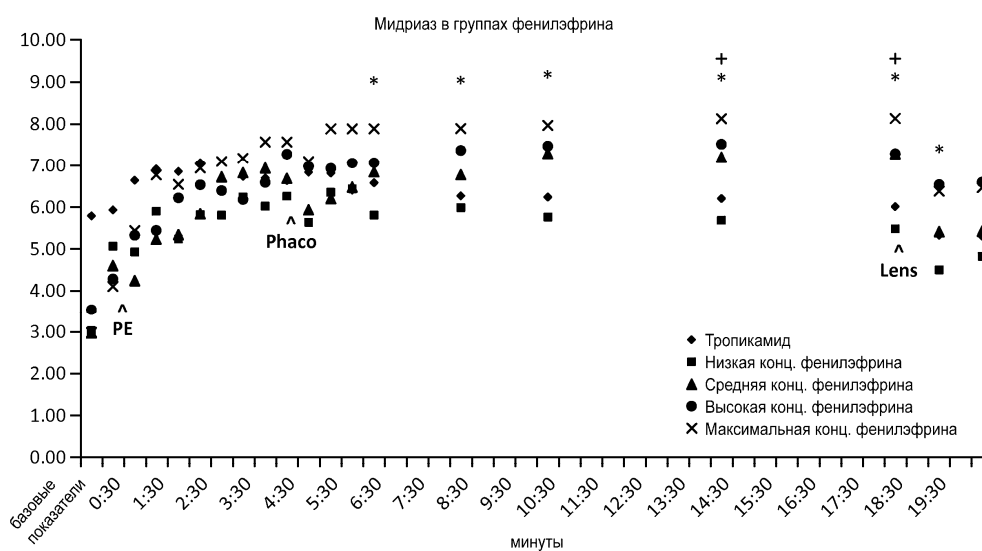
Фиг. 20А

Заявленный на этикетке
% кеторолака

Активность кеторолака трометамин



Фиг. 20В

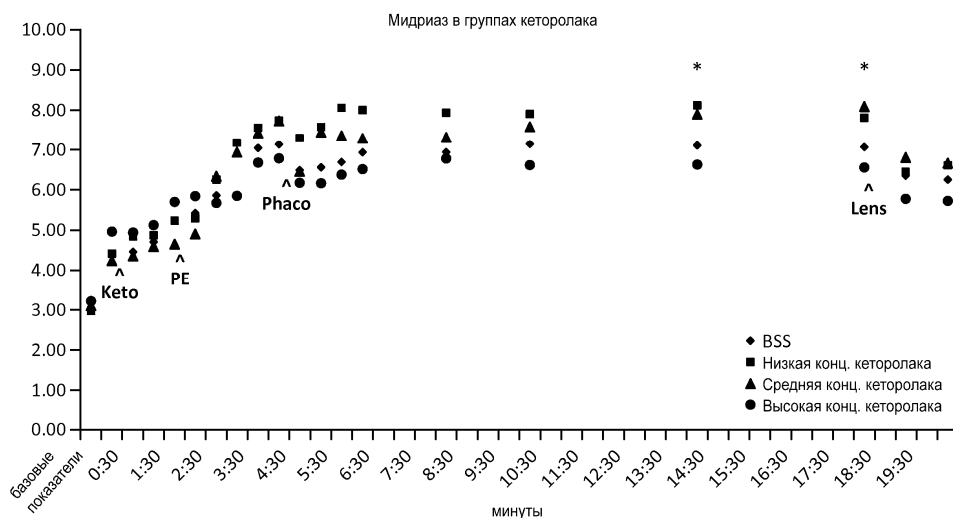


Средний диаметр зрачка (мм) с течением времени, измеренный по данным интраоперационной видеорегистрации, указан для каждой группы лечения (N=4, N=2 для групп низкой и максимальной концентрации фенилэфрина). Время начала перфузии передней камеры фенилэфрином (PE), начала факоэмульсификации (Phaco) и установки интраокулярной линзы (Lens) задней камеры указано дополнительно. Интервал, в течение которого проводили капсулорексис и установку линзы, когда была приостановлена ирригация, не включен во временную шкалу.

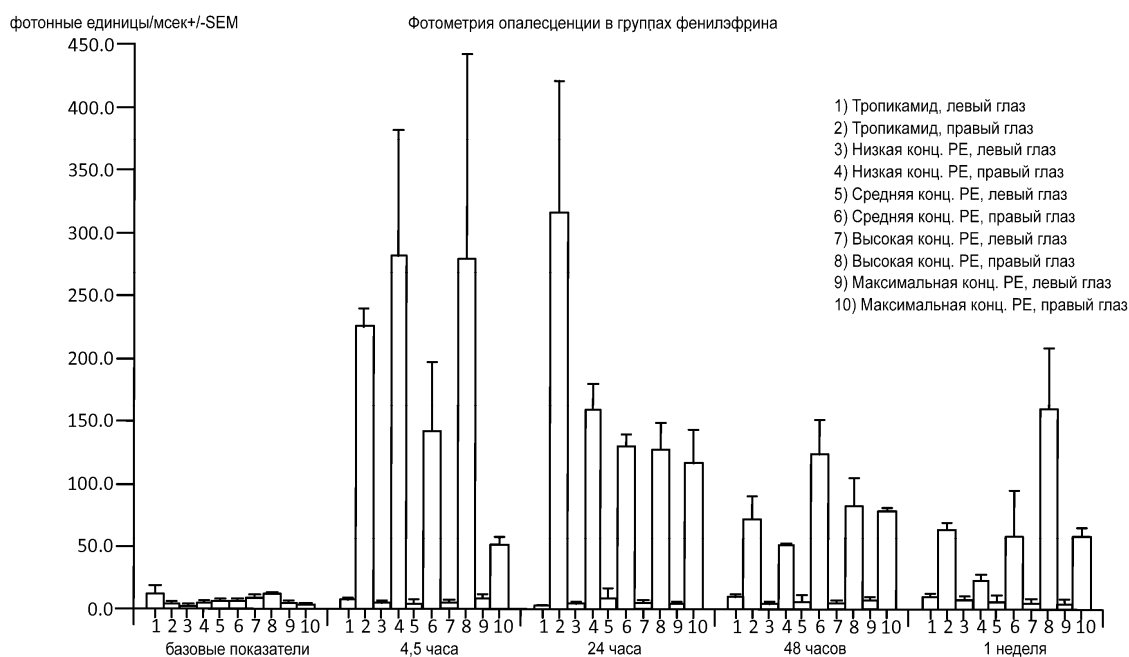
*обозначает временные точки, в которых группы максимальной, высокой и средней концентрации фенилэфрина значительно отличались от группы низкой концентрации фенилэфрина (критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=23$).

+обозначает временные точки, в которых группы максимальной, высокой и средней концентрации фенилэфрина значительно отличались от группы низкой концентрации фенилэфрина и группы тропикамида (критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=23$, N=4 для групп тропикамида, средней и высокой концентрации PE, N=2 для групп низкой и максимальной концентрации PE).

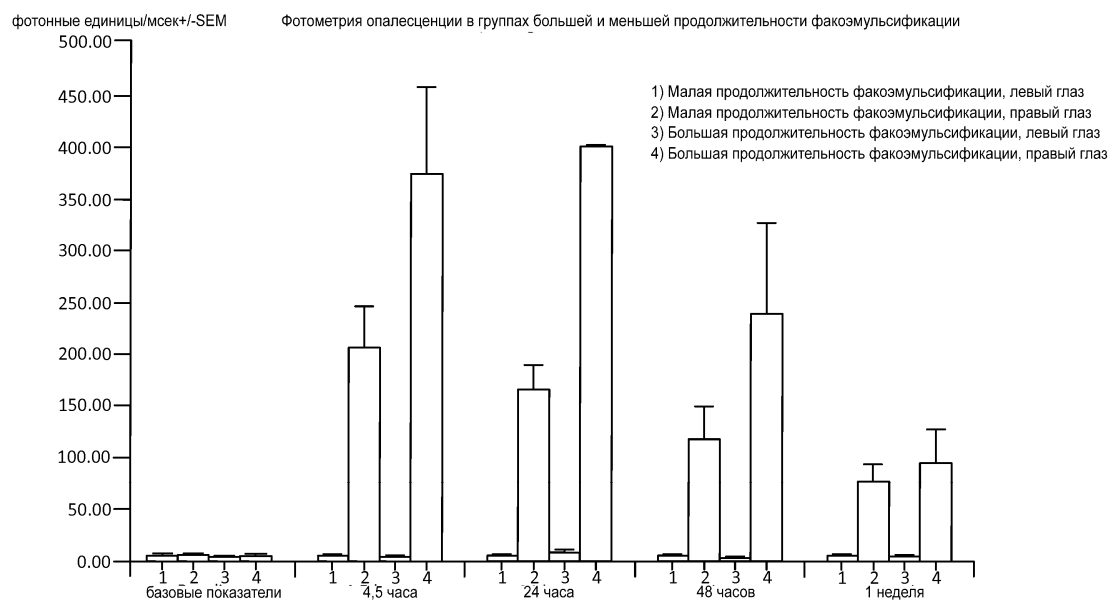
Фиг. 21



Фиг. 22

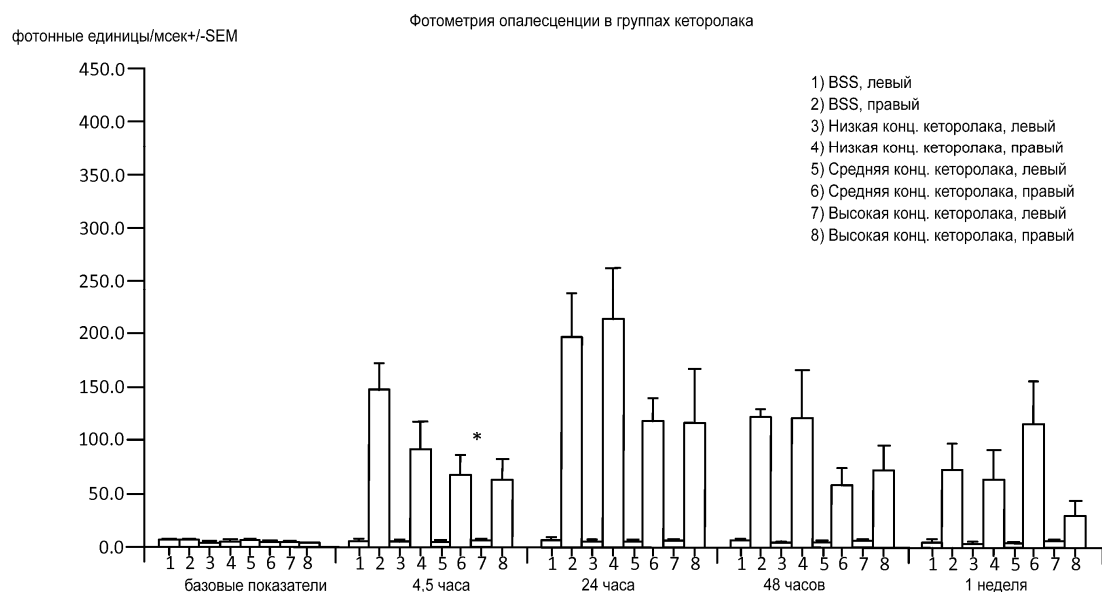


Фиг. 23



Средние показатели опалесценции +/- стандартное отклонение для глаз, обработанных фенилэфрином и тропикамидом и фазе 1 исследования, которые получали низкую энергию фактоэмульсификации (<25 сек) или высокую энергию фактоэмульсификации (>45 сек). Отличия были значимыми при оценке во всех временных точках ($F=4,42$, $p<0,0018$, критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=14$, $N=12$ для групп с малой продолжительностью фактоэмульсификации и 4 для групп с большой продолжительностью фактоэмульсификации), что указывает на корреляцию между продолжительностью фактоэмульсификации и фотометрическими показателями опалесценции.

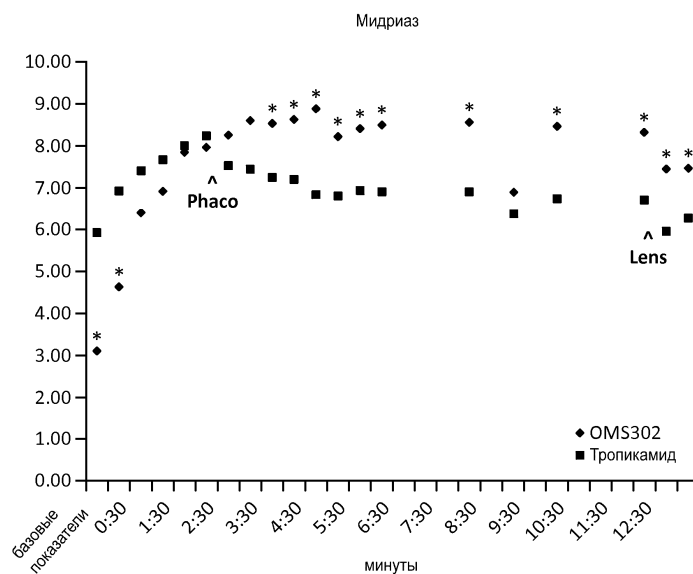
Фиг. 24



Средние показатели опалесценции +/- стандартное отклонение для контрольного и оперируемого глаза в группах лечения кеторолаком.

*Комбинированные группы и группы высокой концентрации кеторолака значимо отличались от контрольной группы BSS во временной точке 4,5 часа ($F=5,17$, $p<0,0223$, критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=13$, $N=4$ для каждой группы). Исследование не было достаточно мощным для достижения значимости в остальных временных точках.

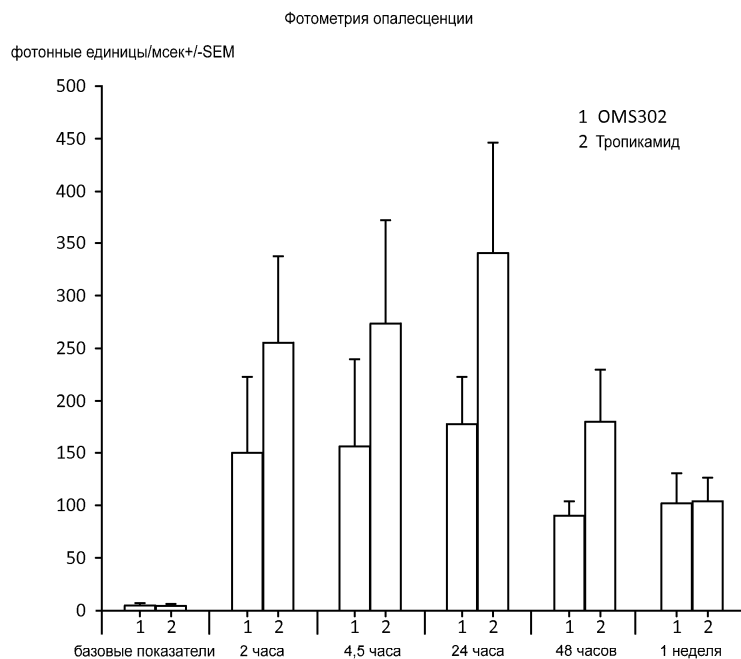
Фиг. 25



Средний диаметр зрачка (мм) с течением времени, измеренный по данным интраоперационной видеорегистрации, указан для каждой группы лечения (N=7 для каждой группы). Время начала фактоэмульсификации (Phaco) и установки интраокулярной линзы (Lens) задней камеры указано дополнительно. Интервал, в течение которого проводили капсулорексис и установку линзы, когда была приостановлена ирригация, не включен во временную шкалу.

*обозначает временные точки, в которых РЕ-КЕ (OMS302) в сравнении с контрольной группой на тропикамиде являлся значимо различным (критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=12$).

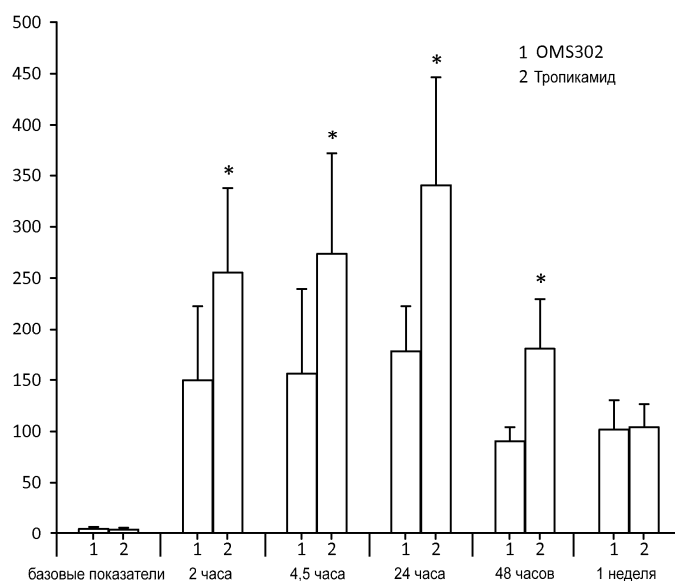
Фиг. 26



Средние показатели опалесценции $\pm$ стандартное отклонение для оперируемого глаза в группах лечения РЕ-КЕ (OMS302) и контроля на тропикамиде. Наблюдали значимое влияние времени на показатели опалесценции в обеих группах лечения ($F=4,94$, $p<0,0008$), что отражает воспалительную реакцию в результате хирургического вмешательства, но при этом отсутствует значимое различие между группами лечения во всех временных точках при включении всех субъектов ($F=3,32$, $p<0,0935$, критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=12$).

Фиг. 27

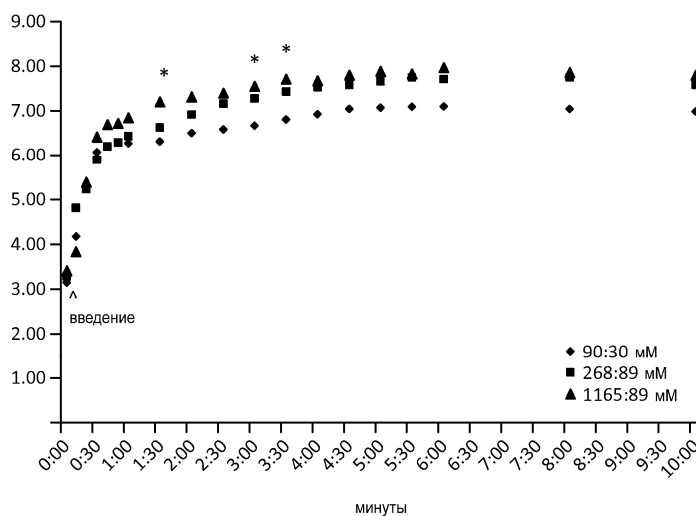
Фотометрия опалесценции без исключенного субъекта

фотонные единицы/мсек $\pm$ SEM

Средние показатели опалесценции $\pm$ стандартное отклонение для оперируемого глаза в группах лечения РЕ-КЕ (OMS302) и контроля на тропикамиде с исключением субъекта Х932, демонстрировавшего ограниченное расширение зрачка, вызванное фенилэфрином. Наблюдали значимое различие между группами лечения в 2, 4, 5, 24 и 48 часов, обозначенное * ($F=3,32$, p -значение после проверки $p<0,0935$, критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=12$).

Фиг. 28

Мидриаз



Средние значения диаметра зрачка (мм) с течением времени, измеренные по данным интраоперационной видеорегистрации, указаны для каждой группы лечения ($N=4$ для каждой группы). Время внутрикамерного введения ($T=0:00$, непосредственно после получения значений базовых показателей) указано дополнительно.

*обозначает временные точки, в которых РЕ-КЕ (OMS302) 90:30 в сравнении с OMS302 1165:89 являлся значимо различным (критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, $\alpha=0,05$, $df=9$). Во всех остальных временных точках межгрупповые различия не были значимыми согласно данным критериям.

Фиг. 29



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2