

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202192183 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.01.14

(51) Int. Cl. *A61K 31/724* (2006.01)
C08L 5/16 (2006.01)
C08B 37/16 (2006.01)
A61K 47/40 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.03.03

(54) КОМПОЗИЦИИ, ОБЛАДАЮЩИЕ АКТИВНОСТЬЮ УДАЛЕНИЯ ЛИПОФУСЦИНА ИЗ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ

(31) 62/814,028

(72) Изобретатель:

(32) 2019.03.05

Нучари Марсело М., Боулан Энрике
Родригес (US)

(33) US

(86) PCT/US2020/020805

(74) Представитель:

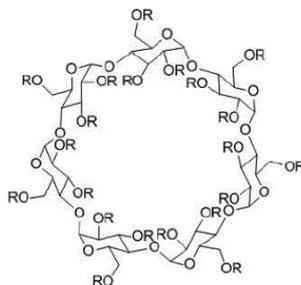
(87) WO 2020/180872 2020.09.10

Нилова М.И. (RU)

(71) Заявитель:

КОРНЕЛЛ ИЮНИВЕРСИТИ (US)

(57) Настоящее изобретение в целом относится к композициям и способам лечения заболеваний глаз (например, ретинопатий) и, в частности, к лечению заболеваний глаз, связанных с накоплением липофусцина в клетках сетчатки.



Бета-циклодекстрины, в которых один или более R = сульфобутилэфирная группа (-C₄H₈SO₃Na⁺) или 2-гидроксипропиловая группа (-C₃H₆OH).

A1

202192183

202192183

A1

КОМПОЗИЦИИ, ОБЛАДАЮЩИЕ АКТИВНОСТЬЮ УДАЛЕНИЯ ЛИПОФУСЦИНА ИЗ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка испрашивает преимущество и приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 62/814,028, поданной 5 марта 2019 г., содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0002] Настоящее изобретение в целом относится к композициям и способам лечения заболеваний глаз (например, ретинопатий) и, в частности, заболеваний глаз, связанных с накоплением липофусцина в клетках сетчатки.

ГОСУДАРСТВЕННАЯ ПОДДЕРЖКА

[0003] Данное изобретение было создано при государственной поддержке в рамках гранта № EY027422-02, выданного Национальным институтом глаза (NEI) / Национальными институтами здравоохранения (NIH). Правительство обладает определенными правами на данное изобретение.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Следующее описание уровня техники для настоящей технологии приведено просто для облегчения понимания настоящей технологии и не признается описывающим или составляющим уровень техники для настоящей технологии.

[0005] Липофусцин представляет собой мелкий желто-коричневый пигмент, состоящий из нерасщепляемого материала, который, как полагают, представляет собой остатки после лизосомального расщепления. Липофусцин в основном состоит из димеров ретинальдегидов, известных как липидные бисретиноиды, и небольших количеств углеводов, окисленных белков и металлов. Накопление липофусцина в клетках сетчатки вызывает токсичность для сетчатки, которая связана с такими состояниями, как дегенерация желтого пятна, дегенеративное заболевание глаз и болезнь Штаргардта.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ НАСТОЯЩЕЙ ТЕХНОЛОГИИ

[0006] В одном из аспектов настоящая технология относится к способу предупреждения или лечения заболевания глаз, связанного с накоплением

липофусцина в клетках сетчатки, без ухудшения остроты зрения у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение указанному субъекту эффективного количества сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE- β CD) или его фармацевтически приемлемой соли. Заболевание глаз, связанное с накоплением липофусцина в клетках сетчатки, может быть выбрано из группы, состоящей из болезни Штаргардта (STGD), пигментного ретинита (RP), возрастной дегенерации желтого пятна (AMD), болезни Беста (BD) и палочко-колбочковой дистрофии. Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации заболевание глаз является генетическим, негенетическим или связано со старением. В еще одном аспекте настоящая технология относится к способу предупреждения или лечения накопления липофусцина в клетках сетчатки без ухудшения остроты зрения у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение указанному субъекту эффективного количества сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE- β CD) или его фармацевтически приемлемой соли.

[0007] Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, введение эффективного количества SBE- β CD или его фармацевтически приемлемой соли предотвращает обострение липофусцин-ассоциированного повреждения сетчатки у указанного субъекта.

[0008] Также в настоящей заявке раскрыты способы снижения накопления липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки, включающие приведение клеток пигментного эпителия сетчатки в контакт с эффективным количеством сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE- β CD) или его фармацевтически приемлемой соли.

[0009] Во всех возможных вариантах реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, SBE- β CD или его фармацевтически приемлемая соль выполнены с возможностью локализации в клетках пигментного эпителия сетчатки. В отдельных вариантах реализации SBE- β CD или его фармацевтически приемлемая соль выполнены с возможностью образования комплекса с липидами бисретиноидов липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки. Липиды бисретиноидов липофусцина могут представлять собой N-ретинилиден-N-ретирилэтанолламин (A2E), изомер A2E, окисленное производное A2E или димеры полностью транс-ретинала.

[0010] Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, введение эффективного количества SBE- β CD или его фармацевтически приемлемой соли блокирует, ослабляет или способствует устранению накопления липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки.

[0011] В любых из вышеописанных вариантов реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, SBE- β CD или его фармацевтически приемлемая соль связаны с агентом, нацеленным на клетки пигментного эпителия сетчатки. В некоторых вариантах реализации указанный агент нацелен на эндосомы или лизосомы в клетках пигментного эпителия сетчатки, например, представляет собой маннозо-6-фосфат. Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, SBE- β CD или его фармацевтически приемлемая соль связаны с флуорофором. Примеры флуорофоров включают, не ограничиваясь перечисленным, флуоресцеин, родамин, орегонский зеленый, эозин, тexasский красный, цианин, стрептоцианины, гемицианины, цианины с замкнутой цепью, фикоцианины, аллофикоцианины, индокарбоцианины, оксакарбоцианины, тиакрбоцианины, мероцианины и фталоцианины, производные нафталина (например, производные дансила и продана), кумарин и его производные, оксадиазол и его производные (например, пиридиллоксазолы, нитробензоксадиазолы и бензоксадиазолы), пирен и его производные, оксазин и его производные (например, нильский красный, нильский синий и крезильовый фиолетовый), производные акридина (например, профлавин, акридиновый оранжевый и акридиновый желтый), арилметановые производные (например, аурамин, кристаллический фиолетовый и малахитовый зеленый) и производные тетрапиррола (например, порфирины и билирубины).

[0012] Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, SBE- β CD или его фармацевтически приемлемую соль вводят посредством местного, интравитреального, внутриглазного, субретинального или субсклерального введения. В отдельных вариантах реализации субсклеральное введение обеспечивают посредством имплантации субъекту субсклерального имплантата с медленным высвобождением.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0013] На Фиг. 1А-1В показаны структурные формулы композиций согласно настоящей технологии. На Фиг. 1А показана общая формула β (бета)-циклодекстринов, которые содержат семь замещенных глюкопиранозидных единиц. Замещения обозначены символом R. На Фиг. 1В идентифицированы заместители в (i) метил-бета-циклодекстрине (M β CD или MBCD); (ii) 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрине (HP β CD); и (iii) сульфобутиловом эфире β -циклодекстрина (SBE β CD).

[0014] На Фиг. 2 показано удаление ЛБ с использованием различных циклодекстринов согласно настоящей технологии в дозе 4 мМ. Культивированные клетки RPE человека предварительно нагружали липофусцином, инкубируя их с 5 мкМ А2Е в течение ночи. Клетки промывали и оставляли без обработки или обрабатывали 4 мМ соединения циклодекстрина (указанного на оси X). Через 24 часа клетки собирали с помощью трипсина, осаждали и лизировали в буфере 2% Triton. Содержание А2Е оценивали по флуоресценции при 430 нм, и количество клеток получали путем оценки содержания белка по градуировочной кривой зависимости содержания белка от количества клеток. 100% соответствует содержанию в неэкстрагированных клетках. Столбцы помечены следующим образом: А0 = α -циклодекстрин; В0 = β -циклодекстрин; М1 = метил- β -циклодекстрин; М2 = метил- β -циклодекстрин; М3 = метил- β -циклодекстрин; М4 = гептакис(2,6-ди-О-метил)- β -циклодекстрин; М5 = гептакис(2,3,6-три-О-метил)- β -циклодекстрин; Н1 = гидроксипропил- β -циклодекстрин; Н2 = гидроксипропил- β -циклодекстрин; Н3 = гидроксипропил- β -циклодекстрин; SB1 = сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина; SB2 = сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина; SB3 = сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина; G0 = гамма-циклодекстрин. Как показано на Фиг. 2, не все циклодекстрины эффективно стимулируют удаление ЛБ. В то время как метил- β -циклодекстрин, 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин и сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина стимулируют удаление бисретиноидов липофусцина из клеток сетчатки, незамещенный α -циклодекстрин, β -циклодекстрин и гамма-циклодекстрин не экстрагировали А2Е в этих условиях. 2,6-ди-О-метил- β -циклодекстрин (гептакис-2,6-ди-О-метил) или 2,3,6-три-О-метил- β -циклодекстрин (гептакис-2,3,6-три-О-метил) также не были эффективны в стимулировании удаления ЛБ. *Исходный раствор концентрацией 100 мМ был приготовлен в ДМСО из-за плохой растворимости в воде.

[0015] На Фиг. 3А показано дозозависимое удаление ЛБ с помощью метил- β -циклодекстрина в миллимолярном диапазоне. Эпителиальные клетки, нагруженные А2Е, обрабатывали указанными дозами метил- β -циклодекстрина в течение 24 часов. В качестве контроля необработанные эпителиальные клетки, которые не были предварительно нагружены А2Е, обрабатывали указанными дозами метил- β -циклодекстрина в течение 24 часов. Содержание А2Е на клетку по окончании инкубационного периода наносили на график как функцию дозы метил- β -циклодекстрина.

[0016] На Фиг. 3В показано удаление ЛБ с помощью метил- β -циклодекстрина. Эпителиальные клетки, нагруженные А2Е, обрабатывали метил- β -циклодекстрином в течение 24 часов. По окончании инкубационного периода регистрировали флуоресценцию А2Е внутри клеток с помощью флуоресцентной микроскопии при 100-кратном увеличении. Клетки окрашивали красителем Хехст для визуализации ядер клеток, которые содержали А2Е. В левом столбце показано накопление ЛБ липофусцина в необработанном контроле (А2Е-необработанный), показанное с помощью флуоресценции ЛБ (бирюзовая, стрелки) и ядер (синяя, острия стрелок). В правом столбце показано накопление ЛБ (бирюзовая, стрелки) и ядра (синяя, острия стрелок) после обработки метил- β -циклодекстрином.

[0017] На Фиг. 4А-4В показано удаление ЛБ с помощью метил- β -циклодекстрина, определенное с помощью флуоресцентной микроскопии. Эпителиальные клетки, нагруженные А2Е, обрабатывали метил- β -циклодекстрином в течение 24 часов. Клетки окрашивали красителем Хехст для визуализации ядер. Флуоресценцию А2Е внутри клеток (неэкстрагированных клеток) регистрировали с помощью флуоресцентной микроскопии при 100-кратном увеличении. На **Фиг. 4А** показано накопление богатого ЛБ липофусцина в необработанном контроле (А2Е-необработанный), показанное с помощью флуоресценции ЛБ и ядра. На **Фиг. 4В** показан ЛБ, выведенный из клеток после обработки 4 мМ М β CD в течение 24 часов.

[0018] На Фиг. 5А показаны анализы, использованные для идентификации агентов, удаляющих липофусцин из клеток сетчатки. Культивированные клетки пигментного эпителия сетчатки (RPE) человека, ARPE-19 (ATCC), предварительно нагружали липофусцином, инкубируя их с 5 мкМ А2Е (ЛБ, наиболее широко представленным в RPE сетчатки) в течение ночи. А2Е использовали в качестве суррогатного показателя богатого ЛБ липофусцина, обнаруженного в RPE глаза. Клетки высевали в 96-

луночные планшеты из расчета 1×10^5 клеток на лунку. Через 48 часов в среде DMEM-10% среду заменяли средой DMEM-10% либо с тестируемым агентом, либо без него, в 24-часовом анализе удаления. Каждую дозу удаляющего агента оценивали четырежды. По окончании обработки супернатанты удаляли, а прикрепленные клетки лизировали 1X A2E-солюбилизирующим буфером. Содержание A2E определяли на основании флуоресценции лизатов с использованием спектрофотометрического считывающего устройства для планшетов (возбуждение: 430 нм, испускание: 600 нм).

[0019] На **Фиг. 5B** показан график корреляции количества пикомолей A2E на клетку и флуоресценции известных количеств стандарта A2E. Для расчета количества пикомолей A2E на клетку значения A2E-специфической флуоресценции (флуоресценция лизатов из клеток, предварительно нагруженных A2E, за вычетом флуоресценции соответствующих лизатов из контрольных клеток, не нагруженных A2E) были оценены по градуировочным кривым, полученным путем построения графика флуоресценции (возб.: 430, исп.: 600 нм) известных количеств стандарта A2E, растворенного в 1X A2E-солюбилизирующих буферах. Состав A2E-солюбилизирующего буфера был оптимизирован для устранения сольватохромных взаимодействий с циклодекстринами, которые могут повлиять на расчеты количества A2E по флуоресценции.

[0020] На **Фиг. 5C** показано, что в условиях, описанных на **Фиг. 5B**, на флуоресценцию A2E не влияет образование комплексов с циклодекстрином, и что значение величины флуоресценции отражает истинные количества A2E.

[0021] На **Фиг. 6** показаны изображения удаления ЛБ с помощью метил- β -циклодекстрина, 2-гидроксипропил- β -циклодекстрина и сульфобутилового эфира β -циклодекстрина. Необработанные A2E-нагруженные культуры RPE служили в качестве отрицательных контролей. A2E-нагруженные культуры RPE обрабатывали 7,5 мМ указанного соединения β -циклодекстрина в течение 48 часов. Для каждого циклодекстрина были протестированы три отдельные партии. Липофусцин (желтый) визуализирован с помощью флуоресцентной микроскопии (488 нм/600 нм) с использованием объектива с малым увеличением (10X) для охвата большого количества клеток.

[0022] На **Фиг. 7** показаны примеры стехиометрического распределения A2E по окончании обработки β -циклодекстринами. Эпителиальные клетки,

предварительно нагруженные A2E, обрабатывали в бессывороточной среде 12,5 мМ указанных β -циклодекстринов в течение 4 часов. Содержание A2E в клеточных лизатах и супернатантах определяли с помощью флуоресцентного анализа, как описано на **Фиг. 5А**. Как показано на **Фиг. 7**, большая часть A2E, исчезнувшего из клеток, появилась в супернатанте.

[0023] На Фиг. 8 показано, что β -циклодекстрины оказывают дозозависимый эффект удаления ЛБ. Эпителиальные клетки, нагруженные A2E, обрабатывали указанными дозами β -циклодекстринов в течение 48 часов. В качестве контроля необработанные клетки RPE, которые не были предварительно нагружены A2E, обрабатывали указанными дозами β -циклодекстринов в течение 48 часов. По окончании инкубации клетки лизировали A2E-солюбилизующим буфером и рассчитывали A2E-специфическую флуоресценцию (ASF) для каждой концентрации лекарственного средства путем вычитания флуоресценции контрольных лизатов из флуоресценции в лизате A2E-нагруженных клеток, обработанных той же дозой циклодекстрина. ASF интерполировали по градуировочной кривой A2E для преобразования в пикомоли. Процент содержания A2E на клетку наносили на график как функцию дозы β -циклодекстрина.

[0024] На Фиг. 9 показано количественное определение удаления *in vivo* с помощью метил- β -циклодекстрина (M- β CD), 2-гидроксипропил- β -циклодекстрина (HP- β CD) и сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SEB- β CD). Животные с нарушением накопления ЛБ из-за двойной мутации (DKO) в сигнальном пути, отвечающем за рециркуляцию ретинальдегидов в RPE, получали две интравитреальные инъекции на глаз, с интервалом в одну неделю, 2 мкл 100 мМ M- β CD (правый глаз, OD); 1 мкл 500 мМ HP- β CD или 1 мкл 500 мМ SEB- β CD в воде. Отдельной группе соответствующего возраста инъецировали соответствующий объем носителя (воды) в качестве контроля. Глаза собирали через 4 дня после второй инъекции. Глазные чаши с пигментным эпителием сетчатки (RPE) закрепляли на плоской поверхности и подвергали аутофлуоресцентной микроскопии при 63-кратном увеличении. Несколько изображений были сшиты вместе, чтобы показать глазные чаши целиком. Сшитые изображения преобразовывали в серую тоновую шкалу и измеряли среднюю интенсивность флуоресценции сетчатки с помощью Image J (NIH). Из-за ограничений, накладываемых растворимостью, исходные растворы M- β CD были приготовлены в концентрации 100 мМ и 2 мкл вводили для лечения *in vivo*.

Липофусцин (%), оставшийся в глазах, сравнивали с глазами животных, в глаза которым вводили такой же объем носителя (воды). Значимость определяли по двусторонним непарным Т-критериям. В то время как М- β CD не снижал количество липофусцина значимым образом, HP- β CD и SEB- β CD были эффективными.

[0025] На Фиг. 10А-10В показано, что удаление ЛБ с помощью SEB- β CD не ухудшало остроту зрения. Чтобы измерить влияние лечения β -циклодекстрином на зрительную функцию, были проведены тесты пространственной частоты (SF) (мера остроты зрения). SF была оценена с помощью OptoMotry (Prusky GT, *et al.* (2004) Rapid quantification of adult and developing mouse spatial vision using a virtual optomotor system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45(12):4611–6; Douglas RM, *et al.* (2005) Independent visual threshold measurements in the two eyes of freely moving rats and mice using a virtual-reality optokinetic system. *Vis Neurosci* 22(5):677–84; Kretschmer F, *et al.* (2015) A system to measure the Optokinetic and Optomotor response in mice. *J Neurosci Methods* 256:91–105). Вкратце, необездвиженная мышь стоит на возвышении в окружении компьютерных мониторов, которые создают виртуальный цилиндр с черными полосами на белом фоне. Виртуальное вращение решетки вызывает зрительные рефлекторные движения головы; частоту появления черных полос можно менять, регулируя толщину полос. Более тонкие полосы, т. е. более высокие значения SF, эквивалентны меньшим буквам в таблице Снеллена, используемой для оценки остроты зрения у людей. Самая высокая SF, которая не вызывает отслеживания, принимается за меру остроты зрения. Поскольку лечение метил- β -циклодекстрином в тестируемой дозе не приводило к значимому снижению количества липофусцина, SF не оценивали. Гидроксипропил- β -циклодекстрин, который был умеренно эффективным в отношении удаления ЛБ, приводил к значительному ухудшению остроты зрения в дозе, использованной во время эксперимента, в то время как сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина хорошо переносился, поскольку не влиял на зрение мышей.

[0026] На Фиг. 11А показано, что лечение сульфобутиловым эфиром β -циклодекстрина (SBE-BCD) не нарушает целостность фоторецепторного слоя (ONL). Был проведен морфометрический анализ, сравнивающий толщину наружного ядерного слоя (ONL) у контрольных животных и животных, получавших SBE-BCD. Выбирали слой фоторецепторов с помощью Photoshop и ImageJ и измеряли толщину.

[0027] На Фиг. 11В показано, что сетчатки контрольных животных и животных, получавших сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина (SBE-BCD),

оставались интактными после лечения. Сшитые изображения были созданы с помощью ZEN Blue (Zeiss) из отдельных полей, полученных с помощью оптической микроскопии окрашенных гематоксилином и эозином залитых парафином поперечных срезов сетчаток от мышей, получавших 1 мкл носителя или сульфобутилового эфира β -циклодекстрина.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0028] Следует принимать во внимание, что некоторые аспекты, режимы, варианты реализации, вариации и признаки настоящих способов описаны ниже с различной степенью конкретизации, чтобы обеспечить фундаментальное понимание настоящей технологии.

[0029] Токсичные липидные бисретиноиды (ЛБ) – основные компоненты глазного липофусцина – с возрастом накапливаются в лизосомах пигментного эпителия сетчатки, основной опорной клетки сетчатки, ответственной за выживание фоторецепторов – светочувствительных клеток. Накопление ЛБ в RPE усиливается при генетических заболеваниях человека, таких как болезнь Штаргардта (STGD), связанные с ABCA4 формы палочко-колбочковой дистрофии (CRD) и пигментный ретинит (RP). Такое накопление считается токсичным для RPE и является ключевым аспектом этиологии этих заболеваний. Кроме того, накопление ЛБ с возрастом является фактором риска возрастной дегенерации желтого пятна (AMD) – неизлечимого заболевания, которым страдают 25% пожилого населения. В настоящее время не существует медицинских методов лечения для устранения накопления ЛБ. Следовательно, агенты, удаляющие клеточные ЛБ, потенциально могут удовлетворить неудовлетворенную потребность в лечении заболеваний человека, вызывающих слепоту.

[0030] Циклодекстрины представляют собой циклические олигосахариды, содержащие субъединицы глюкозы, соединенные α -1,4-гликозидными связями. Циклодекстрины вырабатываются из крахмала путем ферментативного превращения и классифицируются как α -циклодекстрин, содержащий шесть субъединиц глюкозы, β -циклодекстрин, содержащий семь субъединиц глюкозы, и γ -циклодекстрин, содержащий 8 субъединиц глюкозы. Всем из α -, β -, а также γ -циклодекстринов Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) присвоен статус общепризнанно безопасных, и они широко

используются в пищевой, фармацевтической промышленности, для доставки лекарственных средств и в химической промышленности, а также в сельском хозяйстве и охране окружающей среды. Среди других производных безопасными считаются метил-бета-циклодекстрин (М- β CD) и 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрин (HP- β CD). HP- β CD получил статус IND (экспериментальное лекарственное средство) от FDA для лечения болезни Ниманна-Пика типа C1.

[0031] Предыдущие исследования показали, что отдельные циклодекстрины были способны инкапсулировать и удалять ЛБ из клеток. См. Davis ME, Brewster ME, Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. *Nat Rev Drug Discov* 3(12):1023–35 (2004); Nociari *et al.*, Beta cyclodextrins bind, stabilize, and remove lipofuscin bisretinoids from retinal pigment epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 111(14): E1402–E1408 (2014).

[0032] Настоящее изобретение частично основано на открытии того, что не все циклодекстрины эффективно стимулируют удаление липофусцина из эпителиальных клеток *in vivo*. Неожиданно было обнаружено, что (i) метил-бета-циклодекстрин (M β CD); (ii) 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрин (HP β CD); и (iii) сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина (SBE β CD) эффективно стимулируют удаление ЛБ, тогда как другие производные, такие как альфа-циклодекстрин, гамма-циклодекстрин, 2,6-ди-О-метил- β -циклодекстрин (гептакис-2,6-ди-О-метил) и 2,3,6-три-О-метил- β -циклодекстрин (гептакис-2,3,6-три-О-метил) неспособны эффективно удалять клеточный ЛБ. Более того, как метил- β -циклодекстрин, так и гидроксипропил- β -циклодекстрин вызывали значительное ухудшение остроты зрения *in vivo*, в то время как сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина не снижал остроту зрения.

[0033] Соответственно, настоящее изобретение относится к способам лечения субъекта, страдающего заболеванием глаз, связанным с накоплением липофусцина в клетках сетчатки. Состояния и заболевания, поддающиеся лечению описанным в настоящей заявке способом, включают любое офтальмологическое или относящееся к сетчатке расстройство, состояние или заболевание, прямо или косвенно вызванное накоплением липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки (RPE), которое может быть генетическим или негенетическим, например, возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD), болезнь Штаргардта (SD), болезнь Беста (BD), пигментный ретинит и палочко-колбочковую дистрофию.

Определения

[0034] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящей заявке, обычно имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится данная технология. В контексте настоящего описания и прилагаемой формулы изобретения формы единственного числа включают в себя термины во множественном числе, если из контекста не следует иное. Например, упоминание «клетки» включает комбинацию двух или более клеток, и т. п. Как правило, используемая в настоящей заявке номенклатура и лабораторные процедуры в культивировании клеток, молекулярной генетике, органической химии, аналитической химии и химии и гибридизации нуклеиновых кислот, описанные ниже, хорошо известны и широко используются в данной области техники.

[0035] В контексте настоящей заявки термин «приблизительно» в отношении числа обычно подразумевает включение чисел, которые попадают в диапазон 1%, 5% или 10% в любом направлении (больше или меньше) от этого числа, если иное не указано или иным образом не следует из контекста (кроме случаев, когда такое число будет меньше 0% или превышает 100% возможного значения).

[0036] В контексте настоящей заявки термин «введение» агента или лекарственного средства субъекту включает любой способ введения или доставки субъекту соединения для осуществления его желаемой функции. Введение может осуществляться любым подходящим способом, в том числе, не ограничиваясь перечисленным, перорально, интраназально, парентерально (внутривенно, внутримышечно, внутривентриально или подкожно), ректально, интратекально или местно. Введение включает самостоятельное введение и введение другим лицом.

[0037] В контексте настоящей заявки термин «биологический образец» означает материал образца, полученный из живых клеток. Биологические образцы могут включать ткани, клетки, белковые или мембранные экстракты клеток и биологические жидкости (например, асцитную жидкость или спинномозговую жидкость (СМЖ)), выделенные от субъекта, а также ткани, клетки и жидкости, присутствующие в организме субъекта. Биологические образцы согласно настоящей технологии включают, не ограничиваясь перечисленным, образцы, взятые из глаза, ткани молочной железы, ткани почки, шейки матки, эндометрия, головы или шеи, желчного пузыря, ткани околоушной железы, предстательной железы, головного мозга, гипофиза, ткани почек, мышцы, пищевода, желудка, тонкой кишки, ободочной кишки,

печени, селезенки, поджелудочной железы, ткани щитовидной железы, ткани сердца, ткани легкого, мочевого пузыря, жировой ткани, ткани лимфатического узла, матки, ткани яичника, ткани надпочечника, ткани яичка, миндалин, вилочковой железы, крови, волос, с щек, кожи, из сыворотки, плазмы, СМЖ, спермы, секрета простаты, семенной жидкости, мочи, кала, пота, слюны, мокроты, слизи, костного мозга, лимфы и слез. Биологические образцы также могут быть взяты при биопсии внутренних органов. Биологические образцы могут быть получены от субъектов для диагностики или исследования, или могут быть получены от здоровых субъектов в качестве контролей или для поисковых исследований. Образцы могут быть получены стандартными методами, включая, например, венепункцию и хирургическую биопсию. В отдельных вариантах реализации биологический образец представляет собой образец ткани, полученный с помощью пункционной биопсии.

[0038] В контексте настоящей заявки «контроль» представляет собой альтернативный образец, используемый в эксперименте с целью сравнения. Контроль может быть «положительным» или «отрицательным». Например, если целью эксперимента является определение корреляции эффективности терапевтического агента для лечения конкретного типа заболевания, обычно используют положительный контроль (соединение или композиция, о которых известно, что они проявляют желаемый терапевтический эффект) и отрицательный контроль (субъект или образец, не получающий терапию или получающий плацебо).

[0039] В контексте настоящей заявки термин «эффективное количество» относится к количеству, достаточному для достижения желаемого терапевтического и/или профилактического эффекта, например, к количеству, которое приводит к предупреждению или ослаблению заболевания или состояния, описанного в настоящей заявке, или одного или более признаков или симптомов, связанных с заболеванием или состоянием, описанным в настоящей заявке. В контексте применений в терапевтических или профилактических целях количество композиции, вводимой субъекту, будет варьироваться в зависимости от композиции, степени, типа и тяжести заболевания и от особенностей индивидуума, таких как общее состояние здоровья, возраст, пол, масса тела и переносимость лекарственных средств. Квалифицированный специалист сможет определить подходящие дозировки в зависимости от этих и других факторов. Композиции также могут быть введены в сочетании с одним или более дополнительными терапевтическими соединениями. В способах, описанных в

настоящей заявке, терапевтические композиции могут быть введены субъекту, имеющему один или более признаков или симптомов заболевания или состояния, описанного в настоящей заявке. В контексте настоящей заявки «терапевтически эффективное количество» композиции относится к уровням композиции, при которых физиологические эффекты заболевания или состояния облегчаются или устраняются. Терапевтически эффективное количество может быть введено за одно или несколько введений.

[0040] В контексте настоящей заявки термины «индивидуум», «пациент» или «субъект» могут означать отдельный организм, позвоночное, млекопитающее или человека. В некоторых вариантах реализации индивидуум, пациент или субъект является человеком.

[0041] В контексте настоящей заявки термин «фармацевтически приемлемый носитель» подразумевает включение всех без исключения растворителей, дисперсионных сред, покрытий, антибактериальных и противогрибковых соединений, изотонических и замедляющих всасывание соединений, и т. п., совместимых с фармацевтическим введением. Фармацевтически приемлемые носители и их составы известны специалисту в данной области техники и описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences (20th edition, ed. A. Gennaro, 2000, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.). Примеры фармацевтически приемлемых носителей включают жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, эксципиент, технологическую добавку (например, смазывающее вещество, тальк, стеарат магния, кальция или цинка или стеариновую кислоту) или материал для инкапсулирования растворителя, пригодные для введения активного агента в организм.

[0042] В контексте настоящей заявки термины «предупреждение» или «предупредить» применительно к расстройству или состоянию относятся к одному или более соединениям, которые в статистической выборке снижают частоту возникновения расстройства или состояния в обработанном образце по сравнению с необработанным контрольным образцом, или вызывают отсрочку манифестации одного или более симптомов расстройства или состояния по сравнению с необработанным контрольным образцом.

[0043] В контексте настоящей заявки термин «раздельное» терапевтическое применение относится к введению по меньшей мере двух активных ингредиентов в одно и то же время или по существу в одно и то же время разными способами.

[0044] В контексте настоящей заявки термин «последовательное» терапевтическое применение относится к введению по меньшей мере двух активных ингредиентов в разное время, причем способы введения являются одинаковыми или различаются. Более конкретно, последовательное применение относится к полному введению одного из активных ингредиентов до начала введения другого или других. Таким образом, введение одного из активных ингредиентов может быть осуществлено за несколько минут, часов или дней до введения другого активного ингредиента или ингредиентов. В этом случае одновременное лечение не имеет места.

[0045] В контексте настоящей заявки термин «одновременное» терапевтическое применение относится к введению по меньшей мере двух активных ингредиентов одним и тем же способом и в одно и то же время или по существу в одно и то же время.

[0046] Термины «лечить» или «лечение» в контексте настоящей заявки охватывает лечение заболевания или расстройства, описанного в настоящей заявке, у субъекта, такого как человек, и включает: (i) ингибирование заболевания или расстройства, т. е. остановку его развития; (ii) облегчение заболевания или расстройства, т. е. индукцию регресса расстройства; (iii) замедление прогрессирования расстройства; и/или (iv) ингибирование, облегчение или замедление прогрессирования одного или более симптомов заболевания или расстройства. В некоторых вариантах реализации лечение означает, что симптомы, связанные с заболеванием, например, облегчаются, уменьшаются, излечиваются или приводятся в состояние ремиссии.

[0047] Также следует принимать во внимание, что различные способы лечения расстройств, как описано в настоящей заявке, подразумевают значение «по существу», которое включает полное, но также и меньшее, чем полное лечение, и в при котором достигается какой-либо значимый с биологической или медицинской точки зрения результат. Лечение может быть непрерывным длительным лечением хронического заболевания, или же однократным или осуществляемым несколько раз введением для лечения острого состояния.

Заболевания глаз, связанные с накоплением липофусцина в клетках сетчатки

[0048] Макулярные состояния, связанные с чрезмерным накоплением липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки (RPE) глаза, приводят к слепоте. К макулярным состояниям, демонстрирующим накопление липофусцина, относятся макулярная дистрофия Беста, болезнь Штаргардта/жёлтопятнистая абнотрофия сетчатки, связанный с ABCA4 пигментный ретинит, связанная с ABCA4 палочко-колбочковая дистрофия и возрастная дегенерация желтого пятна (AMD). Липофусцин устойчив к расщеплению лизосомальными ферментами и считается остатком после лизосомального расщепления. Липофусцин в глазу содержит в основном липидные бисретиноиды A2E, изо-A2E и димер полностью транс-ретинаял-фосфатидилэтаноламин. Липофусцин также содержит небольшие количества пептидов с окислительными модификациями, таких как нитротирозин, образующийся из реактивных форм оксида азота и карбоксиэтилпиррола, и аддукты изо[4]левугланина E2, образованные из реакционноспособных липидных фрагментов, и т. д. См., например, Ng K-P, *et al.* (2008) Retinal Pigment Epithelium Lipofuscin Proteomics. *Mol Cell Proteomics* 7(7):1397–1405; Ben-Shabat S, *et al.* Fluorescent pigments of the retinal pigment epithelium and age-related macular degeneration. *Bioorg Med Chem Lett* 11(12):1533–40 (2001).

[0049] Липофусцин накапливается с возрастом и его уровень может увеличиваться из-за генетической предрасположенности и некоторых первичных состояний. См. Molday RS, Zhong M, Quazi F, The role of the photoreceptor ABC transporter ABCA4 in lipid transport and Stargardt macular degeneration. *Biochim Biophys Acta* 1791(7):573–83 (2009); Zaneveld J, *et al.* Comprehensive analysis of patients with Stargardt macular dystrophy reveals new genotype–phenotype correlations and unexpected diagnostic revisions. *Genet Med* 17(4):262–270 (2015); Allikmets R *et al.*, Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration, *Science* 277(5333):1805-7 (1997); van Driel M a, Maugeri a, Klevering BJ, Hoyng CB, Cremers FP, ABCR unites what ophthalmologists divide(s). *Ophthalmic Genet* 19(3):117–122 (1998); Fishman GA, Historical evolution in the understanding of Stargardt macular dystrophy. *Ophthalmic Genet* 31(4):183–9 (2010); Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, Holz FG, Wong TY, Age-related macular degeneration. *Lancet* 379(9827):1728–1738 (2012); Swaroop A, Chew EY, Rickman CB, Abecasis GR, Unraveling a multifactorial late-onset disease: from genetic susceptibility to disease mechanisms for age-related macular degeneration. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 10:19–43

(2009); Charbel Issa P, Barnard AR, Herrmann P, Washington I, MacLaren RE (2015) Rescue of the Stargardt phenotype in Abca4 knockout mice through inhibition of vitamin A dimerization. *Proc Natl Acad Sci* 112(27):8415-20 (2017).

Современные терапевтические стратегии борьбы с накоплением липофусцина в клетках сетчатки

[0050] Медикаментозные виды терапии отложений ЛБ, которые в настоящее время находятся в стадии разработки, включают стратегии, блокирующие образование ЛБ *de novo*, и стратегии удаления ЛБ. Стратегии, блокирующие образование ЛБ *de novo*, включают введение фенретинида, гидрохлорида эмиксустата, дейтерированного витамина А и альдегидных ловушек. Недостатком таких стратегий является то, что, хотя они могут предотвратить образование ЛБ *de novo*, они не могут уменьшить уже существующие отложения ЛБ. Следовательно, стратегии, блокирующие образование ЛБ *de novo*, принесут лишь небольшую пользу или не принесут никакой пользы пациентам с тяжелыми клиническими симптомами. Стратегии удаления ЛБ включают введение сорапразана и ферментативное разложение ЛБ. Ни одна из этих существующих стратегий не достигла достаточного прогресса, чтобы принести клиническую пользу пациентам.

[0051] Среди стратегий, блокирующих образование ЛБ *de novo*, пероральное введение фенретинида – синтетической формы витамина А – которое уже применяется против рака, угрей, муковисцидоза, ревматоидного артрита и псориаза, может конкурентно блокировать транспорт посредством RBP4 витамина А, предшественника ЛБ, из крови в RPE. См. Radu RA, *et al.* (2005) Reductions in Serum Vitamin A Arrest Accumulation of Toxic Retinal Fluorophores: A Potential Therapy for Treatment of Lipofuscin-Based Retinal Diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46(12):4393–4401. Однако, поскольку витамин А является предшественником 11-цис-ретинала – ключевой молекулы, участвующей в нормальном зрении, – пероральный фенретинид продемонстрировал побочные действия, такие как куриная слепота и легкая обратимая сухость кожи. Хотя фенретинид, по-видимому, эффективен в замедлении образования новых ЛБ у животных, он не влияет на уже существующие отложения ЛБ, что может объяснить, почему он не оказал значительного терапевтического эффекта у пациентов с уже диагностированной болезнью Штаргардта или AMD.

[0052] Гидрохлорид эмиксустата для перорального применения (Acucela Inc) представляет собой синтетический неретиноидный обратимый ингибитор фермента

RPE65, который превращает полностью транс-ретинол в 11-цис-ретинол, способствуя эндогенному синтезу последнего. В мае 2016 года результаты исследования SEATTLE фазы 2b/3 не показали каких-либо существенных различий в скорости дегенерации сетчатки или изменениях остроты зрения. Эмиксустат также вызывал значительную куриную слепоту, что ограничивает его применение. Как и фенретинол, эмиксустат не оказывает действия на уже существующие отложения ЛБ.

[0053] Дейтерированный витамин А для перорального применения (ALK-001) представляет собой витамин А, модифицированный путем замены водорода дейтерием – безопасным нерадиоактивным изотопом. Дейтерированный витамин А имеет более низкую склонность к спонтанной димеризации в ЛБ. Длительное пероральное введение ALK-001 животным ABCA4^{-/-} снижало накопление липофусцина и А2Е на 70% и 80% соответственно. Оценка электрического ответа сетчатки на световые сигналы (электроретинограмма) показала, что лечение ALK-001 предотвращало постепенную потерю зрительной функции, наблюдаемую в мышине ABCA4^{-/-} модели. Завершены клинические исследования безопасности фазы 1 (NCT02230228) и продолжается многоцентровое клиническое исследование лечения STGD1 фазы 2 (NCT02402660). Учитывая, что ALK-001 блокирует образование липофусцина, неясно, повлияет ли он на уже существующие отложения ЛБ у пациентов с AMD.

[0054] Альдегидные ловушки для перорального применения (VM200, Vision Medicines) представляют собой новые лекарственные средства, которые вступают в реакцию с ретинальдегидами, образуя обратимые основания Шиффа и, таким образом, снижая доступные уровни свободных альдегидов с клеточными аминогруппами. См. Maeda A, *et al.* (2012) Primary amines protect against retinal degeneration in mouse models of retinopathies. *Nat Chem Biol* 8(2):170–8.

[0055] Сообщалось об успешном удалении липофусцина из клеток RPE в сетчатке обезьян после одного года перорального введения сопразана (калий-конкурентного блокатора протонной помпы). См. Julien and Schraermeyer (2012) Lipofuscin can be eliminated from the retinal pigment epithelium of monkeys. *Neurobiol Aging* 33(10):2390–7.

[0056] Поскольку отложения ЛБ устойчивы к разложению лизосомальными гидролазами, несколько групп проводили поиск экзогенных ферментов с разрушающей ЛБ активностью, такие как пероксидаза хрена (HRP). См., например, Wu Y, Zhou J, Fishkin N, Rittmann BE, Sparrow JR, Enzymatic degradation of A2E, a retinal pigment

epithelial lipofuscin bisretinoid. *J Am Chem Soc* 133(4):849–57 (2011); Sparrow JR, Zhou J, Ghosh SK, Liu Z, Bisretinoid degradation and the ubiquitin-proteasome system. *Adv Exp Med Biol* 801:593–600 (2014); Yogalingam G, *et al.* Cellular uptake and delivery of Myeloperoxidase to lysosomes promotes lipofuscin degradation and lysosomal stress in retinal cells. *J Biol Chem* 292:4255–4265 (2017). Однако побочные продукты разложения этими ферментами очень токсичны и потенциально могут вызвать серьезное повреждение сетчатки.

Способы терапии согласно настоящей технологии

[0057] Настоящее изобретение относится к композициям, которые изолируют и устраняют отложения ЛБ из клеток сетчатки, например, метил-бета-циклодекстрину (M β CD), 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрину (HP β CD), сульфобутиловому эфиру β -циклодекстрина (SBE β CD) и любой их фармацевтически приемлемой соли. См. **Фиг. 1A-1B**. В одном из аспектов настоящее изобретение относится к способам предупреждения или лечения субъекта, страдающего заболеванием глаз, связанным с накоплением липофусцина в клетках сетчатки, где способ включает введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества замещенного β -циклодекстрина, где замещенный β -циклодекстрин включает произвольно замещенный бета-циклодекстрин со степенью замещения (DS) от 4 до 14,5.

[0058] В одном из аспектов настоящая технология относится к способу предупреждения или лечения заболевания глаз, связанного с накоплением липофусцина в клетках сетчатки, без ухудшения остроты зрения у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение указанному субъекту эффективного количества сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE- β CD) или его фармацевтически приемлемой соли. Заболевание глаз, связанное с накоплением липофусцина в клетках сетчатки, может быть выбрано из группы, состоящей из болезни Штаргардта (STGD), пигментного ретинита (RP), возрастной дегенерации желтого пятна (AMD), болезни Беста (BD) и палочко-колбочковой дистрофии. Состояния и заболевания, поддающиеся лечению описанными в настоящей заявке способами, включают любое офтальмологическое или относящееся к сетчатке заболевание или состояние, прямо или косвенно вызванное накоплением липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки (RPE), которое может быть генетическим или негенетическим, например, возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD), болезнь Штаргардта, болезнь Беста (BD), пигментный ретинит и палочко-колбочковую дистрофию. Дополнительно или в

качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации эффективное количество β -циклодекстрина (например, SBE β CD) не ухудшает остроту зрения при введении указанному субъекту.

[0059] Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации заболевание глаз является генетическим, негенетическим или связано со старением. В еще одном аспекте настоящая технология относится к способу предупреждения или лечения накопления липофусцина в клетках сетчатки без ухудшения остроты зрения у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение указанному субъекту эффективного количества сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE- β CD) или его фармацевтически приемлемой соли.

[0060] Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, введение эффективного количества SBE- β CD или его фармацевтически приемлемой соли предотвращает обострение липофусцин-ассоциированного повреждения сетчатки у указанного субъекта.

[0061] Также в настоящей заявке раскрыты способы снижения накопления липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки, включающие приведение клеток пигментного эпителия сетчатки в контакт с эффективным количеством сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE- β CD) или его фармацевтически приемлемой соли.

[0062] Как правило, рассматриваемое в настоящей заявке лечение оказывает эффект остановки, ослабления или устранения накопления липида бисретиноида липофусцина в клетках RPE, а также остановки, ослабления или устранения липофусцин-ассоциированного повреждения или связанного заболевания или состояния. В некоторых вариантах реализации один или более бета-циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли выполнены с возможностью образования комплекса и удаления липида бисретиноида липофусцина в клетках RPE. Не ограничиваясь какой-либо конкретной теорией, полагают, что один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли обладают полостью (т. е. связывающим карманом), подходящей для принятия по меньшей мере одной молекулы липида бисретиноида липофусцина в качестве партнера. В результате образуется комплекс между β -циклодекстрином(ами) и молекулой липида бисретиноида

липофусцина. Взаимодействие между β -циклодекстрином(ами) и молекулой липида бисретиноида липофусцина обычно носит нековалентный характер, например, происходит за счет водородных связей и/или Вандерваальсовых (дисперсионных) сил. Липид бисретиноида липофусцина обычно представляет собой A2E, изомер A2E, окисленное производное A2E, A2-дигидропиридин-фосфатидилэтаноламин или димер полностью транс-ретинала.

[0063] Термин «фармацевтически приемлемая соль» означает соль, полученную из основания или кислоты, которая приемлема для введения пациенту, такому как млекопитающее (например, соли, имеющие приемлемую безопасность для млекопитающих для данного режима дозирования). Однако подразумевается, что соли не обязательно должны быть фармацевтически приемлемыми солями, например, могут являться солями промежуточных соединений, которые не предназначены для введения пациенту. Фармацевтически приемлемые соли могут быть получены из фармацевтически приемлемых неорганических или органических оснований и из фармацевтически приемлемых неорганических или органических кислот. Кроме того, когда один или более β -циклодекстринов согласно настоящей технологии содержит как основную составляющую, такую как амин, пиридин или имидазол, так и кислотную составляющую, такую как карбоновая кислота или тетразол, могут быть образованы цвиттерионы, и они также охватываются термином «соль» в контексте настоящей заявки.

[0064] В одном из вариантов реализации один или более β -циклодекстринов могут содержать одну или более основных функциональных групп, таких как амино или алкиламино, и, таким образом, могут образовывать фармацевтически приемлемые соли путем реакции с фармацевтически приемлемой кислотой. Эти соли могут быть получены *in situ* в процессе производства носителя для введения или лекарственной формы, или путем отдельной реакции очищенного соединения согласно настоящей технологии в форме свободного основания с подходящей органической или неорганической кислотой и выделения образованной таким образом соли во время последующей очистки. В еще одном варианте реализации один или более β -циклодекстринов могут содержать одну или более кислотных функциональных групп, и, таким образом, могут образовывать фармацевтически приемлемые соли путем реакции с фармацевтически приемлемым основанием. Эти соли также могут быть получены *in situ* в процессе производства носителя для введения или лекарственной

формы, или путем отдельной реакции очищенного соединения в форме свободной кислоты (например, гидроксильной или карбоксильной) с подходящим основанием и выделения образованной таким образом соли во время последующей очистки.

[0065] Соли, полученные из фармацевтически приемлемых неорганических оснований, включают соли аммония, алюминия, кальция, меди, железа (III), железа (II), лития, магния, марганца (III), марганца (II), калия, натрия и цинка, и т. п. Соли, полученные из фармацевтически приемлемых органических оснований, включают соли первичных, вторичных и третичных аминов, включая замещенные амины, циклические амины, встречающиеся в природе амины и т. п., такие как аргинин, бетаин, кофеин, холин, N,N'-дибензилэтилендиамин, этиламин, диэтиламин, 2-диэтиламиноэтанол, 2-диметиламиноэтанол, этаноламин, диэтаноламин, этилендиамин, N-этилморфолин, N-этилпиперидин, глюкамин, глюкозамин, гистидин, гидрабамин, изопропиламин, лизин, метилглюкамин, морфолин, пиперазин, пиперидин, полиаминные смолы, прокаин, пурины, теобромин, триэтиламин, триметиламин, трипропиламин, трометамин и т. п. Соли, полученные из фармацевтически приемлемых неорганических кислот, включают соли борной, угольной, галогеноводородной (бромистоводородной, соляной, фтористоводородной или иодистоводородной), азотной, фосфорной, сульфаминовой и серной кислот. Соли, полученные из фармацевтически приемлемых органических кислот, включают соли алифатических гидроксикислот (например, лимонной, глюконовой, гликолевой, молочной, лактобионовой, яблочной и винной кислот), алифатических монокарбоновых кислот (например, уксусной, масляной, муравьиной, пропионовой и трифторуксусной кислот), аминокислот (например, аспарагиновой и глутаминовой кислот), ароматических карбоновых кислот (например, бензойной, 2-ацетоксибензойной, п-хлорбензойной, дифенилуксусной, гентизиновой, гиппуровой и трифенилуксусной кислот), ароматических гидроксильных кислот (например, о-гидроксibenзойной, п-гидроксibenзойной, 1-гидроксинафталин-2-карбоновой и 3-гидроксинафталин-2-карбоновой кислот), аскорбиновой, двухосновных карбоновых кислот (например, фумаровой, малеиновой, щавелевой и янтарной кислот), глюкуроновой, миндальной, муциновой, никотиновой, оротовой, памоевой, пантотеновой, сульфоновых кислот (например, бензолсульфоновой, камфорсульфоновой, этандисульфоновой, этансульфоновой, изэтионовой, метансульфоновой, нафталинсульфоновой, нафталин-1,5-дисульфоновой, нафталин-2,6-дисульфоновой и п-толуолсульфоновой кислот), ксинафоевой кислоты,

валериановой, олеиновой, пальмитиновой, стеариновой, лауриновой, толуолсульфоновой, метансульфоновой, этандисульфоновой, лимонной, аскорбиновой, малеиновой, шавелевой, фумаровой, фенилуксусной, изотионовой, янтарной, винной, глутаминовой, салициловой, сульфаниловой, нафтиловой, лактобионовой, глюконовой, лаурилсульфоновой кислот, и т. п.

[0066] Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации введение эффективного количества одного или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемых солей предотвращает обострение липофусцин-ассоциированного повреждения сетчатки у субъекта. Во всех возможных вариантах реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, введение эффективного количества одного или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемых солей блокирует, ослабляет или способствует устранению накопления липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки. В некоторых вариантах реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, введение эффективного количества одного или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемых солей предупреждает, вызывает отсрочку манифестации или уменьшает тяжесть липофусцин-ассоциированного повреждения или заболевания или состояния, прямо или косвенно связанного с липофусцин-ассоциированным повреждением или накоплением липофусцина в клетках RPE субъекта. Субъект может быть любого пола (например, мужского или женского) и/или также может быть любого возраста, например, представлять собой субъектов пожилого возраста (как правило, по меньшей мере 60, 70 или 80 лет, или старше), субъектов возраста, переходного от взрослого к пожилому, взрослых, субъектов возраста, переходного от юношеского ко взрослому, и юношей, включая подростков (например, от 13 и до 16, 17, 18 или 19 лет), детей (как правило, младше 13 лет или до наступления половой зрелости) и младенцев. Субъект также может принадлежать к любой этнической группе или генотипу. Некоторые примеры этнических групп людей включают представителей европеоидной расы, азиатов, латиноамериканцев, африканцев, афроамериканцев, коренных американцев, семитов и уроженцев островов Тихого океана.

[0067] Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли выполнены с возможностью локализации в клетках RPE. В отдельных вариантах реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, один или более β -

циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли выполнены с возможностью образования комплекса с липидами бисретиноидов липофусцина в клетках RPE. Комплекс можно рассматривать как организованную химическую единицу, возникающую в результате ассоциации двух или более компонентов, удерживаемых вместе нековалентными межмолекулярными силами.

[0068] Дополнительно или в качестве альтернативы, в отдельных вариантах реализации один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли локализуются в клетках RPE путем их введения непосредственно на, в или непосредственно вблизи клеток RPE, например, путем инъекции или имплантации. В других вариантах реализации один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли локализуются в клетках RPE путем связывания одного или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемых солей с нацеливающим агентом, который селективно нацеливается на клетки RPE, и один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли могут быть введены на, в или непосредственно вблизи клеток RPE, или в удалении от клеток RPE (например, путем системного введения). Агент нацеливания на клетку (т. е. «нацеливающий агент») представляет собой любое химическое соединение, обладающее способностью связываться с клеткой RPE (т. е. «нацеливаться» на нее). Агент нацеливания на клетку может нацеливаться на любую часть клетки RPE, например, клеточную мембрану, органеллу (например, лизосому или эндосому) или цитоплазму. В одном из вариантов реализации агент нацеливания на клетку нацеливается на компонент клетки RPE избирательным образом. Путем избирательного нацеливания на компонент клетки RPE агент нацеливания на клетку может, например, избирательно нацеливаться на определенные компоненты клеток по сравнению с другими типами клеточных компонентов. В других вариантах реализации нацеливающий агент нацеливается на клеточные компоненты неизбирательно, например, нацеливаясь на клеточные компоненты, присутствующие в большинстве или во всех клетках.

[0069] В различных вариантах реализации нацеливающий агент может представлять собой или включать, например, пептид, дипептид, трипептид (например, глутатион), тетрапептид, пентапептид, гексапептид, высший олигопептид, белок, моносахарид, дисахарид, трисахарид, тетрасахарид, высший олигосахарид, полисахарид (например, углевод), азотистое основание, нуклеозид (например, аденозин, цитидин, уридин,

гуанозин, тимидин, инозин и S-аденозилметионин), нуклеотид (например, моно-, ди- или трифосфатные формы), динуклеотид, тринуклеотид, тетрануклеотид, высший олигонуклеотид, нуклеиновую кислоту, кофактор (например, TPP, FAD, NAD, кофермент А, биотин, липоамид, ионы металлов (например, Mg^{2+}), металлсодержащие кластеры (например, железосерные кластеры) или небиологическую (т. е. синтетическую) нацеливающую группу. Некоторые конкретные типы белков включают ферменты, гормоны, антитела (например, моноклональные антитела), лектины и стероиды.

[0070] Антитела для применения в качестве нацеливающих агентов обычно специфичны к одному или более антигенам клеточной поверхности. В частном варианте реализации антиген представляет собой рецептор. Антитело может представлять собой целое антитело или, в качестве альтернативы, фрагмент антитела, в котором сохранена распознающая часть (т. е. гипервариабельная область) антитела. Некоторые примеры фрагментов антител включают Fab, Fc и $F(ab')_2$. В частных вариантах реализации, особенно с целью облегчения перекрестного связывания антитела с одним или более β -циклодекстринами или их фармацевтически приемлемыми солями, описанными в настоящей заявке, антитело или фрагмент антитела могут быть химически восстановлены для дериватизации антитела или фрагмента антитела сульфгидрильными группами. В отдельных вариантах реализации нацеливающий агент представляет собой лиганд интернализованного рецептора клетки-мишени. Например, нацеливающий агент может представлять собой нацеливающий сигнал для белков-предшественников кислых гидролаз, которые транспортируют различные вещества в лизосомы. Одним из таких нацеливающих агентов, представляющим особый интерес, является маннозо-6-фосфат (М6Р), который распознается белками маннозо-6-фосфатного рецептора (MPR) в транс-Гольджи. Известно, что эндосомы участвуют в транспорте веществ, меченых М6Р, в лизосомы.

[0071] В других вариантах реализации нацеливающий агент представляет собой пептид, содержащий последовательность RGD или ее варианты, которые связывают рецепторы RGD на поверхности многих типов клеток. Другие нацеливающие агенты включают, например, трансферрин, инсулин, амилин и т. п. Для облегчения внутриклеточной доставки одного или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемых солей, описанных в настоящей заявке, может быть использована интернализация рецептора. В отдельных вариантах реализации одна

нацеливающая на клетку молекула или группа, или несколько (например, две, три или более) нацеливающих на клетку молекул или групп того же типа, присоединены к одному или более β -циклодекстринам или их фармацевтически приемлемым солям напрямую или через линкер. В других вариантах реализации два или более различных типов нацеливающих молекул присоединены к одному или более β -циклодекстринам или их фармацевтически приемлемым солям напрямую или через линкер.

[0072] Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах реализации к одному или более β -циклодекстринам или их фармацевтически приемлемым солям может быть присоединен флуорофор. Включение одного или более флуорофоров может служить нескольким целям. В некоторых вариантах реализации один или более флуорофоров включают для количественной оценки клеточного захвата и удержания одного или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемых солей (например, методом флуоресцентной спектроскопии).

[0073] В контексте настоящей заявки «флуорофор» относится к любому веществу, обладающему способностью к флуоресценции (т. е. обладающему флуоресцентным свойством). Например, в одном из вариантов реализации флуорофор представляет собой органический флуорофор. Органический флуорофор может представлять собой, например, заряженную (т. е. ионную) молекулу (например, сульфонатные или аммониевые группы), незаряженную (т. е. нейтральную) молекулу, насыщенную молекулу, ненасыщенную молекулу, циклическую молекулу, бициклическую молекулу, трициклическую молекулу, полициклическую молекулу, ациклическую молекулу, ароматическую молекулу и/или гетероциклическую молекулу (т. е. замещенную в кольце одним или более гетероатомами, выбранными, например, из азота, кислорода и серы). В частном случае ненасыщенных флуорофоров флуорофор содержит одну, две, три или более двойных и/или тройных связей углерод-углерод и/или углерод-азот. В частном варианте реализации флуорофор содержит по меньшей мере две (например, две, три, четыре, пять или более) сопряженных двойных связи помимо любой ароматической группы, которая может присутствовать во флуорофоре. В других вариантах реализации флуорофор представляет собой конденсированный полициклический ароматический углеводород (ПАУ), содержащий по меньшей мере два, три, четыре, пять или шесть колец (например, нафталин, пирен, антрацен, хризен, трифенилен, тетрацен, азулен и фенантрен), где ПАУ может быть необязательно

замещенным в кольце или дериватизированным одним, двумя, тремя или более гетероатомами или содержащими гетероатомы группами.

[0074] В других вариантах реализации органический флуорофор представляет собой производное ксантана (например, флуоресцеин, родамин, орегонский зеленый, эозин и тexasский красный), цианин или его производные или подклассы (например, стрептоцианины, гемицианины, цианины с замкнутой цепью, фикоцианины, аллофикоцианины, индокарбоцианины, оксакарбоцианины, тиакарбоцианины, мероцианины и фталоцианины), производные нафталина (например, производные дансила и продана), кумарин и его производные, оксадиазол и его производные (например, пиридиллоксазолы, нитробензоксадиазолы и бензоксадиазолы), пирен и его производные, оксазин и его производные (например, нильский красный, нильский синий и крезильный фиолетовый), производные акридина (например, профлавин, акридиновый оранжевый и акридиновый желтый), арилметановые производные (например, аурамин, кристаллический фиолетовый и малахитовый зеленый) и производные тетрапиррола (например, порфирины и билирубины). Некоторые конкретные семейства красителей, рассматриваемые в настоящей заявке, представляют собой семейство красителей Cy®, семейство красителей Alexa®, семейство красителей ATTO® и семейство красителей Dy®. В частности, красители ATTO® могут иметь несколько структурных мотивов, включая структурные мотивы на основе кумарина, родамина, карбопиронина и оксазина.

[0075] Флуорофор может быть присоединен к одному или более β-циклодекстринам или их фармацевтически приемлемым солям с помощью любой из методик связывания, известных в данной области техники. Например, коммерчески доступный монореактивный флуорофор (например, NHS-Cy5) или бис-реактивный флуорофор (например, бис-NHS-Cy5 или бис-малеимид-Cy5) может быть использован для связывания флуорофора с одной или более молекулами, содержащими подходящие реакционноспособные группы (например, аминогруппы, тиольные группы, гидроксигруппы, альдегидные или кетоновые группы). В качестве альтернативы, один или более β-циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли могут быть дериватизированы одной, двумя или большим количеством таких реакционноспособных групп, и эти реакционноспособные части подвергнуты реакции с флуорофором, содержащим соответствующие реакционноспособные группы (например, аминоксодержащим флуорофором).

[0076] Один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли могут быть введены любым способом, который обеспечивает приведение в контакт с клетками RPE. Введение может представлять собой, например, введение в глаз, парентеральный (например, подкожный, внутримышечный или внутривенный), местный, трансдермальный, интравитреальный, ретроорбитальный, субретинальный, субсклеральный, пероральный, сублингвальный или трансбуккальный способы введения. Некоторые из вышеупомянутых иллюстративных способов введения могут быть осуществлены путем инъекции. Однако в некоторых вариантах реализации инъекции избегают путем использования имплантата с медленным высвобождением вблизи сетчатки (например, при субсклеральном способе) или путем введения капель на конъюнктиву. Один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли согласно настоящей технологии могут быть введены местно, в глаза пациентов, страдающих от накопления липофусцина, включая болезнь Штаргардта, носителей дефектов генов ABCA4, сухой AMD или подверженных риску развития дегенерации сетчатки из-за накопления липидных бисретиноидов (липофусцина). Местное введение включает интравитреальное, местное введение в глаз, трансдермальный пластырь, подкожную, парентеральную, внутриглазную, субконъюнктивальную, ретробульбарную или субтеноновую инъекцию, трансклеральную (включая ионтофорез) доставку, доставку позади глазного яблока или биоразлагаемые полимеры или липосомы с медленным высвобождением. Один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли также могут быть доставлены в растворах для промывки глаз. Концентрации могут находиться в диапазоне от приблизительно 0,001 мкМ до приблизительно 100 мкМ, предпочтительно от приблизительно 0,01 мкМ до приблизительно 5 мкМ.

[0077] В некоторых вариантах реализации один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли вводят, по меньшей мере первоначально, на уровнях ниже, чем требуемый для достижения желаемого терапевтического эффекта, и дозу постепенно или резко увеличивают до тех пор, пока не будет достигнут желаемый эффект. В других вариантах реализации один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли вводят, по меньшей мере первоначально, на уровнях выше, чем требуемый, для ускорения достижения желаемого терапевтического эффекта, и дозу постепенно или резко уменьшают до тех пор, пока не будет достигнут желаемый эффект.

[0078] Выбранный уровень дозировки будет зависеть от нескольких факторов, определяемых практикующим врачом. Некоторые из этих факторов включают тип заболевания или состояния, подлежащего лечению, стадию или степень тяжести состояния или заболевания, эффективность применяемого терапевтического соединения и его профиль биодоступности, а также особенности (например, генотип и фенотип) субъекта, получающего лечение, например, возраст, пол, масса тела и общее состояние здоровья.

[0079] В частности, для системных способов введения дозировка может находиться, например, в диапазоне от приблизительно 0,01, 0,1, 0,5, 1, 5 или 10 мг на кг массы тела в сутки до приблизительно 20, 50, 100, 500 или 1000 мг на кг массы тела в сутки, или один раз в два дня, или два, три, четыре или более раз в сутки. В частности, в вариантах реализации, где один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли вводят несистемно непосредственно в область сетчатки, дозировка может не учитывать массу тела и может составлять меньшие количества (например, 1-1000 мкг на дозу). В некоторых вариантах реализации суточная доза одного или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемых солей является самой низкой дозой, эффективной для обеспечения терапевтического эффекта. В некоторых вариантах реализации один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли вводят не отдельными дозами, а в непрерывном режиме, например, с помощью имплантата с медленным высвобождением или капельницы.

[0080] В одном из аспектов настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим замещенный β -циклодекстрин, где замещенный β -циклодекстрин включает произвольно замещенный бета-циклодекстрин со степенью замещения (DS) от 4 до 14,5. В одном из аспектов настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим один или более циклодекстринов, выбранных из группы, состоящей из метил-бета-циклодекстрина ($M\beta CD$), 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрина ($HP\beta CD$), сульфобутилового эфира β -циклодекстрина ($SBE\beta CD$) и их фармацевтически приемлемых солей.

[0081] Один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли могут быть включены в состав препарата вместе с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями (добавками) и/или разбавителями, известными в данной области техники. Фармацевтические композиции согласно настоящей технологии могут быть специально составлены для введения в твердой или жидкой форме, в том

числе адаптированы для следующего: (1) пероральное введение, например, вливания (водные или неводные растворы или суспензии), таблетки, например, предназначенные для буккального, сублингвального и системного всасывания, болюсы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык; (2) парентеральное введение, например, путем подкожной, внутримышечной, внутривенной или эпидуральной инъекции в виде, например, стерильного раствора или суспензии, или препарата с замедленным высвобождением; (3) местное применение, например, в виде крема, мази или пластыря с контролируемым высвобождением или спрея, наносимых на кожу; (4) сублингвально; (5) в глаз; (6) трансдермально; или (7) назально.

[0082] В некоторых вариантах реализации фармацевтические композиции согласно настоящей технологии могут содержать один или более «фармацевтически приемлемых носителей», которые в контексте настоящей заявки обычно относятся к фармацевтически приемлемой композиции, таких как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, эксципиент, технологическая добавка (например, смазывающее вещество, тальк, стеарат магния, кальция или цинка или стериновая кислота) или материал для инкапсулирования растворителя, пригодные для введения активного агента в организм. Каждый носитель должен быть «приемлемым» в том смысле, что он должен быть совместим с другими ингредиентами препарата и не причинять вреда пациенту. Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые могут быть использованы в фармацевтических композициях согласно настоящей технологии, включают, например, воду, этанол, многоатомные спирты (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т. п.), растительные масла (такие как оливковое масло) и органические сложные эфиры для инъекций (такие как этилолеат), и их подходящие смеси. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, путем использования покрывающих материалов, таких как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и путем использования поверхностно-активных веществ.

[0083] В некоторых вариантах реализации препараты могут включать один или более сахаров, таких как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как натрий-карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; эксципиенты, такие как масло какао и воски для суппозиторий; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое

масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; многоатомные спирты, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; альгиновую кислоту; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; апирогенную воду; изотонический физиологический раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; растворы с забуференным рН; сложные полиэфиры, поликарбонаты и/или полиангидриды; консерванты; скользящие вещества; наполнители; и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических препаратах.

[0084] В фармацевтическую композицию также могут быть включены различные вспомогательные агенты, такие как смачивающие агенты, эмульгаторы, смазывающие вещества (например, лаурилсульфат натрия и стеарат магния), красители, регуляторы скорости высвобождения, покрывающие агенты, подсластители, вкусоароматические вещества, консерванты и антиоксиданты. Некоторые примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают: (1) водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и т. п.; (2) жирорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол (ВНА), бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т. п.; и (3) металл-хелатирующие агенты, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т. п. В некоторых вариантах реализации фармацевтический препарат включает эксципиент, выбранный, например, из целлюлоз, липосом, мицеллообразующих агентов (например, желчных кислот) и полимерных носителей, например, сложных полиэфиров и полиангидридов. Суспензии, помимо активных соединений, могут содержать суспендирующие агенты, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбитол и сложные эфиры сорбитана, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант, а также их смеси. Предотвращение действия микроорганизмов на активные соединения может быть обеспечено включением различных антибактериальных и противогрибковых агентов, таких как, например, парабен, хлорбутанол, фенолсорбиновая кислота и т. п. Также может быть желательно включение в композиции изотонических агентов, таких как сахара, хлорид натрия и т. п. Кроме того, пролонгированное всасывание

фармацевтической формы для инъекций может быть обеспечено включением агентов, замедляющих всасывание, таких как моностеарат алюминия и желатин.

[0085] Фармацевтические препараты согласно настоящей технологии могут быть получены любым из способов, известных в фармацевтике. Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с материалом носителя для получения единичной лекарственной формы, будет варьироваться в зависимости от пациента, получающего лечение, и конкретного способа введения. Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с материалом носителя для получения единичной лекарственной формы, обычно будет таким количеством соединения, которое оказывает терапевтический эффект. Как правило, количество активного соединения будет находиться в диапазоне приблизительно от 0,1 до 99 процентов, чаще приблизительно от 5 до 70 процентов и еще чаще приблизительно от 10 до 30 процентов.

[0086] Композиции согласно настоящей технологии могут быть введены местно, в глаза пациентов, страдающих от накопления липофусцина, включая болезнь Штаргардта, носителей дефектов генов ABCA4, сухой AMD или подверженных риску развития дегенерации сетчатки из-за накопления липидных бисретиноидов (липофусцина). Один или более β -циклодекстринов согласно настоящей технологии или их фармацевтически приемлемые соли могут быть включены в различные типы офтальмологических препаратов для доставки в глаз (например, местно, внутрикамерно, окологсклерально или с помощью имплантата). Один или более β -циклодекстринов согласно настоящей технологии или их фармацевтически приемлемые соли могут быть объединены с офтальмологически приемлемыми консервантами, поверхностно-активными веществами, усилителями вязкости, гелеобразующими агентами, усилителями проникновения, буферами, хлоридом натрия и водой с образованием водных стерильных офтальмологических суспензий или растворов или готовых гелей или гелей, образованных *in situ*.

[0087] В некоторых вариантах реализации замещенный β -циклодекстрин согласно настоящей технологии (например, метил-бета-циклодекстрин (M β CD), 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрин (HP β CD), сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина (SBE β CD) и их фармацевтически приемлемые соли) вводят 1-10 раз в сутки, один раз в сутки, два, три, четыре или более раз в сутки, 1-3 раза в сутки, 2-4 раза в сутки, 3-6 раз в сутки, 4-8 раз в сутки или 5-10 раз в сутки. В некоторых

вариантах реализации замещенный β -циклодекстрин (например, метил-бета-циклодекстрин ($M\beta CD$), 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрин ($HP\beta CD$), сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина ($SBE\beta CD$) и их фармацевтически приемлемые соли) вводят каждый день, через день, 2-3 раза в неделю или 3-6 раз в неделю.

[0088] В некоторых вариантах реализации доза замещенного β -циклодекстрина (например, метил-бета-циклодекстрина ($M\beta CD$), 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрина ($HP\beta CD$), сульфобутилового эфира β -циклодекстрина ($SBE\beta CD$) и их фармацевтически приемлемых солей) может находиться, например, в диапазоне от приблизительно 0,01, 0,1, 0,5, 1, 5, 10 или 100 мг на кг массы тела в сутки до приблизительно 20, 50, 100, 500 или 1000 мг на килограмм массы тела. В частности, в вариантах реализации, где активное вещество вводят непосредственно в область сетчатки, вводимая дозировка может не зависеть от массы тела и может составлять меньшие количества (например, 1-1000 мкг на дозу).

[0089] При местном дозировании один или более β -циклодекстринов согласно настоящей технологии или их фармацевтически приемлемые соли могут быть введены в состав офтальмологических суспензий или растворов для местного применения с pH приблизительно от 4 до 8. Один или более β -циклодекстринов согласно настоящей технологии или их фармацевтически приемлемые соли обычно содержатся в этих препаратах в количестве от 0,001 мас.% до 5 мас.% или в количестве от 0,01 мас.% до 2 мас.%. Таким образом, для местного применения 1-2 капли этих препаратов могут быть доставлены на поверхность глаза от 1 до 4 раз в сутки, по усмотрению квалифицированного клинициста. В некоторых вариантах реализации фармацевтические композиции согласно настоящей технологии, содержащие терапевтически эффективные количества по меньшей мере одного мономерного или полимерного циклодекстринов, доставляют интравитреально посредством инъекции (возможно, микросфер), интравитреального устройства или помещают в субтеноново пространство с помощью инъекции, геля или имплантата, или другими способами, описанными выше. При доставке в виде раствора терапевтически эффективное количество одного или более β -циклодекстринов согласно настоящей технологии или их фармацевтически приемлемых солей в композиции может составлять приблизительно 18-44 мкМ при концентрации приблизительно 20-50%. При приготовлении в виде суспензии терапевтически эффективное количество одного или

более β -циклодекстринов согласно настоящей технологии или их фармацевтически приемлемых солей составляет приблизительно 20-80%. В еще одном варианте реализации терапевтически эффективное количество одного или более β -циклодекстринов согласно настоящей технологии или их фармацевтически приемлемых солей вводят в форме минитаблетки, каждая массой от приблизительно 1 мг до приблизительно 40 мг, или приблизительно 5 мг. От одной до двадцати таких минитаблеток может быть введено путем инъекции [в сухом виде] в субтенозное пространство через троакар за одну дозу, так что общая разовая доза составляет 50-100 мг [44-88 мкМ].

[0090] В некоторых вариантах реализации замещенный β -циклодекстрин (например, метил-бета-циклодекстрин ($M\beta CD$), 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрин ($HP\beta CD$), сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина ($SBE\beta CD$) и их фармацевтически приемлемые соли) вводят 1-10 раз в сутки, один раз в сутки, два, три, четыре или более раз в сутки, 1-3 раза в сутки, 2-4 раза в сутки, 3-6 раз в сутки, 4-8 раз в сутки или 5-10 раз в сутки. В некоторых вариантах реализации замещенный β -циклодекстрин (например, метил-бета-циклодекстрин ($M\beta CD$), 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрин ($HP\beta CD$), сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина ($SBE\beta CD$) и их фармацевтически приемлемые соли) вводят каждый день, через день, 2-3 раза в неделю или 3-6 раз в неделю.

[0091] В некоторых вариантах реализации доза замещенного β -циклодекстрина (например, метил-бета-циклодекстрина ($M\beta CD$), 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрина ($HP\beta CD$), сульфобутилового эфира β -циклодекстрина ($SBE\beta CD$) и их фармацевтически приемлемых солей) может находиться, например, в диапазоне от приблизительно 0,01, 0,1, 0,5, 1, 5, 10 или 100 мг на кг массы тела в сутки до приблизительно 20, 50, 100, 500 или 1000 мг на килограмм массы тела. В частности, в вариантах реализации, где активное вещество вводят непосредственно в область сетчатки, вводимая дозировка может не зависеть от массы тела и может составлять меньшие количества (например, 1-1000 мкг на дозу).

[0092] Препараты согласно настоящей технологии, подходящие для перорального введения, могут быть в форме капсул, облаток, пилюль, таблеток, леденцов (с использованием ароматизированной основы, обычно сахарозы и гуммиарабика или трагаканта), порошков, гранул, или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости, или в виде жидкой эмульсии типа масло-в-воде или вода-в-масле,

или в виде эликсира или сиропа, или в виде пастилок (с использованием инертной основы, такой как желатин и глицерин, или сахароза и гуммиарабик), и/или в виде жидкостей для полоскания рта и т. п., каждый из которых содержит заданное количество соединения согласно настоящей технологии в качестве активного ингредиента. Активное соединение также может быть введено в виде болюса, электуария или пасты.

[0093] Способы приготовления этих препаратов обычно включают стадию смешивания β -циклодекстрина согласно настоящей технологии или его фармацевтически приемлемой соли с носителем и, необязательно, одним или более вспомогательными агентами. В случае твердой лекарственной формы (например, капсул, таблеток, пилюль, порошков, гранул, таблеток для рассасывания и т. п.) активное соединение может быть смешано с мелкодисперсным твердым носителем и, как правило, формовано, например, путем дражирования, таблетирования, гранулирования, измельчения в порошок или нанесения в качестве покрытия. Как правило, твердый носитель может включать, например, цитрат натрия или гидрофосфат кальция, и/или любое из следующего: (1) наполнители или сухие разбавители, такие как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; (2) связующие, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или гуммиарабик; (3) увлажнители, такие как глицерин; (4) средства для улучшения распадаемости, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия; (5) агенты, замедляющие растворение, такие как парафин; (6) ускорители всасывания, такие как соединения четвертичного аммония и поверхностно-активные вещества, такие как полоксамер и лаурилсульфат натрия; (7) смачивающие агенты, такие как, например, цетиловый спирт, моностеарат глицерина и неионогенные поверхностно-активные вещества; (8) абсорбенты, такие как каолин и бентонитовая глина; (9) смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия, стеарат цинка, стеарат натрия, стеариновая кислота и их смеси; (10) красители; и/или (11) регуляторы скорости высвобождения, такие как кросповидон или этилцеллюлоза. В случае капсул, таблеток и пилюль фармацевтические композиции могут также содержать буферные агенты. Твердые композиции подобного типа также могут применяться в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с применением таких эксципиентов, как

лактоза или молочный сахар, а также полиэтиленгликоли с высокой молекулярной массой и т. п.

[0094] Таблетка может быть изготовлена прессованием или формованием, необязательно с одним или более вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть получены с использованием связующего (например, желатина или гидроксипропилметилцеллюлозы), смазывающего вещества, инертного разбавителя, консерванта, разрыхлителя (например, натрия крахмал гликолята или сшитой натрий-карбоксиметилцеллюлозы), поверхностно-активного вещества или диспергирующего агента. Таблетки и другие твердые лекарственные формы активного агента, такие как капсулы, пилюли и гранулы, необязательно могут быть выполнены с насечками или могут быть приготовлены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области создания фармацевтических препаратов. Лекарственная форма также может быть составлена так, чтобы обеспечивать медленное или контролируемое высвобождение содержащегося в ней активного ингредиента, с помощью, например, гидроксипропилметилцеллюлозы в различных пропорциях, чтобы обеспечить желаемый профиль высвобождения, других полимерных матриц, липосом и/или микросфер. В качестве альтернативы лекарственная форма может быть приготовлена для быстрого высвобождения, например, она может быть лиофилизированной.

[0095] Как правило, лекарственная форма должна быть стерильной. Для этого лекарственная форма может быть стерилизована, например, путем фильтрации через фильтр, задерживающий бактерии, или путем включения стерилизующих агентов в форме стерильных твердых композиций, которые могут быть растворены в стерильной воде или какой-либо другой стерильной среде для инъекций непосредственно перед использованием. Фармацевтические композиции могут также содержать агенты, придающие непрозрачность, а также могут иметь такой состав, чтобы они высвобождали активный ингредиент (ингредиенты) только или предпочтительно в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно, отсроченным образом. Примеры композиций для заливки, которые можно применять, включают полимерные вещества и воски. Активный ингредиент также может быть в микроинкапсулированной форме, если необходимо, с одним или более из описанных выше эксципиентов.

[0096] Жидкие лекарственные формы обычно представляют собой фармацевтически приемлемую эмульсию, микроэмульсию, раствор, суспензию, сироп или эликсир активного агента. Помимо активного ингредиента жидкая лекарственная форма может содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области техники, такие как, например, вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, зародышевое, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуруриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбитана, и их смеси.

[0097] Лекарственные формы, специально предназначенные для местного или трансдермального введения, могут быть в форме, например, порошка, спрея, мази, пасты, крема, лосьона, геля, раствора или пластыря. В настоящем изобретении также рассматриваются офтальмологические препараты, такие как глазные мази, порошки, растворы и т. п. Активное соединение может быть смешано в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и с любыми консервантами, буферами или пропеллентами, которые могут потребоваться. Лекарственная форма для местного или трансдермального применения может содержать, помимо активного соединения согласно настоящей технологии, один или более эксципиентов, например, выбранных из животных и растительных жиров, масел, восков, парафинов, крахмала, трагаканта, производных целлюлозы, полиэтиленгликолей, силиконов, бентонитов, кремниевой кислоты, талька и оксида цинка, и их смесей. Спреи могут также содержать обычные пропелленты, такие как хлорфторуглеводороды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан.

[0098] Для целей настоящей технологии трансдермальные пластыри могут обеспечить преимущество, состоящее в возможности контролируемой доставки соединения согласно настоящей технологии в организм. Такие лекарственные формы могут быть получены путем растворения или диспергирования соединения в подходящей среде. Для увеличения проникновения соединения через кожу также могут быть включены усилители абсорбции. Скорость такого потока можно контролировать либо путем обеспечения мембраны, регулирующей скорость, либо путем диспергирования соединения в полимерной матрице или геле.

[0099] Фармацевтические композиции согласно настоящей технологии, подходящие для парентерального введения, обычно включают одно или более соединений согласно настоящей технологии в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями или стерильными порошками, которые могут быть восстановлены в стерильные растворы или дисперсии для инъекций перед использованием, которые могут содержать сахара, спирты, антиоксиданты, буферы, бактериостатические агенты или растворенные вещества, которые делают препарат изотоничным крови предполагаемого реципиента.

[00100] В некоторых случаях для продления действия лекарственного средства может быть желательно замедлить всасывание лекарственного средства при подкожной или внутримышечной инъекции. Это может быть достигнуто за счет использования жидкой суспензии кристаллического или аморфного вещества с плохой растворимостью в воде. В этом случае скорость всасывания лекарственного средства зависит от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристаллов и кристаллической формы. В качестве альтернативы, отсроченное всасывание парентерально вводимой формы препарата достигается растворением или суспендированием лекарственного средства в масляном носителе.

[00101] Депо-формы для инъекций могут быть изготовлены путем образования матриц активного соединения, микроинкапсулированного в биоразлагаемом полимере, таком как полилактид-полигликолид. В зависимости от отношения лекарственного средства к полимеру и природы конкретного используемого полимера скорость высвобождения лекарственного средства можно контролировать. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают поли(ортоэфиры) и поли(ангидриды). Депо-препараты для инъекций также могут быть получены путем захвата лекарственного средства в липосомы или микроэмульсии, совместимые с тканями организма.

[00102] Фармацевтическая композиция также может быть в форме микроэмульсии. В форме микроэмульсии может быть улучшена биодоступность активного агента. См. Dordunoo, S. K., *et al.*, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 17(12), 1685-1713, 1991, и Sheen, P. C., *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 80(7), 712-714, 1991, содержание которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

[00103] Фармацевтическая композиция также может содержать мицеллы, образованные из соединения согласно настоящей технологии и по меньшей мере одного амфифильного носителя, где мицеллы имеют средний диаметр менее приблизительно 100 нм. В некоторых вариантах реализации мицеллы имеют средний диаметр менее приблизительно 50 нм, или средний диаметр менее приблизительно 30 нм, или средний диаметр менее приблизительно 20 нм.

[00104] Хотя в настоящей заявке рассматривается любой подходящий амфифильный носитель, амфифильный носитель обычно является носителем, которому присвоен статус общепризнанно безопасного (GRAS), и который может как солюбилизировать соединение согласно настоящей технологии, так и микроэмульгировать его на более поздней стадии, когда раствор вступает в контакт со сложной водной фазой (например, такой как содержащаяся в живой биологической ткани). Обычно амфифильные ингредиенты, которые удовлетворяют этим требованиям, имеют значения HLB (гидрофильно-липофильного баланса) от 2 до 20, а их структуры содержат алифатические радикалы с прямой цепью в диапазоне от C-6 до C-20. Некоторые примеры амфифильных агентов включают полиэтиленгликолизированные жирные глицериды и полиэтиленгликоли.

[00105] Некоторые амфифильные носители представляют собой насыщенные и мононенасыщенные полиэтиленгликолизированные глицериды жирных кислот, например, полученные из различных полностью или частично гидрогенизированных растительных масел. Такие масла могут предпочтительно состоять из три-, ди- и моноэфиров жирных кислот и сложных ди- и монополиэтиленгликолевых эфиров соответствующих жирных кислот, такие как композиция жирных кислот, включающая 4-10% каприновой кислоты, 3-9% каприновой кислоты, 40-50% лауриновой кислоты, 14-24% миристиновой кислоты, 4-14% пальмитиновой кислоты и 5-15% стеариновой кислоты. Еще один подходящий класс амфифильных носителей включает частично этерифицированный сорбитан и/или сорбит с насыщенными или мононенасыщенными жирными кислотами (серия SPAN) или соответствующими этоксилированными аналогами (серия TWEEN). В частности, рассматриваются коммерчески доступные амфифильные носители, включая серию Gelucire®, Labrafil®, Labrasol® или Lauroglycol®, ПЭГ-моноолеат, ПЭГ-диолеат, ПЭГ-монолаурат и дилаурат, лецитин, полисорбат-80.

[00106] Гидрофильные полимеры, подходящие для применения в фармацевтической композиции, обычно представляют собой полимеры, которые легко растворимы в воде, могут быть ковалентно присоединены к липиду, образующему везикулы, и которые переносятся *in vivo* без значительных токсических эффектов (т. е. являются биосовместимыми). Подходящие полимеры включают, например, полиэтиленгликоль (ПЭГ), полимолочную кислоту (также называемую полилактидом), полигликолевую кислоту (также называемую полигликолидом), сополимер полимолочной и полигликолевой кислот и поливиниловый спирт. Примеры полимеров представляют собой полимеры, имеющие молекулярную массу от приблизительно 100 или 120 дальтон до приблизительно 5000 или 10000 дальтон, и более предпочтительно от приблизительно 300 дальтон до приблизительно 5000 дальтон. В отдельных вариантах реализации полимер представляет собой полиэтиленгликоль, имеющий молекулярную массу от приблизительно 100 до приблизительно 5000 дальтон, или молекулярную массу от приблизительно 300 до приблизительно 5000 дальтон, или молекулярную массу 750 дальтон, т. е. ПЭГ(750). Полимеры также могут быть определены, исходя из количества содержащихся в них мономеров. В некоторых вариантах реализации в фармацевтических композициях согласно настоящей технологии используются полимеры, состоящие из по меньшей мере приблизительно трех мономеров, такие полимеры ПЭГ, содержащие по меньшей мере три мономера или массой приблизительно 150 дальтон. Другие гидрофильные полимеры, которые могут быть подходящими для применения в настоящей технологии, включают поливинилпирролидон, полиметоксазолин, полиэтилоксазолин, полигидроксипропилметакриламид, полиметакриламид, полидиметилакриламид и дериватизированные целлюлозы, такие как гидроксиметилцеллюлоза или гидроксипропилцеллюлоза.

[00107] В отдельных вариантах реализации фармацевтическая композиция включает биосовместимый полимер, выбранный из полиамидов, поликарбонатов, полиалкиленов, полимеров сложных эфиров акриловой и метакриловой кислот, поливиниловых полимеров, полигликолидов, полисилоксанов, полиуретанов и их сополимеров, целлюлоз, полипропилена, полиэтиленов, полистирола, полимеров молочной кислоты и гликолевой кислоты, полиангидридов, сложных поли(орто)эфиров, поли(бутановой кислоты), поли(валериановой кислоты),

поли(лактид-ко-капролактона), полисахаридов, белков, полигиалуроновых кислот, полицианоакрилатов и их комбинаций, смесей и сополимеров.

[00108] Фармацевтическая композиция также может быть в липосомальной форме. Липосомы содержат по меньшей мере одну бислойную липидную мембрану, охватывающую водный внутренний компартмент. Липосомы могут быть охарактеризованы по типу мембраны и по размеру. Малые моноламеллярные везикулы (SUV) имеют одну мембрану и обычно имеют диаметр от 0,02 до 0,05 мкм; большие моноламеллярные везикулы (LUV) обычно превышают 0,05 мкм. Олиголамеллярные везикулы и мультисламеллярные везикулы имеют несколько, обычно концентрических, мембранных слоев и обычно превышают 0,1 мкм. Липосомы могут также содержать несколько более мелких везикул, содержащихся в более крупной везикуле, т. е. представлять собой мультивезикулярные везикулы.

[00109] В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция включает липосомы, содержащие один или более β -циклодекстринов или их фармацевтически приемлемые соли согласно настоящей технологии, где мембрана липосомы имеет состав, обеспечивающий повышенную несущую способность. В качестве альтернативы или дополнительно, один или более β -циклодекстринов или фармацевтически приемлемые соли согласно настоящей технологии могут содержаться внутри липосомного бислоя липосомы или быть адсорбированы на нем. В некоторых вариантах реализации активный агент может быть агрегирован с липофильным поверхностно-активным веществом и переноситься во внутреннем пространстве липосомы. В таких случаях липосомальная мембрана имеет состав, позволяющий противостоять разрушающему воздействию агрегата активного агента с поверхностно-активным веществом. В отдельных вариантах реализации липидный бислой липосомы содержит липиды, дериватизированные полиэтиленгликолем (ПЭГ), так что цепи ПЭГ простираются от внутренней поверхности липидного бислоя во внутреннее пространство, инкапсулированное липосомой, и простираются от внешней стороны липидного бислоя липосомы в окружающую среду.

[00110] Активные агенты, содержащиеся в липосомах, предпочтительно находятся в солюбилизированной форме. Агрегаты поверхностно-активного вещества и активного агента (такие как эмульсии или мицеллы, содержащие требуемый активный агент) могут быть захвачены во внутреннем пространстве липосомы. Поверхностно-активное вещество обычно служит для диспергирования и

солюбилизации активного агента. Поверхностно-активное вещество может быть выбрано из любого подходящего алифатического, циклоалифатического или ароматического поверхностно-активного вещества, включая, не ограничиваясь перечисленным, биосовместимые лизофосфатидилхолины (LPC) с различной длиной цепи, например, приблизительно от 14 до 20 атомов углерода. Для образования мицелл также могут быть использованы дериватизированные полимерами липиды, такие как ПЭГ-липиды, поскольку они будут осуществлять ингибирование слияния мицелл/мембран, и поскольку добавление полимера к молекулам поверхностно-активного вещества снижает критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ) поверхностно-активного вещества и способствует образованию мицелл. Предпочтительными являются поверхностно-активные вещества с ККМ в микромолярном диапазоне; поверхностно-активные вещества с более высокой ККМ могут быть использованы для получения мицелл, заключенных в липосомы согласно настоящей технологии, однако мономеры поверхностно-активного вещества мицелл могут влиять на стабильность бислоя липосомы и будут особенностью, которую необходимо учесть при конструировании липосом с желаемой стабильностью.

[00111] Липосомы согласно настоящей технологии могут быть получены любым из множества методов, известных в данной области техники, таких как описанные, например, в патенте США № 4,235,871 и публикации международной заявки WO 96/14057, содержание которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки. Например, липосомы могут быть получены путем диффузии липида, дериватизированного гидрофильным полимером, в предварительно сформированные липосомы, например, путем воздействия на предварительно сформированные липосомы мицелл, состоящих из полимеров с привитыми липидами, при концентрациях липидов, соответствующих конечному молярному проценту дериватизированного липида, требуемому в липосоме. Липосомы, содержащие гидрофильный полимер, также могут быть образованы методами гомогенизации, гидратации липидной пленки или экструзии, известными в данной области техники. Согласно другой методике активный агент сначала диспергируют под воздействием ультразвука в лизофосфатидилхолине или другом поверхностно-активном веществе с низкой критической концентрацией мицеллообразования (ККМ) (включая липиды с привитыми полимерами), которое легко солюбилизирует гидрофобные молекулы. Полученную мицеллярную суспензию активного агента затем используют для

регидратации высушенного образца липида, содержащего подходящий молярный процент липида с привитым полимером или холестерина. Суспензию липидов и активного агента затем формируют в липосомы с использованием методов экструзии, хорошо известных в данной области техники, и полученные липосомы отделяют от неинкапсулированного раствора стандартным разделением на колонке.

[00112] В некоторых вариантах реализации липосомы получают по существу однородными по размеру в пределах выбранного диапазона размеров. Один из эффективных методов калибровки по размеру включает экструзию водной суспензии липосом через серию поликарбонатных мембран, имеющих выбранный однородный размер пор. Размер пор мембраны будет примерно соответствовать наибольшему размеру липосом, полученных экструзией через мембрану (патент США № 4,737,323, содержание которого полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки).

[00113] Характеристики высвобождения препарата согласно настоящей технологии зависят от нескольких факторов, включая, например, тип и толщину инкапсулирующего материала, концентрацию инкапсулированного лекарственного средства и присутствие модификаторов высвобождения. При желании высвобождением можно управлять таким образом, чтобы оно зависело от pH, например, используя pH-чувствительное покрытие, которое высвобождает только при низком pH, как в желудке, или высвобождает при более высоком pH, как в кишечнике. Для предотвращения высвобождения до прохождения через желудок может быть использовано энтеросолюбильное покрытие. Несколько покрытий или смеси цианамиды, инкапсулированные в различных материалах, могут быть использованы для получения начального высвобождения в желудке с последующим высвобождением в кишечнике. Высвобождением также можно управлять путем включения солей или порообразующих агентов, которые могут увеличивать поглощение воды или высвобождение лекарственного средства за счет диффузии из капсулы. Для контроля скорости высвобождения также могут быть использованы эксципиенты, модифицирующие растворимость лекарственного средства. Также могут быть включены агенты, усиливающие распад матрицы или высвобождение из матрицы. Агенты могут быть добавлены к лекарственному средству, добавлены в виде отдельной фазы (т. е. в виде частиц) или могут быть соразтворены в полимерной фазе, в зависимости от соединения. Во всех случаях количество предпочтительно составляет от 0,1 до тридцати процентов (мас./мас. полимера). Некоторые типы усилителей

распада включают неорганические соли, такие как сульфат аммония и хлорид аммония; органические кислоты, такие как лимонная кислота, бензойная кислота и аскорбиновая кислота; неорганические основания, такие как карбонат натрия, карбонат калия, карбонат кальция, карбонат цинка и гидроксид цинка; органические основания, такие как сульфат протамина, спермин, холин, этаноламин, диэтанолламин и триэтанолламин; и поверхностно-активные вещества, такие как коммерчески доступное поверхностно-активное вещество Tween™ или Pluronic™. Порообразующие агенты, которые придают матрицам микроструктуру (т. е. водорастворимые соединения, такие как неорганические соли и сахара), обычно включают в виде частиц.

[00114] Поглощением также можно управлять, изменяя время пребывания частиц в организме. Это может быть достигнуто, например, путем покрытия частицы мукоадгезивным полимером или использованием его в качестве инкапсулирующего материала. Примеры включают большинство полимеров со свободными карбоксильными группами, такие как хитозан, целлюлозы и особенно полиакрилаты (в контексте настоящей заявки полиакрилаты относятся к полимерам, включающим акрилатные группы и модифицированные акрилатные группы, такие как цианоакрилаты и метакрилаты).

ПРИМЕРЫ

[00115] Настоящая технология дополнительно проиллюстрирована следующими примерами, которые никоим образом не следует рассматривать как имеющие ограничительных характер. Приведенные в настоящей заявке примеры представлены для иллюстрации преимуществ настоящей технологии и для дополнительной помощи специалисту в данной области техники при приготовлении или применении композиций и систем согласно настоящей технологии. Примеры никоим образом не следует истолковывать как ограничивающие объем настоящей технологии, определенный прилагаемой формулой изобретения. Примеры могут включать или вмещать любые вариации, аспекты или варианты реализации настоящей технологии, описанные выше. Каждая из вариаций, аспектов или вариантов реализации, описанных выше, могут также дополнительно включать или вмещать, частично или полностью, вариации других вариаций, аспектов или вариантов реализации настоящей технологии.

Пример 1: Материалы и методы

[00116] Чувствительные и количественные методы оценки количества бисретиноидов липофусцина в клетках были разработаны на основе собственной аутофлуоресценции ЛБ.

[00117] *Флуоресцентная микроскопия:* ЛБ представляют собой аутофлуоресцентные молекулы из-за большого количества сопряженных двойных связей в их гидрофобных плечах. При возбуждении при 430 нм (синий свет) они испускают желто-оранжевую флуоресценцию с максимумом при 610 нм. Интенсивность флуоресценции пропорциональна их количеству. Синий флуоресцентный краситель Хехст использовали для окрашивания ядер клеток, обработанных циклодекстринами. Таким образом возможно выразить пик испускания при 610 нм (количество ЛБ) в зависимости от количества клеток в отображаемом поле. Каждую дозу анализировали трижды и оценивали десять случайных полей на лунку.

[00118] *Метод считывания флуоресценции планшетов:* Метил- β -циклодекстрины снижают содержание липидных бисретиноидов (ЛБ) *in vitro* и *in vivo* при определении с использованием флуоресцентной микроскопии и ВЭЖХ (Nociari *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 111(14): E1402–E1408 (2014)). Однако этим методам не хватает линейности и чувствительности, чтобы обеспечить надежную и неискаженную оценку количеств ЛБ. Чтобы преодолеть эти ограничения, был разработан простой и чувствительный микропланшетный анализ для количественной оценки удаления ЛБ. Вкратце, оптимизировали условия для предварительной нагрузки конфлюэнтной культуры клеток RPE нетоксичными дозами А2Е (5 мкМ). Клетки предварительно нагружали низкими дозами А2Е в один или несколько повторных этапов, по меньшей мере за неделю до анализа. Эти клетки могут храниться с нагрузкой месяцами до тех пор, пока они не понадобятся для анализа на удаление. Затем за 48 часов до анализа клетки трипсинизировали, подсчитывали и высевали в 96-луночные планшеты со стеклянным дном при плотности 1×10^5 клеток на лунку. Через 48 часов клетки обрабатывали в течение ночи (по меньшей мере четырежды) препаратами β -циклодекстрина (**Фиг. 5А**). После обработки β -циклодекстринами супернатанты удаляли и собирали клетки с буфером для экстракции А2Е, чтобы максимизировать аутофлуоресценцию А2Е, предотвращая при этом сольватохромные взаимодействия со стороны комплексов β -циклодекстрина (**Фиг. 5В**), что дало необычайную линейность в диапазоне от 5×10^{-4} до 2×10^3 пикомоль А2Е (**Фиг. 5С**).

[00119] Поскольку для определения количества А2Е использовали флуоресценцию, и учитывая, что А2Е проявляет более сильную флуоресценцию при образовании комплексов с циклодекстринами, был разработан буфер для экстракции А2Е, который преодолевает это вмешательство и максимизирует флуоресцентное обнаружение А2Е. Буфер для экстракции А2Е содержит смесь 2% Triton X-100 и 1% SDS в PBS. Известно, что Triton-100 образует комплексы с β -циклодекстринами с более высокой аффинностью, чем А2Е. При добавлении 2% Triton наблюдается значительный избыток поверхностно-активного вещества по отношению к любому количеству А2Е, которое потенциально может быть высвобождено из нагруженных клеток. Это служит двум целям: (i) вытеснить все молекулы А2Е из полостей циклодекстрина; и (ii) равномерно окружить А2Е молекулами поверхностно-активного вещества, таким образом защищая их от тушения водой для увеличения интенсивности испускания и, следовательно, повышения чувствительности анализа.

[00120] Циклодекстрины (CD), использованные в данном исследовании, приведены в **таблице 1**. Степень замещения в молекуле CD может варьировать от 1 до 21. DS представляет собой среднее количество заместителей на молекулу CD. На **Фиг. 1А-1В** показаны структурные формулы составов некоторых молекул CD согласно настоящей технологии.

Таблица 1

	Протестированные CD	Компания	№ по каталогу	Серийный №	DS
A0	α -Циклодекстрин	TCI America, Портленд, Орегон	C0776	TIJH-BB	0
B0	β -Циклодекстрин	Cyclolab, Будапешт, Венгрия	CY-2009	CYL-4264	0
M1	Метил- β -циклодекстрин	Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури	C4555	98H0545	11,0
M2	Метил- β -циклодекстрин	Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури	332615	STBH0439	10,8
M3	Метил- β -циклодекстрин	Sigma-Aldrich, Сент-Луис,	332615	STBF5361V	11,9

		Миссури			
M4	Гептакис(2,6-ди-О-метил)- β -циклодекстрин	Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури	H0513	SLBD0504V	15,1
M5	Гептакис(2,3,6-три-О-метил)- β -циклодекстрин	Fluka, Мехико, Мексика	51707	1421422	19,6
H1	Гидроксипропил- β -циклодекстрин	Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури	C0926	077k0680v	4-10
H2	Гидроксипропил- β -циклодекстрин	Carbosynth, Сан-Диего, Калифорния	OH053931	OH053931501	5,4
H3	Гидроксипропил- β -циклодекстрин	Carbosynth, Сан-Диего, Калифорния	OH053931	OH053931801	4,9
SB1	Сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина	Carbosynth, Сан-Диего, Калифорния	OC15979	OS159791402	7,1
SB2	Сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина	Carbosynth, Сан-Диего, Калифорния	OC15979	OC159791801	6,6
SB3	Сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина	Carbosynth, Сан-Диего, Калифорния	OC15979	OC159791601	6,7
G0	Гамма-циклодекстрин	TCI America, Портленд, Орегон	C0869	6ZNJH-0B	0

Пример 2: Влияние соединений циклодекстрина согласно настоящей технологии на отложения ЛБ в клетках

[00121] Анализ *in vitro*, описанный на **Фиг. 5А**, позволяет быстро оценить способность циклодекстрина удалять клеточные ЛБ. Так как все циклодекстрины имеют гидрофобный карман в центре, было высказано предположение, что все циклодекстрины будут эффективно стимулировать удаление бисретиноидов липофусцина из эпителиальных клеток. Для проверки этого предположения клетки RPE человека предварительно нагружали липофусцином, инкубируя их с 5 мкМ А2Е в течение ночи. Клетки промывали и оставляли без обработки или обрабатывали 4 мМ тестируемого соединения циклодекстрина. После 48-часовой обработки клетки

лизировали в буфере 2%Triton/2% SDS-PBS. Содержание A2E в клетках измеряли по флуоресценции (возбуждение при 430 нм и испускание при 600 нм).

[00122] Как показано на **Фиг. 2**, не все циклодекстрины эффективно стимулировали удаление ЛБ. В то время как метил- β -циклодекстрин, 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин и сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина вызывали удаление бисретиноидов липофусцина из клеток сетчатки, незамещенный α -циклодекстрин, β -циклодекстрин и гамма-циклодекстрин не экстрагировали A2E в этих условиях. 2,6-ди-О-метил- β -циклодекстрин (гептакис-2,6-ди-О-метил) или 2,3,6-три-О-метил- β -циклодекстрин (гептакис-2,3,6-три-О-метил) также не были эффективны в удалении ЛБ.

[00123] Чтобы подтвердить удаление отложений ЛБ, клетки анализировали под флуоресцентным микроскопом с 10-кратным увеличением. Желтая автофлуоресценция, характерная для липофусцина, резко снизилась после обработки 7,5 мМ β -циклодекстринов в течение 48 часов (**Фиг. 6**).

[00124] Для дальнейшего установления процесса удаления ЛБ, стимулируемого тестируемыми β -циклодекстринами, A2E-нагруженные клетки высевали на планшеты со дном из оптически чистого стекла, обрабатывали в течение 48 часов 7,5 мМ β -циклодекстринов и визуализировали с использованием объектива с большим увеличением (100X). На **Фиг. 4А-4В** показана флуоресценция A2E внутри клеток (неэкстрагированные клетки), наблюдаемая с помощью флуоресцентной микроскопии с объективом со 100-кратным увеличением после окрашивания красителем Хехст в течение 1 часа для визуализации ядер. На верхней панели показано накопление богатого ЛБ липофусцина в необработанном контроле (A2E-необработанный). Как показано на **Фиг. 4А-4В**, необработанные клетки проявляли как синюю флуоресценцию ДНК, так и желтую точечную флуоресценцию ЛБ в цитоплазме. Эта локализация соответствовала ранее описанной локализации внутри лизосом. На нижней панели показано, что ЛБ был выведен за пределы клеток после обработки метил- β -циклодекстрином. Действительно, высвобождение гранул A2E во внеклеточное пространство было, по-видимому, вызвано обработкой.

[00125] Для подтверждения того, что процесс удаления липофусцина включает высвобождение липофусцина во внеклеточное пространство, 1×10^5 A2E-нагруженных и контрольных клеток на лунку культивировали в бессывороточной среде и через 4 часа обрабатывали 12,5 мМ метил- β -циклодекстрина (MBCD); гидроксипропил- β -

циклодекстрина (HPBCD); или сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE-BCD). Прилипшие клетки лизировали в 1X буфере для экстракции А2Е, а супернатанты переносили в свежий набор лунок, куда добавляли концентрированный буфер для экстракции А2Е для получения конечной концентрации 1X, что позволило количественно определить А2Е, секретированный в среду. Как показано на **Фиг. 7**, вся флуоресценция А2Е, которая отсутствовала в клетках, присутствовала в супернатантах. Затем проводили ВЭЖХ-анализ лизатов и супернатантов, чтобы убедиться, что А2Е не разрушался во время этого процесса (данные не показаны).

[00126] Эти результаты демонстрируют, что композиции циклодекстрина согласно настоящей технологии применимы в способах лечения заболеваний глаз, связанных с накоплением липофусцина в клетках сетчатки, у нуждающегося в этом субъекта.

Пример 3: Дозозависимое удаление ЛБ с помощью β -циклодекстринов

[00127] Для определения эффективных доз метил- β -циклодекстрина эпителиальные клетки, нагруженные А2Е, инкубировали с возрастающими дозами метил- β -циклодекстрина. После инкубации в течение 24 часов удаляли метил- β -циклодекстрин из клеток и определяли количество А2Е, все еще связанного с клетками. Как показано на **Фиг. 3А**, действия метил- β -циклодекстрина на удаление А2Е были дозозависимыми. Самая низкая протестированная доза продемонстрировала приблизительно 75% удаление по сравнению с необработанным контролем. В дозах всего лишь 10-20 мкМ метил- β -циклодекстрин удалял большую часть обнаружимых отложений ЛБ из эпителиальных клеток.

[00128] Чтобы оценить удаление отложений ЛБ, клетки анализировали при 100-кратном увеличении под флуоресцентным микроскопом после окрашивания ядер DAPI. Необработанные контрольные клетки также наблюдали в тех же условиях. Как показано на **Фиг. 3В**, необработанные клетки проявляли как синюю флуоресценцию ДНК, так и бирюзовую флуоресценцию из-за отложений ЛБ. Напротив, клетки, обработанные метил- β -циклодекстрином в течение 24 часов, демонстрировали синюю флуоресценцию и были полностью лишены бирюзовой флуоресценции, демонстрируя, таким образом, экстракцию и удаление ЛБ.

[00129] Для сравнения эффективности β -циклодекстринов эпителиальные клетки, нагруженные А2Е, инкубировали с возрастающими дозами указанных β -циклодекстринов. После инкубации в течение 48 часов среду с супернатантом β -

циклодекстрина удаляли и определяли количество A2E, все еще связанного с клетками, количественным флуорометрическим анализом, описанным на **Фиг. 5А**. Как показано на **Фиг. 8**, действия β -циклодекстринов на удаление A2E были дозозависимыми. Дозы β -циклодекстринов в миллимолярном диапазоне удаляли отложения ЛБ из эпителиальных клеток.

[00130] Эти результаты демонстрируют, что композиции циклодекстрина согласно настоящей технологии применимы в способах лечения заболеваний глаз, связанных с накоплением липофусцина в клетках сетчатки, у нуждающегося в этом субъекта.

Пример 4: Удаление ЛБ из глаз, обработанных интравитреальными инъекциями

[00131] Для дальнейшего определения того, были ли метил- β -циклодекстрин (MBCD); гидроксипропил- β -циклодекстрин (HPBCD); и/или сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина (SBE-BCD) способны экстрагировать ЛБ из глаз *in vivo*, был проведен следующий эксперимент. В правые глаза (OD) мышей ДКО, т. е. животных с усиленным накоплением ЛБ из-за мутаций в генах ABCA4 и RDH8 (Maeda A, *et al.* (2008) Retinopathy in Mice Induced by Disrupted All- trans-retinal Clearance. *J. Biol Chem* 283(39):26684-93) осуществляли две интравитреальные инъекции 2 мкл 100 мМ М β CD; 1 мкл 500 мМ НР β CD; или 1 мкл 500 мМ SBE- β CD, а левые глаза (OS) подвергали имитации воздействия посредством только носителя. Отдельной группе контрольных животных соответствующего возраста также вводили только носитель, чтобы установить базовый уровень аутофлуоресценции в глазах этих мышей. Вторая идентичная инъекция была сделана через неделю. Глаза собирали через 4 дня после второй инъекции и закрепляли на плоской поверхности глазные чаши с пигментным эпителием сетчатки (RPE). Проводили аутофлуоресцентную микроскопию закрепленных на плоской поверхности глазных чаш с RPE при 630-кратном увеличении и составляли изображение целой глазной чаши путем сшивания отдельных изображений с использованием программного обеспечения ZEN Blue (Zeiss). Среднюю интенсивность флуоресценции сетчаток количественно оценивали с помощью программного обеспечения Image J. На **Фиг. 9** показано, что SBE-BCD и НР-BCD, но не MBCD, были способны на значимом уровне удалить ЛБ из сетчаток при тестируемой концентрации. SBE-BCD проявил себя лучше, чем НРBCD. Как показано на **Фиг. 9**, 42,6, 28,5 и 18,2% от всего ЛБ было экстрагировано с помощью двух интравитреальных инъекций SBE-BCD, НР-BCD и MBCD, соответственно.

[00132] Эти результаты демонстрируют, что циклодекстрины согласно настоящей технологии способствуют удалению ЛБ и применимы в способах лечения приводящих к слепоте расстройств, связанных с липофусцином, посредством интравитреальной инъекции, имплантации устройств с медленным высвобождением или местного применения (глазные капли).

Пример 5: Влияние циклодекстринов согласно настоящей технологии на остроту зрения *in vivo*

[00133] 2 мкл 100 мМ М- β CD; 1 мкл 500 мМ НР- β CD; или 1 мкл 500 мМ SBE- β CD инъецировали дважды с интервалом в одну неделю в оба глаза, и 2 мкл H_2O инъецировали интравитреально контрольным животным соответствующего возраста. Для оценки токсичности лечения для зрения определяли пространственно-частотную характеристику (SF) непосредственно перед каждой инъекцией и перед умерщвлением мыши, т. е. через четыре дня после второй инъекции. SF представляет собой опосредуемый колбочками зрительный ответ, измеряемый с помощью камеры OptoMotry (OMT). Вкратце, необездвиженную мышь, стоящую на возвышении, окружают компьютерными мониторами, которые создают виртуальный цилиндр с черными полосами на белом фоне. Виртуальное вращение решетки вызывает зрительные рефлекторные движения головы; самая высокая пространственная частота (SF), которая не вызывает отслеживания, принимается за меру остроты зрения. SF не поддавалась измерению у мышей, получавших М- β CD. При применении НР- β CD наблюдались переменные результаты, причем некоторые животные демонстрировали значительное нарушение зрительной реакции. Напротив, SBE- β CD хорошо переносился, показывая SF, неотличимые от получавших воду и не получавших инъекций отрицательных контролей. См. **Фиг. 10А-10В**. Введение сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE-BCD) не нарушало целостность фоторецепторного слоя (ONL), и общая структура сетчатки животных, получавших SBE-BCD, осталась интактной после воздействия. См. **Фиг. 11А-11В**.

[00134] Эти результаты демонстрируют, что циклодекстрины согласно настоящей технологии способствуют удалению ЛБ и применимы в способах лечения приводящих к слепоте расстройств, связанных с липофусцином, посредством интравитреальной инъекции, имплантации устройств с медленным высвобождением или местного применения (глазные капли). Соответственно, композиции циклодекстрина согласно

настоящей технологии применимы в способах лечения заболеваний глаз, связанных с накоплением липофусцина в клетках сетчатки, у нуждающегося в этом субъекта.

ЭКВИВАЛЕНТЫ

[00135] Настоящая технология не подлежит ограничению частными вариантами реализации, описанными в данной заявке, которые предназначены в качестве отдельных иллюстраций отдельных аспектов настоящей технологии. Могут быть осуществлены многие модификации и вариации настоящей технологии без отклонения от ее сущности и объема, как будет понятно специалистам в данной области техники. Функционально эквивалентные способы и устройства в пределах объема настоящей технологии, в дополнение к перечисленным в настоящей заявке, будут понятны специалистам в данной области техники из предшествующего описания. Подразумевается, что такие модификации и изменения входят в объем настоящей технологии. Следует понимать, что настоящая технология не ограничивается конкретными методами, реагентами, соединениями, композициями или биологическими системами, которые, безусловно, могут варьироваться. Также следует понимать, что используемая в настоящей заявке терминология предназначена только для описания частных вариантов реализации и не подразумевает ограничительного характера.

[00136] Кроме того, если признаки или аспекты изобретения описаны посредством групп Маркуша, специалистам в данной области техники будет ясно, что изобретение также таким образом описано посредством любого отдельного члена или подгруппы членов группы Маркуша.

[00137] Как будет понятно специалисту в данной области техники, для всех возможных целей, особенно с точки зрения предоставления письменного описания, все диапазоны, раскрытые в настоящей заявке, также охватывают все возможные поддиапазоны и их комбинации. Любой приведенный диапазон может быть явным образом воспринят как в достаточной мере описывающий и позволяющий разбить этот диапазон по меньшей мере на равные половины, трети, четверти, пятые части, десятые части и т. д. В качестве неограничивающего примера, каждый обсуждаемый в настоящей заявке диапазон может быть явным образом разбит на нижнюю треть, среднюю треть и верхнюю треть, и т. д. Как также будет понятно специалисту в данной области техники, все выражения, такие как «до», «по меньшей мере», «больше чем»,

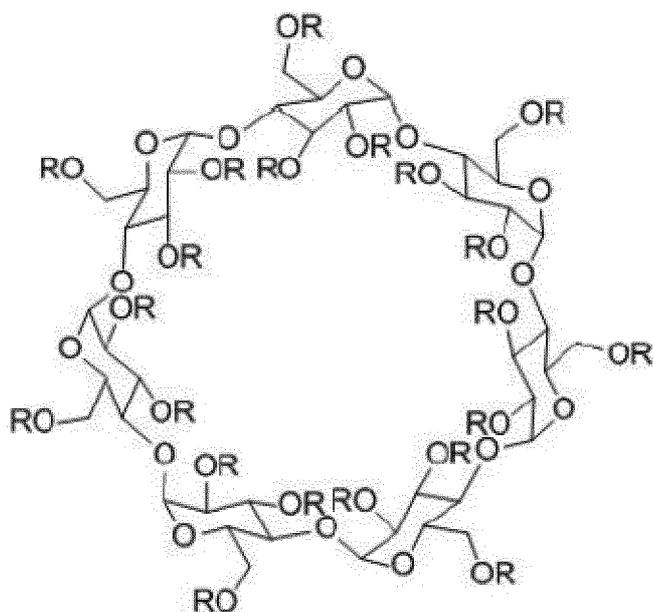
«меньше чем» и т. п., включают указанное число и относятся к диапазонам, которые могут быть затем разбиты на поддиапазоны, как обсуждается выше. Наконец, как будет понятно специалисту в данной области техники, диапазон включает в себя каждый его отдельный член. Таким образом, например, группа, имеющая 1-3 клетки, относится к группам, имеющим 1, 2 или 3 клетки. Аналогичным образом группа, имеющая 1-5 клеток, относится к группам, имеющим 1, 2, 3, 4 или 5 клеток, и так далее.

[00138] Все патенты, патентные заявки, предварительные заявки и публикации, упомянутые или цитируемые в настоящей заявке, полностью включены посредством ссылки, включая все рисунки и таблицы, в той степени, в которой они не противоречат явным образом идеям, изложенным в данном описании.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ предупреждения или лечения заболевания глаз, связанного с накоплением липофусцина в клетках сетчатки, без ухудшения остроты зрения у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE- β CD) или его фармацевтически приемлемой соли.
2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанное заболевание глаз, связанное с накоплением липофусцина в клетках сетчатки, выбрано из группы, состоящей из болезни Штаргардта (STGD), пигментного ретинита (RP), возрастной дегенерации желтого пятна (AMD), болезни Беста (BD) и палочко-колбочковой дистрофии.
3. Способ по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что указанное заболевание глаз является генетическим, негенетическим или связано со старением.
4. Способ предупреждения или лечения накопления липофусцина в клетках сетчатки без ухудшения остроты зрения у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE- β CD) или его фармацевтически приемлемой соли.
5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что введение эффективного количества SBE- β CD или его фармацевтически приемлемой соли предотвращает обострение липофусцин-ассоциированного повреждения сетчатки у указанного субъекта.
6. Способ снижения накопления липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки, включающий приведение указанных клеток пигментного эпителия сетчатки в контакт с эффективным количеством сульфобутилового эфира β -циклодекстрина (SBE- β CD) или его фармацевтически приемлемой соли.
7. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что SBE- β CD или его фармацевтически приемлемая соль выполнены с возможностью локализации в клетках пигментного эпителия сетчатки.
8. Способ по п. 7, отличающийся тем, что SBE- β CD или его фармацевтически приемлемая соль выполнены с возможностью образования комплекса с липидами бисретиноидов липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки.

9. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что введение эффективного количества SBE- β CD или его фармацевтически приемлемой соли блокирует, ослабляет или способствует устранению накопления липофусцина в клетках пигментного эпителия сетчатки.
10. Способ по любому из п. 8 или п. 9, отличающийся тем, что указанные липиды бисретиноидов липофусцина выбраны из группы, состоящей из N-ретинилиден-N-ретинилэтаноламина (A2E), изомера A2E, окисленного производного A2E и димеров полностью транс-ретинала.
11. Способ по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что SBE- β CD или его фармацевтически приемлемая соль связаны с агентом, нацеленным на клетки пигментного эпителия сетчатки.
12. Способ по п. 11, отличающийся тем, что указанный агент нацелен на эндосомы или лизосомы в указанных клетках пигментного эпителия сетчатки.
13. Способ по п. 11 или п. 12, отличающийся тем, что указанный агент представляет собой маннозо-6-фосфат.
14. Способ по любому из пп. 1-13, отличающийся тем, что SBE- β CD или его фармацевтически приемлемую соль вводят посредством местного, интравитреального, внутриглазного, субретинального или субсклерального введения.
15. Способ по п. 14, отличающийся тем, что указанное субсклеральное введение обеспечивают посредством имплантации указанному субъекту субсклерального имплантата с медленным высвобождением.
16. Способ по любому из пп. 1-15, отличающийся тем, что SBE- β CD или его фармацевтически приемлемая соль связаны с флуорофором.



Бета-циклодекстрины, в которых один или более R = сульфобутилэфирная группа ($-\text{C}_4\text{H}_8\text{SO}_3\text{Na}^+$) или 2-гидроксипропильная группа ($-\text{C}_3\text{H}_6\text{OH}$).

Фигура 1А

Метил-бета-циклодекстрин (M β CD)

R = H или $-\text{CH}_3$

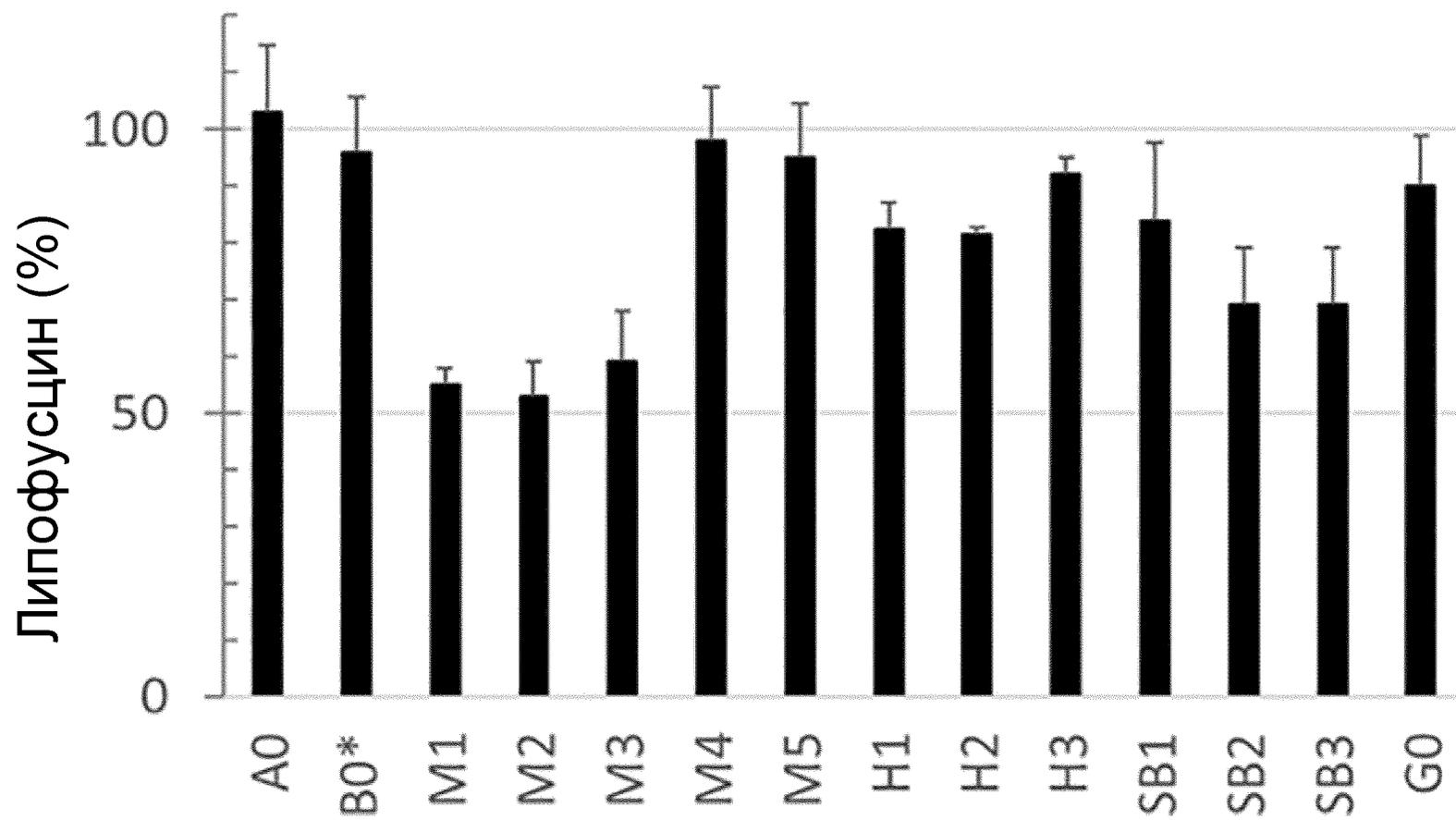
2-гидроксипропил-бета-циклодекстрин (HP β CD)



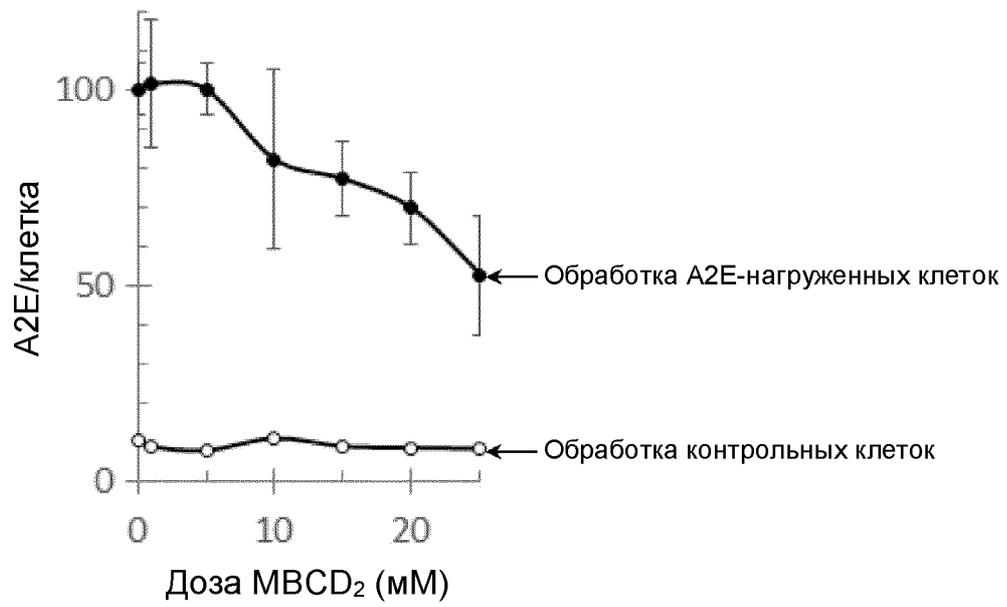
Сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина (SBE β CD)

R=(H) $_{21-m}$ или $(\text{C}_4\text{H}_8\text{SO}_3\text{Na}^+)_m$, m=6,0-7,1

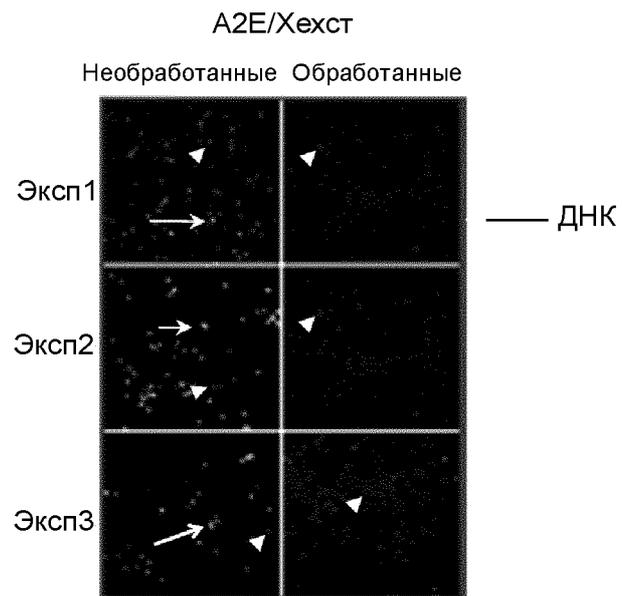
Фигура 1В



Фигура 2

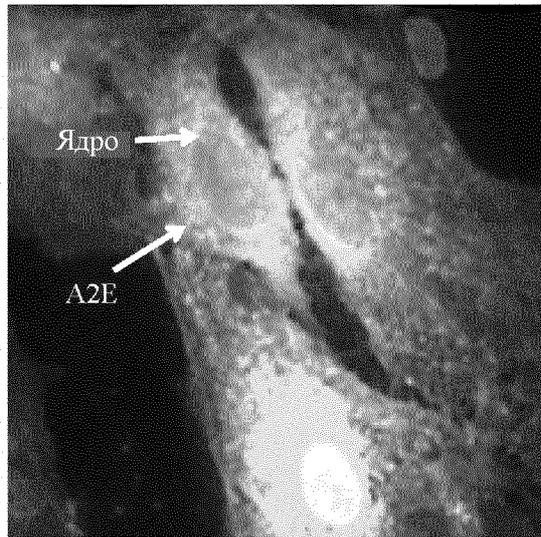


Фигура 3А



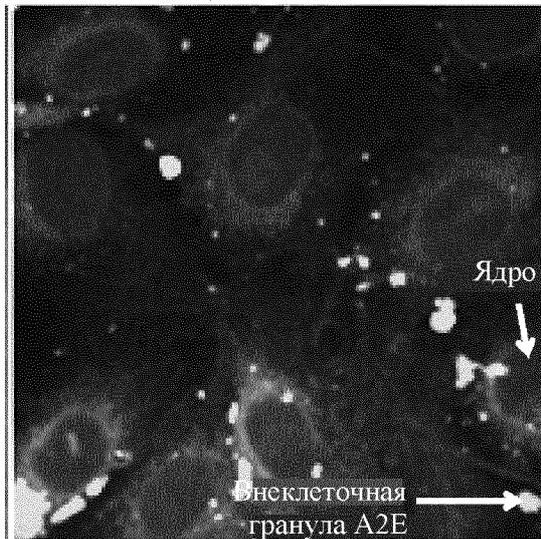
Фигура 3В

Необработанные

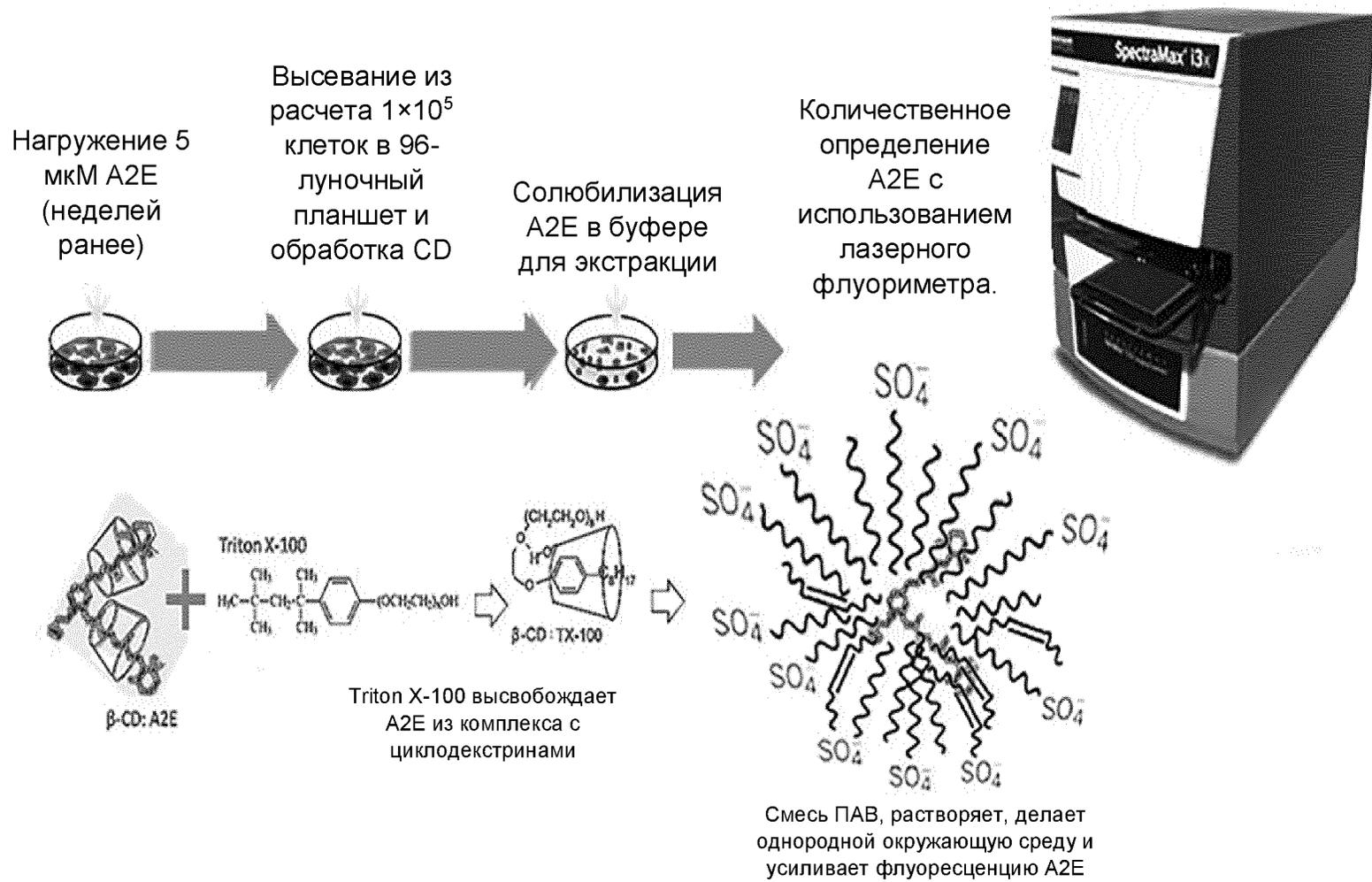


Фигура 4А

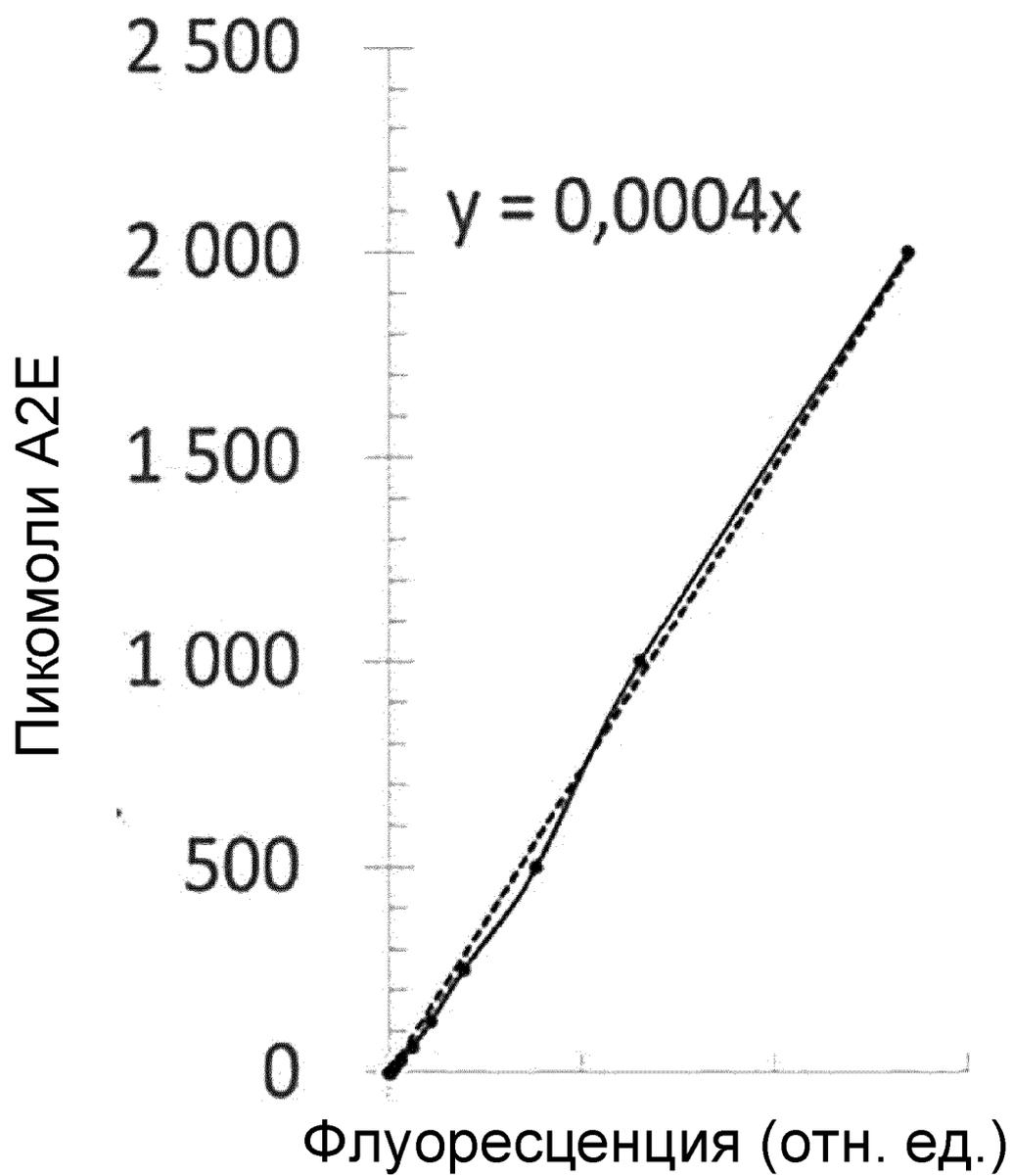
MBCD



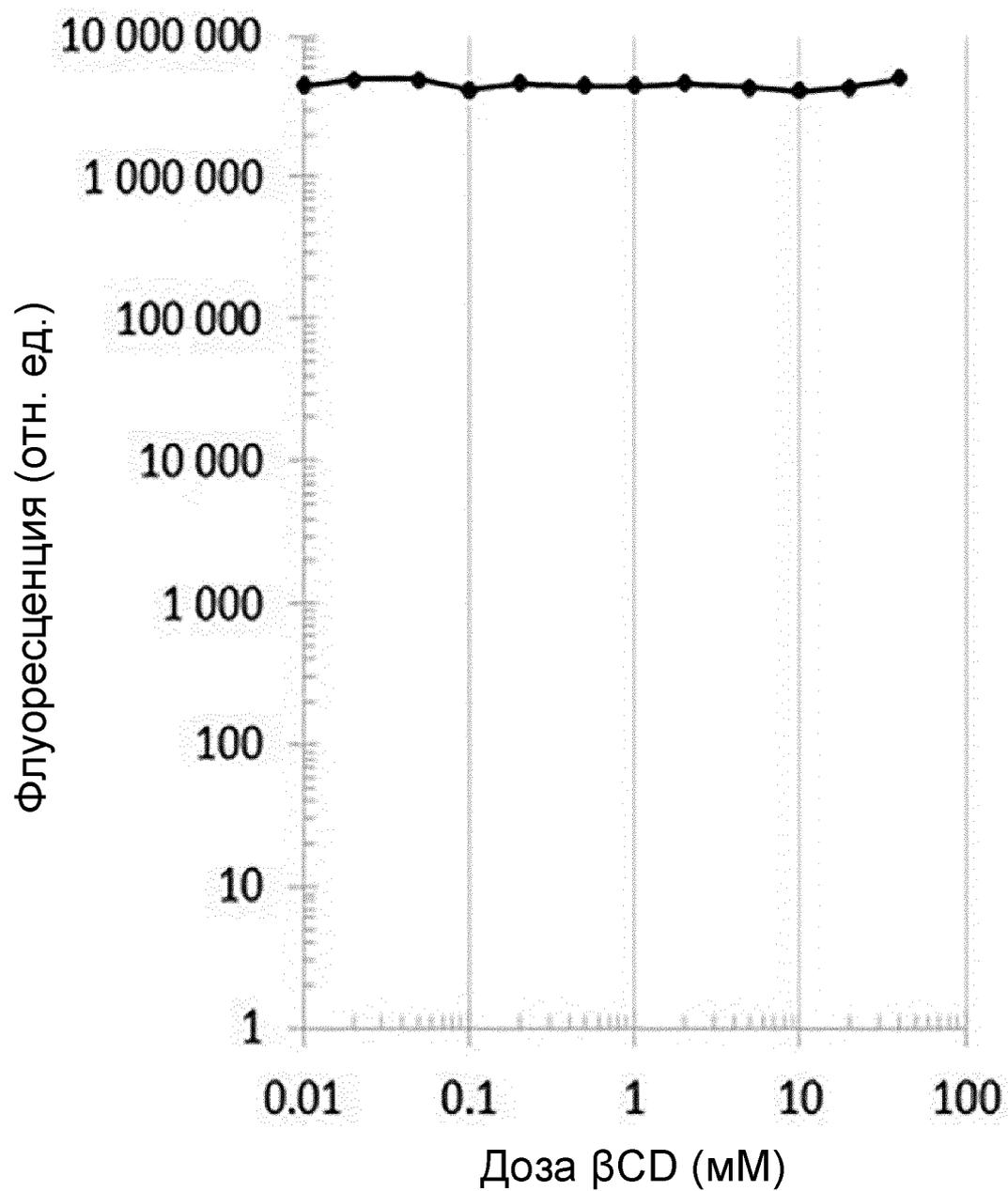
Фигура 4В



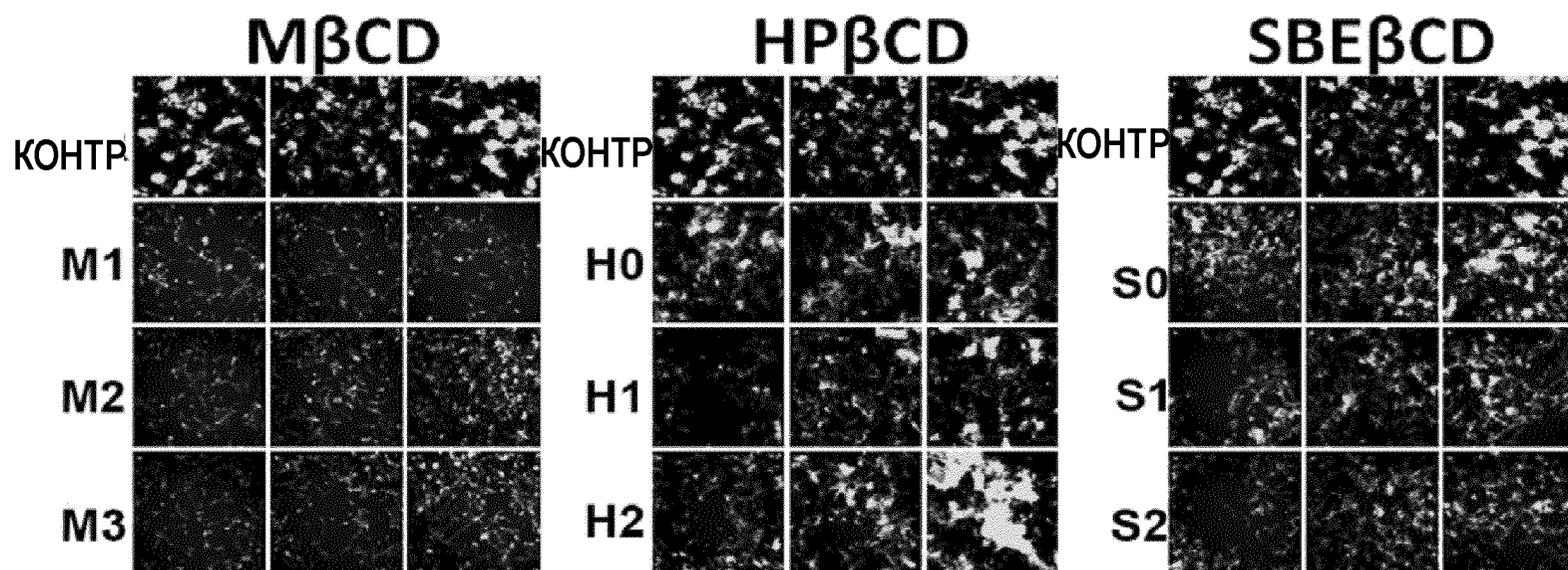
Фигура 5А



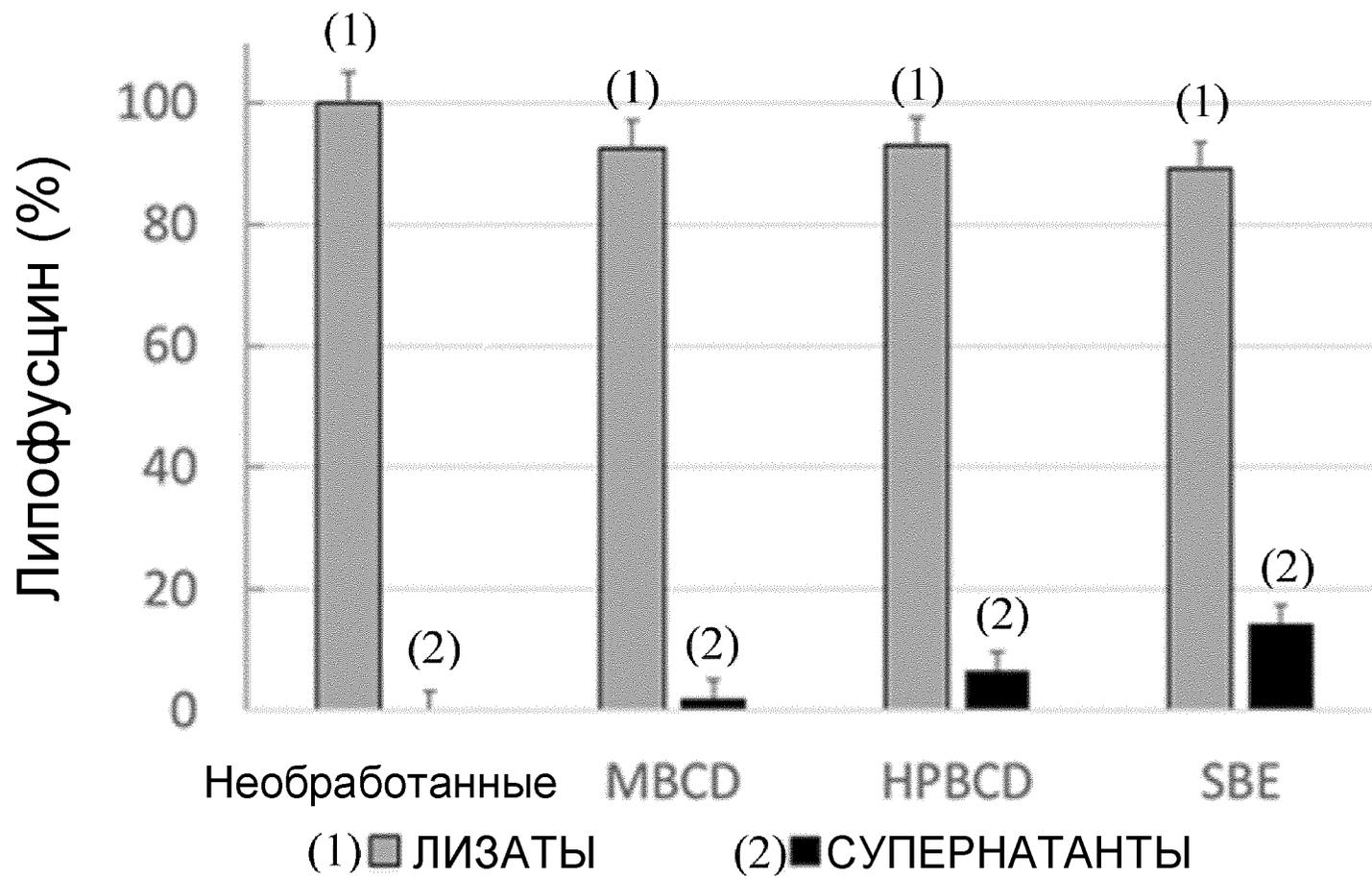
Фигура 5В



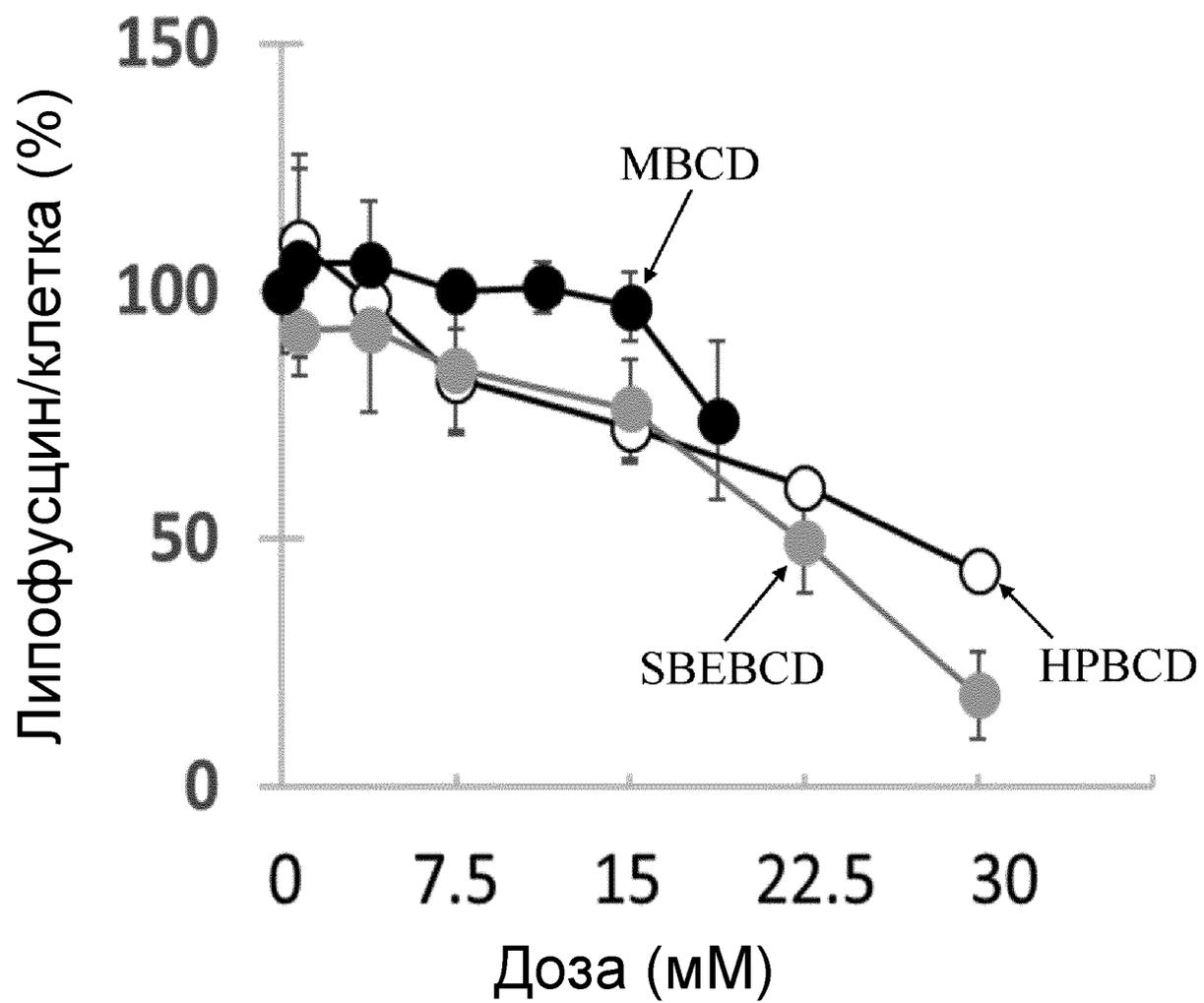
Фигура 5С



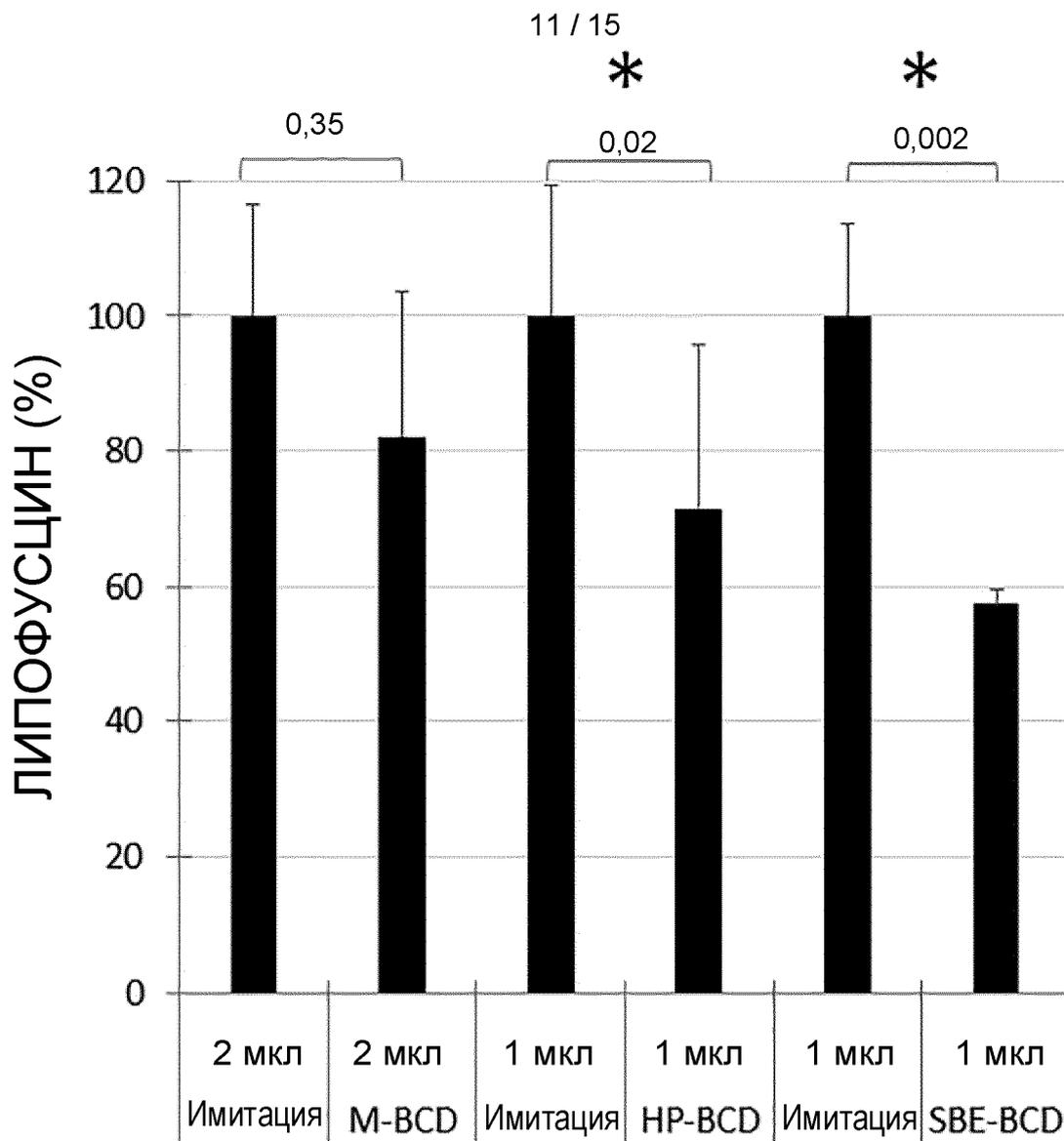
Фигура 6



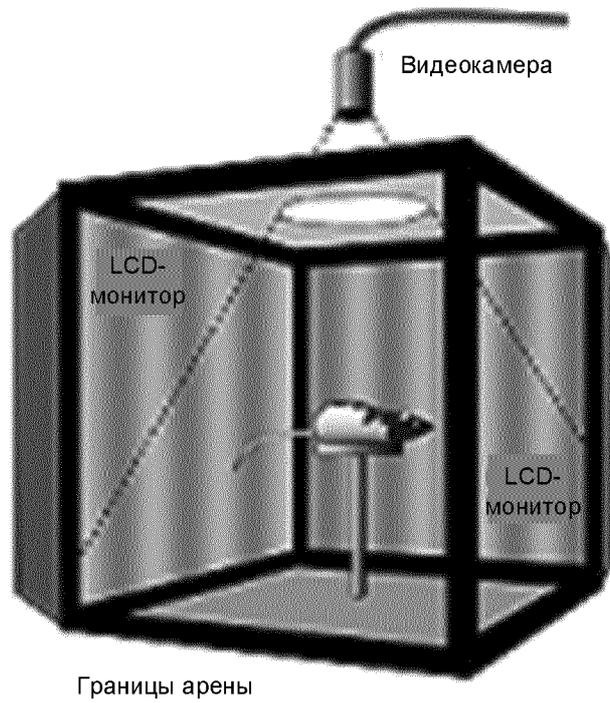
Фигура 7



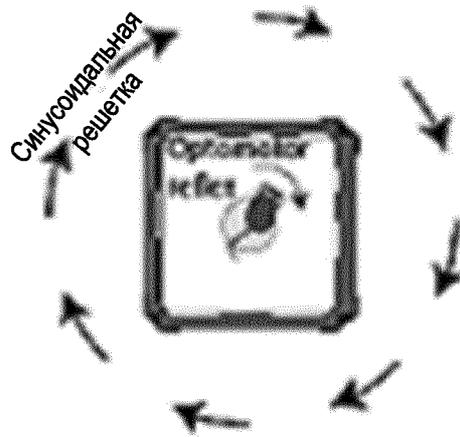
Фигура 8



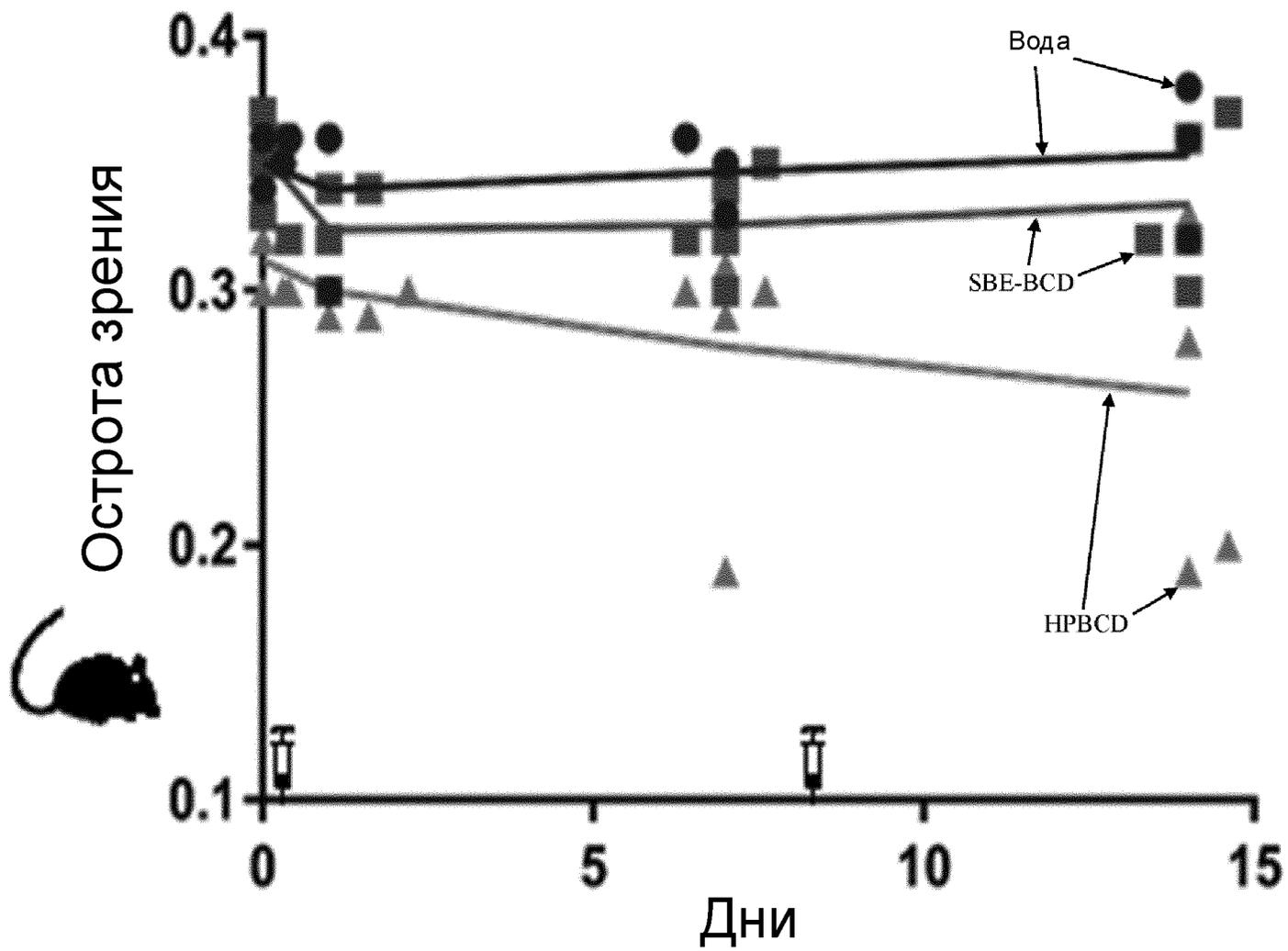
Фигура 9



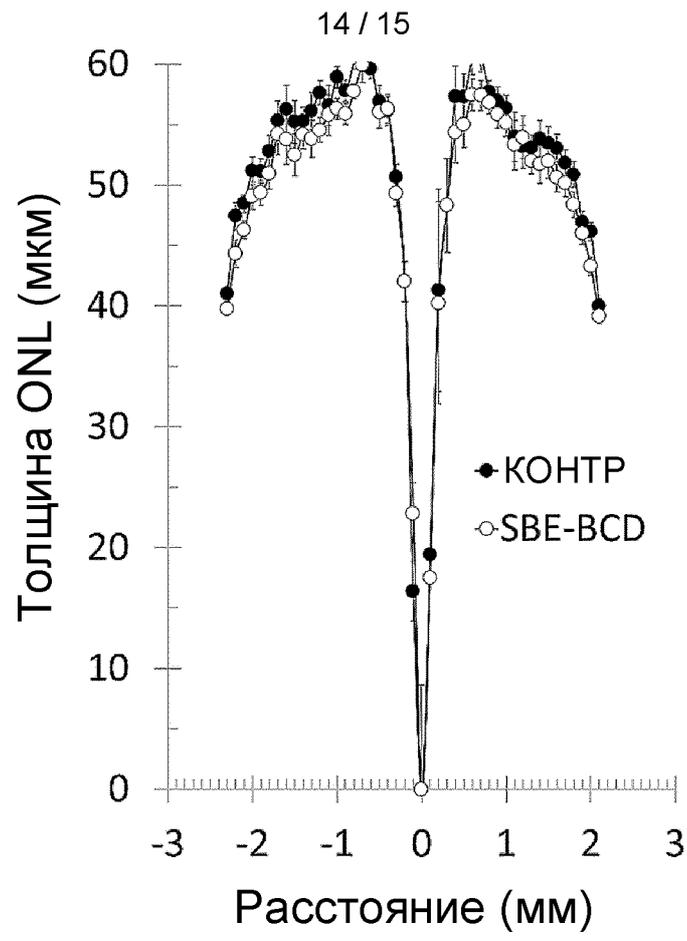
Виртуальная оптико-кинетическая система



Фигура 10А

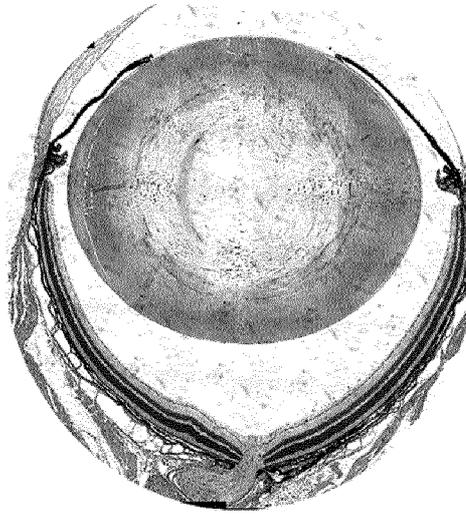


Фигура 10В

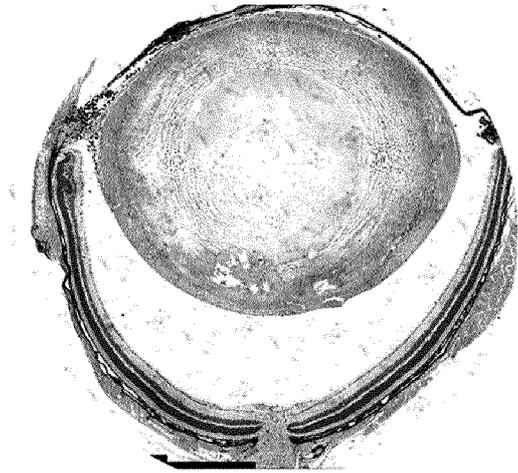


Фигура 11А

Носитель



SBE-BCD



Фигура 11В