



(12) SØKNAD

(11) 20240132

(13) A1

NORGE

(19) NO

(51) Int Cl.

*A61K 31/047 (2006.01)*

*A61K 31/14 (2006.01)*

*A61K 31/205 (2006.01)*

*A61K 31/70 (2006.01)*

*A61K 9/08 (2006.01)*

*A61K 9/00 (2006.01)*

*A61P 27/04 (2006.01)*

## Patentstyret

---

|      |            |                                                                                                                                                                                                 |      |                           |                                 |
|------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---------------------------|---------------------------------|
| (21) | Søknadsnr  | 20240132                                                                                                                                                                                        | (86) | Int.inng.dag og søknadsnr | 2005.11.14<br>PCT/US2005/041064 |
| (22) | Inng.dag   | 2024.02.13                                                                                                                                                                                      | (85) | Videreføringsdag          | 2024.02.13                      |
| (24) | Løpedag    | 2005.11.14                                                                                                                                                                                      | (30) | Prioritet                 | 2004.11.16, US, 10/990,811      |
| (41) | Alm.tilgj  | 2007.08.15                                                                                                                                                                                      |      |                           |                                 |
| (62) | Avdelt fra | 20220060, 2022.01.18                                                                                                                                                                            |      |                           |                                 |
| (71) | Innehaver  | Allergan, Inc., Tower Two, 7th Floor 2525 Dupont Drive, CA92612 IRVINE, USA                                                                                                                     |      |                           |                                 |
| (72) | Oppfinner  | Joan-En Chang-Lin, 2226 Huntley Drive, CA92782 TUSTIN, USA<br>Joseph G. Vehige, 28386 La Pradera, CA92677 LAGUNA NIGUEL, USA<br>Peter A. Simmons, 16611 Camille Place, CA92886 YORBA LINDA, USA |      |                           |                                 |
| (74) | Fullmektig | BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge                                                                                                                                              |      |                           |                                 |

---

|      |            |                                                                            |  |  |  |
|------|------------|----------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| (54) | Benevnelse | <b>Oftalmiske sammensetninger og fremgangsmåter for behandling av øyne</b> |  |  |  |
| (57) | Sammendrag |                                                                            |  |  |  |

Oftalmologiske sammensetninger som omfatter forlikelige soluttkomponenter og/eller polyanioniske komponenter er anvendelige til behandling av øyne, for eksempel for å lindre tørt øye syndrom, beskytte øyne mot hypertonisk skade og/eller de skadelige virkninger av kationiske forbindelser på de okulære overflater av øyet og/eller lette restituering etter kirurgiske inngrep på øyet.

## OFTALMISKE SAMMENSETNINGER OG FREMGANGSMÅTER FOR BEHANDLING AV ØYNE

### BAKGRUNN FOR OPPFINNELSEN

5 Foreliggende oppfinnelse vedrører oftalmologiske sammensetninger og fremgangsmåter som er nyttige til behandling av øyne. Mer spesifikt vedrører foreliggende oppfinnelse oftalmologiske sammensetninger som inkluderer blandinger av komponenter, som er effektive når det gjelder å gi ønsket beskyttelse av øynenes overflate hos mennesker eller dyr, og fremgangsmåter for behandling av 10 menneske- og dyreeyne ved bruk av oftalmologiske sammensetninger, for eksempel de foreliggende oftalmologiske sammensetninger.

Øynene hos pattedyr, slik som menneske- og andre pattedyrs øyne, har fordelen av å være tilstrekkelig fuktige til å gi øyekomfort, og mer effektivt gi godt, klart syn. Vanligvis fremskaffes denne fuktigheten på naturlig måte fra en tårefilm, 15 som dekker over den ytre, eksponerte, okulære overflaten til øyet. Denne tårefilmen er en kompleks væske som normalt etterfylles kontinuerlig av tåre-, meibomske- og andre kjertler, og, når den er intakt, sørger for essensiell hydratisering og ernæring til øyets overflate. I tillegg til å dekke over og beskytte den ømtålige øyeoverflaten, tjener også grenseflaten mellom tårefilm og luft som 20 den ytterste refraktive overflaten i øyet. Imidlertid finnes det mange tilstander der denne tårefilmen ikke er tilstede i tilstrekkelig mengde, og en tilstand kjent som "tørt øye" kan bli resultatet.

Et relativt stort antall sammensetninger har vært foreslått til bruk i behandling og håndtering av tørt øye syndrom. For eksempel har kunstig tårevæske, som er materialer med kjemiske sammensetninger som etterligner 25 virkningen til naturlige tårer, vært benyttet. Slike kunstige tårer krever oftest svært hyppig bruk, siden de forsvinner fort fra øyet. Dessuten, selv om de fukter øyet, er verdien av dem som fuktighetsmidler mindre enn ønskelig. Sammensetninger som inneholder spesifikke smørende stoffer har vært foreslått. For eksempel har flere 30 sammensetninger som inneholder karboksymetylcelluloser (CMC) blitt brukt i øynene.

Under normale omstendigheter er øyets overflate hos mennesker og pattedyr badet av tårer med normal osmotisk styrke, for eksempel tilnærmet

isotonisk. Dersom denne osmotiske styrken økes, vil celler på øyeoverflaten bli eksponert for et hyperosmotisk eller hypertontisk miljø som resulterer i ugunstig reduksjon i cellevolum på grunn av transepitelialt vannuttak og andre uønskede forandringer. Kompensasjonsmekanismene er på mange måter begrensede, og dette fører til risiko for skade av øyeoverflaten, og ubehag. Cellene kan for eksempel forsøke å balansere det osmotiske trykket ved å øke sin interne elektrolyttkonsentrasjon. Men ved økt elektrolyttnivå forandres cellemetabolismen på flere måter, inklusivt reduksjon i enzymaktivitet og membranskade. Dessuten har et hypertontisk miljø vist seg å virke proinflammatorisk på øyeoverflaten.

Hos mange livsformer kan cellene kompensere for hypertontiske betingelser gjennom den naturlige akkumulering eller produksjon av såkalt kompatible solutter, som virker som elektrolytter ved å balansere det osmotiske trykket, men uten å interferere med cellulær metabolisme slik elektrolytter gjør. Kompatible solutter eller kompatible solutt-midler er generelt uladete, kan holdes i en levende celle, for eksempel en okulær celle, har relativt lav molekylvekt og er ellers forenelig med cellemetabolismen. Kompatible solutter anses også for å være osmoprotektive, siden de tillater cellemetabolisme og/eller øker cellenes overlevelse under hypertontiske forhold, som ellers ville være begrensende. Det eksisterer for eksempel en klasse organismer, såkalte halofile, som lever i hypersalte miljøer som saltlake, dype sjøbassenger og kunstig anlagte fordampningsdammer. Disse organismer kan være eukaryote eller prokaryote, og har mekanismer til syntese og/eller akkumulering av et mangfold kompatible solutter, inklusivt polyoler, sukker og aminosyrer og deres derivater, så som glycin, betain, prolin, ektoin og lignende.

Glycerol er et mye brukt osmotisk virkemiddel, som er blitt kjent som en kompatibel solutt i forskjellige celler hos en rekke ulike arter. Det blir også regnet som en humektant og oftalmologisk smøremiddel. I USA appliseres det topisk på øyets overflate for å lindre irritasjon i konsentrasjoner opp til 1%, og har også vært benyttet i høyere konsentrasjoner for å gi osmotisk styrke i foreskrevne medikamenter. På grunn av liten størrelse og biologisk opprinnelse krysser det lett cellemembraner, og det er nylig påvist transportkanaler som kan lette glycerols bevegelser i noen celletyper.

Selv om glycerol kan opptre som eneste kompatible solutt, kan det være svært mobilt, det vil si krysse membraner for lett til å være til utstrakt nytte i enkelte systemer. Menneskers tårefilm er et eksempel hvor det naturlige nivå av glycerol er lavt. Hvis en topisk sammensetning appliseres, starter migrasjonen inn i cellene sannsynligvis ganske raskt. Men når konsentrasjonen i tårevæsken faller, kan glycerolet over tid gå tapt fra celler til tårefilmen, hvilket begrenser varigheten av nytteeffekten.

En annen stor gruppe komponenter med osmo-protektive egenskaper i mange forskjellige vevstyper er visse aminosyrer. Særlig har betain (trimetylglycin) vist seg å kunne bli tatt aktivt opp av nyreceller som svar på osmotiske utfordringer, og taurin akkumuleres av okulære celler ved hypertoniske forhold.

Det er fortsatt behov for å tilveiebringe oftalmologiske sammensetninger, for eksempel kunstige tårer, øyedråper og lignende, som er forlidelige med den okulære overflaten hos menneskers og dyrs øyne, og som effektivt medvirker til at disse okulære overflatene bedre tolererer hypertoniske forhold.

Hypotoniske sammensetninger har vært brukt i øyne som en metode til å motvirke virkningene av hypertoniske miljøer. Disse sammensetningene spylar øyeoverflaten effektivt med vann som raskt entrer cellene når det anvendes som en hypotonisk kunstig tårevæske. Men på grunn av den raske mobiliteten av vannet ut og inn i cellene, blir enhver fordel ved en hypotonisk sammensetning særdeles kortvarig. Videre er det blitt påvist at man ved å flytte celler fra et hypertonisk miljø til et isotonisk eller hypotonisk miljø regulerer ned cellenes transportmekanismer for å akkumulere kompatible solutter. Derfor vil bruk av hypotoniske kunstige tårevæsker redusere cellenes evne til å tåle hypertonisiteten som kommer tilbake kort tid etter instillasjon av dråper.

Ved klinisk observasjon har man påvist at veletablerte stoffer som natriumkarboksymetylcellulose (CMC) og natriumhyaluronat (SH) er anvendelige til behandling av indikasjoner og symptomer på tørt øye syndrom eller sykdom. Disse to polyanioniske midlene har også vist seg å være spesielt nyttige ved tilstander hvor det foreligger indusert korneaskade (CMC og LASIK kirurgiske inngrep eller allergisk korneaskade (SH og korneasår ved allergi).

Dessuten kan tårefilmen hos antatt normale menneske- og dyreøyne ha for høye (målbare) nivåer av Major Basic Protein (MBP), mens man tidligere trodde at

dette protein bare ble uttrykt ved allergiske tilstander hvor eosinofili var involvert (senfase allergi). MBP har nå vist seg å bli produsert i mastceller (MC), slik som eosinofile, som er kjent for å ofte forekomme i øyets overflatevev, og som kan degranulere og dermed frigjøre MBP og andre kationiske komponenter ved antigenstimulering, mekanisk traume og lignende tilstander. En annen gruppe kationiske proteiner som er aktive på øyeoverflaten er én eller flere defensiner, som normalt er en del av kroppens forsvarsmekanismer mot mikrober. Økt mengde defensiner er påvist i tårefilmen hos pasienter med tørre øyne, og disse kan enten ved direkte påvirkning eller gjennom interaksjon med andre substanser ha skadelig effekt på øyeoverflatens helsetilstand.

Det finnes etablerte behandlinger for å redusere sannsynligheten for MC-degranulering, de fleste brukes på øyeoverflaten i forbindelse med sesongmessig eller vedvarende allergisk konjunktivitt. Men når degranulering forekommer, finnes det ingen etablert behandling for å fjerne eller deaktivere frigjorte kationiske mediatorer, inklusivt MBP. Skylling med saltvann vil utvanne midlene, men er upraktisk i de fleste tilfeller. Nyere data indikerer også at MBP kan finnes på okulære overflater selv i ikke-allergiske øyne, hvilket betyr at en overflod av MBP og potensiell mindre skade på den okulære overflaten kan forekomme når som helst hos individer.

Det ville være fordelaktig å fremstille en oftalmologisk sammensetning som er effektiv når det gjelder å dempe eller redusere de skadelige virkningene av kationiske, for eksempel polykationiske materialer på okulære overflater i menneske- og dyreøyne.

## SAMMENFATNING AV OPPFINNELSEN

Det er oppdaget nye oftalmologiske sammensetninger og fremgangsmåter til behandling av øyne. De foreliggende sammensetningene behandler øyne svært effektivt, for eksempel øyne som er angrepet av, eller disponert for, sykdommer/tilstander som tørt øye syndrom, miljø med lav luftfuktighet og stress/traume, for eksempel på grunn av kirurgiske inngrep og lignende. Disse sammensetningene vil være spesielt nyttige til å dempe de skadelige effekter av en hypertonisk tårefilm, uansett årsak. De foreliggende sammensetninger er relativt ukompliserte, kan produseres enkelt og kostnadseffektivt, og kan

administreres, for eksempel ved topisk administrering på øyeoverflaten på en svært enkel måte.

I et bredt aspekt av foreliggende oppfinnelse tilveiebringes oftalmologiske sammensetninger som inneholder en bærerkomponent, helst en vandig bærerkomponent, og en effektiv mengde av en tonisitetkomponent som inkluderer et materiale valgt blant forlikelige soluttkomponenter, for eksempel én eller flere spesielle forlikelige solutter og blandinger av disse. I en meget nyttig utførelsesform inneholder tonisitetkomponenten et materiale valgt fra erytritolkomponenter og blandinger derav. I en annen utførelsesform inneholder tonisitetkomponenten et materiale valgt fra kombinasjoner av minst to forskjellige forlikelige solutter.

I henhold til et annet bredt aspekt ved oppfinnelsen tilveiebringes oftalmologiske sammensetninger som inneholder en bærer, for eksempel en vandig bærer, komponent og en effektiv mengde av et materiale valgt fra inositolkomponenter, xylitolkomponenter og blandinger av disse. Osmolaliteten av slike sammensetninger er ofte høyere eller mer enn isotonisk, for eksempel innen et område på minst 310 til ca. 600 eller ca. 1000 mOsmol/kg.

I et annet bredt aspekt ved oppfinnelsen tilveiebringes oftalmologiske sammensetninger som omfatter en bærer, for eksempel en vandig bærer, komponent, og en effektiv mengde av en tonisitetkomponent som omfatter et materiale valgt fra karnitinkomponenter og blandinger derav. I en særlig nyttig utførelsesform har sammensetningen ikke-isotonisk osmolalitet.

I et annet aspekt ved foreliggende oppfinnelse er det fremstilt oftalmologiske sammensetninger som omfatter en bærer, for eksempel en vandig bærer, komponent, og en effektiv mengde av en tonisitetkomponent som omfatter materiale valgt fra en blanding eller kombinasjon av forlikelige solutter, for eksempel valgt fra blandinger av én eller flere polyolkomponenter og/eller én eller flere aminosyrekomponenter.

I hvert av de ovenfor nevnte aspekter ved oppfinnelsen, har de foreliggende sammensetninger nyttig kjemisk make-up, slik at materialet eller blandingen av organiske forlikelige solutter inkludert i tonisitetkomponenten, når sammensetningen administreres på øyets okulære overflate, er effektiv når det gjelder å bedre toleransen i øyeoverflaten for en hypertonisk tilstand, bedre i forhold til en

identisk sammensetning uten materiale eller blandingen av organiske forlikelige solutter.

Nok et annet bredt aspekt ved oppfinnelsen tilveiebringer oftalmologiske sammensetninger som omfatter bærerkomponent, en tonisitetskomponent og en polyanionisk komponent.

Tonisitetskomponenten foreligger i en mengde som er effektiv nok til å gi sammensetningen ønsket osmolalitet, og omfatter en forlikelig soluttkomponent. En viss mengde av den polyanioniske komponenten er tilstede dersom sammensetningen skal administreres på et menneske- eller dyreøye for å redusere minst én skadelig effekt av et kationisk, for eksempel et polykationisk materiale på overflaten av menneske- eller dyreøyet, i forhold til en identisk sammensetning uten den polyanioniske komponenten. Dette kationiske materialet kan ha forskjellig opprinnelse, for eksempel kan det være endogent, skyldes miljømessig forurensning, eller være en uønsket konsekvens av å applisere et stoff på øyet, for eksempel en konservert oppløsning eller et pleiende middel for kontaktlinser. I en svært nyttig utførelsesform er hyaluronsyre ikke den eneste polyanioniske komponenten. Andre polyanioniske komponenter er bedre egnet til bruk i de foreliggende sammensetninger, for eksempel er de bedre egnet enn hyaluronsyre eller dens salter til topisk administrering på den okulære overflaten til et menneske- eller dyreøye. I en annen utførelsesform av foreliggende oppfinnelse har sammensetningen en osmolalitet innen et område fra ca. 300 til ca. 600 eller ca. 1000 mOsmol/kg.

Et ytterligere bredt aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringer oftalmologiske sammensetninger som omfatter en bærerkomponent og en polyanionisk komponent valgt fra polyanioniske peptider, polyanioniske peptid-analoger, deler av polyanioniske peptidanaloger, karboksymetyl-substituerte polymerer av sukkerer, inklusivt men ikke begrenset til, glukose og lignende sukkerer og blandinger av disse. Slike polyanioniske komponenter foreligger i en effektiv mengde når blandingene administreres til et menneske- eller dyreøye, for å redusere i det minste én skadelige effekt av en kationisk, for eksempel polykationisk forbindelse og/eller substans på en okulær øyeflate i forhold til en identisk sammensetning uten den polyanioniske komponent.

Fremgangsmåter for behandling av menneske- eller dyreøyne tilveiebringes også. Slike fremgangsmåter omfatter administrering av en sammensetning, for eksempel en sammensetning i henhold til foreliggende oppfinnelse, til menneske- eller dyreøyne for å gi minst én fordel til øyet.

5 Ethvert nytt trekk som her er beskrevet, og kombinasjoner av slike trekk, er inkludert innen rammen av foreliggende oppfinnelse, forutsatt at disse trekk ved en hvilken som helst slik kombinasjon ikke er innbyrdes uforlikelige.

Disse og andre aspekter ved foreliggende oppfinnelse blir tydeliggjort i følgende detaljerte beskrivelse og ledsagende tegninger, eksempler og krav.

10

#### KORT BESKRIVELSE AV TEGNINGENE:

Fig. 1 er en grafisk fremstilling av intensiteten angående fosforylerte c-jun N-terminale kinaser (p-JNK 1 og p-JNK 2) av visse oftalmologiske sammensetninger.

15 Fig. 2 er en grafisk fremstilling av intensiteten angående p-JNK 1 og p-JNK 2 av visse andre oftalmologiske sammensetninger.

Fig. 3 er en grafisk fremstilling av fosforylert:totalt JNK-forhold hos visse oftalmologiske sammensetninger oppnådd ved bruk av Beadlytes metode.

20 Fig. 4 er en grafisk fremstilling av fosfo:total p38 MAP-kinase for visse oftalmologiske sammensetninger oppnådd ved bruk av Beadlytes metode.

Fig. 5 er en grafisk fremstilling av fosfo:total ERK MAP-kinase for visse oftalmologiske sammensetninger oppnådd ved bruk av Beadlytes metode.

25 Fig. 6 er en grafisk fremstilling av en sammenfatning av konsentrasjons-avhengige effekter på transepitelial elektrisk motstand (TEER) for forskjellige oftalmologiske sammensetninger.

Fig. 7 er en grafisk fremstilling av effektene på TEER av forskjellige oftalmologiske sammensetninger, inklusivt sammensetninger som inneholder kombinasjoner av forlikelige solutter.

30 Fig. 8 er en grafisk fremstilling av effektene på TEER av forskjellige andre oftalmologiske sammensetninger, inklusivt sammensetninger som inneholder kombinasjoner av forlikelige solutter.



## DETALJERT BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

Foreliggende oppfinnelse er rettet mot oftalmologiske sammensetninger som er anvendelige til behandling av menneske- og dyreøyne. Som beskrevet ovenfor i ett aspekt av oppfinnelsen, fremstilles det sammensetninger som  
5 omfatter en bærerkomponent, for eksempel en vannbasert eller vandig bærerkomponent, og en tonisitetkomponent som omfatter et materiale valgt fra minst én forlikelig soluttkomponent, for eksempel en organisk forlikelig soluttkomponent. Slike sammensetninger må helst inneholde en effektiv mengde av materialet, slik at sammensetningen er såpass effektiv når den administreres i  
10 øyet at den okulære overflaten kan tåle en hypertonisk tilstand bedre i forhold til en identisk sammensetning uten dette materialet.

Selv om slike sammensetninger har passende tonisitet eller osmolalitet, for eksempel en hypotonisk osmolalitet, en tilnærmet isotonisk osmolalitet eller en hypertonisk osmolalitet, har de mest nyttige sammensetningene osmolaliteter som  
15 ikke er isotoniske, for eksempel større enn isotonisk osmolalitet. I én utførelsesform har de foreliggende sammensetninger osmolaliteter innen et område på minst ca. 300 eller ca. 310 til ca. 600 eller ca. 1000 mOsmol/kg.

Polyoler, som f.eks. erytritol-komponenter, xylitol-komponenter, inositol-komponenter og lignende og blandinger av disse, er effektive tonisitets/osmotiske  
20 midler, og kan inkluderes alene eller i kombinasjon med glycerol og/eller andre forlikelige solutter i de foreliggende sammensetninger. Uten ønske om å begrense oppfinnelsen til noen spesiell anvendelsesteori, antas det at disse polyolkomponentene på grunn av sin økte størrelse i forhold til glycerol, akkumuleres langsommere i cellene enn glycerol når de appliseres topisk på øyet, men forblir  
25 inne i cellene i et lengre tidsrom i forhold til glycerol.

I en svært nyttig anvendelsesform kan blandinger av to eller flere forskjellige forlikelige soluttkomponenter, for eksempel glycerol og/eller én eller flere andre polyolkomponenter og/eller én eller flere andre forlikelige soluttkomponenter, for eksempel én eller flere uladete eller zwitterioniske aminosyrekomponenter og lignende, med fordel brukes sammen for å gi én eller flere  
30 fordeler til øyet som ikke oppnås ved bruk av sammensetninger som bare inneholder en enkelt forlikelig soluttkomponent.

Slik det her er brukt refererer betegnelsen "komponent" om en gitt forbindelse seg til forbindelsen som sådan, isomerer og stereoisomerer av forbindelsen hvis de finnes, passende salter av forbindelsen, derivater av forbindelsen og lignende, samt blandinger av disse.

5 Slik det her er brukt refererer betegnelsen "derivat" når det gjelder en gitt forbindelse, seg til en forbindelse som har en kjemisk make-up eller struktur tilstrekkelig lik den gitte forbindelsen til å funksjonere på en tilnærmet lik måte som den gitte forbindelse i de foreliggende sammensetninger og/eller metoder.

10 Komfort og toleranse kan tas med i betraktningen ved fremstilling av de foreliggende sammensetninger. Mengden av organiske forlikelige solutter som anvendes i de foreliggende sammensetninger bør være effektive når det gjelder å gi minst én fordel til en pasients øye uten unødig å skade pasienten, for eksempel uten å forårsake unødig irritasjon, refleks-tåreflod og lignende bivirkninger.

15 For fagmannen er det mulig å fremstille tykke væsker og geler som holdes tilbake i lengre tidsrom på okulære overflater enn tynne væsker, med forbigående sløring av synet som ulempe. Tykke væsker og geler har imidlertid fordelen av mindre hyppig dosering for å avgi en gitt mengde substans.

20 Xylitol og erytritol brukt alene kan kreve lengre kontakttid for å fungere effektivt som forlikelige solutter, for eksempel på grunn av tiden som trengs for å tas opp i cellene. Men når de først er på plass, for eksempel inne i en okulær overflatecelle, er den gunstige virkningen ved å balansere hypertoniske forhold fordelaktig, lengre enn ved bruk av en ekvivalent mengde glycerol, som beveger seg raskt inn i og ut av cellene. En slik fordel av lengre varighet, og mindre hyppig dosering, kan oppnås uten sløring av synet.

25 I én utførelsesform omfatter foreliggende oppfinnelse en kombinasjon eller blanding av forlikelige solutter, med den fordel at hver substans er av forskjellig kjemisk type og/eller har en forskjellig molekylstørrelse og/eller mobilitet. Små mobile midler gir rask, men kortvarig, effekt, det vil si beskyttelse mot hypertonisk skade, mens store, mindre mobile, midler gir beskyttelse som starter tregere, men  
30 varer lengre.

Xylitol, erytritol og glycerol har alle tre høye konsentrasjoner av hydroksylgrupper; én per karbon. Hydroksylgrupper gir større binding til vann og øker formuleringens oppløselighet. I sammensetninger til behandling av tørt øye

syndrom, kan slike høye konsentrasjoner av hydroksygrupper øke effekten av sammensetningen ved å hindre vanntap fra vevet.

Blant polyolene foretrekkes 5-karbon-xylitol, 4-karbon-erytritol og 3-karbon-glycerol til oftalmologisk bruk. 2-karbon-formen (etylenglykol) er et velkjent toksin og er uegnet. 6-karbon-formene (mannitol, sorbitol og beslektede deoksy-forbindelser) kan være nyttige i kombinasjon med de mindre molekylene. I en utførelsesform kan kombinasjoner av polyoler med 3 til 6 karboner, inklusivt også 1- og 2-deoksy-derivater, uten begrensning, isomerer, stereoisomerer og lignende, hvor det passer, være nyttige i foreliggende oppfinnelse.

Uladede eller zwitterioniske aminosyrer er nyttige som organiske forlikelige solutter i henhold til foreliggende oppfinnelse.

Karnitinkomponenter, for eksempel karnitin som sådant, isomerer/stereoisomerer derav, salter derav, derivater derav og lignende, samt blandinger derav, er svært nyttige forlikelige solutter til bruk i de foreliggende oftalmologiske sammensetninger. Karnitin er veletablert som nødvendig i forskjellige deler av fettsyremetabolisme, og det har en viktig rolle i metabolismen i lever- og muskelceller. Karnitin kan tjene som energikilde for mange slags celler, inklusivt okulære celler. Karnitinkomponenter kan ha unike egenskaper i mange sammenhenger, for eksempel som osmoprotektanter, i fettsyremetabolisme, som antioksydanter, i å fremme sårtilheling, som en proteinbeskytter og til neuroproteksjon.

Den organisk forlikelige soluttkomponenten kan med fordel benyttes i de foreliggende sammensetninger, ved å anvende en kombinasjon av slike midler eller materialer med varierende størrelse, mobilitet og virkningsmekanisme. Små, mobile midler, som mindre polyoler, antas å gi rask, men kortvarig osmoproteksjon. Mange av aminosyrene og relaterte forbindelser kan virke som langtidsvirkende intracellulære forlikelige solutter og proteinstabilisatorer. I foreliggende oppfinnelse kan karnitinkomponenter brukes alene eller i kombinasjon med én eller flere andre aminoorganiske forlikelige soluttkomponenter og/eller polyoler, for eksempel som her beskrevet.

Aminbaserte organiske forlikelige soluttkomponenter og/eller komponenter som kan benyttes, omfatter men er ikke begrenset til, betain, taurin, karnitin, sarkosin, prolin, trimetylaminer generelt, andre zwitterioniske aminosyrer og lignende, og blandinger av disse. Polyoler som kan være nyttige i kombinasjon

med karnitin og/eller en av de andre aminbaserte organiske forlikelige soluttkomponenter omfatter, men er ikke begrenset til, glycerol, propylenglykol, erytritol, xylitol, myoinositol, mannitol, sorbitol og lignende, samt blandinger av disse.

5 Mengden av forlikelig soluttkomponent i de foreliggende sammensetninger kan være enhver passende mengde. Men en slik mengde bør helst være effektiv når det gjelder å være fordelaktig for øyet ved administrering av sammensetningen som inneholder den forlikelige soluttkomponenten til øyet. Eksessive mengder forlikelig soluttkomponent bør unngås, siden slike mengder kan forårsake ubehag 10 for pasienten og/eller potensiell skade i det øye som behandles. Den forlikelige soluttkomponent bør helst foreligge i en mengde som gir den ønskede osmolalitet til sammensetningen.

Den spesifikke mengden forlikelig soluttkomponent som anvendes kan variere innen et bredt område, for eksempel avhengig av den totale kjemiske 15 make-up og tilsiktet bruk av sammensetningen, av den ønskede osmolalitet i sammensetningen, av den spesifikke forlikelige solutt eller kombinasjonen av slike solutter som benyttes, og lignende faktorer. I én utførelsesform kan den totale mengde forlikelig soluttkomponent benyttet i de foreliggende sammensetninger, være innen et område fra ca. 0,01% (vekt/volum) eller ca. 0,05% (vekt/volum) til 20 ca. 1% (vekt/volum) eller ca. 2% (vekt/volum) eller ca. 3% (vekt/volum) eller mer.

Korneale overflateceller responderer på osmotiske krefter ved å regulere salt- og vanntransport som forsøk på å opprettholde konstant cellevolum. Ved 25 tilstander med kronisk hypertonisitet, slik det for eksempel forekommer ved tørt øye sykdom, blir transportmekanismene for opptak av forlikelige solutter, inklusivt forskjellige aminosyrer og polyoler, oppregulert. I én utførelsesform av foreliggende oppfinnelse har oftalmologiske sammensetninger, for eksempel kunstige tårer som inneholder en forlikelig solutt, en tilberedning som gir en tonisitet høyere enn isotonisitet, helst innen et tonisitetsområde fra ca. 300 eller ca. 310 til ca. 600 eller ca. 1000 mOsmol/kg. Uten ønske om å begrense oppfinnelsen til noen 30 spesiell anvendelsesteori, antas det at både raskt innsettende og langvarige mekanismer for akkumulering av forlikelige solutter i cellene stimuleres under slike forhold, og derved oppnås økt opptak og retensjon sammenlignet med cellulær aktivitet ved isotoniske eller hypertoniske forhold. Når den forlikelige solutten er

akkumulert i cellene, har cellene økt beskyttelse mot truende hypertonisk skade, for eksempel forårsaket av tørt øye syndrom og/eller én eller flere andre tilstander/sykdommer. Resultatene av denne økte beskyttelsen er økt cellulær metabolisme og overlevelsessevne i løpet av en periode på timer til dager etter applisering av en sammensetning i henhold til foreliggende oppfinnelse.

I det normale tåreveisystemet balanseres tåreproduksjon, tåredrenasje og tårefordampning i den hensikt å fremskaffe en fuktig, smurt okulær overflate. Typiske verdier for tårers osmolaritet varierer fra 290 til 310 mOsmol/kg hos normale individer, og disse kan forandre seg i løpet av dagen eller som respons på endrede miljømessige forhold. Hos normale individer kontrolleres tåreproduksjonen ved hjelp av neural feed-back fra okulær overflate til tårekjertlene for å opprettholde en stabil væske på øyeoverflaten. Man har antatt at tårefilmens tonisitet er en av de viktigste stimuli for denne regulatoriske feed-back. Ved tørt øye sykdom fører dysfunksjon i produksjonsapparatet (de forskjellige kjertler), drenasjesystemet, neurale signalmekanismer eller den okulære overflaten i seg selv, til en inadekvat tårefilm, skade av okulær overflate og subjektivt ubehag.

På cellenivå er tørt øye sykdom vanligvis karakterisert ved et kronisk hypertonisk ekstracellulært (tårefilm) miljø. Publiserte rapporter som omhandler tonisiteten i tårefilmen til pasienter med tørt øye angir en skala fra 300 til 500 mOsmol/kg, med flest verdier mellom 320 og 400 mOsmol/kg. Under slike forhold pleier cellene å tape vann og/eller oppta salter, og kan da gjennomgå forandringer i cellevolum. Hypertonisitet har vist seg å forandre cellulære metabolske prosesser, redusere funksjonen av enzymatiske prosesser og føre til apoptose og celledød.

Som forsvar mot hypertoniske utfordringer har det vist seg at korneaceller regulerer opp transportmekanismer for ikke-ioniske solutter som aminosyrer og polyoler, og akkumulerer disse solutter intracellulært for å opprettholde cellevolum uten å forandre elektrolyttbalansen. Under disse forhold blir cellulær metabolisme mindre affisert enn ved endring av volum og elektrolytter, og slike forbindelser refereres det til som forlikelige solutter. Forlikelige solutter omfatter, men er ikke begrenset til, aminosyrene betain (trimetylglycin), taurin, glycin og prolin, og polyolene glycerol, erytritol, xylitol, sorbitol og mannitol. Forlikelige solutter regnes også som osmoprotektanter siden de muliggjør cellemetabolisme eller øker

cellenes overlevelse under hypertoniske forhold som ellers ville vært begrensende.

5 Celler akkumulerer visse forlikelige solutter ved biosyntese inne i cellen og ellers ved økt transmembran transport fra den ekstracellulære væsken (i dette tilfellet tårevæsken). I begge tilfeller er spesifikke syntese- eller transportproteiner involvert i denne prosessen. Eksperimentelle forsøk indikerer at disse proteiner aktiveres ved hypertoniske forhold, og at transkripsjon og translasjon for produksjon av disse proteiner oppreguleres ved hypertoniske forhold. Motsatt indikerer eksperimentelle forsøk at korneale- og andre celler ekskluderer forlikelige solutter når de eksponeres for hypotoniske forhold, eller dersom de flytter fra et 10 hypertonisk til et isotonisk miljø.

Ved tørt øye sykdom eksponeres cellene i korneas overflate for et hypertonisk miljø, og stimuleres til å akkumulere osmoprotektive forbindelser som er tilgjengelige. Tillegg av en iso- eller hypotonisk kunstig tårevæske på den okulære overflaten gir lindring av symptomer på grunn av økt smøring, men har tendens til 15 å nedregulere mekanismene for akkumulering av osmoprotektanter i disse cellene. Dette kan resultere i fortsatt vulnerabilitet for osmotisk skade i de minutter til timer etter bruk av dråper, hvor tårefilmen returnerer til sin hypertoniske tørt øye status. Gjeldende retningslinjer fra FDA angir at "en oftalmologisk oppløsning bør ha en osmotisk ekvivalent mellom 0,8 og 1,0% natriumklorid – for å oppfylle kravene til 20 en isotonisk oppløsning". Dette tilsvarer et område fra 274 til 342 mOsm/kg. Videre fastslår FDA's retningslinjer at "oftalmologiske tilberedninger med 2 til 5% natriumklorid er hypertoniske og er akseptable OTC-produkter når de er merket som hypertoniske oppløsninger". Denne skala tilsvarer 684 til 1711 mOsm/kg. I henhold til formålene med foreliggende oppfinnelse, defineres en "supra-tonisk" 25 oppløsning som en som har osmolalitet mellom disse to områdene, eller omtrent 300 til 310 til ca. 600 eller ca. 800 eller ca. 1000 mOsmol/kg, tilsvarende ca. 0,9 til ca. 1,8% natriumklorid (1,8% er maksimum ifølge FDA's retningslinjer for topiske oftalmologiske oppløsninger som ikke er merket som hypertoniske).

30 Foreliggende oppfinnelse tar alle disse forhold med i beregningen ved å fremstille en kunstig tårevæske på supra-tonisk nivå som er mer forlikelig med eksisterende hypertoniske forhold til okulær overflate hos tørre øyne. I tillegg til å være fremstilt innenfor supra-tonisk område (ca. 300 eller ca. 310 til ca. 600 eller

ca. 1000 mOsmol/kg total tonisitet), inneholder de foreliggende sammensetninger én eller flere organisk forlikelige solutter som beskrevet ovenfor. Kombinasjonen av supra-tonisitet og inkludering av én eller flere forlikelige solutter i de foreliggende sammensetninger tjener til både å stimulere eller opprettholde opptak av disse protektive forbindelser inn i korneas overflateceller, og å skaffe rikelig forsyning av disse materialer og forbindelser.

I tillegg til stor nok mengde av forlikelige solutter i et supra-tonisk medium, kan de foreliggende sammensetninger også inneholde egnede lindrende midler og viskositetsmidler, som gir komfort og smøring, og som også gir den fordelen at sammensetningen med organisk forlikelig solutt beholdes tilstrekkelig lenge på korneas overflate til å bedre opptaket i korneas overflateceller.

Det skal bemerkes at FDA's retningslinjer klart indikerer at den endelige tonisitet av formuleringen kan bestemmes ved ikke-ioniske, så vel som ioniske prøver. Derfor kan formuleringen inneholde betydelige mengder av glycerol og andre forlikelige solutter, og ikke inneholde nevneverdig mengde, eller noe som helst av ioniske tonisitetsmidler, slik som natriumsalter. I én utførelsesform er de foreliggende komponentene tilnærmet fri for ioniske tonisitetsmidler.

Med fordel omfatter de foreliggende sammensetninger en kombinasjon av forskjellige organisk forlikelige solutter som er effektive til å bedre opptak i korneaceller i løpet av eksponeringstiden for dråpen som anvendes, for eksempel ca. 5 til ca. 30 minutter, avhengig av viskositet, etter administrering, og sørge for intracellulær retensjon i timene mellom applisering av dråpene.

På grunn av bedret beskyttelse mot osmotisk skade som foreliggende sammensetning gir, er varigheten av den kliniske nytten fra hver dosering eller applisering, lengre. Med regulær bruk av de foreliggende sammensetninger bedres helsetilstanden på okulære overflater fordi cellene får mindre metabolske utfordringer og cellenes levetid øker.

Et annet aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringer sammensetninger som inneholder en bærerkomponent og en polyanionisk komponent. Slike sammensetninger som har fordelen av å inneholde polyanioniske komponenter, selv om det ikke nødvendigvis er tilfelle i enkelte utførelsesformer, inkluderer organisk forlikelige soluttkomponenter som beskrevet her.

I én utførelsesform tilveiebringes sammensetninger som inneholder en bærerkomponent og en polyanionisk komponent i effektiv mengde til å behandle en okulær overflate hos et øye under forhold med økt mengde kationer, for eksempel og uten begrensninger, økt Major Basic Protein (MBP) og/eller redusert antall polyanioner på overflaten. I én utførelsesform inneholder de foreliggende oftalmologiske sammensetninger polyanioniske komponenter som er tilstede i mengder som er effektive nok til at, når sammensetningene administreres i et menneske- eller dyreeye, minst én negativ effekt av kationisk, for eksempel polykationisk materiale på en okulær overflate, reduseres, i forhold til en identisk sammensetning uten den polyanioniske komponenten.

I en anvendelig utførelsesform kan sammensetninger som inneholder polyanioniske komponenter, for eksempel med eller uten forlikelige solutter, brukes effektivt, før, under og/eller etter, kirurgiske inngrep, inklusivt men ikke begrenset til, kirurgiske inngrep hvor øyet eksponeres for laserenergi, for eksempel ved behandling av post-LASIK-flekker, tørrhet eller andre komplikasjoner på korneas overflate. Etiologien til post-LASIK-overflateskader kan være multifaktoriell, inklusivt men ikke begrenset til, kirurgi-indusert neurotrofisk hypestesi og keratitt, skade av limbale celler fra krefter i sugeringen, forandret øyelokksfunksjon ved blinking som skyldes forandret kornea-topografi, kjemisk skade på øyeoverflaten fra topiske medikamenter og konserveringsmidler og lignende.

Administreringen av polyanioniske komponentholdige sammensetninger i henhold til foreliggende oppfinnelse, på øyeoverflaten og tårefilmen, kan være effektivt ved behandling av én eller flere, eller til og med alle, de ovenfor nevnte post-LASIK-skadene av okulær overflate.

I en særlig anvendelig utførelsesform inneholder de foreliggende sammensetninger polyanioniske komponenter som etterligner aktiviteten, for eksempel den "anigenic" og/eller cytotoksiske aktiviteten til forstadiet til MBP, som har vist seg å bestå av et 89-resters polypeptid. Anvendelige midler kan inkludere én eller flere polypeptidanaloger av denne sekvensen eller deler av denne sekvensen.

Slik det her anvendes, betyr betegnelsen "etterligne" at den polyanioniske komponenten, for eksempel polypeptidanalogue, har en aktivitet innenfor (pluss eller minus) ca. 5% eller ca. 10% eller ca. 15% eller ca. 20% av tilsvarende aktivitet hos



forstadiet til MBP. Forstadiet til MBP har en aminosyresekvens som vist i SEKV.ID.NR.:1 nedenfor:

5                    lhlrsetstf etplgaktlp edeetpeqem eetpcrelee eeewgsgsed  
askkdgaves isvpdmvdkn ltcpeeedtv kvvgipgcq

Et polypeptid som er analogt til Major Basic Protein forstadiumsekvens eller til en del av Major Basic Protein forstadiumsekvens betyr et peptid som inneholder en aminosyresekvens som har minst ca. 75% eller ca. 80% eller ca. 85% eller ca. 90% eller ca. 95% eller ca. 99% eller høyere identitet med en homolog kontinuerlig aminosyresekvens som er innbefattet i SEKV.ID.NR.:1, eller deler av denne.

15                    Karboksymetyl-substituerte polymerer av sukkere, for eksempel og uten begrensning, glukose og lignende sukkere, kan anvendes som polyanioniske komponenter i overensstemmelse med foreliggende oppfinnelse.

Videre omfatter anvendelige polyanioniske komponenter som kan benyttes i tillegg, uten begrensning, modifiserte karbohydrater, andre polyanioniske polymerer, for eksempel og uten begrensning, de som allerede er tilgjengelige til farmasøytisk bruk, og blandinger av dem. Blandinger av én eller flere av de ovenfor nevnte polypeptidanaloger og én eller flere av de ovenfor nevnte andre polyanioniske komponenter kan benyttes.

25                    De foreliggende sammensetninger har fordel av å være oftalmologisk akseptable, idet de inneholder en oftalmologisk akseptabel bærerkomponent, en forlikelig soluttkomponent og/eller en polyanionisk komponent.

En sammensetning, bærerkomponent eller andre komponenter eller materialer er "oftalmologisk akseptable" når de er forlikelige med okulært vev, det vil si at de ikke forårsaker noen nevneverdige eller unødige skadelige effekter når de bringes i kontakt med okulært vev. Helst skal den oftalmologisk akseptable komponenten eller materialet også være forlikelig med andre komponenter av foreliggende sammensetninger.

Slik det her er brukt, refererer uttrykket "polyanionisk komponent" seg til en kjemisk enhet, for eksempel en ionisk ladet forbindelse, så som et ionisk ladet polymert materiale, som inneholder mer enn én enkelt anionisk ladning, det vil si

multiple enkle anioniske ladninger. Fortrinnsvis bør den polyanioniske komponenten velges fra gruppen bestående av polymere materialer som har flere anioniske ladninger, og blandinger av disse.

5 Den polyanioniske komponenten kan ha en tilnærmet konstant eller ensartet molekylvekt, eller kan dannes fra to eller flere polyanioniske komponentdeler med forskjellig molekylvekt. Oftalmologiske sammensetninger som har polyanioniske komponenter, inklusivt to eller flere deler med forskjellig molekylvekter er publisert i US-patentsøknad 10/017.817, innlevert 14. desember, 2001, hvis innhold herved inkorporeres i sin helhet ved referanse.

10 Sammensetningen bør helst ha en økt evne til adhesjon til øyet når sammensetningen administreres i øyet, i forhold til en tilnærmet identisk sammensetning uten den polyanioniske komponenten. Med henblikk på den økte evne til adhesjon til øyet beskrevet ovenfor, er de foreliggende sammensetninger å foretrekke som effektive til å frembringe effektiv smøring i en lengre tidsperiode før det trengs ny administrering, i forhold til en tilnærmet identisk sammensetning uten den polyanioniske komponenten.

20 Enhver egnet polyanionisk komponent kan benyttes i overensstemmelse med foreliggende oppfinnelse dersom den fungerer som her beskrevet og ikke har noen tilnærmet skadelig effekt på sammensetningen som helhet eller på øyet som sammensetningen administreres i. Den polyanioniske komponenten er helst oftalmologisk akseptabel i de konsentrasjoner som anvendes. Den polyanioniske komponenten inneholder fortrinnsvis tre eller flere anioniske (eller negative) ladninger. Dersom den polyanioniske komponenten er et polymert materiale, foretrekkes det at mange av de repeterende enhetene i det polymere materialet omfatter en enkelt anionisk ladning. Særlig anvendelige anioniske komponenter er de som er vannløselige, for eksempel løselige i de konsentrasjoner som brukes i de foreliggende sammensetninger ved romtemperatur.

30 Eksempler på egnede polyanioniske komponenter som er anvendelige i de foreliggende sammensetninger, omfatter uten begrensninger, anioniske cellulose-derivater, anioniske akrylsyreholdige polymerer, anioniske metakrylsyreholdige polymerer, anioniske aminosyreholdige polymerer og blandinger av disse. Anioniske cellulosederivater er svært anvendelige i den foreliggende oppfinnelse.

En særlig anvendelig gruppe av polyanioniske komponenter er én eller flere polymere materialer som har flere anioniske ladninger. Eksempler inkluderer, men er ikke begrenset til:

- metall-karboksymetylcelluloser
  - 5 metall-karboksymetylhydroksyetylcelluloser
  - metall-karboksymetylstivelser
  - metall-karboksymetylhydroksyetylstivelser
  - metall-karboksymetylpropyl-guarforbindelser
  - hydrolyserte polyakrylamider og polyakrylnitriler
  - 10 heparin
  - glukoaminoglykaner
  - hyaluronsyre
  - kondroitinsulfat
  - dermatansulfat
  - 15 peptider og polypeptider
  - alginsyre
  - metall-alginater
- homopolymerer og kopolymerer av én eller flere av:
- akryl- og metakrylsyrer
  - 20 metall-akrylater og metakrylater
  - vinylsulfonsyre
  - metall-vinylsulfonat
  - aminosyrer, så som asparaginsyre, glutaminsyre og lignende
  - metallsalter av aminosyrer
  - 25 p-styrenesulfonsyre
  - metall-p-styrenesulfonat
  - 2-metakryloyloksyetylsulfonsyrer
  - metall-2-metakryloyloksyetylsulfonater
  - 3-metakryloyloksy-2-hydroksypropylsulfonsyrer
  - 30 metall-3-metakryloyloksy-2-hydroksypropylsulfonater
  - 2-akrylamido-2-metylpropansulfonsyrer
  - metall-2-akrylamido-2-metylpropansulfonater
  - allylsulfonsyre

metall-allylsulfonat og lignende.

Det er oppnådd utmerkede resultater ved bruk av polyanioniske komponenter valgt fra karboksymetylcellulose og blandinger derav, for eksempel alkalimetall- og/eller jordalkalimetall-karboksymetylcelluloser.

De foreliggende sammensetninger er fortrinnsvis løsninger, men andre former, så som salver, gel og lignende, kan benyttes.

Bærerkomponenten er oftalmologisk akseptabel og kan omfatte én eller flere komponenter som er effektive til å fremskaffe en slik oftalmologisk aksept og/eller på annen måte gi fordeler til sammensetningen og/eller øyet som sammensetningen administreres i, og/eller til pasienten hvis øye blir behandlet. Helst bør bærerkomponenten være vannbasert, for eksempel bør en større andel, det vil si minst 50% av vekten, være vann. Andre komponenter som kan inkluderes som bærerkomponenter er, uten begrensninger, bufferkomponenter, tonisitetkomponenter, konserveringskomponenter, pH-justerende midler, komponenter som ofte forekommer i kunstige tårer, og lignende, og blandinger av disse.

De foreliggende sammensetningene bør helst ha en viskositet som er høyere enn viskositeten til vann. I en utførelsesform er viskositeten i de foreliggende sammensetninger minst ca. 10 cP (centipoise), mer foretrukket i et område fra ca. 10 cP til ca. 500 cP eller ca. 1000 cP. En fordel ved viskositeten i den foreliggende sammensetning er at den er mellom ca. 15 cP eller ca. 30 cP eller ca. 70 til ca. 150 cP eller ca. 200 cP eller ca. 300 cP eller ca. 500 cP. Viskositeten i foreliggende sammensetning kan måles på hvilken som helst egnet måte, for eksempel ved konvensjonell metode. Et konvensjonelt Brookfield viskosimeter måler slik viskositet.

I en særlig anvendelig utførelsesform er den polyanioniske komponenten tilstede i en mengde innen et område fra ca. 0,1% til ca. 5%, fortrinnsvis ca. 0,2% til ca. 2,5%, mer foretrukket ca. 0,2% til ca. 1,8%, og enda mer foretrukket ca. 0,4% til ca. 1,3% (vekt/volum) av sammensetningen.

Andre komponenter som kan inkluderes i bærerkomponenten inkluderer uten begrensning, bufferkomponenter, tonisitetkomponenter, konserverende komponenter, pH-justerende midler, komponenter som ofte forekommer i kunstige

tårer, slik som én eller flere elektrolytter og lignende, og blandinger av disse. I en meget anvendelig utførelsesform inneholder bærerkomponenten minst én av følgende: en effektiv mengde bufferkomponent, en effektiv mengde av en tonisitetkomponent, en effektiv mengde av et konserveringsmiddel; og vann.

5 Disse ytterligere komponenter bør fortrinnsvis være oftalmologisk akseptable og kan velges fra materialer som er i konvensjonell bruk i oftalmologiske sammensetninger, for eksempel sammensetninger som brukes til behandling av øyne med tørt øye syndrom, tilberedninger av kunstige tårer, og lignende.

10 Akseptable effektive konsentrasjoner for disse ytterligere komponenter i sammensetningene ifølge oppfinnelsen er åpenbare for fagmannen.

Bærerkomponenten bør helst omfatte en effektiv mengde av en tonisiterende regulerende komponent for å gi sammensetningen den ønskede tonisitet. Bærerkomponenten bør fortrinnsvis omfatte en bufferkomponent som er tilstede i en effektiv mengde til å holde pH-verdien i sammensetningen innenfor det ønskede område. Blant de egnede tonisiterende regulerende komponenter som kan anvendes er de konvensjonelt brukte i oftalmologiske sammensetninger, som én eller flere forskjellige uorganiske salter og lignende. Natriumklorid, kaliumklorid, mannitol, dekstrose, glycerol, propylenglykol og lignende og blandinger av disse er svært anvendelige tonisiterende regulerende komponenter. Blant egnede bufferkomponenter eller bufrende midler som kan anvendes, er de som konvensjonelt benyttes i oftalmologiske sammensetninger. Buffersaltene inkluderer alkalimetall-, jordalkalimetall- og/eller ammoniumsalter, så vel som citrat, fosfat, borat, laktat og lignende salter, og blandinger av disse. Konvensjonelle organiske buffere, som Goode's buffer og lignende kan også benyttes.

25 Ethvert egnet konserveringsmiddel kan inkluderes i de foreliggende sammensetninger dersom slike komponenter er effektive som konserveringsmiddel i nærvær av den polyanioniske komponent. Det er derfor viktig at konserveringsmidlet skal være tilnærmet upåvirkelig av den polyanioniske komponentens tilstedeværelse. Selvfølgelig varierer valget av konserveringsmiddel avhengig av forskjellige faktorer, for eksempel den spesifikke polyanioniske komponenten som foreligger, de andre komponentene som foreligger i sammensetningen, etc.

Eksempler på egnede konserveringsmidler inkluderer, men er ikke begrenset til, persalter, så som perborater, perkarbonater og lignende; peroksyder, så som meget lave konsentrasjoner, f.eks. ca. 50 til ca. 200 ppm (vekt/volum) av hydrogenperoksyd og lignende; alkoholer, som benzylalkohol, klorbutanol og lignende; sorbinsyre og oftalmologisk akseptable salter av disse, og blandinger av disse.

Mengden konserveringsmiddel inkludert i foreliggende sammensetninger som inneholder en slik komponent, varierer over et relativt bredt område, avhengig for eksempel av det spesifikke konserverende middel som benyttes. Mengden av en slik komponent bør helst være innen et område fra ca. 0,000001% til ca. 0,05% eller mer (vekt/volum) av den foreliggende sammensetningen.

En spesielt anvendelig gruppe konserveringsmidler er klordioksyd-forløpere. Spesifikke eksempler på klordioksyd-forløpere er stabilisert klordioksyd (SCD), metallkloritter, så som alkalimetall- og jordalkalimetall-kloritter, og lignende, og blandinger av disse. Natriumkloritt til teknisk bruk er en svært anvendelig klordioksyd-forløper. Klordioksyd-holdige komplekser, så som komplekser av klordioksyd med karbonat, klordioksyd med bikarbonet og blandinger av disse, inkluderes også som klordioksyd-forløpere. Den eksakte kjemiske sammensetning av mange klordioksyd-forløpere, for eksempel SCD og klordioksydkompleksene, er ikke helt kartlagt. Fremstillingen eller produksjonen av enkelte klordioksyd-forløpere er beskrevet i McNicholas US-patent 3.278.447, som herved med hele sitt innhold inkorporeres ved referanse. Spesifikke eksempler på egnede SCD-produkter er det som omsettes under varemerket Purite 7 av Allergan, Inc., det som omsettes under varemerket Dura Klor av Rio Linda Chemical Company, Inc., og det som omsettes under varemerket Anthium Dioxide av International Dioxide, Inc.

Klordioksyd-forløperen er inkludert i de foreliggende sammensetninger for å gi effektiv konservering av sammensetningene. Slike effektive konserveringskonsentrasjoner er fortrinnsvis innen området fra ca. 0,0002 eller ca. 0,002 til ca. 0,02% (vekt/volum) eller høyere av foreliggende sammensetninger.

Dersom klordioksyd-forløpere benyttes som konserveringskomponenter, har sammensetningene fortrinnsvis en osmolalitet på minst ca. 200 mOsmol/kg og

er bufret til å holde pH innenfor et akseptabelt fysiologisk område, for eksempel et område fra ca. 6 til ca. 8 eller ca. 10.

De foreliggende sammensetninger omfatter fortrinnsvis en effektiv mengde elektrolyttkomponent, det vil si én eller flere elektrolytter, for eksempel slike som forekommer i naturlige tårer og i tilberedninger av kunstige tårer. Eksempler på slike særlig anvendelige elektrolytter som kan blandes inn i de foreliggende sammensetninger er, uten begrensninger, jordalkalimetallsalter, som uorganiske jordalkalimetallsalter, og blandinger av disse, f.eks. kalsiumsalter, magnesiumsalter, og blandinger av disse. Svært gode resultater er oppnådd ved bruk av en elektrolyttkomponent valgt fra kalsiumklorid, magnesiumklorid og blandinger av disse.

Mengden av, eller konsentrasjonen av, slike elektrolyttkomponenter i de foreliggende sammensetninger kan variere betydelig og er avhengig av forskjellige faktorer, for eksempel den spesielle elektrolyttkomponenten som anvendes, den spesielle sammensetningen som elektrolytten skal blandes inn i, og lignende faktorer. I en anvendelig utførelsesform velges mengden av elektrolyttkomponent til minst å ligne, eller fortrinnsvis tilnærmet å ligne, elektrolyttkonsentrasjonen i naturlige mennesketårer. Fortrinnsvis bør konsentrasjonen av elektrolyttkomponenten være innen området fra ca. 0,01 til ca. 0,5 eller ca. 1% av den foreliggende sammensetningen.

De foreliggende sammensetninger kan tilberedes ved bruk av konvensjonelle prosedyrer og teknikker. For eksempel kan de foreliggende sammensetninger fremstilles ved å blande komponentene sammen, så som i bulk.

Som illustrasjon kombineres, i én utførelsesform, de polyanioniske komponentandelene med rensed vann og bringes til dispersjon i det rensede vann, for eksempel ved blanding og/eller omrøring. De øvrige komponentene, som bufferkomponenten, tonisitetskomponenten, elektrolyttkomponenten, konserveringsmiddelkomponenten og lignende, innføres inn etter hvert som blandingen fortsetter. Den endelige blandingen steriliseres, for eksempel ved bruk av damp, ved temperaturer på minst 100°C, for eksempel innen et område fra ca. 120°C til ca. 130°C i et tidsrom på minst ca. 15 minutter eller minst ca. 30 minutter, så som innen et område fra ca. 45 til ca. 60 minutter. I én utførelsesform tilsettes konserveringsmiddelkomponenten fortrinnsvis til blandingen etter sterilisering. Det

endelige produktet bør fortrinnsvis filtreres, for eksempel gjennom et 20 mikron sterilisert patronfilter, som en 20 mikron klarningsfilterpatron, som selges av Pall under varemerket HDC II, for å gi en klar, glatt løsning som så aseptisk fylles i beholdere, for eksempel lav densitets polyetylen tårebeholdere.

5 Alternativt kan hver porsjon av den polyanioniske komponent blandes med rensert vann for å oppnå individuelle løsninger av polyanionisk komponentandel. Ved å blande de individuelle polyanioniske komponentløsningene sammen, oppnås enkelt og effektivt en blanding som har det ønskede kontrollerte forhold mellom de individuelle polyanioniske komponentandeler. Blandingsløsningen kan  
10 deretter kombineres med de andre komponenter, steriliseres og fylles i beholdere, som nevnt ovenfor.

I en særlig anvendelig utførelsesform, oppnås en løsning av den polyanioniske komponentandel og rensert vann, som angitt ovenfor. Denne løsningen blir så sterilisert, for eksempel som angitt ovenfor. De andre komponentene som  
15 skal inkluderes i de endelige sammensetningene, løses hver for seg i destillert vann. Denne siste løsningen blir sterilfiltrert, for eksempel gjennom et 0,2 mikron steriliseringsfilter, som selges av Pall under varemerket Suporflow, til den løsningen som inneholder den polyanioniske komponenten, for å fremstille den endelige løsningen. Den endelige løsningen filtreres, for eksempel som angitt  
20 ovenfor, for å frembringe en klar, glatt løsning, som så fylles aseptisk i beholdere, som angitt ovenfor.

De foreliggende sammensetninger kan effektivt anvendes, etter behov, ved fremgangsmåter som omfatter administrering av en effektiv mengde av sammensetningen i et øye som trenger smøring, for eksempel et øye som er angrepet av  
25 tørt øye syndrom eller er disponert for tørt øye syndrom. Administreringen kan gjentas etter behov for å oppnå effektiv smøring av et slikt øye. Administrasjonsmåten av foreliggende sammensetning avhenger av sammensetningens form. Dersom sammensetningen er en løsning, kan for eksempel dråper av sammensetningen appliseres i øyet, fra en konvensjonell dråpeteller. Generelt kan de  
30 foreliggende sammensetninger appliseres på øyeoverflaten på samme måte som konvensjonelle oftalmologiske sammensetninger appliseres. Slik administrering av de foreliggende sammensetninger gir betydelige og uventede fordeler, som beskrevet annetsteds her.



De følgende ikke-begrensede eksempler illustrerer visse aspekter av foreliggende oppfinnelse.

### EKSEMPEL 1

5 I dette forsøk ble korneale epitelceller isolert fra kaninøyet og dyrket under slike betingelser at de differensierte i en lagdelt "air-lift" kultur som omfatter basale, vinge- og skvamøse celler. Etter hvert som de vokser og differensierer, utvikler disse kulturene tette overganger mellom cellene som utgjør basis for en trans-epitelial elektrisk resistens (TEER) over cellelagene mellom den ytterste og den  
10 basale overflaten. TEER-verdien er et sensitivt mål på cellers vekst, differensiering og helsetilstand.

Etter 5 dager, når de lagdelte strukturene er dannet i kulturen, ble forskjellige kulturbrønner eksponert for hypertonisk væske (400 mOsmol/kg) med eller uten tilsetning av én av 6 forlikelige kandidatsolutter i lav konsentrasjon  
15 (2 mM). TEER ble deretter målt etter 22 timers eksponering. TEER-verdien ble uttrykt som prosent av den TEER-verdien man fikk fra en lignende kultur under isotoniske betingelser (300 mOsmol/kg). Resultatene av disse testene er vist i Tabell 1.

20 Tabell 1. Testresultater

| Forlikelig solutt       | TEER (som % av isotonisk kontroll) ved 22 timer |
|-------------------------|-------------------------------------------------|
| Isotonisk kontroll      | 100%                                            |
| 25 Hypertonisk kontroll | 23,3                                            |
| 2 mM taurin             | 39,8                                            |
| 2 mM betain             | 53,3                                            |
| 2 mM karnitin           | 118,9                                           |
| 2 mM erytritol          | 107,4                                           |
| 30 2 mM myoinositol     | 74,8                                            |
| 2 mM xylitol            | 94,1                                            |

Disse resultatene viser at alle de testede kandidatene har en viss osmoprotektiv egenskap, idet TEER økte i forhold til hos den hypertonske kontrollen. Overraskende nok viste karnitin seg å være det mest fordelaktige av de undersøkte midlene. Uten ønske om å begrense oppfinnelsen til noen spesiell virkningsteori, antas det at de fordelaktive resultatene som ble oppnådd med karnitin kan skyldes karnitins mange roller i energimetabolismen og andre cellulære mekanismer, så vel som dets osmoprotektive effekter.

Videre, og også uventet, førte erytritol til de beste resultater blant de undersøkte polyoler. Xylitol og myoinositol ga gode resultater.

Disse resultatene indikerer at hver av de seks kandidatforbindelsene, og fortrinnsvis karnitin, erytritol, xylitol og myoinositol, kan være nyttige i oftalmologiske sammensetninger, for eksempel ved å motvirke hypertonske forhold på okulære overflater til menneske- og dyreøyne.

Igjen, uten ønske om å ville begrense oppfinnelsen til noen spesiell virkningsteori, antas det at på grunn av de forskjellige roller flere av komponentene kan spille, gir kombinasjonen av to eller flere av disse komponenter, for eksempel inkludert minst én polyol og minst én aminosyre, sannsynligvis økt beskyttelse mot skader på korneale overflater, for eksempel på grunn av uttørring og hyperosmolalitet, slik det forekommer ved tørt øye sykdom.

## EKSEMPEL 2

Fosforylert JNK (den aktiverte formen av den stress-assosierte protein-kinase SAPK) spiller en nøkkelrolle i induksjon av inflammasjon og apoptose som respons på stress, inklusivt hyperosmolaritet.

Korneo-skleralt menneskelig vev fra donorer i alderen 16-59 år ble anskaffet fra Lions Eye Bank of Texas (Houston, TX). Epitelceller fra kornea ble dyrket fra limbale eksplantater. I korthet, etter forsiktig fjerning av den sentrale kornea, ble overflødig konjunktiva og iris og kornea-endotel, den limbale kanten delt opp i 12 like deler (ca. 2 x 2 mm hver i størrelse). To av disse bitene ble plassert med epitel siden opp i hver brønn i 6 brønns kulturplater, og hvert eksplantat ble dekket med en dråpe føtalt bovint serum (FBS) over natten. Eksplantatene ble deretter dyrket i SHEM-medium, som var en 1:1 blanding av Dulbecco modifisert Eagle medium (DMEM) og Ham F-12 medium som inneholdt

5 5 ng/mL EGF, 5 µg/mL insulin, 5 µg/mL transferrin, 5 ng/mL natriumselenitt, 0,5 µg/mL hydrokortison, 30 ng/mL koleratoksin A, 0,5% DMSO, 50 µg/mL gentamicin, 1,25 µg/mL amfotericin B og 5% FBS, ved 37°C under 5% CO<sub>2</sub> og 95% luftfuktighet. Mediet ble fornyet hver 2-3 dag. Den epiteliale fenotypen til disse kulturene ble bekreftet ved karakteristisk morfologi og immun-fluoresceinfarging med cytokeratin-antistoffer (AE-1/AE-3).

10 Cellekulturskåler, plater, sentrifugerør og andre plastartikler ble anskaffet fra Becton Dickinson (Lincoln Park NJ). Dulbecco modifisert Eagle medium (DMEM), Ham F-12 medium, Fungizone og gentamicin var fra Invitrogen-GIBCO BRL (Grand Island, NY). Føtalt bovint serum (FBS) var fra Hyclone (Logan, UT).

15 En serie med kulturer fra primært sub-konfluente korneaepitel-kulturer (dyrket i 12-14 dager, ca. 4-5 x 10<sup>5</sup> celler/brønn) ble vasket tre ganger med konservert, bufret saltvann (PBS) og skiftet til en Earles Balanced Salt Solution (EBSS, 300 mOsmol/kg) i 24 timer før behandling. Epitelcellene fra kornea ble dyrket i en time i et tilsvarende volum (2,0 mL/brønn) av EBSS-medium eller 400 mOsmol/kg medium ved tilsetning av 53 mM NaCl eller sakkharose, med enten L-karnitin indre salt, betain-hydroklorid, erytritol eller xylitol (alle i en konsentrasjon på 2 mM) som ble tilsatt 60 minutter før tilsetning av NaCl eller sakkharose. Prøver uten disse osmoprotektanter ble også fremstilt og undersøkt.

20 De adherente cellene ble lysert i Beadlyte® Buffer B (inkludert i Beadlyte® Cell Signaling Buffer Kit, Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY), som inneholdt en EDTA-fri proteaseinhibitor-blanding i tablettform (Roche Applied Science, Indianapolis, IN) i 15 minutter. Celleekstraktene ble sentrifugert ved 12.000 x g i 15 minutter ved romtemperatur, og supernatantene ble lagret ved -80°C inntil de ble analyserte ved western blott analyse. De totale proteinkonsentrasjonene i 25 celleekstraktene ble bestemt ved bruk av et Micro BCA Protein Assay Kit.

Intensiteten til hver av JNK1 og JNK2 ble testet for hver av disse sammensetningene ved bruk av western blott analyse med spesifikke antistoffer for hver fosforylert art.

30 Western blott analysene ble foretatt på følgende måte. Proteinprøvene (50 µg per bane) ble blandet med 6X SDS reduserende prøvebuffer og kokt i 5 minutter før påsetting. Proteinene ble separert ved SDS polyakrylamid-gelelektroforese (4-15% Tris-HCl, gradientgel fra Bio-Rad, Hercules, CA), og

overført elektronisk til polyvinylidindifluorid (PDVF) membraner (Millipore, Bedford, MA). Membranene ble blokkert med 5% fettfri melk i TTBS (50 mM Tris, pH 7,5, 0,9% NaCl og 0,1% Tween-20) i én time ved romtemperatur (RT) og deretter inkubert i 2 timer ved RT med en 1:1000 fortykning av kanin-antistoff mot fosfo-p38 MAPK (Cell Signaling, Beverly, MA), 1:100 fortykning av kanin-antistoff mot fosfo-JNK, eller 1:500 fortykning av monoklonalt antistoff mot fosfo-p44/42 ERK (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA).

Etter tre vaskinger med TTBS ble membranene inkubert i 1 time ved RT med pepperrot-peroksydasekonjugert sekundært antistoff geit anti-kanin IgG (1:2000 fortykning, Cell Signaling, Beverly, MA), eller geit anti-mus IgG (1:5000 fortykning, Pierce, Rockford IL). Etter vask av membranene fire ganger ble signalene påvist med et ECL Advance Chemiluminescence Reagent (Amersham, Piscataway, New Jersey), og avbildningene overført til en Kodak Image Station 2000R (Eastman Kodak, New Haven, CT). Membranene ble vasket i 62,5 mM Tris HCl, pH 6,8, som inneholdt 2% SDS og 100 mM  $\alpha$ -merkaptoetanol ved 60°C i 30 minutter, deretter ble de undersøkt på nytt med 1:100 fortykning av kanin-antistoff mot JNK (Santa Cruz Biotechnology) eller 1:1000 fortykning av kanin-antistoffer mot ERK eller p38 MAPK (Cell Signaling). Disse tre antistoffer påviser både fosforylerte og ikke-fosforylerte former som representerer de totale nivåer av disse MAPK. Signalene ble påvist og tatt opp som beskrevet ovenfor.

En intensitetsskåre bestemmes ut fra bildeanalyser av de resulterende båndene.

Testresultater er vist i Fig. 1 og 2.

Ifølge Fig. 1 var det ingen effekt på JNK-aktiveringen verken med erytritol eller xylitol. Med referanse til Fig. 2, var det derimot en tydelig nedgang i nivåene av JNK1 og JNK2 i L-karnitin- og betain-kulturer sammenlignet med 400 mOsmol/kg medium alene. Det var også en mindre tydelig effekt på 300 mOsmol/kg kulturene.

30

### EKSEMPEL 3

I en annen serie av eksperimenter ble Beadlyte® Cell Signaling assay benyttet. Denne test er en sandwich-immunoassay basert på fluorescerende kuler. For eksempel kan hver prøve (10  $\mu$ g/25  $\mu$ L) pipetteres i en brønn i en 96 brønns

plate og inkuberes med 25  $\mu$ L fortynnede 5X kuler koblet til proteinspesifikt oppfangende antistoffer over natten. Slike antistoffer kan spesifikt oppfange proteiner, som JNK, p38 og ERK. Inkubasjon over natten kan benyttes for reaksjonen mellom de oppfangede kulene og proteinene fra cellelysaten.

5 Kulene kan vaskes og blandes med biotinylerede spesifikke rapportør-antistoffer for proteinene av interesse, etterfulgt av streptavidin-fykoerytrin. Mengden av totalprotein eller fosfo-protein kan deretter kvantifiseres ved hjelp av Luminex 100™ systemet (Luminex, Austin, Texas). Femti resultater per kule kan avleses, og datautskriften som fåes fra Bio-Plex Manager programvaren kan  
10 overføres til Microsoft Excel® for videre analyser. Resultatene kan presenteres som forholdet mellom fosfo-protein og totalprotein.

Resultater fra disse testene er vist i Fig. 3, 4 og 5. Fig. 3 viser forholdet mellom fosfo-JNK og totalt JNK. Fig. 4 viser forholdet mellom fosfo-p38 og totalt p-38. Fig. 5 viser forholdet mellom fosfo-ERK og totalt ERK.

15 Som vist i Fig.3 reduserte alle kandidatforbindelsene, det vil si erytritol, xylitol, L-karnitin og betain, mengden av fosfo-totalt JNK i forhold til den hypertoniske kontrollen.

Med referanse til Fig. 4 reduserte alle kandidatforbindelsene, med unntak av betain, mengden av fosfo-totalt p38 i forhold til den hypertoniske kontrollen.

20 Som vist i Fig. 5 reduserte polyol-kandidatforbindelsene, det vil si erytritol og xylitol, mengden av ERK i forhold til den hypertoniske kontrollen. Aminosyrene, betain og karnitin gjorde ikke det.

#### EKSEMPEL 4

25 Eksempel 1 er gjentatt med den forskjell at de forskjellige konsentrasjoner av hver av kandidatforbindelsene benyttes, og at TEER måles til forskjellige tidspunkter fra 0 til 24 timer.

Resultater fra disse testene er vist i Fig. 6. Som i Eksempel 1 uttrykkes TEER-variabelen som % TEER i forhold til den isotoniske kontrollen.

30 Disse resultatene demonstrerer at en doseavhengig respons ble observert for L-karnitin, betain og erytritol.

En sammensetning inneholdende betain og stabilisert klordioksyd, som et konserveringsmiddel, ble testet for komponentforlikelighet. Man fant at betain ikke

var fullstendig forlikelig i en slik sammensetning. Derfor er betain ikke egnet sammen med visse konserveringsmidler, som stabilisert klordioksyd. Men betain kan med fordel anvendes som en forlikelig solutt i oftalmologiske sammensetninger som har andre konserveringssystemer, eller som ikke inneholder konserveringsmidler, for eksempel i enkelt- eller flerdose-tilberedninger.

#### EKSEMPEL 5

Eksempel 4 ble gjentatt, med den forskjell at det ble benyttet sammensetninger som inneholdt kombinasjoner av forlikelege solutter. Sammensetninger med bare glycerol som forlikeleg solutt ble ogs a testet.

Testresultatene er vist i Fig. 7 og 8.

Disse testresultatene viser at kombinasjoner av forskjellige forlikelege solutter eventuelt kan gi ytterligere fordeler.

#### EKSEMPEL 6

Forstadiet til Major Basic Protein (MBP) har vist seg   være et 90-resters polypeptid.

Ved bruk av etablerte og velkjente teknikker produseres et polypeptid analogt med sekvensen av dette 90-resters polypeptidet.

En oftalmologisk sammensetning tilberedes ved å blande sammen de følgende komponenter:

|    |                                   | Konsentrasjon % (vekt/volum) |
|----|-----------------------------------|------------------------------|
| 5  | Ovenfor angitt polypeptidanalogue | 0,5%                         |
|    | Glycerol                          | 1,0%                         |
|    | Erytritol                         | 0,5%                         |
|    | Borsyre                           | 0,65                         |
|    | Natriumborat                      | 0,25                         |
| 10 | Natriumcitrat                     | 0,1                          |
|    | Kaliumklorid                      | 0,01                         |
|    | Purite® <sup>(1)</sup>            | 0,01                         |
|    | Natriumhydroksyd 1N               | juster pH til 7,2            |
|    | Saltsyre 1N                       | juster pH til 7,2            |
| 15 | Renset vann                       | q.s. ad.                     |

(1) Purite® er et registrert varemerke til Allergan, Inc. for stabilisert klordioksyd. Dette materialet tilsettes til blandingen etter varmesterilisering.

20

#### EKSEMPEL 7

Sammensetningen i Eksempel 6, i øyedråpeform, administreres i øyet hos en humanpasient som skal gjennomgå et kirurgisk inngrep, hvor øyet blir eksponert for laserenergi, spesielt et LASIK kirurgisk inngrep.

25

Etter det kirurgiske inngrep har pasienten redusert smerte og/eller redusert ubehag og/eller redusert irritasjon i øyet, og/eller restitueres raskere etter det kirurgiske inngrep i forhold til å gjennomgå et identisk kirurgisk inngrep, inklusivt administrasjon med den samme sammensetningen uten polypeptidanalogen.

#### EKSEMPEL 8

30

Sammensetningen i Eksempel 6, i øyedråpeform, administreres i øyet til en humanpasient som skal gjennomgå et kirurgisk inngrep, hvor øyet eksponeres for laserenergi, spesielt et LASIK kirurgisk inngrep.

Etter det kirurgiske inngrep har pasienten redusert smerte, og/eller redusert ubehag og/eller redusert øyeirritasjon, og/eller restitueres raskere etter det kirurgiske inngrep i forhold til å gjennomgå et identisk kirurgisk inngrep, inklusivt administrering med den samme sammensetningen, men uten polypeptidanalogen.

5

#### EKSEMPEL 9

Sammensetningen i Eksempel 6, i øyedråpeform, administreres i øyet til en humanpasient umiddelbart etter å ha gjennomgått et kirurgisk inngrep, hvor øyet eksponeres for laserenergi, spesielt et LASIK kirurgisk inngrep.

10

Pasienten har redusert smerte, og/eller redusert ubehag, og/eller redusert øyeirritasjon, og/eller raskere restitusjon etter det kirurgiske inngrep i forhold til å gjennomgå et identisk kirurgisk inngrep, inklusivt administrering med den samme sammensetningen, uten polypeptidanalogen.

15

#### EKSEMPEL 10

En serie på fire oftalmologiske tilberedninger i henhold til foreliggende oppfinnelse fremstilles ved å blande sammen de forskjellige komponenter (vist i den etterfølgende tabell).

20



|    | <u>Ingrediens</u>            | <u>Konsentrasjon, % (vekt/volum)</u> |                      |                      |                      |
|----|------------------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|    |                              | <u>A</u>                             | <u>B</u>             | <u>C</u>             | <u>D</u>             |
|    | Karboksymetylcellulose (CMC) | 1,0                                  | -                    | -                    | 0,5                  |
|    | Glycerol                     | 0,5                                  | 0,5                  | -                    | 0,5                  |
| 5  | Erytritol                    | 0,25                                 | 0,25                 | 0,75                 | 0,75                 |
|    | Borsyre                      | 0,60                                 | 0,60                 | 0,60                 | 0,60                 |
|    | Natriumborat-dekahydrat      | 0,045                                | 0,045                | 0,045                | 0,045                |
|    | Kalsiumklorid-dihydrat       | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
|    | Magnesiumklorid-heksahydrat  | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
| 10 | Purite® <sup>(1)</sup>       | 0,0075                               | 0,0075               | 0,075                | 0,075                |
|    | Natriumhydroksyd 1N          | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
|    | Saltsyre 1N                  | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
| 15 | Renset vann                  | q.s.ad.                              | q.s. ad.             | q.s. ad.             | q.s. ad.             |

(1) Purite® er et registrert varemerke til Allergan, Inc. for stabilisert klordioksyd. Dette materialet tilsettes til blandingen etter varmesterilisering.

20

### EKSEMPEL 11

Fremgangsmåten i Eksempel 10 gjentas for å tilveiebringe følgende sammensetninger.

|    | <u>Ingrediens</u>            | <u>Konsentrasjon, % (vekt/volum)</u> |                      |                      |                      |
|----|------------------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|    |                              | <u>A</u>                             | <u>B</u>             | <u>C</u>             | <u>D</u>             |
|    | Karboksymetylcellulose (CMC) | 1,0                                  | -                    | -                    | 0,5                  |
|    | Glycerol                     | 0,5                                  | 0,5                  | -                    | 0,5                  |
| 5  | Xylitol                      | 0,25                                 | 0,25                 | 0,75                 | 0,75                 |
|    | Borsyre                      | 0,60                                 | 0,60                 | 0,60                 | 0,60                 |
|    | Natriumborat-dekahydrat      | 0,045                                | 0,045                | 0,045                | 0,045                |
|    | Kalsiumklorid-dihydrat       | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
|    | Magnesiumklorid-heksahydrat  | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
| 10 | Purite® <sup>(1)</sup>       | 0,0075                               | 0,0075               | 0,075                | 0,075                |
|    | Natriumhydroksyd 1N          | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
|    | Saltsyre 1N                  | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
| 15 | Renset vann                  | q.s.ad.                              | q.s. ad.             | q.s. ad.             | q.s. ad.             |

(1) Purite® er et registrert varemerke til Allergan, Inc. for stabilisert klordioksyd. Dette materialet tilsettes til blandingen etter varmesterilisering.

20

### EKSEMPEL 12

Fremgangsmåten i Eksempel 10 gjentas for å tilveiebringe de følgende sammensetninger.

|    | <u>Ingrediens</u>            | <u>Konsentrasjon, % (vekt/volum)</u> |                      |                      |                      |
|----|------------------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|    |                              | <u>A</u>                             | <u>B</u>             | <u>C</u>             | <u>D</u>             |
|    | Karboksymetylcellulose (CMC) | 1,0                                  | -                    | -                    | 0,5                  |
|    | Glycerol                     | 0,5                                  | 0,5                  | -                    | 0,5                  |
| 5  | Myoinositol                  | 0,25                                 | 0,25                 | 0,75                 | 0,75                 |
|    | Borsyre                      | 0,60                                 | 0,60                 | 0,60                 | 0,60                 |
|    | Natriumborat-dekahydrat      | 0,045                                | 0,045                | 0,045                | 0,045                |
|    | Kalsiumklorid-dihydrat       | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
|    | Magnesiumklorid-heksahydrat  | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
| 10 | Purite® <sup>(1)</sup>       | 0,0075                               | 0,0075               | 0,075                | 0,075                |
|    | Natriumhydroksyd 1N          | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
|    | Saltsyre 1N                  | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
| 15 | Renset vann                  | q.s.ad.                              | q.s. ad.             | q.s. ad.             | q.s. ad.             |

(1) Purite® er et registrert varemerke til Allergan, Inc. for stabilisert klordioksyd. Dette materialet tilsettes til blandingen etter varmesterilisering.

20

### EKSEMPEL 13

Fremgangsmåten i Eksempel 10 gjentas for å tilveiebringe de følgende sammensetninger.

|    | <u>Ingrediens</u>            | <u>Konsentrasjon, % (vekt/volum)</u> |                      |                      |                      |
|----|------------------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|    |                              | <u>A</u>                             | <u>B</u>             | <u>C</u>             | <u>D</u>             |
|    | Karboksymetylcellulose (CMC) | 1,0                                  | -                    | -                    | 0,5                  |
|    | Glycerol                     | 0,5                                  | 0,5                  | -                    | 0,5                  |
| 5  | Karnitin                     | 0,25                                 | 0,25                 | 0,75                 | 0,75                 |
|    | Borsyre                      | 0,60                                 | 0,60                 | 0,60                 | 0,60                 |
|    | Natriumborat-dekahydrat      | 0,045                                | 0,045                | 0,045                | 0,045                |
|    | Kalsiumklorid-dihydrat       | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
|    | Magnesiumklorid-heksahydrat  | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
| 10 | Purite® <sup>(1)</sup>       | 0,0075                               | 0,0075               | 0,075                | 0,075                |
|    | Natriumhydroksyd 1N          | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
|    | Saltsyre 1N                  | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
| 15 | Renset vann                  | q.s.ad.                              | q.s. ad.             | q.s. ad.             | q.s. ad.             |

(1) Purite® er et registrert varemerke til Allergan, Inc. for stabilisert klordioksyd. Dette materialet tilsettes til blandingen etter varmesterilisering.

20

#### EKSEMPEL 14

Fremgangsmåten i Eksempel 10 gjentas for å tilveiebringe de følgende sammensetninger.

|    | <u>Ingrediens</u>            | <u>Konsentrasjon, % (vekt/volum)</u> |                      |                      |                      |
|----|------------------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|    |                              | <u>A</u>                             | <u>B</u>             | <u>C</u>             | <u>D</u>             |
|    | Karboksymetylcellulose (CMC) | 1,0                                  | -                    | -                    | 0,5                  |
|    | Glycerol                     | 0,5                                  | 0,5                  | -                    | 0,5                  |
| 5  | Taurin                       | 0,25                                 | 0,25                 | 0,75                 | 0,75                 |
|    | Borsyre                      | 0,60                                 | 0,60                 | 0,60                 | 0,60                 |
|    | Natriumborat-dekahydrat      | 0,045                                | 0,045                | 0,045                | 0,045                |
|    | Kalsiumklorid-dihydrat       | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
|    | Magnesiumklorid-heksahydrat  | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
| 10 | Purite® <sup>(1)</sup>       | 0,0075                               | 0,0075               | 0,075                | 0,075                |
|    | Natriumhydroksyd 1N          | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
|    | Saltsyre 1N                  | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
| 15 | Renset vann                  | q.s.ad.                              | q.s. ad.             | q.s. ad.             | q.s. ad.             |

(1) Purite® er et registrert varemerke til Allergan, Inc. for stabilisert klordioksyd. Dette materialet tilsettes til blandingen etter varmesterilisering.

20

### EKSEMPEL 15

Fremgangsmåten i Eksempel 10 gjentas for å tilveiebringe de følgende sammensetninger.

|    | <u>Ingrediens</u>            | <u>Konsentrasjon, % (vekt/volum)</u> |                      |                      |                      |
|----|------------------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|    |                              | <u>A</u>                             | <u>B</u>             | <u>C</u>             | <u>D</u>             |
|    | Karboksymetylcellulose (CMC) | 1,0                                  | -                    | -                    | 0,5                  |
|    | Glycerol                     | 0,5                                  | 0,5                  | -                    | 0,5                  |
| 5  | Betain <sup>(2)</sup>        | 0,25                                 | 0,25                 | 0,75                 | 0,75                 |
|    | Borsyre                      | 0,60                                 | 0,60                 | 0,60                 | 0,60                 |
|    | Natriumborat-dekahydrat      | 0,045                                | 0,045                | 0,045                | 0,045                |
|    | Kalsiumklorid-dihydrat       | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
|    | Magnesiumklorid-heksahydrat  | 0,006                                | 0,006                | 0,006                | 0,006                |
| 10 | Purite® <sup>(1)</sup>       | 0,0075                               | 0,0075               | 0,075                | 0,075                |
|    | Natriumhydroksyd 1N          | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
|    | Saltsyre 1N                  | juster pH<br>til 7,2                 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 | juster pH<br>til 7,2 |
| 15 | Renset vann                  | q.s.ad.                              | q.s. ad.             | q.s. ad.             | q.s. ad.             |

(1) Purite® er et registrert varemerke til Allergan, Inc. for stabilisert klordioksyd. Dette materialet tilsettes til blandingen etter varmesterilisering.

(2) Betain har vist seg å være uforlikelig med Purite-konserveringsmidlet. Derfor benyttes intet konserveringsmiddel. Disse sammensetningene er anvendelige som enkelt eller enhetsdoser.

### EKSEMPEL 16

Fremgangsmåten i Eksempel 10 gjentas for å tilveiebringe de følgende sammensetninger.

|    | <u>Ingrediens</u>            | <u>Konsentrasjon, % (vekt/volum)</u> |           |                    |           |
|----|------------------------------|--------------------------------------|-----------|--------------------|-----------|
|    |                              | <u>A</u>                             | <u>B</u>  | <u>C</u>           | <u>D</u>  |
|    | Karboksymetylcellulose (CMC) | 0,5                                  | -         | 0,5 <sup>(3)</sup> | -         |
|    | Glycerol                     | 0,9                                  | 0,9       | 0,9                | 0,9       |
| 5  | Erytritol                    | 0,5                                  | 0,5       | 0,25               | 0,25      |
|    | Karnitin HCl                 | 0,1                                  | 0,25      | 0,1                | 0,25      |
|    | Borsyre                      | 0,45                                 | 0,45      | 0,45               | 0,45      |
|    | Natriumborat                 | 0,46                                 | 0,46      | 0,46               | 0,46      |
|    | Natriumcitrat                | 0,1                                  | 0,1       | 0,1                | 0,1       |
| 10 | Kaliumklorid                 | 0,14                                 | 0,14      | 0,14               | 0,14      |
|    | Kalsiumklorid                | 0,006                                | 0,006     | 0,006              | 0,006     |
|    | Magnesiumklorid              | 0,006                                | 0,006     | 0,006              | 0,006     |
|    | Purite® <sup>(1)</sup>       | 0,01                                 | 0,01      | 0,01               | 0,01      |
|    | Natriumhydroksyd 1N          | juster pH                            | juster pH | juster pH          | juster pH |
| 15 |                              | til 7,2                              | til 7,2   | til 7,2            | til 7,2   |
|    | Saltsyre 1N                  | juster pH                            | juster pH | juster pH          | juster pH |
|    |                              | til 7,2                              | til 7,2   | til 7,2            | til 7,2   |
|    | Renset vann                  | q.s.ad.                              | q.s. ad.  | q.s. ad.           | q.s. ad.  |

20 (1) Purite® er et registrert varemerke til Allergan, Inc. for stabilisert klordioksyd. Dette materialet tilsettes til blandingen etter varmesterilisering.

(3) En blanding av 10 vekt% høymolekylær karboksymetylcellulose med en gjennomsnittlig molekylvekt på ca. 700.000, og 90 vekt% midlere molekylvekt karboksymetylcellulose som har en vektmidlere molekylvekt på ca. 250.000.

25

### EKSEMPEL 17

Hver sammensetning fremstilt i Eksempel 10 til 16, i øyedråpeform, administreres én gang daglig, eller oftere, i øynene til en pasient som lider av tørt øye syndrom. Administreringen kan være enten som en respons til, eller i påvente av, eksponering for skadelige miljømessige forhold, for eksempel tørre eller vindfulle omgivelser, lav luftfuktighet, utstrakt bruk av datamaskin, og lignende. Slik administrering er tilnærmet lik den som benyttes ved bruk av konvensjonelle sammensetninger av kunstige tårevæsker.

30

Etter en uke med denne administreringen fant man at alle pasientene hadde oppnådd vesentlig lindring, for eksempel med hensyn til reduserte smerter og/eller redusert irritasjon og/eller bedret syn og/eller bedret utseende av øyet, i forhold til effektene eller symptomene på tørt øye syndrom. I tillegg fant man at de pasienter som brukte sammensetninger som inneholdt karboksymetylcellulose (CMC) hadde hatt fordeler av den anioniske karakteren til CMC og den relativt økte viskositeten til slike sammensetninger. Slike fordeler omfatter, uten begrensninger, redusert irritasjon i lengre perioder etter administrering, og/eller bedret smøring av øyet, og/eller bedret beskyttelse mot skadelige effekter av kationiske forbindelser på den okulære overflaten til pasientens øye.

### EKSEMPEL 18

Hver av sammensetningene fremstilt i Eksempel 10 til 16 som inneholdt karboksymetylcellulose (CMC), i øyedråpeform, administreres til et øye til en annen humanpasient som skal gjennomgå et LASIK kirurgisk inngrep. Etter det kirurgiske inngrep har hver av pasientene reduserte smerter, og/eller redusert ubehag, og/eller redusert øyeirritasjon, og/eller raskere restitusjon fra det kirurgiske inngrep i forhold til å gjennomgå et identisk kirurgisk inngrep som innebærer administrering med den samme sammensetningen uten karboksymetylcellulose.



### EKSEMPEL 19

Hver av sammensetningene fremstilt i Eksempel 10 til 16, inklusivt karboksymetylcellulose, i øyedråpeform, ble administrert i øyet til en annen humanpasient som er gjenstand for et LASIK kirurgisk inngrep.

5 Etter det kirurgiske inngrep hadde hver pasient reduserte smerter, og/eller redusert ubehag, og/eller redusert øyeirritasjon, og/eller raskere restitusjon etter det kirurgiske inngrep i forhold til å gjennomgå et identisk kirurgisk inngrep som innebærer administrering av den samme sammensetningen uten karboksymetylcellulosen.

10

### EKSEMPEL 20

Hver av sammensetningene fremstilt i Eksempel 10 til 16 som inneholder karboksymetylcellulose, i øyedråpeform, administreres i øyet til en annen humanpasient umiddelbart etter å ha gjennomgått et LASIK kirurgisk inngrep.

15 Hver pasient har reduserte smerter, og/eller redusert ubehag, og/eller redusert øyeirritasjon, og/eller raskere restitusjon etter det kirurgiske inngrep i forhold til å gjennomgå et identisk kirurgisk inngrep som innebærer administrering av den samme sammensetningen uten karboksymetylcellulosen.

20 Selv om denne oppfinnelsen er blitt beskrevet med hensyn til forskjellige spesifikke eksempler og utførelsesformer, er det underforstått at oppfinnelsen ikke er begrenset til disse, og at den kan anvendes på forskjellige måter innenfor rammen av de følgende patentkrav.

## Patentkrav

### 1. Oftalmologisk sammensetning som omfatter:

en vandig bærerkomponent; og  
en effektiv mengde av en tonisitettskomponent som omfatter  
erytritolkomponenter og blandinger derav og minst ett annet oppløst middel  
valgt fra gruppen bestående av karnitinkomponenter, glyserolkomponenter,  
xylitolkomponenter, inositolkomponenter, mannitolkomponenter,  
sorbitolkomponenter, taurinkomponenter, betainkomponenter, og blandinger  
derav.

**2.** Sammensetning ifølge krav 1, hvori den har en osmolalitet i området 300 til 600 mOsmol/kg.

**3.** Sammensetning ifølge krav 1, hvori den er hovedsakelig fri for uorganiske osmolytter.

**4.** Sammensetning ifølge krav 1, hvori tonisitettskomponenten inkluderer minst én ytterligere kompatibel oppløst komponent.

**5.** Sammensetning ifølge krav 4, hvori den minst ene ytterligere kompatible oppløste komponenten er valgt fra betain, taurin, karnitin, sarkosin, prolin, trimetylaminer, zwitterioniske aminosyrer, glyserol, propylenglykol, xylitol, myo-inositol, mannitol, sorbitol og blandinger derav.

**6.** Sammensetning ifølge krav 1, hvori det oppløste middel inkluderer en glyserolkomponent.

**7.** Sammensetning ifølge krav 1, hvori erytritolkomponentene og blandingene derav og det minst ene andre oppløste midlet er tilstede i en mengde i et område på ca. 0,01 % (vekt/volum) til ca. 3 % (vekt/volum).

**8.** Sammensetning ifølge krav 1, videre omfattende en polyanionisk komponent.

**9.** Sammensetning ifølge krav 8, hvori den polyanioniske komponenten er valgt fra gruppen bestående av anioniske cellulosederivater, hyaluronsyre eller salter derav, anioniske stivelsesderivater, polymetakrylsyre, polymetakrylsyrederivater, polyfosfazenderivater, polyasparaginsyre, polyasparaginsyre derivater, gelatin, alginsyre, alginsyrederivater, polyakrylsyre, polyakrylsyrederivater og blandinger derav

**10.** Sammensetning ifølge krav 8 eller 9, hvori den polyanioniske komponenten er valgt fra ett eller flere materialer valgt fra metall-karboksymetylcelluloser; metall-karboksymetylhydroksyetylcelluloser; metall- karboksy metylstivelse; metall-karboksymetylhydroksyetylstivelse; metall-karboksymetylpropyl guarer; hydrolyserte polyakrylamider og polyakrylnitriler; heparin; glukosaminoglykaner; hyaluronsyre eller salter derav; kondroitinsulfat; dermatan sulfat; peptider og polypeptider; alginsyre; metallalginater; homopolymerer og kopolymerer av en eller flere av: akryl- og

metakrylsyrer, metallakrylater og -metakrylater, vinylsulfonsyre, metallvinylsulfonat, aminosyrer, metallsalter av aminosyrer, p-styrenesulfonsyre, metall-p-styrenesulfonat, 2-metakryloyloksyetylsulfonsyrer, metall 2-metakryloyloksetylsulfonater, 3-metakryloyloksy-2-hydroksypropylsulfonsyrer, metall-3-metakryloyloksy-2-hydroksypropylsulfonater, 2-akrylamido-2-metylpropansulfonsyrer, metall-2-akrylamido-2-metylpropansulfonater, allylsulfonsyre og metallallylsulfonat.

**11.** Sammensetning ifølge hvilket som helst av kravene 8 til 10, hvori den polyanioniske komponenten er valgt fra hyaluronsyre eller salter derav, metallkarboksymetylcelluloser og blandinger derav

**12.** Sammensetning ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 11, hvori erytritolkomponentene og blandinger derav og det minst ene andre oppløste midlet er valgt fra gruppen bestående av erytritolkomponenter og karnitinkomponenter, og hvori den polyanioniske komponenten er valgt fra gruppen bestående av karboksymetylcelluloser.

**13.** Sammensetning ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 12, hvori den omfatter erytritol i en mengde mellom 0,01 % (vekt/volum) og 3 % (vekt/volum), karnitin i en mengde mellom 0,01 % (vekt/volum) og 3 % (vekt/volum), og karboksymetylcellulose i en mengde mellom 0,1 % (vekt/volum) og 10 % (vekt/volum).

**14.** Sammensetning ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 13, videre omfattende en elektrolytt valgt fra ett eller flere jordalkalimetallsalter, fortrinnsvis uorganiske jordalkalimetallsalter, og mer foretrukket kalsiumsalter og magnesiumsalter og blandinger derav

**15.** Sammensetning ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 13, videre omfattende et konserveringsmiddel, fortrinnsvis en klordioksydforløper, mer foretrukket et stabilisert klordioksyd (SCD) eller metallkloritt slik som alkalimetall- og jordalkalimetallkloritt.

**16.** Oftalmisk sammensetning som definert i hvilket som helst av kravene 1 til 15 for bruk i en terapifremgangsmåte.

**17.** Oftalmologisk sammensetning som definert i hvilket som helst av kravene 1 til 15, for bruk i en fremgangsmåte for behandling av tørre øyne-syndrom eller behandling av et øye for stress/traumer på grunn av kirurgiske prosedyrer.

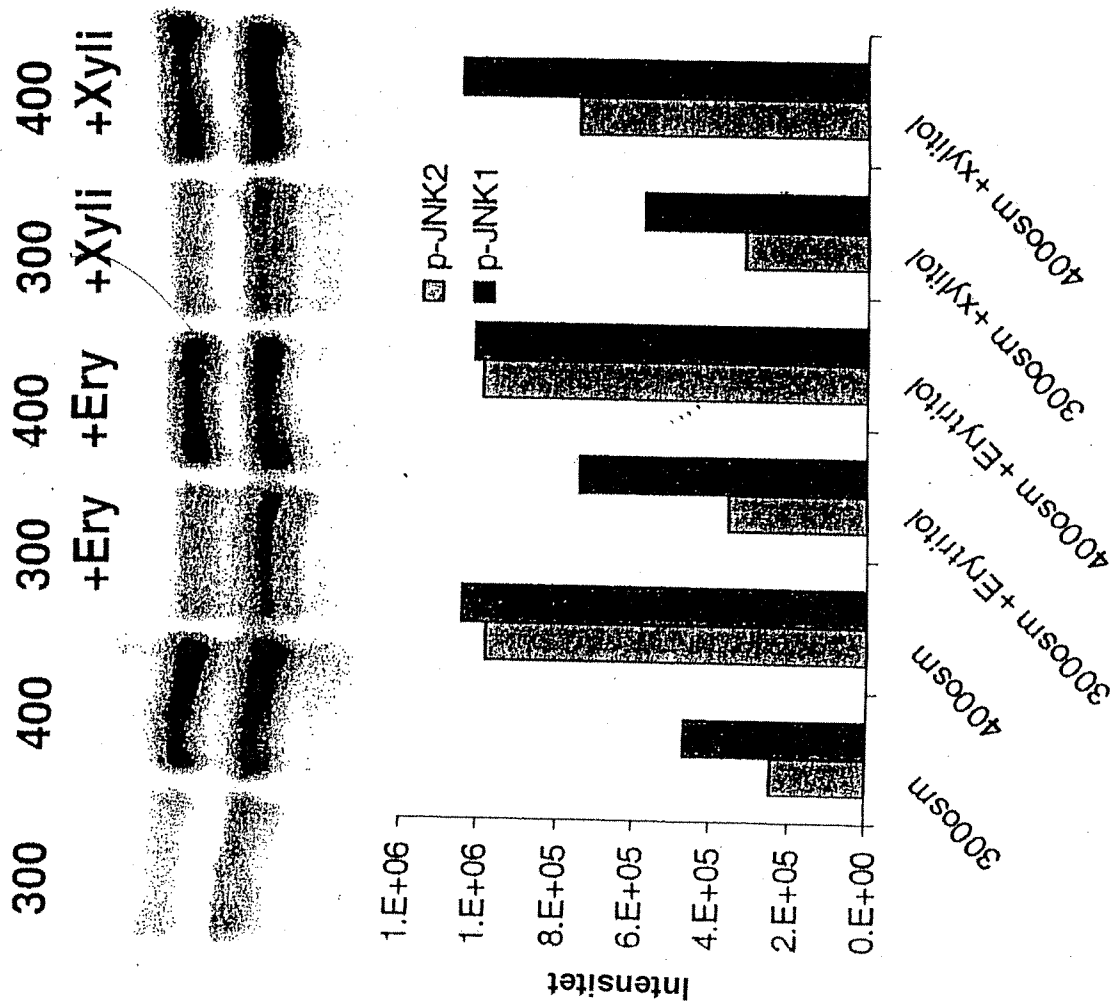


Fig. 1

300 400 300 400 300 400  
+L-ca +L-ca +Beta +Beta

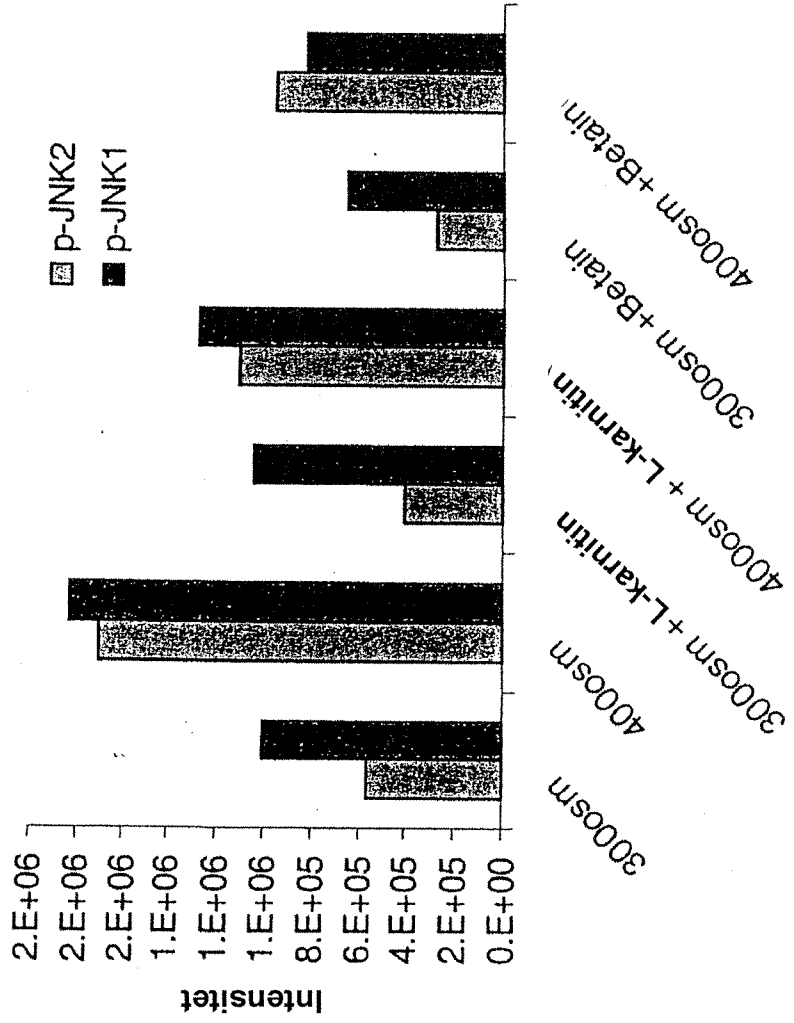
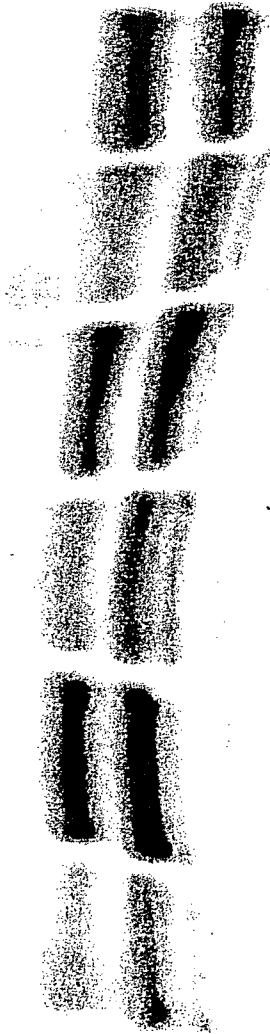


Fig. 2

Fig. 3

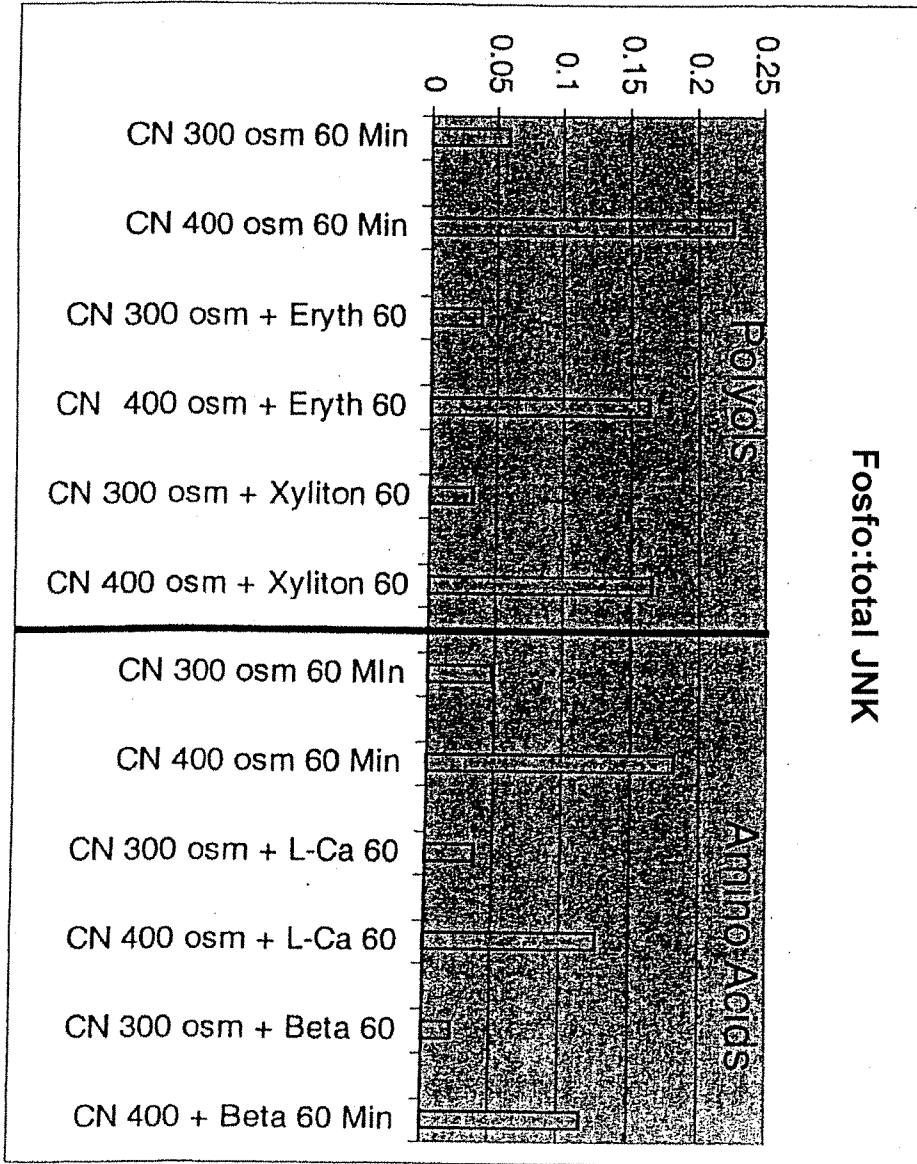
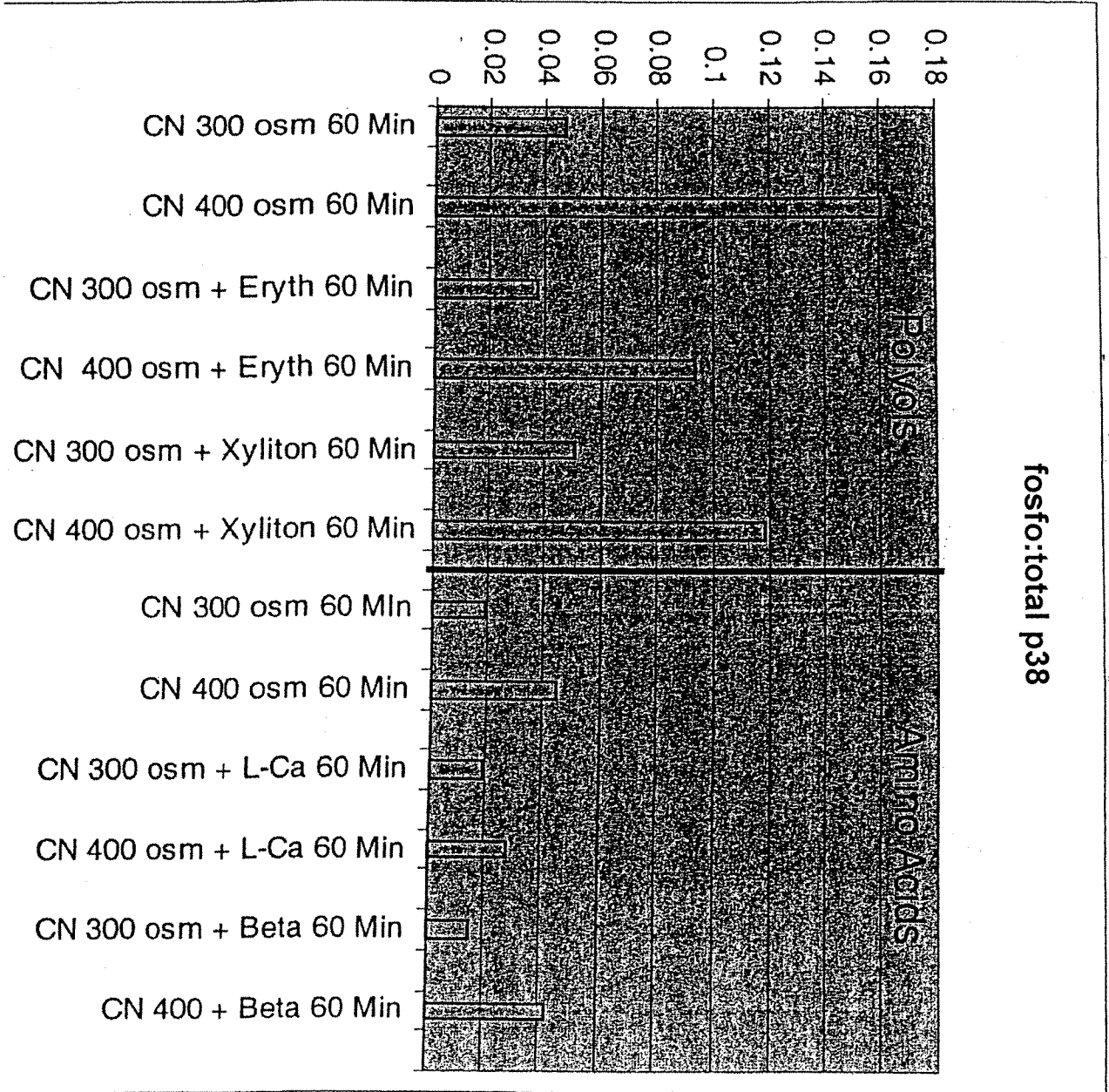
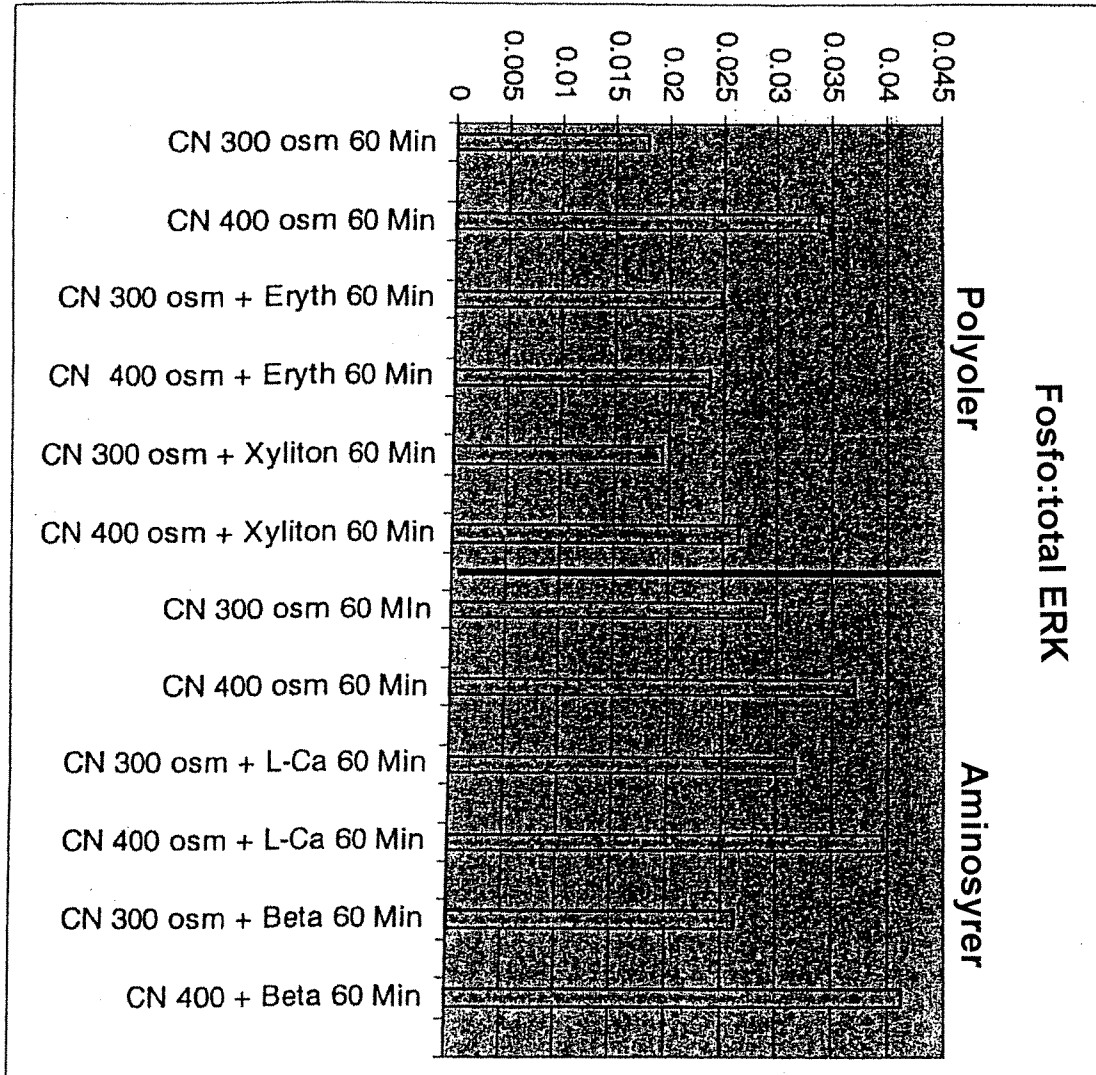


Fig. 4



fosfo:total p38

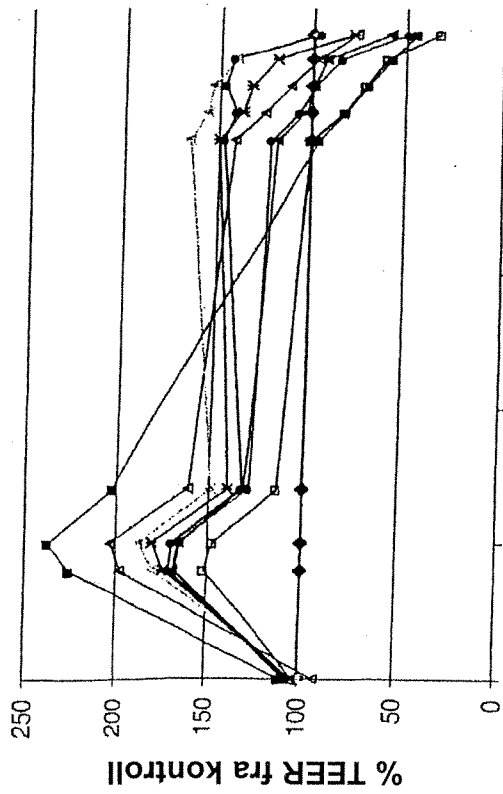
Fig. 5



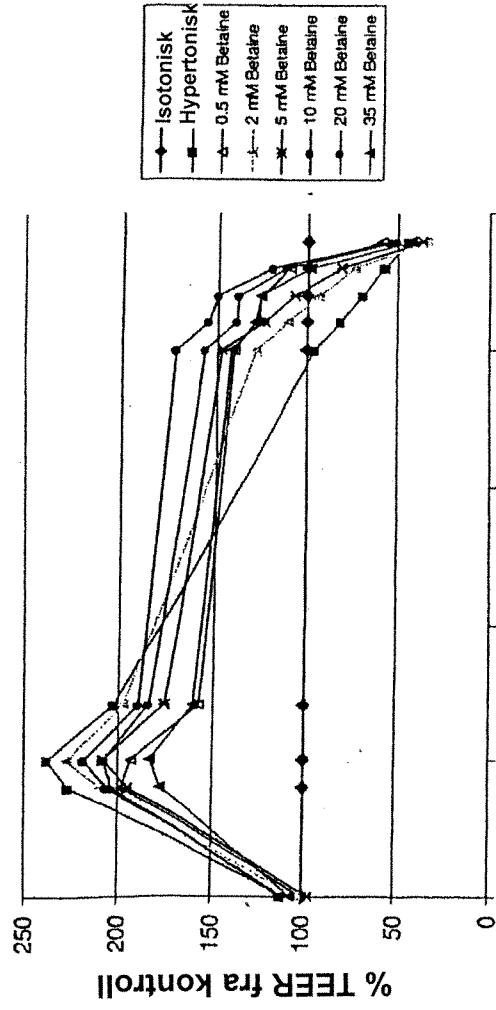


# Sammenfatning av konsentrasjonsavhengig effekt på TEER

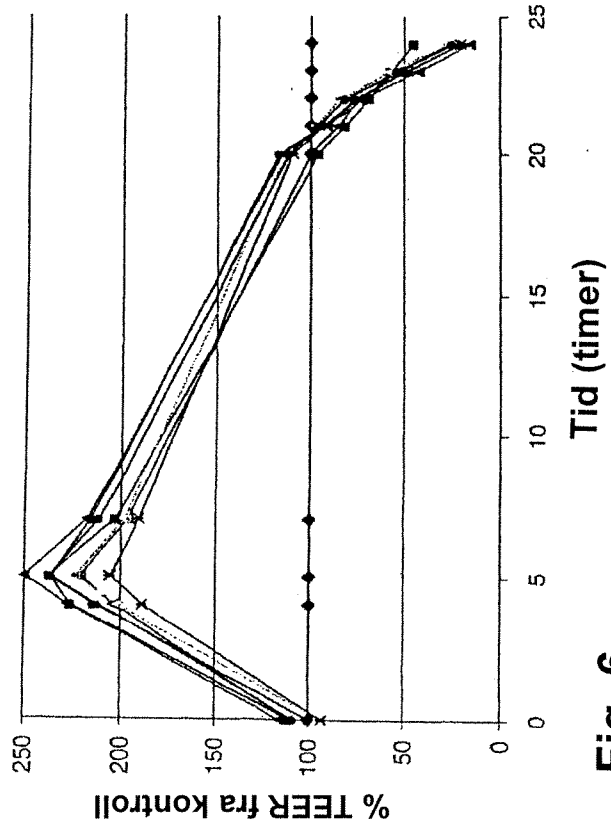
## L-karnitin



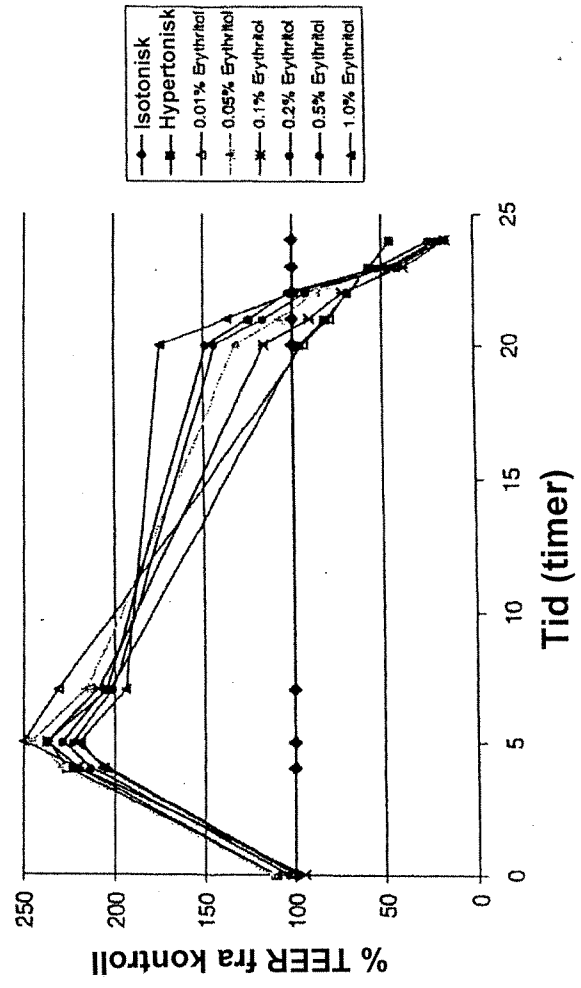
## Betain



## Xylitol



## Erytritol



Effekt av kombinasjon av CS på TEER

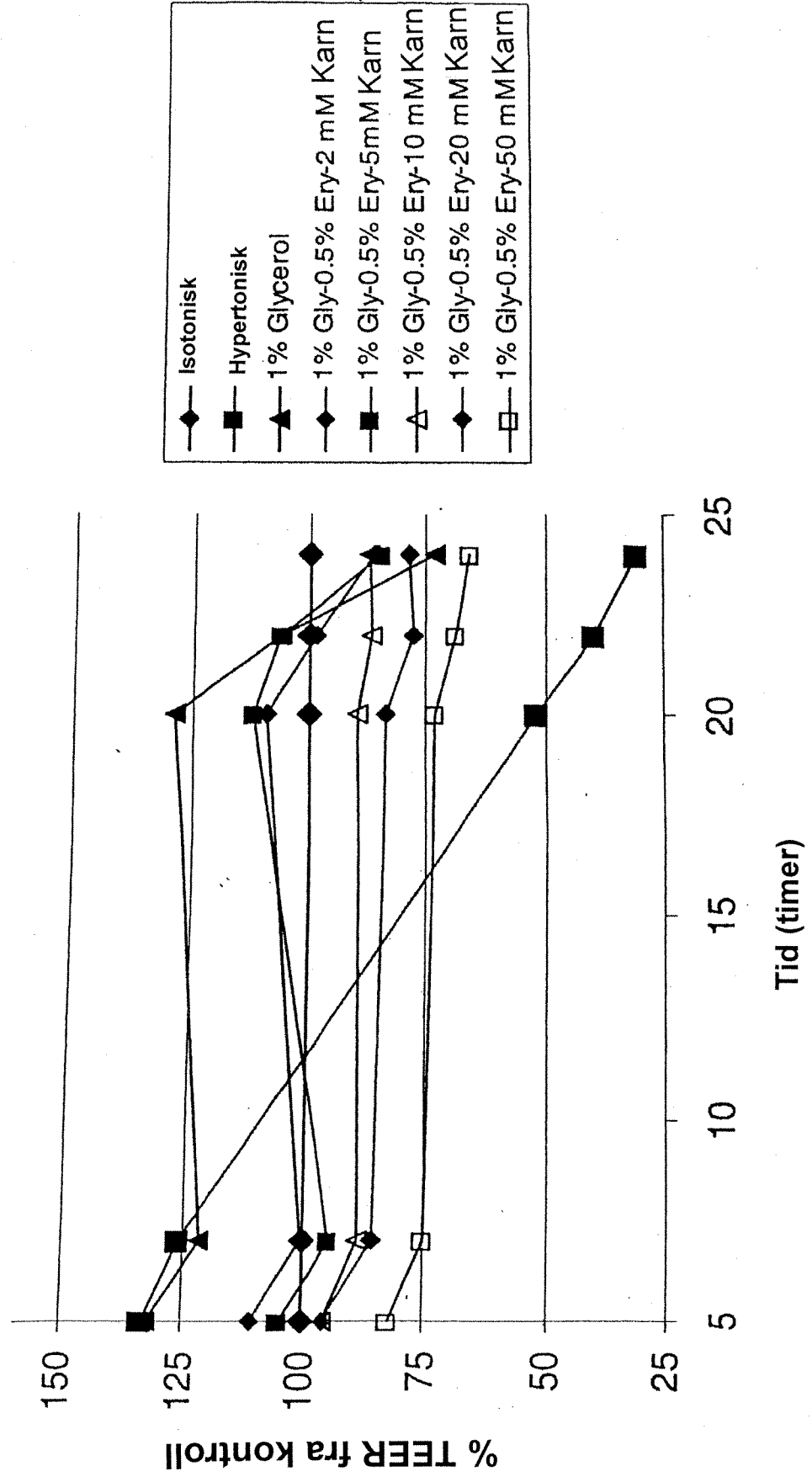


Fig. 7

Effekt av kombinasjon av CS på TEER

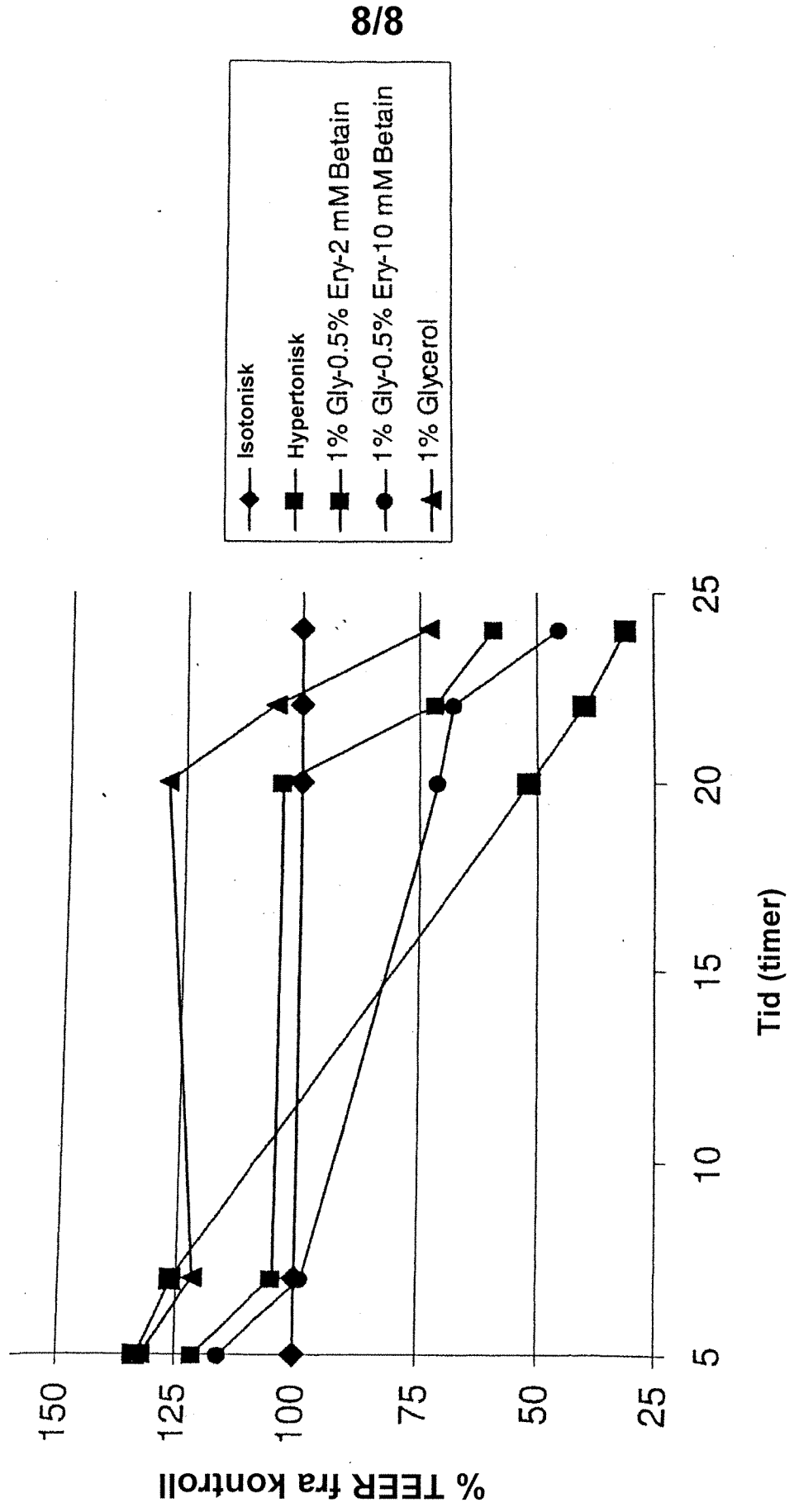


Fig. 8