

Представлений винахід має відношення до інтраназального фармацевтичного препарату, який містить фармацевтично прийнятну сіль ротиготину. Такі інтраназальні препарати є корисними при лікуванні захворювань, де введення ротиготину являється цілющим, зокрема, при лікуванні хвороби Паркінсона та інших розладів, пов'язаних з дофаміном.

Відомо, що агоністи дофаміну 02, такі як апоморфін або ротиготин, в принципі, можна використовувати для лікування хвороби Паркінсона та інших захворювань, для яких підвищення рівня дофаміну являється цілющим, таких як синдром втомлених ніг (restless leg syndrome (RLS)).

Однак через дуже сильний пресистемний метаболізм більшості з цих агоністів дофаміну та проблему, пов'язану з тим, що у багатьох пацієнтів з хворобою Паркінсона розвиваються деякі види лікарської толерантності до цих лікарських засобів, розробка безпечного та ефективного фармацевтичного препарату, за допомогою якого можна вводити контрольовані кількості ліків, являється далеко не тривіальною.

Ротиготин (5,6,7,8-тетрагідро-6-[пропіл-[2-(2-тієніл)етил]аміно]-1-нафталінол, який іноді також позначають як N-0923) та його фармацевтично прийнятні солі раніше вводили пацієнтам головним чином у формі трансдермальних систем доставки [дивись, наприклад, WO 94/07468, WO 99/49852, EP-A-1256339]. Однак також мала місце щонайменше одна спроба інтраназального введення цих ліків [Swart et al., *Pharmaceutical Sciences* 1995, 1: 437-440]. Сварт і інші вводили розчин гідрохлориду ротиготину у суміші поліетиленгліколю (PEG) 400 та води 1:1 самцям щурів Albino Wistar. Не дивлячись на те, що вони спостерігали покращену біодоступність ротиготину після буккального, назального або ректального введення в порівнянні з пероральним дозуванням щуру, вони також спостерігали, що біодоступність при назальному дозуванні була "до певної міри розчаровуючою" при порівнянні з результатами, описаними для інших ліпофільних ліків. Сварт і інші запропонували, що відносно низьку біодоступність, яку вони спостерігали, можна пояснити недостатнім всмоктуванням або швидким метаболічним перетворенням цих ліків у слизовій оболонці носа. Далі ці автори стверджували, що за станом на 1995 рік не було доступної ніякої інформації про вплив ротиготину на ціліарну функцію слизової оболонки носа. З їхньої точки зору, назальні ліки можуть змінювати або навіть руйнувати епітеліальні клітини, відновлення яких, в залежності від агенту, займає від декількох годин до декількох місяців [Van Donk et al., *Rhinology* 18: 93-104].

Беручи до уваги це досить збентежене повідомлення, за всією імовірністю, не дуже дивує, що після цього, у період після 1995 року, поки не був створений представлений винахід, мабуть, не було зроблено ніяких спроб назального введення ротиготину. З цього часу стан інформації про вплив ротиготину на ціліарну функцію слизової оболонки носа залишався в основному незмінним.

В [патенті US-A-2003-0124191] розкрита фармацевтична композиція у формі порошку, яка призначена для введення через слизову оболонку. Велику різноманітність активних інгредієнтів, які включають, поряд із багатьма іншими, ротиготин, можна використовувати в якості активної основи цього препарату, який може додатково містити зволожуючі агенти, зв'язуючі речовини, розбавники, агенти, які посилюють проникність, та інші інгредієнти. У цьому посиланні агенти, які посилюють проникність, включають, поряд з багатьма іншими, циклодекстрини. Шляхи введення, описані у цій заявці, є, крім того, різноманітними та включають введення через слизову оболонку щок, слизову оболонку носа, слизову оболонку піхви, а також сублінгвальне введення. Однак у цьому посиланні не розкритий конкретно інтраназальний препарат ротиготину, та не запропоновано ніякого обґрунтування у відношенні потреб та необхідних/підходящих інгредієнтів такого інтраназального препарату.

Апоморфіни являються ліками, які мають деякі спільні з ротиготином функціональні особливості, але розрізняються за структурою. Подібно до ротиготину, апоморфін являється агоністом дофаміну і тому був використаний для лікування різноманітних розладів, пов'язаних з дофаміном, включаючи хворобу Паркінсона. Назальне введення апоморфіну також випробовувалося. Наприклад, у [WO 94/22445] описані фармацевтичні композиції для інтраназального введення апоморфіну, морфіну та дигідроерготаміну. Ці ліки можна використовувати у комбінації з сахарами або вищими цукровими спиртами.

J. Duarte та інші описують аспекти інтраназального апоморфіну при хворобі Паркінсона у [публікації J. *Pharmacol. Technol.* 11:226-228 (1995)]. З одного боку, у цьому повідомленні стверджується, що інтраназальне введення апоморфіну являється зручною та ефективною альтернативою підшкірному введенню, але з іншого боку, також зазначається, що під час хімічних випробувань у одного пацієнта розвився назальний вестибуліт («скрутий риніт»). Не дивлячись на те, що цей пацієнт міг продовжувати терапію апоморфіном, все ж залишаються сумніви у загальній придатності цієї форми терапії, якщо взяти до уваги той факт, що у цьому дослідженні брали участь тільки чотири пацієнта. Дуже схоже повідомлення про такі побічні явища опубліковано у [Ned Tijdschr Geneesk 1992; 136, nr 14, p.702]. Автори цього посилання припускають, що апоморфін може зв'язуватись як гаптен з білками у слизовій оболонці носа та тим самим викликати алергічну реакцію. Таким чином, навіть у випадку апоморфіну, проблему знаходження безпечних (не алергенних) та ефективних інтраназальних ліків не можна розглядати як вирішену задовільно.

Зовсім нещодавно такі ж дані для рідких інтраназальних препаратів апоморфіну були знову підтверджені Djupesland та іншими у [публікації PFO Magazine, June/July 2002]. Ці автори стверджували, що, хоч і було показано, що введення рідкого інтраназального апоморфіну є ефективним при хворобі Паркінсона, місцеві побічні ефекти виражалися у формі утворення корок у носі, запалення та інфекції. Крім того було помічено, що апоморфін піддається швидкому окисненню в розчині. Щоб подолати ці проблеми, був розроблений назально-порошковий метод.

Основною задачею цього винаходу є розробка рідкого інтраназального препарату солей ротиготину, який являється стабільним, безпечним та ефективним. Аспекти бажаної стабільності включають прийнятну окиснюючу стабільність та гарну температурну стабільність. Аспекти безпечності препарату включають, поміж іншим, відсутність мікробіологічного забруднення, що спостерігалось, поряд зі збереженням можливості запобігти потенційно подразнюючих консервантів, таких як етанол або хлорид бензалконію, навіть якщо такі консерванти можна додавати відповідно до необхідності. Однак, у переважному аспекті даного винаходу інтраназальний препарат, вільний від будь-яких консервантів, все ще залишається антибактеріально активним. Додаткові аспекти безпечності включають слабе подразнення слизової оболонки носа та виключення назального вестибуліта. Аспекти ефективності препарату включають

можливість введення людині, яка страждає хворобою Паркінсона, кількостей ротигодину, достатніх для досягнення (а) рівня ротигодину у плазмі порядку щонайменше 100нг/мл та (б) вимірюваного покращення симптомів хвороби Паркінсона щонайменше на 2 одиниці за уніфікованою шкалою оцінок хвороби Паркінсона (Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)) в порівнянні з лікуванням плацебо. В контексті цієї заявки «лікування плацебо» має відношення до лікування за допомогою інтраназальної композиції, ідентичної якійс композиції, але у яку не включений активний інгредієнт.

Несподівано було помічено, що вищезгадані задачі можуть бути досягнені за допомогою рідкого інтраназального фармацевтичного препарату, який містить фармацевтично прийнятну сіль ротигодину, отриману приєднанням кислоти, та α -циклодекстрин. Найбільш переважною фармацевтично прийнятною сіллю ротигодину, отриманою приєднанням кислоти, являється гідрохлорид. Додаткові фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти, які можуть бути використані, включають уротрат, тартрат, цитрат, фосфат, сульфат та метансульфонат. Додаткові переважні аспекти інтраназальних препаратів за представленим винаходом наведені у доданих залежних пунктах формули винаходу та у подальшому детальному описі.

Відповідно до переважних аспектів даного винаходу вказаний рідкий інтраназальний препарат додатково містить буферні солі, наприклад, фосфати або ацетати, та як такий може бути представлений у вигляді забуференого водного розчину. У переважному втіленні інтраназальний препарат містить в якості буферної системи фосфатно-буферний розчин (phosphate buffered saline (PBS)).

Інтраназальний препарат за винаходом, переважно, може додатково містити речовину, яка збільшує в'язкість. В якості агентів, які збільшують в'язкість, в особливості є корисними гліцерин та карбоксиметилцелюлоза (СМС), але представлений винахід не обмежується цим. Гліцерин являється особливо переважним, так як він також здійснює заспокійливу дію на слизову оболонку носа. Переважно в'язкість інтраназальних препаратів за представленим винаходом повинна знаходитись від 0,8 до 1,5 мм²/с, найбільш переважно близько 1,2 мм²/с. В'язкість можна визначити за допомогою капілярного віскозиметра Уббелюде (Ubbelohde) з рівнем у вигляді підвішеної кульки у відповідності з Німецьким промисловим стандартом (DIN) 51562, частина 1. Крім того, гліцерин у препараті несподівано сприяє збільшенню поглинання ротигодину через слизову оболонку носа, як було показано за допомогою *in vitro* аналізу проникності, виконаного на слизовій оболонці носа свіжезабитої великої рогатої худоби.

Переважно значення рН препарату за винаходом повинно знаходитись в діапазоні від 4,5 до 6,5, більш переважно близько 5,8±0,3. Як було виявлено за допомогою *in vitro* аналізу проникності, значення рН 5,8 приводить до оптимального поглинання ліків. Несподівано було виявлено, що більш високе значення рН, яке дорівнює 6,5, а також більш низьке значення рН, яке дорівнює 4,5, у препараті приводили до значно меншого поглинання ротигодину через тканину слизової оболонки носа свіжезабитої великої рогатої худоби. Значення рН інтраназального препарату можна підводити під час або після його приготування за допомогою фармацевтично прийнятних кислоти або основи. Для цього найбільш переважно використовувати лимонну кислоту.

В переважному аспекті представленого винаходу інтраназальний препарат не містить додатковий агент, який підсилює всмоктування, консервант і/або антиоксидант. Хоч такі агенти звичайно використовують у багатьох комерційних інтраназальних препаратах, препарат за винаходом може працювати при їхній відсутності без втрати безпечності і ефективності або навіть може покращувати безпечність та ефективність, завдяки виключенню таких агентів.

Тим не менше, відповідно до менш переважного аспекту даного винаходу також можливо, щоб інтраназальний препарат містив додаткові агенти, які посилюють всмоктування. Такі агенти, які посилюють всмоктування, можуть відповідним чином бути вибрані з поверхнево-активних речовин і/або емульгаторів, зокрема, з неіонних поверхнево-активних речовин, таких як TWEEN 80® або кремофор RH40®. В якості антиоксиданта препарат може містити, наприклад, аскорбати або сорбати. Відомі консерванти, які можна використовувати у препараті, однак без такої необхідності, включають антимікробні речовини, такі як хлорид бензалконію. Однією з дуже сприятливих та неочікуваних особливостей препарату за винаходом являється те, що у таких антимікробних консервантах немає необхідності, таким чином, у додатковому аспекті винахід стосується інтраназального препарату, як описано вище, який являється вільним від консервантів. Відсутність консервантів, таких як хлорид бензалконію, надає додаткову перевагу, так як цей агент проявляє значну ціліарну токсичність. Експерименти, проведені заявником, демонструють, що саме препарат за даним винаходом, вільний від консервантів, показує відсутність мікробіологічного забруднення та задовольняє стандартам для препаратів для місцевого застосування відповідно до Європейської Фармакопії, 4-е видавництво (Ph. Eur., 4 Ed).

α -Циклодекстрин являється особливо важливою компонентою за винаходом. Автори даного винаходу помітили, що несподівано α -циклодекстрин помітно збільшує стабільність при зберіганні інтраназального препарату, навіть в порівнянні з β -циклодекстрином. Більше того, α -циклодекстрин, мабуть, має набагато кращу дію, що підвищує розчинність, на гідрохлорид ротигодину, ніж β -циклодекстрин. Концентрація α -циклодекстрину у розчині не повинна бути вище, ніж 0,5г/мл, та вона переважно знаходиться в діапазоні 0,001-0,1г/мл, більш переважно від 0,05 до 0,1г/мл, та найбільш переважно складає 0,05-0,085г/мл.

Циклодекстрини як такі, серед багатьох інших агентів, раніше вже пропонувались для доставки назальних ліків, дивись, наприклад, [Merkus і інші у Advanced Drug Delivery Reviews 36 (1999) 41-57]. Однак ця публікація Маркуса конкретно не має відношення до ротигодину, та в цілому, мабуть, скоріше надає перевагу β -циклодекстринам і, зокрема, метилованим β -циклодекстринам. Крім того, у цій статті звертається увага на великі міжвидові відмінності та міститься застереження проти машинального переносу результатів досліджень, виконаних на щурах, на людині.

Інтраназальний препарат, відповідно до переважного аспекту представленого винаходу, може містити 1-6мг/мл ротигодину-НСІ у водному забуференому розчині. Відповідно до додаткового та незалежного аспекту винаходу інтраназальний препарат містить від 0,03 до 0,1г/мл α -циклодекстрину у розчині.

Особливо переважні інтраназальні препарати за винаходом складаються з 2-5мг/мл ротигодину-НСІ, 0,05-0,1г/мл α -циклодекстрину та 2,2-3об.% гліцерину у водному буфері, такому як фосфатно-буферний

розчин (PBS).

Приклади

Наступні приклади ілюструють даний винахід, не обмежуючи його. Всі частини та проценти являються об'ємними, якщо не вказано інакше.

Приклад 1

Наступний інтраназальний препарат за представленим винаходом був виготовлений:

2,5г/л Ротиготин-НСІ
85г/л α -Циклодекстрин
8г/л NaCl
0,2г/л KCl
1,44г/л $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$
0,2г/л KH_2PO_4
31,2г/л Гліцерин (87%-ний розчин у воді)
вода додають до кінцевого об'єму
лимонна кислота для доведення рН розчину до 5,8

610мл води доводили лимонною кислотою до рН 3 та додавали альфа-циклодекстрин, гліцерин та гідрохлорид ротиготину, отримуючи концентрацію 85мг/мл, 2,6об.% та 2,5мг/мл, відповідно. Після цього додавали 250мл буферного розчину 4хPBS (який має чотирикратну концентрацію стандартного буферного розчину PBS, тобто концентрацію 32г/л NaCl, 0,8г/л KCl, 5,76г/л $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ та 0,8г/л KH_2PO_4 у воді) з наступним додаванням краплями 1М лимонної кислоти до досягнення рН 5,8. Воду використовували для того, щоб доповнити до кінцевого об'єму 1000мл.

Отриманий розчин фільтрували через 0,22мкм PES фільтр. Цим розчином можна заповнити прийнятні фармацевтичні контейнери, наприклад, темні флакони об'ємом 8мл, і він готовий для інтраназального введення ссавцям, включаючи людину.

Приклад 2

(Максимальну) розчинність ротиготину-НСІ у водному розчині при кімнатній температурі (20°C) можна значно покращити шляхом використання α -циклодекстину (α -CD), тоді як немає ніякого значного збільшення у розчинності ротиготину, якщо використовують β -циклодекстрин. Для концентрацій циклодекстринів, які є близькими до максимальної розчинності кожного з цих двох типів CD, 5,03мг/мл ротиготину-НСІ могли розчинитися у розчині 0,1г/мл α -CD, але тільки 1,57мг/мл могли розчинитися у розчині 0,015г/мл β -CD.

Цю концентрацію визначали за допомогою ізократичного HPLC аналізу, HPLC колонка типу LiChroCART 75x4мм, Superspher 60 RP-select B 5мкм (Merck), температура колонки: 30°C, рухома фаза: вода/ацетонітрил/метансульфонова кислота (65/35/0,05 об./об./об.), швидкість потоку: 2мл/хв, об'єм введення проби: 50мкл, детектування при 220нм, час утримання близько 1,5хв. Концентрацію визначали шляхом використання зовнішнього еталонного розчину з відомою концентрацією. Результати показані у наступній таблиці 1:

Таблиця 1

CD-Концентрація [г/мл]	Гідрохлорид ротиготину [мг/мл]		Ротиготин у вигляді основи [мг/мл]	
	α -CD	β -CD	α -CD	β -CD
0	1,05	1,05	0,15	0,15
0,005	н.в.	1,34	н.в.	0,21
0,01	1,39	1,40	0,19	0,22
0,015	н.в.	1,57	н.в.	0,22
0,05	3,0	*	0,34	*
0,1	5,03	*	0,57	*

н.в.=не визначено

*=перевищує максимальну розчинність β -CD у тестованому розчині.

Дуже несподівано було показано, що розчинність гідрохлориду ротиготину збільшується у п'ять разів при додаванні 0,1г/мл α -циклодекстину (α -CD), у той час як максимальний ефект посилення розчинності у випадку β -CD був тільки трохи помірним (коефіцієнт 1,6). Ротиготин у вигляді основи являється практично нерозчинним як у водному розчині, так і у водних розчинах, які містять α - або β -циклодекстрин. Таким чином, повні цілющі ефекти представленого винаходу можуть бути отримані тільки при застосуванні α -циклодекстину. На основі доступних даних про ротиготин цей ефект був неочікуваним та непередбачуваним.

Приклад 3

Щоб оцінити стабільність потенційних назальних препаратів гідрохлориду ротиготину при зберіганні, приготували наступні препарати:

Зразок препарату А (порівняльний приклад):

2,5г/л Ротиготин-НСІ
0,5г/л (об./об.) Tween 80
8г/л NaCl
0,2г/л KCl
1,44г/л $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$
0,2г/л KH_2PO_4
вода додають до кінцевого об'єму

лимонна кислота для доведення рН до 5, 8

470мл води доводили лимонною кислотою до рН 3 та додавали Tween 80 та гідрохлорид ротиготину, отримуючи концентрацію 0,5об.% та 2,5мг/мл відповідно. Після цього додавали 200мл буферного розчину 4хPBS з наступним додаванням краплями 1М лимонної кислоти до досягнення рН 5,8. Воду використовували, щоб доповнити до кінцевого об'єму 800мл.

Зразок препарату Б (препарат за винаходом):

2,5г/л	Ротиготин-НСІ
85г/л	α -Циклодекстрин
8г/л	NaCl
0,2г/л	KCl
1,44г/л	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
0,2г/л	KH_2PO_4
вода	додають до кінцевого об'єму
лимонна кислота	для доведення рН до 5, 8

470мл води доводили лимонною кислотою до рН 3 та додавали α -циклодекстрин та гідрохлорид ротиготину, отримуючи концентрацію 85мг/мл та 2,5мг/мл, відповідно. Після цього додавали 200мл буферного розчину 4хPBS з наступним додаванням краплями 1М лимонної кислоти до досягнення рН 5,8. Воду використовували, щоб доповнити до кінцевого об'єму 800мл.

Стабільність визначали, вимірюючи концентрацію ротиготину після тривалого часу, використовуючи градієнтний HPLC аналіз.

HPLC колонка: Licrospher 100 CN, 5 μ M, 125×4,6мм (Bidhoff), передколонний фільтр: 2мкм, рухома фаза А: вода/метансульфонова кислота (1000/0,5 (об./об.)), рухома фаза Б: ацетонітрил/метансульфонова кислота (1000/0,5 (об./об.)), швидкість потоку 1,0мл/хв, профіль градієнта: 0хв 95% А/5% Б; 2хв 95% А/5% Б; 35хв 40% А/60% Б; 38хв 40% А/60% Б; 39хв 95% А/5% Б; початковий тиск близько 90бар (9МПа), об'єм введення проби 80мкл, детектування при 220нм та 272нм, час утримання близько 18 хв. Щоб розрахувати чистоту лікарської речовини, інтегрували всі піки на хроматограмі з площею >0,05% аж до часу утримання 35 хвилин. Щоб розрахувати розклад гідрохлориду ротиготину, використовували відносну чистоту. Результати показані у Таблиці 2.

Таблиця 2

	Зразок А (Tween 80, без α -CD)		Зразок Б (з α -CD)	
	220нм	272нм	220нм	272нм
Розкладення ротиготину * 6 тижнів, 60°C	-5,6	-11,1	-1,0	-5,6
Розкладення ротиготину * 1 рік, 40°C	-6,0	-9,1	-0,4	-2,0
Розкладення ротиготину * 1 рік, 25°C	-2,6	-3,1	±0,0	±0,2**

* Ці значення відображають зниження у поглинанні ротиготину між початковими значеннями та поточними точками тестування при даних умовах.

** Таке, що здається, збільшення чистоти можна пояснити точністю вимірювання цього аналітичного методу. Цей результат слід розуміти як незначну зміну чистоти відносно початкового значення при $t=0$.

З таблиці 2 досить очевидно, що α -циклодекстрин (зразок Б) помітно збільшує стабільність гідрохлориду ротиготину в порівнянні з препаратом з Tween 80 (зразок А). Стабілізуючий ефект α -циклодекстрину також стає очевидним із порівняльного тесту у водному розчині ротиготину. Після зберігання при 60°C протягом 8 тижнів розчин ротиготину 1,6мг/мл з α -циклодекстрином показав зменшення концентрації ротиготину -0,07мг/мл, тоді як розчин ротиготину 1,9мг/мл без α -циклодекстрину показав зменшення -0,22мг/мл.

Приклад 4

2,5г/л	Ротиготин-НСІ
50г/л	α -Циклодекстрин
4г/л	NaCl
0,1г/л	KCl
0,72г/л	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
0,1г/л	KH_2PO_4
31,2г/л	Гліцерин (87%-ний розчин у воді)

470мл води доводили лимонною кислотою до рН 3 та додавали α -циклодекстрин, гліцерин та гідрохлорид ротиготину, отримуючи концентрацію 50мг/мл та 2,5мг/мл, відповідно.

Після цього додавали 200мл буферного розчину 2хPBS з наступним додаванням краплями 1М лимонної кислоти до досягнення рН 5,8. Воду використовували, щоб доповнити до кінцевого об'єму 800мл.