

(19) Országkód:

**HU**



**MAGYAR  
KÖZTÁRSASÁG  
ORSZÁGOS  
TALÁLMÁNYI  
HIVATAL**

## **SZABADALMI LEÍRÁS**

(11) Lajstromszám:

**211 112 B**

(21) A bejelentés ügyszáma: P 92 02955

(22) A bejelentés napja: 1992. 09. 16.

(30) Elsőbbségi adatok:  
761 120 1991. 09. 17. US

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>

**A 61 K 31/435**

(40) A közzététel napja: 1992. 12. 28.

(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi  
Közlönyben: 1995. 10. 30.

(72) Feltalálók:

Sehgal, Surendra Nath, Princeton, New Jersey (US)  
Caufield, Craig Eugene, Plainsboro, New Jersey (US)  
Musser, John Henry, Pacific Marina, Kalifornia (US)

(73) Szabadalmas:

American Home Products Corp., Madison,  
New Jersey (US)

(74) Képviselő:

DANUBIA Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.,  
Budapest

(54) **Eljárás immunrendszeri gyulladásoos betegségek kezelésére szolgáló rapamicintartalmú gyógyszerkészítmények előállítására**

(57) KIVONAT

A találmány szerint előállított rapamicintartalmú gyógyszerkészítmények immunrendszerrel kapcsola-

tos gyulladásoos bőr- és bélbetegségek kezelésére használhatók.

A találmány tárgya eljárás az immunrendszerrel kapcsolatos gyulladásos betegségek kezelésére szolgáló rapamicintartalmú gyógyszerkészítmények előállítására. A találmány az immunrendszerrel kapcsolatos gyulladásos megbetegedések kezelésére vonatkozik, közelebből a rapamicin új gyógyászati alkalmazását lehetővé tevő új rapamicintartalmú készítmény előállítására.

Bizonyos bőrbetegségek, például a kontakt hyperszenzitivitás, az atópiás dermatitis és a psoriasis a bőr túlzott burjánzásával és gyulladással jellemezhetők. A népesség jelentős része szenved ilyen zavarokban, például a psoriasis a nyugati országok népességének mintegy 2%-át érinti [lásd Ziboh, V. A.: Psoriasis: Hyperproliferative/inflammatory skin disorder, Drug Development Research 13: 137–146, (1988)]. Az emberi bőrbetegségekre, mint amilyen a psoriasis is, szövettanilag jól megkülönböztethető jelenségek jellemzők, mint amilyen a T-sejtek, B-sejtek, monociták és granulociták révén bekövetkező beszűrődés. Ezek a leukocita sejtbeszűrődések a következményei az intracelluláris adhéziós molekulák expressziójának és a citokin és kemotaktikus faktorok felszabadításának, amely utóbbi a bőr nem vérvézési folyamat révén létrejövő sejtjei, például a keratinociták révén következnek be, és amely végül is növeli a szövetszaporodást.

Az immunrendszerrel kapcsolatos bőrrendellenességeket manapság többek között gyulladásgátló szerekkel, például glukokortikoidokkal és burjánzást gátló szerekkel, például metotrexáttal, 5-fluor-uracillal és retinoidokkal kezelik. A közelmúltban számoltak be arról, hogy a ciklosporin-A, amely immunszuppresszív szer, klinikai javulást hozott psoriasis kezelésénél [Ellis, J. Am. Med. Assoc. 256: 3110–3116 (1986)]. Használatának a psoriasis kezelésében azonban határt szab nefrotoxicitása [lásd Ellis, New England J. Med. 324: 277–84 (1991)], valamint az a megfigyelés, hogy a ciklosporin-A kezelés abbahagyása után a betegség kiújul [lásd Griffiths, J. Am. Acad. Dermatol. 23: 1242–1247 (1990)].

A rapamicinról, amely egy makrociklusos trién antibiotikum, amelyet a *Streptomyces hygroscopicus* állít elő (lásd 3 929 992. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás) ismeretes, hogy meggátolja a humorális (IgE-szerű) antitestek képződését albumin allergiás behatás esetében [lásd Martel, R., Can. J. Physiol. Pharm. 55: 48 (1977)], hogy meggátolja egereknél a T-sejt aktivációt [Staruch, M., FASEB 3: 3411 (1989)], és hogy meghosszabbítja átültetett szervek túlélési idejét hisztokompatibilis rágszálóknál (lásd Morris, R., Med. Sci. Res. 17: 877 (1989)).

Találmányunk rapamicintartalmú gyógyszerkészítmények előállítására vonatkozik, amelyek immunrendszerrel kapcsolatos bőr- vagy bélmegebetegedések gyógyítására szolgálnak emlősöknél.

Ezekkel a készítményekkel emlősök immunrendszerrel kapcsolatos bőr vagy bél gyulladással megbetegedése kezelhetők oly módon, hogy gyulladásgátló mennyiségben rapamicint adagolunk. A rapamicint adagolhatjuk orálisan, parenterálisan, intranazálisan,

intrabronchiálisan, topikálisan, transzdermálisan vagy rektálisan. A rapamicin hatékony a gyulladással és bélmegebetegedések tüneti kezelésére, a betegség kifejlődésének megakadályozására, vagy teljes megszüntetésére. Ezért a rapamicin használható olyan bőrbetegségek kezelésére, mint amilyen például psoriasis, az atópiás dermatitis, a kontakt dermatitis, az ekcémás dermatitis, a seborrheás dermatitis, Lichen planus, Pemphigus, bulus pemphigoid, Epidermolysis bullosa, urticaria angioedemas, vasculitides, erythmas, bőr eozinofília és hasonló; valamint bizonyos bélbetegségek, például gyulladással megbetegedések kezelésére.

Találmányunkat a következőben példákkal illusztráljuk.

A rapamicin hatását a bőr és bélbetegségekre két in vivo standard állatkísérlettel mutattuk ki, amelyek az emlősöknél megfigyelt immunrendszerrel kapcsolatos bőr és bél gyulladással megbetegedésekre jellemzőek. A következőkben ismertetjük az alkalmazott eljárásokat és a kapott eredményeket.

#### 1. példa

Az első in vivo standard farmakológiai vizsgálatnál rapamicin hatását vizsgáltuk dermális gyulladással oly módon, hogy meghatároztuk a tetradekanoil-forbolacetát (TPA) által kiváltott fülödéma megakadályozását Webster egereknél. Összehasonlításként ciklofoszfamidot, ciklosporint (CsA), indometacint és BW7SSC-t is vizsgáltunk. A következőkben röviden ismertetjük az alkalmazott eljárást.

Nőnemű Swiss Webster egereket (Buckshire, 8 hetes) hatos csoportokra osztottunk. A tetradekanoil-forbolacetátot (TPA) acetonban feloldottuk 200 µg/ml koncentrációban. Az egyes egereknek 4 µg/fül koncentrációban TPA-t adtunk a jobb fülükbe. Ezt a szuboptimális gyulladást okozó dózist automata pipettával alkalmaztuk 10 µl térfogatban a fül belső és külső felületére. A bal (összehasonlító) fülbe acetont vagy vivőanyagot adagolunk. A vizsgálandó hatóanyagokat topikálisan alkalmaztuk acetonban, és néhány esetben 95%-os etanollal használtunk a hatóanyag feloldására az acetonnal történő hígítás előtt. A topikális hatóanyag adagolást a következőképpen végezzük: a hatóanyagot 30 perccel a TPA-val végzett kezelés után adagoljuk. Az ödémát Oditest kaliberkörzővel mérjük meg. A jobb és a bal fül vastagságát 0,01 mm-es pontossággal mérjük 4 órával a TPA adagolás után. A fülödémát úgy számítjuk ki, hogy kivonjuk a bal fül vastagságát (vivőanyag összehasonlító) a jobb fül (kezelt fül) vastagságából.

A TPA által kiváltott fülödéma farmakológiai vizsgálattal kapott eredményeinket az 1. táblázatban foglaljuk össze.

1. táblázat

Végzett kezelés	dózis mg/fül	átlagos ödéma (mm × 10 <sup>-2</sup> ± SEM)	százalékos változás
összehasonlító		28,3 ± 1,1	–
rapamicin	0,25	17,8 ± 4,1	-37,1*

Végzett kezelés	dózis mg/fül	átlagos ödéma (mm×10 <sup>-2</sup> ±SEM)	százalékos változás
rapamicin	1,0	12,0±2,5	-57,6*
ciklofoszfamid	0,25	16,5±3,1	-41,7*
ciklofoszfamid	1,0	15,0±2,4	-47,0*
ciklosporin-A	0,25	23,8±2,0	-15,9
ciklosporin-A	1,0	26,0±1,3	-7,1
indomethacin	0,5	12,0±2,3	-57,6*
BW755C	0,5	12,0±2,4	-57,6*
BW755C	1,0	12,7±1,4	-55,1*

\* statisztikusan szignifikáns eltérés (p≤0,05) az összehasonlító egérről

A farmakológiai vizsgálati eljárás eredményeiből látható, hogy a rapamicin szignifikánsan (p≤0,05) megakadályozza a topikális TPA adagolást követő akut gyulladási reakciót. A ciklosporin-A, amely immun-suppresszív hatóanyag, a rapamicinnel összehasonlítva lényegesen kisebb mértékben akadályozta meg a gyulladási reakciót.

## 2. példa

A második in vivo standard farmakológiai vizsgálati eljárásnál rapamicin hatását mértük oxazolol által kiváltott kontakt hiperszenzitivitás megakadályozására egér fülében. Ez a vizsgálati eljárás azt a gyulladási reakciót imitálja, amelyet emlősöknél immunrendszerrel kapcsolatos gyulladási bőr- és bélbetegedéseknél figyelhetünk meg. A következőkben röviden ismertetjük az alkalmazott eljárást és a kapott eredményeket. Összehasonlításként megvizsgáltuk a dexamethazon és a ciklosporin-A hatását.

Nyolc hetes, nőnemű Swiss Webster egereket hatos csoportokba osztottunk és az egyes egereknek leborotváltuk a hasát. Az egereket ezután oxazololnal (4-eto-xi-metilén-2-fenil-oxazol-5-on) szenzibilizáltuk, oly módon, hogy 100 µl 95%-os alkohollal készült 2%-os hatóanyagoldatot alkalmaztunk közvetlenül a leborotvált hasra automata pipettával. A visszamaradó oxazolol egy kerek farudacskaival a bőrzebe masszíroztuk. 6 nappal a szenzibilizálás után az egyes egereket 20 µl 2%-os 90%-os alkohollal készített oxazolol oldattal kezeltük a jobb fülükben (10 µl minden oldalra) és 20 µl tiszta alkoholt adtunk a bal fülre. A topikális adagolásra szolgáló vizsgálandó vegyületeket acetonnal készítettük el, és 30 perccel az oxazolol kezelés után adagoltuk a jobb fülbe. Acetont, vagyis a vivőanyagot egyedül adtunk a bal fülbe. Az orális adagolásra szolgáló vegyületeket 0,5 ml 0,5%-os metil-cellulózban szuszpendáltuk és 10 perccel az oxazolol kezelés előtt adagoltuk. Mindkét fül vastagságát megmértük a behatás után 24 és 48 órával (mm×10<sup>-2</sup>) Oditest kaliberkörző segítségével. Az ödémát úgy számítottuk ki, hogy a baloldali fül vastagságát kivontuk a jobb fül vastagságából. A hatóanyag hatékonyságát úgy hatá-

roztuk meg, hogy kiszámítottuk a százalékos eltérést az összehasonlító mintától az egyes időtartamokra. A kapott eredményeket a 2. táblázatban tüntetjük fel.

2. táblázat

Vegyület	Dózis	adagolás módja	ödéma (mm×10 <sup>-2</sup> ±SE)	százalékos változás
összehasonlító			34,7±2,9	
szenzibilizálás nélkül			4,2±1,3	
rapamicin	20 mg/kg	p. o.	26,8±5,6	-22,6
rapamicin	0,5 mg/fül	topikális	9,7±3,4	-72,1
ciklosporin-A	50 mg/kg	p. o.	27,5±3,9	-20,7
ciklosporin-A	1,0 mg/fül	topikális	4,7±1,5	-86,5*
dexamethazon	1 mg/kg	p. o.	25,8±4,2	-25,5
dexamethazon	0,1 mg/fül	topikális	1,2±0,4	-96,6*

A fenti in vivo standard farmakológiai vizsgálati eredményei, amelyek az immunrendszerrel kapcsolatos bőr és bél gyulladási megbetegedéseket imitálják, mutatják, hogy a rapamicin megakadályozta az oxazolol által kiváltott gyulladási reakciót. Hasonló eredményeket figyeltünk meg dexamethazonnal és ciklosporin-A-val is.

Összefoglalásul elmondhatjuk, hogy a fenti standard farmakológiai vizsgálati eredmények szerint a rapamicin jól használható immunrendszerrel kapcsolatos gyulladási bőr és bélbetegedések kezelésére emlősöknél. A rapamicin tehát jól használható bőrbetegségek, például psoriasis, atópiás dermatitis, kontakt dermatitis, ekcémás dermatitis, seborrheás dermatitis, Lichen planus, Pemphigus, bulus pemphigoid, Epidermolysis bullosa, urticaria angioedemas, vasculitides, erythmas, bőr eozinofiliás és hasonló; valamint bizonyos bélbetegségek, például gyulladási bélbetegségek kezelésére.

Ismeretes, hogy a rapamicin ciklosporin-A-val mind in vitro, mind in vivo kísérletekben szinergetikusan hat. Kahan például kimutatta, hogy a rapamicin lényegesen megnöveli a ciklosporin-A inhibitor hatását fitohemagglutinin anti-CD<sub>3</sub> monoklonális antitest és kevert limfocita reakció által kiváltott humán perifériás limfocita aktiválással szemben. A ciklosporin-A növelte a rapamicin hatást IL-2 és IL-6 limfocin függő sejtvonalak elterjedésére. Ezen kívül kimutatták, hogy a rapamicin/ciklosporin kombináció immun-suppresszív hatású volt patkányokban, kilökődési reakciókkal szemben heterotópiás szívtültetésnél, olyan koncentrációkban, amelyeknél a két hatóanyag külön-külön hatástalan volt [Transplantation, 51: 232 (1991)].

Amikor a rapamicint emlősök immunrendszerrel kapcsolatos bőr- és bélbetegségei kezelésére használjuk, a hatóanyagot alkalmazhatjuk tisztán vagy gyógyszerészeti segédanyaggal együtt. A gyógyszerészeti segédanyag lehet szilárd vagy folyékony.

A szilárd vivőanyagok tartalmazhatnak egy vagy több olyan anyagot, amely fzesítőanyag, kenőanyag, oldhatóságot elősegítő anyag, szuszpendálószer, töltőanyag, csúszást elősegítő anyag, préselést elősegítő anyag, kötőanyag vagy tablettaszétesést elősegítő anyag. A vivőanyag lehet kapszulázószer is. Porok esetén a vivőanyagot finomeloszlású formájában keverjük össze a finomeloszlású hatóanyaggal. Tabletták esetén a hatóanyagot megfelelő arányban összekeverjük egy olyan vivőanyaggal, amely rendelkezik a szükséges préselési tulajdonságokkal, és a keveréket a kívánt méretű és alakú tablettává préseljük. A porok és tabletták előnyösen legfeljebb 99 tömeg% hatóanyagot tartalmaznak. Az alkalmas szilárd vivőanyagok közül példaként megemlítjük a kalcium-foszfátot, a magnézium-sztearátot, a talkumot, a cukrokat, a laktózt, a dextrént, a keményítőt, a zselatint, a cellulózt, a metil-cellulózt, a nátrium-karboximetil-cellulózt, a polivinil-pirrolidint, az alacsony olvadáspontú viaszokat és az ioncserélő gyantákat.

Folyékony vivőanyagot alkalmazunk, ha oldatokat, szuszpenziókat, emulziókat, szirupokat, elixíreket vagy aeroszol készítményeket állítunk elő. Ilyenkor a hatóanyagot feloldjuk vagy szuszpendáljuk egy gyógyszerészetiileg megfelelő folyékony vivőanyagban, például vízben, szerves oldószerben, a kettő keverékében, vagy valamely gyógyszerészetiileg alkalmazható olajban vagy zsírban. A folyékony vivőanyag tartalmazhat egyéb gyógyszerészeti segédanyagokat is, például oldékonyságot elősegítő szereket, emulgeátorokat, puffereket, konzerválószerkeket, édesítőszerkeket, ízesítőanyagokat, szuszpendálószerkeket, sűrítőszerkeket, színezékeket, viszkozitás-szabályozókat, stabilizátorokat vagy ozmózis-szabályozókat. Az orális és parenterális adagolásra alkalmas megfelelő folyékony vivőanyagok közül példaként megemlítjük a vizet (amely részben a fentiekben említett adalékokat tartalmazhat, például cellulózszármazékokat, előnyösen nátrium-karboxi-metil-cellulóz oldatot), az alkoholokat, amelyek lehetnek egy vagy többértékű alkoholok, például glikolok és ezek származékait, valamint az olajokat, például a frakcionált kókuszdíóolajat vagy mogyoróolajat. Parenterális adagoláshoz a vivőanyag ugyancsak lehet valamely olajos észter, például etil-oleát vagy izopropil-mirisztát. Parenterális adagoláshoz előnyösek a steril, folyékony hordozóanyagok, steril, folyékony készítmény formájában. Aeroszol kiszerezéshez a folyékony vivőanyag lehet valamely halogénezett szénhidrogén vagy más gyógyszerészetiileg alkalmazható hajtógáz.

Azok a folyékony gyógyszerkészítmények, amelyek steril oldatok vagy szuszpenziók, használhatók például intramuszkuláris, intraperitoneális vagy szubkután injekciókhoz. A steril oldatokat adagolhatjuk intravénásan is. A vegyület orálisan mind folyékony, mind szilárd készítmény formájában adagolható.

A rapamicint adagolhatjuk rektálisan, hagyományos kúp formájában. Intranazális vagy intrabronchiális inhalációhoz vagy inszuflációhoz a találmány szerinti vegyületeket vizes vagy részben vizes oldat formájában szereljük ki, amelyeket azután aeroszol formában alkalmazunk. A találmány szerinti vegyületeket transzdermálisan is adagolhatjuk, transzdermális tapaszt segítségével, amely a hatóanyagon kívül olyan hordozóanyagot tartalmaz, amely a hatóanyaggal szemben inert, a bőrre nem mérgező és lehetővé teszi a hatóanyag leadását a bőrön keresztül a véráramba történő szisztemikus felszívódáshoz. A vivőanyag lehet bármely formában, például krém, kenőcs, paszta, gél vagy okkluzív eszköz formában. A krémek és kenőcsök lehetnek viszkózus folyadékok vagy félszilárd emulziók, akár olaj-a-vízben, akár víz-az-olajban típusú emulziók. Alkalmazhatunk olyan kenőcsöket is, amelyek a hatóanyagot tartalmazó petróleumban vagy hidrofíli petróleumban diszpergált abszorpció tulajdonságú porokból állnak. Különböző okkluzív eszközöket is alkalmazhatunk a hatóanyagnak a véráramba történő leadásához, például féligáteresztő membránokat, amelyek egy a hatóanyagot tartalmazó tartályt fednek, a hatóanyagot tartalmazhatja ez a tartály hordozóanyagokkal együtt vagy anélkül, vagy lehet ez egy hatóanyagtartalmú mátrix is. Egyéb okkluzív eszközök is ismertek a szakirodalomból.

A rapamicint adagolhatjuk topikálisan, oldat, krém vagy folyadék formájában, gyógyszerészetiileg alkalmazható vivőanyagokkal együtt kiszerezve, oly módon, hogy a készítmény 0,1–5, előnyösen 2 tömeg% hatóanyagot tartalmaz.

A megfelelő dózis függ az adott készítménytől, az adagolás módjától, a tünetek súlyosságától, és a kezelendő egyéntől. A farmakológiai vizsgálatoknál kapott eredmények alapján a tervezett napi hatóanyag dózis 0,001–100 mg/kg, előnyösen 0,1–50 mg/kg, még előnyösebben 0,3–25 mg/kg. A kezelést általában kisebb dózissal célszerű kezdeni, amely kevesebb, mint a vegyület optimális dózisa. Ezután növelhető a dózis az optimális hatás eléréséig az adott körülmények között. Az orális, parenterális, nazális vagy intrabronchiális adagolásnál a pontos dózist az alkalmazó orvos határozza meg a kezelendő egyénnel szerzett tapasztalata alapján. Általában a rapamicint előnyösen olyan koncentrációban adagoljuk, amellyel jó eredmény érhető el káros mellékhatások nélkül. A megfelelő dózist adagolhatjuk naponta egyszer vagy kívánt esetben több részre elosztva, amelyet megfelelő időközönként adagolunk a nap folyamán.

## SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás hatóanyagként rapamicint tartalmazó gyógyszerkészítmény előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az ismert módon előállított rapamicint szokásos gyógyszerészeti segédanyagokkal összekeverjük és a keveréket immunrendszerrel kapcsolatos bőr- vagy bélbetegség kezelésére alkalmas gyógyszerkészítménnyé kiszerezjük.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a keveréket orális, parenterális, intranazális, intrabronchiális, topikális, transzdermális vagy rektális adagolásra alkalmas készítménnyé szereljük ki.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a keveréket bőrbetegségek, nevezetesen psoriasis, atópiás dermatitis, kontakt dermatitis, ekcémás dermatitis, seborrheás dermatitis, Lichen planus, Pemphigus, bulus pemphigoid, Epidermolysis bullosa, urticaria angioedemas, vasculitides, erythmas, bőr eozinofiliász kezelésére alkalmas készítménnyé szereljük ki.

4. Az 1–3. igénypontok bármelyike szerinti eljárás *azzal jellemezve*, hogy a keveréket immunrendszerrel kapcsolatos gyulladáshoz bőr- vagy bélbetegségek tüne-

teinek megszüntetésére, a kialakulásának megakadályozására vagy teljes megszüntetésére szolgáló készítménnyé szereljük ki.

5. Az 1–4. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a keveréket egységnyi adagot tartalmazó formában szereljük ki.

6. Az 5. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az adagolási egység 0,01–100 mg/kg kezelendő emlős testtömeg rapamicint tartalmaz.

10. 7. Az 5. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a dózisegység 0,1–50 mg/kg kezelendő emlős testtömeg rapamicint tartalmaz.

15. 8. Az 5. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a dózisegység 0,3–25 mg/kg kezelendő emlős testtömeg rapamicint tartalmaz.