

P03 03988

1.2.2006

77.514/DE

Azitromicin alkalmazása nem fertőző gyulladásos betegségek
kezelésére szolgáló gyógyszerkészítmény előállítására

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

KIVONAT

A találmány a nem fertőző neutrofil túlsúlyú gyulladásos betegségekben a 9-dezoxo-9-dihidro-9a-metil-9a-aza-9a-homoclitromicin A (generikus neve: azitromicin) használatára, valamint az enterális vagy parenterális beadásához az azitromicint tartalmazó gyógyszerészeti összetételek előállítási eljárására vonatkozik.

TK

P 0 3 0 3 9 8 8

S. B. G. & K.

Szabadalmi Ügyvédi Iroda

H-1062 Budapest, Andrássy út 113.

Telefon: 461-1000, Fax: 461-1099

77.514/DE

4 0 3 0 8

AL

Azitromicin alkalmazása nem fertőző gyulladási betegségek
kezelésére szolgáló gyógyszerkészítmény előállítására
KÖZZETETELI PÉLDÁNY

A jelen találmány a nem fertőző neutrofil túlsúlyú gyulladá-
sos betegségekben a 9-dezoxo-9-dihidro-9a-metil-9a-aza-9a-ho-
moeritromicin A (generikus neve: azitromicin) használatára, és az
enterális vagy parenterális beadásához az azitromicint tartalmazó
gyógyszerészeti összetételek előállítására vonatkozik.

A legtöbb gyulladási betegséget a gyulladási sejtek abnor-
mális felhalmozódása jellemez, beleértve a monocitákat/makro-
fágokat, granulocitákat, plazmasejteket, limfocitákat és vérlemez-
kéket. A szöveti endoteliális és fibroblaszt sejtekkel együtt ezek a
gyulladási sejtek komplex összeállításban lipideket, növekedési
faktorokat, citokineket és lebontó enzimeket bocsátanak ki, ami
a szövet helyi sérüléséhez vezet.

A gyulladási válasz a neutrofil gyulladás, melyet a neutro-
fil polimorfonukleáris leukocitáknak (PMN) a gyulladt szövetbe
történő beszűrődése jellemez, ami a gazda védelmének fő
komponense. Az extracelluláris baktériumok által okozott szöveti
fertőzés ezen gyulladási válasz prototípusát képviseli. Másrészt
a különböző nem fertőző betegségek a neutrofilek extravasz-
kuláris összegyűlésével jellemezhetők. A gyulladási betegségek
fenti csoportjába a következők tartoznak: krónikus elzáródású
pulmonáris betegség, felnőttkori szorongás szindróma, az im-
munkomplex alveolitisz néhány típusa, cisztás fibrózis, hörg-
hurut, hörgőtágulat, emfizéma, glomerulonephritisz, az ízületi
gyulladás aktív fázisai, köszvényes ízületi gyulladás, fekélyes
vastagbélgyulladás, bizonyos bőrbetegségek, mint például a



pikkelysömör és a vaszkulitisz. Ezekben az állapotokban a neutrofilekről úgy vélik, hogy a szöveti sérülés kifejlődésében játszanak szerepet, és amikor állandó megjelenésűek, akkor a normális szövet visszafordíthatatlan károsodását, majd a szövet működésének sérülését okozzák. Ezért a szöveti sérülést főleg a neutrofilek aktiválása okozza, mely proteinázaik kibocsátásával, valamint a szabadgyökök képzésének fokozódásával jár.

A krónikus elzáródású pulmonáris betegségre (COPD) alapjában a légáram korlátozásának kifejlődése jellemző, ami nem teljes mértékben állítható helyre (ATC, 1995). A COPD legtöbb betegnél három patológiás állapottal jellemezhető: hörghurut, emfizéma és mukózus eltömődések. Ezt a betegséget a kilégzés első másodpercében lassú progresszív és visszafordíthatatlan erőltetett kilégzési térfogat csökkenés jellemez (FEVI), míg az erőltetett vitális kapacitás viszonylagosan megőrződik (FVC) [Barnes: Engl. J. Med., 343(4), 269-280(2000)]. Asztmában és COPD-ben jelentős, de ettől eltérő légúti átrendeződés figyelhető meg. A legtöbb légúti elzáródás két fő tényező következményének tekinthető: az alveoláris roncsolódásnak (emfizéma) és a kis légutak elzáródásának (krónikus elzáródású hörghurut). A COPD-re főleg a mukózus sejtek hiperpláziája jellemző.

A betegség fő okai a cigarettázás, a légszennyezés és más környezeti faktor. A kauzális mechanizmus napjainkban még nem meghatározott, de az oxidánsok-antioxidánsok arányának zavara a betegség kifejlődésében jelentős szerepet játszik. A COPD krónikus gyulladós folyamat, mely az asztmában megfigyeltektől lényegesen eltér, mások a gyulladós sejtek, a mediátorok, a gyulladós hatások és a kezelésre adott válaszok [Keatings és mtsai: Am. J. Respir. Crit. Care Med., 153, 530-534



(1996)]. Ezt a betegséget elsődlegesen a neutrofil beszűrődés jellemzi a beteg tüdejébe.

A szóban forgó betegségben az elő-gyulladású citokinek, mint például a TNF- α , szintje, és különösen a kemokinek, mint például IL-8 és GRO- α , szintje, úgy tűnik, szerepet játszik a patogenezisben. A vérlemezkék tromboxán szintézise a COPD betegeknél szintén fokozott [Keatings és mtsai: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 153, 530-534 (1996); Stockley és Hill: *Thorax*, 55(7), 629-630 (2000)]. A neutrofilek aktiválása okozta legtöbb szöveti sérülést a (metallo)proteinázok fokozott kibocsátása, és a szabadgyökök megnövekedett termelése követi [Repine és mtsai: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 156, 341-357(1997); Barnes: *Chest*, 117(2. Suppl.), 105-145 (2000)].

A legtöbb terápiás törekvés ezen szimptomák megszüntetésére irányul [Barnes: *Trends Pharm. Sci.*, 19(10), 415-423 (1998); Barnes: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 160, 572-579 (1999); Hansel és mtsai: *Expert Opin. Investig. Drugs*, 9(1), 3-23 (2000)]. A szimptomák általában légáram korlátozással járnak, melyek terápiásan hörgőtágítókkal enyhíthetők. A komplikációk megelőzése és kezelése, a leromlás megakadályozása és az élettartam és az élet minőségének javítása szintén az elsődleges célok közé tartoznak, melyeket a COPD kezelésével kapcsolatban a nemzetközi irányelvek megállapítottak [Culpitt és Rogers: *Exp. Opin. Pharmacother.*, 1(5), 1007-1020 (2000); Hay: *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 4, 412-419 (2000)]. A jelenleg folyó terápiás kutatások alapján a mediátorokra összpontosítanak, melyek a neutrofilek összegyűlésében vagy nem kívánt aktiválódásuk következményeinek enyhítésében játszanak szerepet [Stockley és mtsai: *Chest*, 117(2. Suppl.), 585-625 (2000)].

A makrolid antibiotikumok *in vitro* immunmódosító hatásairól a szakirodalomban több helyen beszámoltak [Labro: J. Antimicrob. Chemother., 41(Suppl. B), 37-46 (1998); Labro: Clin. Microb. Rev., 13(4), 615-650 (2000); Wales és Woodhead: Thorax, 54(Suppl. 2), 558-562 (1999)]. A makrolid antibiotikumok olyan makrolid vegyületek, melyek például 12-, 14-, 16- vagy 17-tagú laktongyűrűt és 1-3 cukormaradékot tartalmaznak, melyeket egymáshoz vagy az aglükonhoz glükozides kötések kapcsolnak. A makrolid antibiotikumok ismert példái a következők: karbomicin, eritromicin, leukomicin és spiramicin.

A makrolidok és a fagocitáló gyulladásozó sejtek kölcsönhatásaival kapcsolatban a legfontosabb megfigyelések a stimulált sejtek által termelt oxidáló anyagokra kifejtett *in vitro* gátló hatásokra vonatkoznak [Labro és mtsai: J. Antimicrob. Chemother., 24(4), 561-572 (1989); Umeki: Chest, 104, 1191-1193 (1993); Wensch és mtsai: Antimicrob. Agents Chemother., 40(9), 2039-2042 (1996)], valamint az elő-gyulladási és gyulladás elleni citokinek ezen sejtek által történő kibocsátására [Labro és mtsai: J. Antimicrob. Chemother., 24(4), 561-572 (1989); Khan és mtsai: Internat. J. Antimicrob. Agents., 11, 121-132(1999); Morikawa és mtsai: Antimicrob. Agents and Chemother., 40(6), 1366-1370 (1996); Sugiyama és mtsai: Eur. Respir. J., 14, 1113-1116(1999)]. Továbbá a humán neutrofileknél *in vitro* számos makrolid az exocitózist közvetlenül stimulálja (degranuláció) [Abdelghaffae és mtsai: Antimicrob. Agents Chemother., 38(7), 1548-1554(1994); Vazifeh és mtsai: Antimicrob. Agents Chemother., 42(8), 1944-1951(1998)]. A patkány carrageenin mellhártyagyulladás kísérletes modellben néhány makrolid antibiotikumról, mint például a roxitromiciról, a klaritromicinről



és az eritromicinről, az azitromicinnel szemben, azt találták, hogy gyulladásgátló aktivitást mutat, mely valószínűleg az elő-gyulladás mediátorok és citokinek termelését képes megakadályozni. Az akut gyulladás ezen modelljében az NO termelés, a TNF- α szint vagy a PGE2 szignifikánsan csökkent az antibiotikus előkezelésre [Ivanario és mtsai: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 292, 156-163(2000)].

Patkányban az eritromicin beadása szintén gyulladásgátlást eredményezett a zimozánnal indukált peritonitiszben [Agen és mtsai: *Agents Actions*, 38(1-2), 85-90 (1993)]. A roxitromicinről közzétették, hogy az akut gyulladásos reakciót csökkenti, melynek módja a hagyományos gyulladásgátlók, mint például indometacin, mechanizmusától eltér. Egy másik tanulmányban a roxitromicinről kimutatták, hogy olyan standard állati modellekben hatásos, melyeket a gyulladásgátló szerek hatásainak kiértékelésére használnak, mint például a carrageenin indukált mancs ödéma, míg a klaritromicin és az azitromicin csak mérsékelt aktivitást mutatott [Scaglione és Rossini: *J. Antimicrob. Chemother.*, 41(Suppl. B), 47-50 (1998)].

Néhány makrolid antibiotikumot, mint például az eritromicint, a klaritromicint és a roxitromicint, gyulladásgátló szerként már használtak, különösen a diffúz panbronchiolitiszben. A makrolidok használatának beszámolóit egyes betegségeknél, mint például ízületi gyulladásnál és cisztás fibrózisnál, a szakirodalomban rendelkezésünkre állnak [Arayssi és mtsai: *Program and Abstracts of the 4th International conference on macrolides, azalides, streptogramins and ketolides*, 21-23 January 1998, Barcelona, Spain, Abstract 6; Singh, J. *Assoc. Phys. India* (1989), 37, 547; Jaffe és mtsai: *Lancet*, 352, 420

(1998)]. A makrolidok releváns farmakológiai hatásait tekintve, beszámoltak arról, hogy az eritromicin a hiperszekréción gátolja, mivel az epiteliális sejtekből a nyák és a víz szekréción gátolja. A gyulladásos régióban a neutrofilek felhalmozódását szintén gátolja, mivel a kapilláris edényekkel való kapcsolódásukat gátolja, míg az epiteliális sejtekből az IL-8 szekréción gátolja és a neutrofilekből pedig az IL-8 és az LTB₄ szekréción gátolja. Diffúz panbrochiolitiszben jótékony hatásai szintén a szuperoxid termelés csökkentésének, valamint a tüdőben a proteolitikus enzim szintek csökkentésének köszönhetőek.

Az azitromicinről kimutatták, hogy a tüdőfunkción jelentősen javítja, de ennek mechanizmusa még ismeretlen [Jaffe és mtsai: *Lancet*, 351, 420 (1998)], míg a roxitromicinről megállapították, hogy a nazális polip fibroblasztok növekedését szuppresszálja [Nonaka és mtsai: *Am. J. Rhinol.*, 23, 267-272 (1999); Yamada és mtsai: *Am. J. Rhinol.*, 14, 143-148 (2000)].

A szakirodalomban nem tettek közzé kielégítő bizonyítékot arról, hogy a 14-tagú makrolid gyűrűs makrolid antibiotikumok, mint például az eritromicin, a klaritromicin és a roxitromicin *in vitro* az IL-8 termelést és a neutrofil kemotaxis gátolják, és az *in vitro* bizonyítékok is csak arra vonatkoznak, hogy a 15-tagú makrolidok, mint például azitromicinre, hasonló gyulladáscsökkentő hatást fejtenek ki [Criqui és mtsai: *Eur. Respir. J.*, 15, 856-862 (2000)].

A 4,886,792 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentésben 15-tagú makrolidok gátló hatását írták le a neutrofil degranulációjára, de ezekről az azitromicin cukor szubsztituensei hiányoztak. Beszámoltak arról, hogy az azitromicin humán neutrofilekben *in vitro* az apoptózist indukálja, de az



oxidatív anyagcserére vagy az IL-8 termelésre nincs hatással [Koch és mtsai: J. Antimicrob. Chemother., 46, 19-26 (2000)]. Csak egy tanulmányban számoltak be arról, hogy az azitromicin a neutrofil kemotaxist és az akut oxigénképzést *in vitro* gátolja [Sugihara: Kansenshogaku Zasshi J. Jpn. Assoc. Infec. Dis., 71, 329-336 (1997)]. Tehát az azitromicinről ismert, hogy az alveoláris makrofágok vagy vér TNF α , IL-1 β , vagy IL-6 szintjeit nem változtatja meg [Aubert és mtsai: Pul. Pharmacol. Ther., 11, 263-269 (1998)].

Annak lehetősége, hogy a 15 tagú gyűrűs azitromicinből a gyulladásgátló aktivitást hordozó szükséges struktúra hiányzik, a 14-tagú makrolidokkal szemben, arra utal, és annak lehetőségét fokozza, hogy a 16-tagú makrolidok, mint például josamicin, az IL-8 termelést nem csökkentik [Takizawa és mtsai: Am. J. Resp. Crit. Care Med., 156, 266-271(1997); Criqui és mtsai: Eur. Respir. J., 15, 856-862(2000)].

A 14-tagú makrolidok, összevetésben a 15-tagú makrolid antibiotikumokkal, számos előnnyel rendelkeznek. Például az eritromicin, melynek struktúráját a 14-tagú aglükon gyűrű jellemzi, savas közegben könnyen átalakul anhidroeritromicinné, mely egy C-6/C-12 spiroketális struktúrájú inaktív anyagcsere-termék [Kurath és mtsai: Experienta, 27, 362(1971)]. Szemben szülői antibiotikumával (eritromicin) az azitromicin savas közegben javított stabilitást mutat. Továbbá az azitromicin a szövetekben jelentősen magasabb koncentrációban fordul elő. A gram-negatív mikroorganizmusokkal szemben megmutatkozó javított *in vitro* aktivitásának következtében egynapos dózisának vizsgálata is felmerült [Ratshema és mtsai: Antimicrob. Agents Chemother., 31, 1939(1987)].



Így a jelen találmány előtt álló technikai probléma olyan javított eszközök biztosítása, különösen a nem fertőző neutrofil túlsúlyú gyulladáshoz kapcsolódó betegségek terápiájában alkalmazható eszközök esetében, melyekben az aktív alkotórész a 14-tagú lakton gyűrűvel rendelkező makrolid vegyületek előnyös gyulladásgátló aktivitásait juttatja érvényre, valamint a 15-tagú makrolid gyűrűk javított stabilitását és magas szöveti koncentrációját teszi lehetővé.

A jelen találmány a fenti problémákat aktív alkotórész használatával oldja meg, melyeket a következők közül választunk ki: az azitromicin, gyógyszerészetileg elfogadható származéka, gyógyszerészetileg elfogadható hidrátja, gyógyszerészetileg elfogadható komplexe vagy kelátja és gyógyszerészetileg elfogadható sója, melyből az emberek vagy az állatok nem fertőző neutrofil túlsúlyú gyulladáshoz kapcsolódó betegségeinek kezeléséhez gyógyszerészeti összetétel gyártását biztosítja.

A szakirodalomban leírtakkal szemben, melyekben az azitromicin hatásai a neutrofilek *in vitro* funkcióira korlátozódik, meglepetésünkre azt találtuk, hogy a jelen találmány szerinti azitromicin *in vivo* beadása emberbe széles hatásspektrumú gyulladásgátló hatást eredményez, és ez a neutrofil beszűrődéssel és a neutrofil szöveti károsodással jellemzett gyulladáshoz kapcsolódó betegségek terápiájában igen hasznos.

Az egészséges önkénteseken végzett vizsgálatokban azitromicin kezelés során a gyulladásra jellemző kiválasztott paramétereket követtük nyomon. Így azt találtuk, hogy az azitromicin beadása a humán neutrofilek degranulációját stimulálja, amit az elsődleges azurofil granulum enzimek koncentrációjának erőteljes megváltozása mutat, mint például a következő enzimek esetében:



mieloperoxidáz (MPO), N-acetil- β -D-glükózaminidáz (NAGA) és β -glükuronidáz.

A granulocitákban az MPO aktivitás biológiai jelentősége erős, oxigénfüggő anitimikrobiális aktivitásában rejlik, mely a gyulladásos folyamatok gyulladásos granulocitáiban az összes szemcse mobilizálásával jár, különösen az immunkomplex okozta fagocita stimulus után. Azitromicin alkalmazása után a vérben az MPO aktivitások erőteljesen csökkennek, és csak 28 nap után térnek vissza az alapszintre. Azt találtuk, hogy alacsonyabb MPO neutrofil sűrűségnél a citokémiaileg meghatározott degranuláció a neutrofil lizátumokban alacsonyabb MPO ELISA koncentrációkkal társult.

Az N-acetil- β -D-glükózaminidáz (NAGA) és a glükuronidáz lizoszómális enzimek, mindkettő (elsődleges vagy peroxidáz pozitív) a neutrofilek azurofil granulumaiban helyezkedik el. Mivel gyulladás alatt neutrofil degranuláció megy végbe, ezért mindkét enzim degranulációs markerként alkalmazható, és ezzel a neutrofilek aktivitásának becslésére használhatók. Az azitromicinnel végzett kísérletek azt mutatatták, hogy azitromicin alkalmazása után a NAGA aktivitás a szérumban figyelemre méltó módon megnőtt. Még az azitromicin utolsó dózisa után 28 nappal is a NAGA szérum értékek a kiindulási értéknél még 70 %-kal magasabbak voltak. A szérumban a NAGA növekedése a PMN-ben az enzim aktivitásának csökkenésével járt. A szérumban a glükuronidáz aktivitása az utolsó azitromicin dózis utáni első napokban semmilyen változást nem mutatott, de utána megnőtt. Az utolsó azitromicin dózis után 28 nappal a β -glükuronidáz aktivitása a kezdetinél 40 %-kal magasabb volt. A PMN-ben a β -glükuronidáz aktivitása az utolsó azitromicin dózis utáni néhány órán belül



csökkent, de később nőtt. Az utolsó azitromicin dózis után 28 nappal a β -glükuronidáz a PMN-ben sokkal magasabb mint kezdetben.

Továbbá a jelen találmány azt mutatja, hogy a stimulált neutrofilekből származó szabad gyökök képződését az azitromicin gátolja, ahogy azt a stimulált neutrofileknél kemilumineszcenciával meghatároztuk. Az azitromicin a neutrofil oxidatív burst-öt szintén gátolja, amit citokróm c vizsgálati rendszerrel mutattunk ki. A vizsgálatok azt is felfedték, hogy az azitromicin a celluláris glutation peroxidáz (GSHPx) és a glutation reduktáz koncentrációkra hosszúidejű hatást fejt ki, ez az a két enzim, mely nagyszámú betegség patogenezisében a szabadgyökök biológiai hatásainak szabályozásában szerepet játszik. A szabadgyök termelés és a redox-helyzetben bekövetkező változások számos gyulladási molekula kifejezését módosíthatja, befolyásolva bizonyos, gyulladási folyamatokhoz vezető, celluláris folyamatokat. Így az azitromicin számos betegség, mint például COPD, kezeléséhez biztosít alapot, melyben a neutrofil szabadgyök termelése igen kifejezett.

A vizsgálatok azt is megerősítették, hogy az azitromicin bizonyos sejttípusok apoptózisát indukálja, azaz a programozott sejthalálát. Az apoptózis az immunválasz befejezési mechanizmusában igen fontos tényező. Három napig végzett azitromicin kezelés a granulocitákon késleltetett pro-apoptotikus hatást fejt ki, ahogy azt a vérkenetek morfológiai vizsgálata során megállapíthattuk. Az azitromicin utolsó dózisa után az apoptotikus sejtek száma maximális értéket vett fel, ami arra utal, hogy az aktív, potenciálisan károsító neutrofilek száma csökkent.



A vizsgálatokban az azitromicin más gyulladásgátló hatásait is megfigyeltük. Ezzel szemben az előző vizsgálatokban [Koch és mtsai: *J. Antimicrob. Chemother.*, 46, 19-26 (2000)] azt találták, hogy az azitromicin az IL-8 és a GRO- α kibocsátását jelentősen gátolja. Az interleukin-8 (IL-8) a kemokinek neutrofil specifikus CXC alcsaládjának tagja. Potenciális neutrofil kemotaktikus és aktiváló faktor [Oppenheim: *Ann. Rev. Immunol.*, 9, 617 (1999)]. Az IL-8 a gyulladási stimulus hatására fejeződik ki. Az IL-8 késlelteti a humán neutrofilek spontán és TNF- α -val közvetített apoptózisát. Ezzel szemben az IL-8-on keresztül az azitromicin fokozatosan növeli a IL-1 citokin szérumszintjét, így a legmagasabb IL-1 koncentrációt az utolsó azitromicin dózis után 24 órával tapasztaltuk. Viszont más citokinek (IL-6) szérumszintje folyamatosan csökkent.

Ezzel szemben a korábbi beszámolóinkban azt jelezték, hogy az azitromicin kezelés az oldható VCAM plazmaszinteket szignifikánsan nem befolyásolja [Semaan és mtsai: *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 36, 533-537 (2000)], míg a jelen találmány szerint végrehajtott kísérletekben a VCAM plazmaszintje már 24 órával az utolsó azitromicin kezelés után kifejezetten csökkent.

A jelen találmányban kapott eredmények azt mutatják, hogy az egészséges humán szubjektumok három napos kezelése, az azitromicin standard antibakteriális dózisaival, a neutrofil granuláris enzimekre, az oxidatív burst-re, az oxidatív védelmi mechanizmusokra és a neutrofil kemokinekre és a keringő IL-1-re, IL-6-ra, IL-8-ra akut hatást fejt ki, valamint a neutrofilek apoptózisának késleltetésére és az oldható adhéziós molekulákra hat.



Ennek megfelelően a jelen találmányban az azitromicin értékes megelőző és/vagy terápiás szerként használható a neutrofil túlsúlyú nem fertőző gyulladásos betegségekből.

A következő meghatározásokat bemutató és meghatározó jelleggel tettük közzé a jelen találmány oltalmi körében előforduló különböző szakkifejezéseinek értelmezéséhez.

A "neutrofil túlsúlyú nem fertőző gyulladásos betegség" szakkifejezés azokra a gyulladásos betegségekre, kórokra vagy állapotokra vonatkoznak, melyek szöveti károsodás, az immunfolyamatok kémiai megszüntetése eredményeként alakulnak ki, de amelyek nem a mikroorganizmusok, mint például vírusok, baktériumok, gombák, protozoák vagy hasonlók, inváziójának eredményei, és amelyeket a neutrofilek beszűrődése által gyulladt szövet jellemez, melyek az első olyan gyulladásos sejtek, melyek a szövetekbe lépnek és a gyulladásos választ felerősítik. Néhány nem fertőző gyulladásos betegség neutrofil granulocitái a gyulladt terület elsődleges sejtípusa marad, mivel a neutrofil beszűrődési és aktiválási stimulus folyamatosan fennmarad. Így a példák közé tartozik: a krónikus elzáródású pulmonáris betegség (COPD), a felnőttkori légzési rendellenesség szindróma (ARDS) és a neutrofil dermatózisok. A további neutrofil túlsúlyú nem fertőző gyulladásos betegség példái közé tartoznak, melyek krónikus jellegét és patológiáját a háttér stimulusok jelentik, a nem neutrofil függő betegségeket.

Például az autoimmun betegségeket főleg olyan immunválaszok kifejlődésének tulajdoníthatók, melyek a test normális strukturális elemei ellen alakulnak ki, és a T limfociták aktiválását foglalják magukba, a lehetséges B sejtek által termelt ellenanyag termelésével együtt. Az ízületi gyulladásban (RA) például



az immunválasz közvetlenül az ízületek strukturális komponensei ellen irányulnak. Viszont az RA-ban és más autoimmun betegségben akut fellángolások jelennek meg, melyeket intenzív neutrofil beszűrődés és aktiválás jellemez. A krónikus autoimmun gyulladások ezen aktív fázisaira a neutrofil túlsúly jellemző, például az RA betegek szinoviális folyadékában a neutrofilek kifejezett felhalmozódása. Néhány autoimmun betegségben az ellenanyagtermelés kifejezett, ami az antigén-ellenanyag immunkomplexek szöveti lerakódásához, valamint a komplementrendszer aktiválásához vezet. A szövetekbe belépő neutrofilek megkísérlik az immunkomplexek bekebelezését, és a neutrofilek beszűrődése és aktiválása az aktivált komplement faktorokkal súlyosbított. Az ilyen típusú betegségek egyik példája a vese-betegség, különösen a glomerulonefritisz, mely a vese kifejezett károsodásához vezet.

Így a "neutrofil túlsúlyú nem fertőző gyulladásos betegség" szakkifejezés, anélkül, hogy erre korlátoznánk magunkat, a következőkre vonatkoznak: krónikus elzáródású pulmonáris betegség (COPD), a felnőttkori légzési rendellenesség szindróma (ARDS), hörghurut, hörgőtágulat, emfizéma, cisztás fibrózis, gyulladásos bélbetegség, köszvényes ízületi gyulladás, az akut neutrofil túlsúlyt mutató fázissal jellemzett autoimmun betegségek, mint például ízületi gyulladás, autoimmun betegség, melyben a neutrofilek beszűrődése a komplement faktorokkal súlyosbított, mint például glomerulonefritisz, és bőrbetegségek, melyekben a neutrofil dermatózisok összes fajtája előfordulhat, beleértve a pikkelysömör jellegű dermatózisokat, mint például a pikkelysömört és a Reiter-féle szindrómát, autoimmun bullous dermatózis, a véredény alapú dermatózisok, mint például leuko-

citoklasztikus vaszkulitisz, Sweet-féle szindróma, gennyhólyagos vaszkulitisz, erythema nodosum és családi mediterrán láz, és a pioderma gangrenozum.

A "neutrofil túlsúlyú nem fertőző gyulladáshoz kapcsolódó betegség" szakkifejezés, az összes társuló betegséget, kórt vagy állapotot is felöleli, melyek a neutrofil túlsúlyú nem fertőző gyulladáshoz kapcsolódó betegségben előfordulnak, és amelyeknél a megtámadott szövetek, szervek vagy testrészek mások, mint magánál a gyulladáshoz kapcsolódó betegségnél. Erre példák az extraintesztinális betegségek, mint például az uveitis és a krónikus hepatitis, amelyek a gyulladáshoz kapcsolódó bélbetegség eredményeként alakulhatnak ki.

Az "aktív alkotórész" vagy "aktív szer" szakkifejezés azokra az anyagokra vonatkozik, melyek a biológiai sejteket vagy azok részeit befolyásolják, vagy felismerik, különösen a sejtstruktúrákban vagy a celluláris komponensekben. Az ilyen aktív alkotórészek vagy szerek kémiai természetűek. Elsődlegesen az ilyen aktív alkotórészek vagy szerek diagnosztikumok, vagy terápiás szerek. A jelen találmány szövegében az "aktív alkotórészek" vagy "aktív szerek" szakkifejezések részletesebben a terápiás szerekre vonatkoznak, azaz azokra az anyagokra, melyek megelőző intézkedésként vagy a betegség, kór vagy állapot lefolyása alatt az ilyen kezelésre rászoruló szervezetbe beadhatók, a betegség, kór vagy állapot csökkentésére vagy megszüntetésére, különösen a neutrofil túlsúlyú nem fertőző gyulladáshoz kapcsolódó betegségben.

Ahogy azt itt használjuk a "kezelés" szakkifejezés a gyógyszer vagy az orvosság megelőző és/vagy a terápiás hatására vonatkozik, amit viszont a gyógyszerészeti összetétel határoz meg, amely a gyógyszerészetileg vagy diagnosztikailag hatásos vegyüle-



tet legalább egy adalékanyaggal, mint például hordozóval, kombinációban tartalmazza.

Az "azitromicin" szakkifejezés a következő képletű vegyületre vonatkozik: N-metil-11-aza-10-dezoxo-10-dihidroeritromicin A (9-dezoxo-9-dihidro-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicin A), mely 15-tagú azalaktan gyűrűt tartalmaz, amit az eritromicin A-oxim Beckmann reagensével kaphatunk Eschweiler-Clarke redukív N-metilezést követően, ahogy azt a szakirodalomban leírták [4,517,359 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentés; 4,328,334 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentés; és BE 892,357 számú szabadalmi bejelentés], bár ezeket a bejelentéseket az azitromicin termelésével kapcsolatban hivatkozásként építettük be a jelen találmányba.

A "gyógyszerészetileg elfogadható származéka" szakkifejezés a nem toxikus, funkcionálisan egyenértékű azitromicin anyagokra vagy származékokra vonatkozik, melyet az azitromicin atomjainak vagy a molekuláris csoportjainak vagy kötéseinek helyettesítésével nyerhetünk, miközben az azitromicin alapvető struktúrája nem változik meg, és mely az azitromicin struktúrájától legalább egy helyzetben eltérést mutat. A "gyógyszerészetileg elfogadható származékok" közé például az azitromicin O-metil származékai tartoznak, melyeket lényegében a szakirodalomban leírtaknak megfelelően kaphatunk [5,250,518 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentés] bár ezt a bejelentést az azitromicin O-metil származékának termelésével kapcsolatban hivatkozásként építettük be a jelen találmányba.



A "gyógyszerészetileg elfogadható származék" szakkifejezés az azitromicin észtereit is felöleli, melyek hidrolízis során az azitromicin biológiai hatékonyságát és az azitromicin tulajdonságait megtartják, és biológiai vagy más módon nem károsítanak. A gyógyszerészetileg elfogadható észterek előállítási technikáit a szakirodalomban leírták [March: Advanced Organic Chemistry, 3. kiadás, John Wiley & Sons, New York 1152 (1985)]. Az elődrogként hasznos gyógyszerészetileg elfogadható észtereket a szakirodalomban közzétették [Bundgaard: Design of Prodrugs, Elsevier Science Publishers, Amsterdam(1985)].

A "gyógyszerészetileg elfogadható hidrátja" szakkifejezés az azitromicin nem toxikus szilárd vagy folyékony vegyületeire vonatkozik, melyek az azitromicin biológiai aktivitásait megtartják, és a hidratálási folyamat során a dipolerök következtében egy vagy több vízmolekula az azitromicinnel társul. A szakkifejezés az azitromicin monohidrátját is felöleli.

A "gyógyszerészetileg elfogadható sói" szakkifejezés a következő nem toxikus sókra vonatkozik: alkáli fémsók, alkáli földfém-sók és ammóniumsók, melyeket általánosságban használnak, mint például ammónium, bárium, kalcium, lítium, magnézium, kálium, protamin cinksók és nátrium, melyek előállítása a szakirodalomban jól ismert. A szakkifejezés a nem toxikus jelzöt is hordozza, azaz a gyógyszerészetileg elfogadható addíciós sókat, melyeket általában az azitromicin és a megfelelő szerves vagy szervetlen sav reagáltatásával állítanak elő, ezek például a következők: acetát, benzoát, biszulfát, borát, citrát, fumarát, hidrobromid, hidroklorid, laktát, laurát, maleát, napszilát, oleát, oxalát, foszfát, szukcinát, szulfát, tartrát, tozilát, valerát, stb.



A "gyógyszerészetileg elfogadható addíciós só" szakkifejezés azokra a sókra vonatkozik, melyek a szabad bázis biológiai hatékonyságát és tulajdonságait megtartják, és amelyek nem biológiailag vagy más módon kívánatosak, amelyek szerves savakkal állíthatók elő, mint amilyen például a hidrogénbromid, sósav, salétromsav, foszforsav, kénsav, valamint szerves savakkal képezhetők mint amilyen például az ecetsav, benzoésav, fahéjsav, citromsav, etánszulfonsav, fumársav, glikolsav, maleinsav, almasav, malonsav, mandelinsav, metánszulfonsav, oxálsav, propionsav, p-toluol-szulfonsav, piroszőlősav, szalicilsav, borostyánkősav, borkősav, stb.

A jelen találmány szerinti sók az azitromicin vizes vagy vizes/alkoholos oldatában oldva megkaphatók, vagy más megfelelő oldószerben, megfelelő bázissal, és ezek után a jelen találmány sóját az oldat bepárlásával, fagyasztásával és liofilezésével kaphatjuk meg, vagy más oldószer, mint például dietiléter, adásával, mindezt az azitromicin vizes és/vagy alkoholos oldatán végezve, mely az oldhatatlan nyers só elkülönítését is magában foglalja. Az alkáli azitromicin sók előállításához előnyösen alkáli földfém karbonátokat vagy hidrokarbonátokat használunk. Az előállított sók vízben szabadon oldhatók.

A "gyógyszerészetileg elfogadható komplexe vagy kelátja" szakkifejezés az azitromicin kétértékű és/vagy háromértékű fémekkel képzett nem toxikus komplexeire és kelátjaira vonatkozik, ahogy azokat a szakirodalomban lényegében leírták [5,498,699 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentés], bár ezt a bejelentést az azitromicin komplexeinek és kelátjainak termelésével kapcsolatban hivatkozásként építettük be a jelen találmányba. A komplex- és kelátképző fémek a II. és



III. csoportba tartozó fiziológiásan tolerálható vegyületek, így előnyösen a következők használhatók: Mg^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Rh^{3+} , La^{3+} és Bi^{3+} . Előnyösen az azitromicin/fém arány 1:1-től 1:4-ig terjed. Az azitromicin komplexeinek és kelátjainak nyeréséhez a szabad bázist vagy sót, különösen a hidrokloridot a kétértékű vagy háromértékű fém sójával 2:1 arányban környezeti hőmérsékleten, vizes oldatban vagy víz/alkohol elegyében, pH = 8,0-11 között reagáltatjuk, ezek fém hidroxidjával és/vagy karbonátjával, szubsalicilátjával vagy géljével. Az előnyben részesített példák közé tartoznak: az azitromicin antacid kelátok, ahol a sókat a következők csoportból választjuk ki: Al, Mg és Bi sók; az azitromicin szukralfát kelátok, és az azitromicin bizmut-szubsalicilát kelátok, melyek gél formában fordulnak elő.

A "gyógyszerészetileg vagy terápiásan elfogadható hordozó" szakkifejezés azokra a hordozó közegekre vonatkozik, melyek az aktív alkotórészek biológiai aktivitásának hatékonyságát nem befolyásolják, és amelyek a gazdára vagy betegre nem toxikusak.

Az aktív alkotórészeket a következő azitromicinnek közül választjuk ki: azitromicin, gyógyszerészetileg elfogadható származékaik, gyógyszerészetileg elfogadható hidrátjai, gyógyszerészetileg elfogadható komplexei vagy kelátjai, és gyógyszerészetileg elfogadható sói, melyek az állatokba, beleértve az emlősöket, mint például rágcsálókat, főemlősöket, ide értve az embert is, beadhatók, a nem fertőző neutrofil túlsúlyú gyulladási betegségek megakadályozására, csökkentésére vagy megszüntetésére. Így a jelen találmány az ilyen betegségek vagy kórok terápiás kezeléséhez eljárásokat ölel fel, mely a jelen találmány szerinti aktív alkotórész beadását olyan mennyiségben tartalmazza, ami az azitromicin kívánt *in vivo* hatásának eléréséhez kielégítő.



Például a jelen találmány szerinti aktív szer vagy alkotórész terápiásan vagy gyógyszerészetileg hatásos mennyiségben beadható a nem fertőző gyulladáshoz kapcsolódó betegségek kezelésére, beleértve, anélkül, hogy erre korlátoznánk magunkat, a COPD-t, az ARDS-t és a neutrofil dermatózisokat.

A "terápiásan vagy gyógyszerészetileg hatásos mennyiség" az azitromicin, vagy a jelen találmány szerinti azitromicint tartalmazó vegyületek és összetételek esetében arra a mennyiségre vonatkozik, mely a kívánt biológiai eredmény indukálásához kielégítő. Ez az eredmény a betegség jeleinek, szimptomáinak vagy okainak csillapítását jelentheti, vagy a biológiai rendszer bármely más kívánt változását. A jelen találmányban az eredmény például az előnyben részesített megvalósítási formában a nem fertőző neutrofil túlsúlyú gyulladáshoz kapcsolódó betegségekben a szimptomák vagy okok megelőzését, megszüntetését és/vagy csökkentését jelenti a következő tényezőkön keresztül: neutrofil granulomok, oxidatív burst, oxidatív védőmechanizmusok, és neutrofil kemokinek, és keringésben lévő anyagok, mint például IL-1, IL-6, IL-8, valamint a neutrofilek apoptózisának késleltetése, és az adhéziós molekulák. Az előnyben részesített megvalósítási formában a jelen találmány szerinti aktív alkotórészt megelőzésre a nem fertőző neutrofil túlsúlyú gyulladáshoz kapcsolódó betegségek kitörése előtt alkalmazzuk.

Ennek megfelelően a jelen találmány gyógyszerészeti összetételeket is felölel, melyek aktív alkotórészként azitromicint, annak gyógyszerészetileg elfogadható származékát, gyógyszerészetileg elfogadható hidrátját, gyógyszerészetileg elfogadható komplexét vagy kelátját, és gyógyszerészetileg elfogadható sóját a gyógyszerészeti hordozóval vagy hígítóval társultan tartalmazzák. A jelen találmány szerinti összetételek szisztémásan vagy helyileg



beadhatók, különösen orálisan, pulmonáris an, parenterálisan, például intramuszkulárisan, intraperitoneálisan, intravénásan (iv.) vagy szubkután injekcióként vagy inhalációval, például finom por kiszerezésként, transzdermálisan, nazálisan, vaginálisan, rektálisan, vagy nyelv alá, és ennek megfelelő dózisokban kiszerezhetők. Az aktív szert vagy alkotórészt előnyösen gyógyszerészetiileg hatásos mennyiségben adjuk be.

Orális beadáshoz a szilárd dózisformák közé a következők tartoznak: kapszulák, linguaettek, tabletták, pirulák, porok, liposzómák, tapaszok, időben késleltető védőrétegű kiszerezések, és szemcsék. Az ilyen szilárd dózisformákban az aktív vegyület legalább egy inert, gyógyszerészetiileg elfogadható hordozóval, mint például laktóz, szacharóz vagy keményítő, összekeverjük. Az ilyen dózisformák az inert hígítókon kívül más anyagokat is tartalmazhatnak, mint például síkosítókat, így magnézium-sztearátot. Kapszulák, tabletták és pirulák esetében a dózisforma tömeget biztosító és/vagy pufferelő szereket is, valamint ízesítő anyagokat is tartalmazhat. A tabletták és pirulák a fentieken kívül enterikus bevonattal is készülhetnek.

Orális beadáshoz a folyékony dózisformák közé a következők tartoznak: gyógyszerészetiileg elfogadható emulziók, oldatok, szuszpenziók, szirupok, elixírek, melyeket a szakirodalomban általában inert hígítókkal használnak, mint például vízzel. Az ilyen inert hígítók mellett az összetételek adjuvánsokat is tartalmazhatnak, mint például különböző ozmotikus nyomások biztosításához sókat, pH-t szabályozó szereket, bőrbe behatolást elősegítő szereket, nedvesítő szereket, emulgeáló és szuszpendáló szereket, és édesítőket, ízesítőket, valamint parfümanyagokat.



A jelen találmány szerinti gyógyszerészeti összetételek parenterális beadáshoz steril vizes vagy nem vizes oldatokat, szuszpenziókat vagy emulziókat tartalmaznak. A nem vizes oldószeres vagy hordozók példái a propilén-glikol, a polietilén-glikol, a növényi olajok, mint például olíva és gabona olaj, zselatin, és injektálható szerves észterek, mint például etil-oleát. Az ilyen dózisformák adjuvánsokat is tartalmazhatnak, mint például konzerváló, nedvesítő, emulgeáló és diszpergáló szereket. Ezeket például szűréssel sterilizálhatjuk a baktériumokat visszatartó szűrővel, vagy az összetételbe sterilizáló szert építünk be, vagy az összetételeket besugározzuk, vagy az összetételeket hőhatásnak tesszük ki. Gyártásuk folyamán steril vizet vagy más steril injektálható közeget biztosíthatunk, melyet közvetlenül felhasználásuk előtt alkalmazunk.

Az injekció készületek fiziológiásan elfogadható közeget tartalmaznak, mint például vizet, sóoldatot, PBS-t, vizes etanolt, vizes etilén-glikolokat és hasonlókat. Az alkalmazható vízben oldódó konzerváló szer lehet például a nátrium-biszulfit, a nátrium-tioszulfát, az aszkorbát, a benzalkónium-klorid, a klórbutanol, a timerozal, a fenil higanyboroát, a parabének, a benzil-alkohol és a feniletanol. Ezek a szerek egyedi mennyiségekben körülbelül 0,001-5 tömeg%-ban lehetnek jelen, előnyösen körülbelül 0,01-2 tömeg%-ban. A megfelelő, vízben oldódó pufferelő szerek, melyek ebben az esetben alkalmazhatók, a következők: alkáli vagy alkáli földfém karbonátok, foszfátok, bikarbonátok, citrátok, borátok, acetátok, szukcinátok és hasonlóak, mint például nátrium-foszfát, -citrát, -borát, -acetát, -bikarbonát és -karbonát. Az adalékanyagok, mint például a karboxi-metilcellulóz, hordozóként körülbelül 0,01-5 tömeg%



mennyiségben használhatók. A kiszírelés a kiszírelés céljától, a kezeléshez alkalmazott adott módtól, a szándékolt kezeléstől stb. függően változik.

A rektális vagy vaginális beadáshoz az összetételek előnyösen kúpok, melyek az aktív anyagon kívül kötőanyagot tartalmazhatnak, mint például kakaóvaját vagy kúpviaszt. A nazális vagy nyelv alá történő beadáshoz az összetételeket szintén a standard kötőanyagokkal együtt szereljük ki, melyek a szakirodalomban ismertek.

A jelen találmány szerinti aktív szert vagy alkotórészt tartalmazó összetételek megelőző és/vagy terápiás kezeléseknél adhatók be. A terápiás alkalmazásokban az összetételeket azoknak a személyeknek adjuk be, akik már a betegségben szenvednek, ahogy azt a fentiekben leírtuk, olyan mennyiségben, ami a betegség szimptomáit és a komplikációkat gyógyítja vagy legalább részlegesen tompítja, azaz terápiásan hatásos mennyiségben.

A megelőző jellegű alkalmazásokban a jelen találmány szerinti aktív szert vagy alkotórészt tartalmazó összetételeket az arra érzékeny betegbe vagy a betegség kockázatát mutató betegbe adjuk be. Az ilyen mennyiségeket "profilaktikusan hatásos dózissá" nevezzük. Ebben az esetben a pontos mennyiség szintén a beteg állapotától és tömegétől függ.

A jelen találmány gyógyszerészeti összetételeit depo formában is beadhatjuk, például lassú kibocsátású összetételként. Az ilyen lassú kibocsátású összetétel mátrixában, melyet például kollagénből készítenek, az aktív szert vagy alkotórészt tartalmazhatja.

Az aktív szer vagy alkotórész hatásos terápiához szükséges mennyiségei számos tényezőtől függenek, mint például a beadás



eszközétől, célhelyétől, a beteg fiziológiás állapotától, és az egyéb alkalmazott gyógyszerek milyenségétől.

A jelen találmány aktív szerét vagy alkotórészét a következők közül választjuk ki: azitromicin, gyógyszerészetileg elfogadható származéka, gyógyszerészetileg elfogadható hidrátja, gyógyszerészetileg elfogadható komplexe vagy kelátja és gyógyszerészetileg elfogadható sója, melyek a nem fertőző neutrofil túlsúlyú gyulladáshoz kapcsolódó betegségek kezelésében hatásosak, amikor naponta körülbelül 10 mg és körülbelül 2000 mg tartományban adjuk be, különösen körülbelül 30-1500 mg mennyiségben. Az alkalmazott specifikus dózist az adott, kezelendő állapot, a beadás útja, valamint az orvos ítélete szabja meg, mely az állapot súlyosságától és a beteg korától és általános állapotától függ.

A jelen találmány szerinti aktív szer vagy alkotórész magában, vagy más gyógyszerrel együtt adható be a nem fertőző neutrofil túlsúlyú gyulladáshoz kapcsolódó betegségek kezeléséhez, mint amilyenek például nem szteroid gyulladásgátlók, mint például metil-xantin nem szteroid gyulladásgátlók, szteroid gyulladásgátlók, immunmódosító szerek, immunoszuppresszív szerek, hörgőtágítók, reuma elleni szerek, kortikoszteroidok, β 2-agonisták, kolinerg antagonisták és hasonlóak, melynél az utóbbi dózisa 50 %-kal vagy 25 %-kal csökkenthető a jelen találmány szerinti aktív alkotórész gyulladásgátló hatása miatt.

A jelen találmány összetétele, különösen vízben oldható összetétele a fentiekén kívül vízben oldható fehérjét tartalmazhat, mely a testfolyadékokba anélkül injektálható, hogy bármely alapvető gyógyszerészeti hatást mutatna az alkalmazott koncentrációban a jelen találmány szerinti dózisformánál (ezért "vízben oldható fehérje"). Az ilyen vízben oldható fehérjék



előnyösen a következők: szérumalbumin, globulin, kollagén és/vagy zselatin. Ez a fehérje az injektálható gyógyszerészeti összetételben alkalmazott mennyiségben adható. Így például a vízben oldódó fehérje és a jelen találmány szerinti aktív alkotórész tömegaránya körülbelül 0,0001:1- 100:1, előnyösen körülbelül 0,001:1-10:1, vagy még előnyösebben körülbelül 0,01:1-1:1.

Folytatva, a jelen találmány a fentiekben említett aktív szerekre vagy alkotórészekre, valamint az ezeket tartalmazó összetételekre is vonatkozik, különösen szárított és/vagy tiszta formában, vagy vizes vagy vizes/alkoholos oldatban. A jelen találmány szerinti vízben oldható összetétel vagy aktív szer oldatának pH-ja olyan, hogy a szóban forgó pH a gyógyszerészetileg aktív peptidre károsan nem hat, de általában az injekciók elfogadott tartományán belül van, és a szóban forgó pH sem az oldat viszkozitásában, sem annak kicsapódásában nem okoz nagy változást. Így az oldat pH-ja előnyösen körülbelül 4-7-ig terjed, előnyösebben 5-6, és még előnyösebben 5,3-5,5 értékű.

Ha a beadáshoz a jelen találmány szerinti, vízben oldható összetételt vizes oldattá alakítjuk beadáshoz, akkor a gyógyszerészetileg aktív szer vagy alkotórész, vagy sója, koncentrációjának a szóban forgó oldatban előnyösen körülbelül 0,0000001-10,0 vegyes%-nak, előnyösebben 0,000001-5 vegyes%-nak, legelőnyösebben 0,00001-1 vegyes%-nak kell lennie.

A jelen találmány összetétele előnyösen egységdózis formából áll, mely a jelen találmány szerinti gyógyszerészetileg aktív szert vagy alkotórészt tartalmazza, és ha szükséges, akkor további adalékanyagokat, mint például a fentiekben említett vízben oldódó fehérjéket foglal magában. Így például a fentiekben említett

két vagy három komponenst ampullában vagy fiolában oldott vagy szuszpendált állapotban készítik el steril vízzel vagy fiziológiás sóoldattal. Ebben az esetben az előállítási eljárás a gyógyszerészetileg aktív szer vagy alkotórész összekeverését tartalmazhatja, és továbbá, ha szükséges, akkor az adalékanyag oldatát vagy por formáját hozzáadjuk a gyógyszerészetileg aktív szer vagy alkotórész oldatához, vagy bármely adekvát folyamat elképzelhető. A dózisforma a steril víz vagy a steril fiziológiás sóoldat liofilizátumhoz, vagy vákuumban szárított sóoldathoz, történő hozzáadásával is elkészíthető, melyben a gyógyszerészeti aktív szer, és ha szükséges, akkor az adalékanyag egyaránt előfordul. Ez az egységdózis forma egy vagy több hagyományos adalékanyagot tartalmazhat, mint például pH beállító szereket (például glicin, sósav, nátrium-hidroxid), helyi érzéstelenítőket (például xylocaine hidroklorid, klórbutanol), izotónizáló szereket (például nátrium-klorid, mannit, szorbit), emulgeálókat, adszorpciót gátló anyagokat (például Tween® 60 vagy 80), talkumot, keményítőt, laktózt és tragacanthot, magnézium-sztearátot, glicerint, propilén-glikolt, konzerválószeret, benzilalkoholt, metilhidroxi-benzoátot és/vagy oleum-arachid-hidrogént. Ez az egységdózis forma a fentiekben kívül gyógyszerészetileg elfogadható hordozókat tartalmazhat, mint például poli(etilén-glikol) 400-at vagy dextransot.

A jelen találmány összetétele ezen alkotórészek összekeverésével készíthető el, hagyományos eljárást alkalmazva. Az összekeverés célja, hogy a jelen találmány szerinti alkotórészek gyógyszerészeti aktivitása fennmaradjon, és a folyamat során a buborékképzés minimális legyen. Az alkotórészeket edénybe helyezük, (például üveg vagy dob) akár



egyszerre, akár bármilyen sorrendben. Az edényben az atmoszféra például steril tiszta levegő vagy steril nitrogén gáz lehet. Az eredményül kapott oldatot kis fiolákba helyezhetjük, és további liofilezésnek vetjük alá.

A jelen találmány szerinti összetétel folyékony vagy liofilezett por formája biológiailag lebomló oldatban feloldható vagy diszpergálható, mint amilyen például a politejsav-glikolsav kopolimer, polihidroxivajsav, polihidroxivajsav-glikolsav kopolimer, vagy ezek keverékei, és ezek után kiszerezhetők, például filmként, mikrokapszulaként (mikrogömbök), vagy nanokapszulaként (nanogömbök), különösen lágy vagy kemény kapszula formákban.

Továbbá a jelen találmány szerinti összetétel liposzómába bezárva foszfolipideket, koleszterint vagy ezek származékait tartalmazza, melyek tovább diszpergálhatók fiziológiás sóoldatban vagy fiziológiás sóoldatban feloldott hialuronsavban.

A lágy kapszulák a jelen találmány szerinti folyékony összetételekkel tölthetők. A kemény kapszulák a jelen találmány szerinti összetételek liofilezett porával tölthetők, vagy a jelen találmány szerinti összetétel liofilezett pora tablettává nyomható rektális illetőleg orális beadáshoz.

Természetesen a jelen találmány szerinti összetétel, a beteg által történő beadásához, előtöltött fecskendőben is biztosítható.

Bár a fentiekben csak a jelen találmány előnyben részesített megvalósítási formáit írtuk le, mégis nyilvánvaló, hogy a jelen találmány számos módosítása, változtatása elvégezhető anélkül, hogy a jelen találmány szellemétől és oltalmi körétől eltérnénk. A jelen találmány további, előnyben részesített megvalósítási formáit az igénypontokban felsoroltuk.



Példa

A tanulmányokat egészséges önkénteseken végeztük, és az azitromicin hatásait háromszor 500 mg mennyiségben vizsgáltuk a kiválasztott gyulladásra jellemző paraméterek nyomonkövetésével.

A gyógyszer beadása, a vérminták és a plazma

Az egyes személyek két standard 250 mg-os azitromicin (Sumamed®, PLIVA Zagreb) kapszulát kaptak három egymást követő napon. Közvetlenül a kezelések megkezdése előtt és 2 órával és 30 perccel, 24 órával és 28 nappal a harmadik és az utolsó azitromicin dózis után vérmintákat vettünk a könyökvénából EDTA-t tartalmazó csövekbe. A sejtszámlásához mintákat vettünk, keneteket készítettünk, a polimorfonukleáris sejteket és a szérumot elkülönítettük.

Az elsődleges granuláris enzimek analízise

A leukocita granulumok membránnal rendelkező sejtszervecskék, melyek antimikrobiális fehérjék rendezett halmazát tartalmaznak. A lebontó enzimeken kívül, melyek a neutrofilekből az extracelluláris térbe kijuthatnak, vagy a fagocitózis révén kikerülhetnek, ezen szemcsék és vezikulumok membránjai fontos molekulákat tartalmaznak, mint például bizonyos receptorokat (például fMLP receptor), és a citokróm b NADPH oxidázt.

a) A mieloperoxidázok analízise

A mieloperoxidáz (MPO) 135000 daltonos fehérje, mely két nehézláncból és két könnyűláncból áll, 55000, illetve 15000



dalton. Az MPO a granulociták elsődleges vagy azurofil szemcséiben stimulálódik. Az MPO funkciója a reaktív oxigén anyagcsere-termékek biztosítása, melyek a neutrofilek mikrobicid aktivitásában jelentős szerepet játszanak. Az oxigén anyagcsere-termékek kialakítása az MPO-negatív szemcsék komponenseitől függnek (mely a flavocitokróm b558-at köti, ami a NADPH oxidáz lényeges komponense), valamint az azurofil MPO pozitív granulumok komponenseitől is függnek. Az MPO a NADPH viszonylag ártalmatlan termékeit átalakítja H_2O_2 -vé és hipoklórsavvá. A granulocitákban az MPO aktivitás biológiai jelentősége az erős oxigén-függő antimikrobiális aktivitás, mely a gyulladás folyamatban, különösen az immunkomplex okozta fagocita stimulus után, az összes szemcse mobilizálásával kapcsolatos.

Az MPO aktivitást a vérkeneteken a neutrofilek intenzív festődéséből határoztuk meg, valamint a sejtek lizátumában ELISA-val. Etanolos-formaldehides rögzítés után a keneteket a szubszt-rát oldatába mártottuk, mely hidrogén-peroxidot és benzidint (SIGMA) tartalmazott. Inkubáció után a keneteket Giemsa oldattal háttérfestettük. Száz MPO pozitív granulocitát kiértékelünk, és a citoplazmában kicsapódott festék intenzitása alapján 0-tól 4+ értéket adunk. Így az értékelési tartomány 0-400-ig terjedt. A normál tartományt (290-390) az azitromicin beadása előtt határoztuk meg. Az MPO aktivitást a kenet digitalizált képe alapján is meghatároztuk, amit digitális kamerával nagy nagyításonál ($\times 1000$) fénymikroszkóppal vettünk fel. A vérkeneteken a neutrofilek MPO aktivitása az utolsó azitromicin dózis után 2 óra és 30 perctől 24 óráig csökkent, majd 28 nap után visszatért az alapvonalra (1. táblázat). Az MPO enzim fehérje koncentrációját a neutrofilek lizátumából ELISA-val határoztuk meg, az eredményeket



az 1. táblázatban mutattuk be. A neutrofil enzim fehérjék változása azonos mintázatot követett, mint az intracelluláris enzim aktivitás, az utolsó azitromicin dózis után 2 óra és 30 perctől 24 óráig csökkent, majd 28 nap után visszatért az alapvonalra (1. táblázat). A két MPO meghatározási módszer egymást erősítette. A citokémiával meghatározott alacsonyabb neutrofil sűrűségnél degranuláció lép fel, ami a neutrofilek lizátumában az MPO ELISA-val mért alacsonyabb koncentrációival társul.

1. Táblázat

Egység		Alapvonal	2 óra	30 perc	24 óra	28 nap
Degranuláció						
Mieloperoxidáz	(érték)	337± 29	326± 26		315±22*	347± 18
Mieloperoxidáz	(sűrűség)	105± 13	130± 16*		131±17*	115± 19
Mieloperoxidáz	μg/mg fehérje	54,22±	70,85±		26,74±	70,01±
(PMN)		12,61	19,91		2,51*	17,62
NAGA	nmolx10 ⁻⁶	4,15±	1,13±		2,62±	5,95±
(PMN)	sejt/perc	01,6	0,72*		1,6*	3,7
β-glükuronidáz	nmolx10 ⁻⁶	4,12± 2,7	3,21± 2,3		1,58±	15,37±
(PMN)	sejt/perc				0,4*	11,4*
NAGA	μmolxL ⁻¹	9,16± 1,6	11,52±		13,7±	14,87±
(szérum)	l/perc		2,2		1,5*	1,9*



β -glükuronidáz	$\mu\text{molxL}^{-1}/\text{perc}$	$2,88 \pm 0,7$	$3,01 \pm 0,6$	$2,95 \pm 0,5$	$3,93 \pm 1,2^*$
(szérum)					
Citokinek (szérum)					
IL-1	pg/ml	$0,291 \pm 0,11$	$0,533 \pm 0,15$	$1,07 \pm 0,19^*$	$0,29 \pm 0,20$
IL-6	pg/ml	$3,4 \pm 1,05$	$2,7 \pm 1,49$	$2,5 \pm 1,48$	$1,15 \pm 0,61^*$
Kemokinek					
IL-8	pg/ml	$29,47 \pm 15,44$	$10,61 \pm 3,81^*$	$14,60 \pm 10,75^*$	$23,03 \pm 19,72$
GRO- α	pg/ml	$124,1 \pm 33,02$	$109,6 \pm 30,35^*$	$107,9 \pm 27,83^*$	$90,4 \pm 22,32^*$
Apoptózis (WBC)	apoptotikus sejtek/1000 fehérvérsejt	$0,333 \pm 0,655$	$0,833 \pm 1,029$	$1,417 \pm 1,240$	$2,583 \pm 2,02^*$
Adhéziós molekulák					
sV-CAM	ng/ml	$13,59 \pm 2,90$	$12,21 \pm 4,12$	$10,29 \pm 2,12^*$	$10,74 \pm 2,05^*$
Oxidatív burst					
fMLP-luminol	A.U.	29335 ± 1957	$14774 \pm 1175^*$	$5053 \pm 3804^*$	$9879 \pm 13880^*$
fMLP-citokróm	ΔA	$0,020 \pm 0,014$	$0,007 \pm 0,015^*$	$-0,018 \pm 0,010^*$	$-0,0011 \pm 0,0010^*$
Glutation peroxidáz (PMN)	mU/10 ⁶ PMN	$5,3 \pm 2,0$	$5,3 \pm 2,9$	$1,6 \pm 1,3^*$	$8,0 \pm 5,2$



Glutation	mU/10 ⁶	9,63±	7,39±	7,91±	11,27±
reduktáz	PMN	1,16	1,23*	0,87*	2,24*
(PMN)					

*p < 0,01 az alapvonallal egybevetésben (Wilcoxon).

b) Az N-acetil-β-D-glükózaminidáz (NAGA) és a β-glükuronidáz analízise

A glükozidázok az oligoszacharidok és más glükozidok glükozidos kötéseinek hidrolízisét katalizálják. A szubsztrát molekula glükozid részére specifikusak. Az N-acetil-β-D-glükózaminidáz (NAGA) és a β-glükuronidáz ilyen enzimek. Ezek egyben lizoszómális enzimek, melyek a neutrofilek azurofil szemcséiben helyezkednek el (elsődleges; peroxidáz-pozitív). Mivel a neutrofilek degranulációja gyulladáskor megfigyelhető, ezért számos szerző ezeket az enzimeket választotta a degranuláció jelzőjeként, és a neutrofilek reaktivitásának meghatározásánál. Mindkét enzim katalitikus koncentrációját meghatároztuk a szérumban és a neutrofilek lizátumában a szakirodalomban leírtak eljárással, NAGA esetében [O' Brien és mtsai: *New Engl. J. Med.*, 283, 15-20(1970)], β-glükuronidáz esetében [Glaser és Sly: *J. Lab. Clin. Med.*, 82, 969 (1973)].

Az 1. táblázatban bemutatott eredmények azt mutatják, hogy a NAGA aktivitása a szérumban az utolsó dózis után körülbelül 30 %-kal nőtt 2 óra és 30 perc elteltével. Az utolsó dózis után 24 órával ennek értéke hozzávetőleg 50 %-kal magasabb, mint a kiindulási érték. A NAGA szérum értéke 28 nappal később még mindig 70 %-kal magasabb értéket mutat, mint a kiindulási érték. A szérumban a NAGA növekedése a PMN-ben az enzim ak-



tivitásának csökkenésével járt. Az utolsó dózis után 2 óra 30 perccel a granulocitákban körülbelül 70 %-os csökkenést határoztunk meg. A PMN-ben a NAGA aktivitás 24 órával később körülbelül 30 %-kal nőtt, de még így is 40 %-kal kisebb mint a kiindulási érték. A NAGA aktivitás 28 nap elteltével 40 %-kal túlszárnyalta a kiindulási értéket (1. táblázat).

A szérumban a β -glükuronidáz aktivitása az utolsó dózis utáni 24. órában semmilyen változást nem mutatott. Az érték 28 nap múlva a kezdetinél 40 %-kal magasabb volt. A PMN-ben a glükuronidáz aktivitása a kiindulási értékhez viszonyítva 20 %-kal csökkent az utolsó dózis után 2 óra 30 perccel, és 50 %-kal 24 óra után. Viszont 28 nap elteltével a β -glükuronidáz aktivitása a PMN-ben sokkal magasabb, mint kezdetben (körülbelül 300 %-kal)(1. táblázat).

Amikor a glükozidázok aktivitásait analizáljuk, akkor nyilvánvaló, hogy az egészséges önkénteseknél az azurofil granulomokból az indukált enzim kibocsátás 40-50 %-os az utolsó dózis után 24 órával. A PMN-ben a NAGA aktivitás csökkenése a szérumban növekedésével járt. A két enzim szérum aktivitása az alapvonalnál kissé nagyobb értékeket vett fel (az azitromicin előtt) az utolsó dózis adásai után 2 óra és 30 perccel és 24 órával, és ez 28 nappal később további növekedést mutatott (1. táblázat).

Ezzel szemben a két enzim aktivitása a neutrofilek lizátumában két órával az azitromicin utolsó dózisa után csökkent, a NAGA aktivitás esése 2 órával 30 perccel később érte el maximumát, majd 28 nap elteltével visszatért alapszintjére. A β -glükuronidáz celluláris aktivitása az azitromicin utolsó dózisa után 24 órával még mindig csökkent, és 28 nap után jóval az alapvonal fölé ért (1. táblázat).



Összefoglalva, a neutrofilek elsődleges azurofil szemcséiből kibocsátott enzimek az azitromicin beadás után 2 óra 30 perccel a szérumban kisebb aktivitással jelentkeznek, míg ugyan ezen időtartam alatt a perifériás vér neutrofil granulocitáiban aktivitásuk alacsonyabb, ami arra utal, hogy ezek degranulációval szabadultak fel. A NAGA az azitromicin után korán kikerül, míg az MPO és a β -glükuronidáz késleltetett kibocsátást mutatott. Ezen enzimek aktivitásának kimutatása szintén változott.

A neutrofilek oxidatív burst-jének vizsgálata

Az összes aerob szervezet energiatermeléséhez oxigént használ. Viszont számos jel arra utal, hogy az oxigén használatának előnye azzal a kockázattal jár, hogy az oxidatív folyamatok révén sérülések alakulnak ki. A fagocitózis alatt, amikor a neutrofilek stimulált állapotban vannak, megtörténik az oxidatív burst, reaktív oxigén anyagcseretermékek keletkezésével és kibocsátásával. Ezek a reaktív anyagcsere termékek a fagociták által közvetített antimikrobiális hatás fő mechanizmusában játszanak szerepet. A reakciókat a gyors oxigénfelvétel és ezt követően az oxigén redukálása szuperoxiddá (O_2^-) jellemezi. Ezt a NADPH oxidáz katalizálja, NADPH-t vagy NADH-t használva elektron donorként. Amikor ezek a védőmechanizmusok nem megfelelően mennek végbe, akkor szöveti sérülés lép fel.

a) A kemilumineszcencia meghatározása

A reaktív oxigén anyagcseretermékek képzése az aktivált sejtek által gyakran a kemilumineszcencia (CL) mérésével határozható meg. A képződött szabad gyökök fotont termelő vegyületekkel reagálnak (például Luminollal) és az eredményül kapott



fénykibocsátás fotocellával mérhető. A leukociták stimulálása eredményeként kemolumineszcencia mutatható ki (például fMLP) és citotoxikus oxidatív aktivitásuk így mérhetővé válik [Allen és mtsai: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 47, 679 (1972)].

Az 1. táblázatban bemutatott eredmények azt mutatják, hogy az azitromicin az azitromicinnel kezelt betegekből izolált stimulált neutrofilekből keletkező kemoluminenszcens hatást gátolja.

b) A citokróm c vizsgálati rendszer

A neutrofileket citokróm c-vel inkubáltuk és fMLP-vel stimuláltuk [Cohen és Chovaniec: *J. Clin. Invest.*, 61, 1081-1087 (1978)]. Az abszorbanciát 550 nm-en és 540 nm-en rögzítettük, és delta A-ként fejeztük ki.

A neutrofilek oxidatív burst-jét a bakteriális fMLP peptid válaszban 3 napos azitromicin kezeléssel gátoltuk (1. táblázat). Felhasználva mind a citokróm c, mind a luminol vizsgálati rendszereket, a gátlások 2 óra 30 perccel az utolsó azitromicin dózis után már kimutathatók, ez 24 órára nagyobb lett, majd 28 nap múlva visszatért a normális szintre.

Ennek megfelelően az azitromicint az oxidatív burst gátlójának tekintjük. Így az azitromicin számos betegségénél, melyekben a neutrofil gyöktermelés (oxidatív burst) túlzott mértékűvé válik, alapot biztosít, mint COPD-nél.

A glutation peroxidáz és a glutation reduktáz analízise

A szabad oxigéngyökök és a lipid peroxidázok nagyszámú betegség patogenezésében szerepet játszanak. A szabadgyökök biológiai hatásai *in vivo* számos antioxidánsal szabályozottak,



mint amilyen például az α -tokoferol (vitamin E), aszkorbinsav (vitamin C), β -karotin, redukált glutation (GSH) és antioxidáns enzimek (szuperoxid dizmutáz, SOD, glutation-peroxidáz GSHPx, kataláz, CAT) [Benabdeslam és mtsai: Clin. Chem. Lab. Med., 37, 511-516 (1999); Mates és mtsai: Blood Cells Mol., 25, 103-109 (1999)]. Napjaink szakirodalma alapján az antioxidáns funkciók ténylegesen a gyulladásgátló és/vagy az immunszuppresszív sajátságokkal kapcsolatosak [Mates és mtsai: Blood Cells Mol., 25, 103-109 (1999)]. A szabadgyök termelés és a redoxállapot rendellenessége számos gyulladási molekula kifejezésével módosítható [Sundaresan és mtsai: Science, 270, 296-299 (1995); Kaouass és mtsai: Endocrine, 6, 187-194(1997)], melyek bizonyos celluláris folyamatokat befolyásolnak, melyek gyulladáshoz vezetnek mind a gyulladás fokozásával, mind a szöveti sérülés befolyásolásával [Tsai és mtsai: FEBS Lett., 436, 411-414 (1997)].

A celluláris glutation peroxidáz (GSHPx) tetramer fehérje, melyen mind a négy azonos alegység egy szelén (Se) atomot tartalmaz az aktív helyen szelén-cisztein formában [Misso és mtsai: J. Leukoc. Biol., 63, 124-130 (1998)]. A GSHPx a H_2O_2 detoxikálásban szerepet játszik és a lipid hidroperoxidokat nem toxikus alkoholokká alakítja [Akkus és mtsai: Clin. Chim. Acta, 244, 221-227 (1996); Urban és mtsai: Biomed & Pharmacother., 51, 388-390 (1997)]. Ebben a vizsgálatban egészséges azitromicinnel kezelt önkénteseknél a PMN intracelluláris GSHPx aktivitásának változásait meghatároztuk, felhasználva a kereskedelemben vásárolható RANSEL készletet (Randox Laboratories). A GSHPx a glutation oxidálását a cumene hidroperoxiddal katalizálja. A glutation reduktáz NADPH jelenlétében az oxidált glutation



azonnal átalakul redukált formájúvá, a NADPH-nak NADP⁺-vá oxidálásával együtt, ehhez a 340 nm-es abszorbancia csökkenést megmérjük.

A glutation reduktáz általánosan előforduló enzim, mely az oxidált glutation (GSSG) redukálást végzi glutationná (GSH). A glutation reduktáz a glutation redox-ciklushoz elengedhetetlen, ezzel a redukált celluláris GSH szintet megfelelően tartja. A GSH antioxidánsként szolgál, az aminosav transzportban a szabadgyökökkel és a szerves peroxidokkal reagál, és a GSHPx és a glutation S-transzferáz szubsztrátjaként a szerves peroxidok és a xenobiotikus anyagcseretermékek detoxikálásában játszik szerepet. A glutation reduktázt BIOXYTECH® GR-340™ kolorimetriás vizsgálattal határoztuk meg (OXIS International, Inc.). Röviden a NADPH oxidálását NADP⁺-szá a glutation reduktáz határ-koncentrációja katalizálja.

A GSHPx aktivitás a neutrofil lizátumokban (melyet a sejtszám hányadosaként fejeztünk ki) az utolsó azitromicin dózis után 2 óra 30 perccel változatlan maradt, de 24 óra elteltével szignifikánsan csökkent (1. táblázat). Az aktivitás 28 nappal később az alapszintre visszatért. A glutationreduktáz aktivitás a sejt-lizátumokban (amit a sejtszám hányadosaként fejeztünk ki) hasonló tendenciát mutatott, az utolsó azitromicin dózis után 2 óra 30 perccel szignifikánsan csökkent, és 24 órával később visszatért a normális szintre, majd az utolsó kezelés után 28 nappal elérte legnagyobb szintjét (1. táblázat).

Az apoptózis analízise:

Az azitromicin három napig tartó adása a granulocitákon késleltetett pro-apototikus hatásokat mutatott, amit a



vérkenetek morfológiai vizsgálatával határoztunk meg. Az 1. táblázatban bemutattuk a kapott eredményeket. A három napig végzett azitromicin kezelést követően az apoptotikus sejtek száma folyamatosan nőtt, az utolsó dózis után 28 nappal statisztikailag szignifikáns eredményt kaptunk. Az apoptotikus sejtek számának növekedése csökkent számú aktív, potenciálisan sérült neutrofile utal.

A citokinek és a kemokinek analízise

A másik akut, de potenciálisan gyulladásgátló azitromicin hatást ebben a vizsgálatban szintén kimutattuk.

Az interleukin-8 a neutrofilekre specifikus CXC kemokinek alcsaládjába tartozik, mely potens neutrofil kemotaktikus és aktiváló faktor [Oppenheim: J. Ann. Rev. Immunol., 9, 617 (1999)]. Legalább két G fehérjéhez kapcsolt receptorhoz (IL-8R1 és IL-8R2) kapcsolódik. Ezek a receptorok funkcionálisan eltérők. A válaszok, mint például a citoszol szabad Ca^{2+} változások, és a granulum enzimek kiszabadulása, mindkét receptoron keresztül történhet, míg a légzési burst és a foszfolipáz D aktiválás kizárólag az IL-8R1-en keresztül megy végbe [Johnes és mtsai: Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 93, 6682-6686 (1996)]. Az IL-8 a keringésben lévő neutrofilek összegyűlésének kulcsfaktora. Ez a kemokin a gyulladási stimulus hatására fejeződik ki, és számos sejt kibocsátja, beleértve a limfocitákat, epiteliális sejteket, keratinocitákat, fibroblasztokat, endoteliális sejteket, simaizom sejteket és neutrofileket. Az utóbbi esetben az IL-8 az egyik legnagyobb mennyiségben kiválasztott vizsgált citokin (és a legintenzívebben tanulmányozott), amit a neutrofilek termelnek. Elég érdekes, hogy a

neutrofilek az IL-8 elsődleges celluláris célpontjai, amire kemotaxissal, a granulum tartalom kibocsátásával, légzési bursttel, a sejtfelszíni receptorok up-regulálásával, a nem stimulált endoteliális sejtekhez történő fokozott tapadással és az endoteliumon történő áthaladással válaszolnak. Az IL-8 termelés stimulálására képes szerek a humán neutrofileknél a következők: TNF- α , IL-1 β , GM-CSF, leukotrién B₄, PAF, fMLP, laktoferrin, LPS és számos más vegyület [Cassatella: Adv. Immunol., 73, 369-509 (1999)]. Az IL-8 késlelteti a humán neutrofilek spontán és TNF- α által közvetített apoptózisát [Kettritz és mtsai: Kidney Int., 53, 84-91 (1998)]. Az IL-8 a predomináns C-X-C kemokin, és a domináns neutrofil vonzó anyag, mely az LPS stimulált humán alveoláris makrofágok felülúszójában felhalmozódik [Goodmann és mtsai: Am. J. Physiol., 275, L87-L95 (1998)].

A szakirodalomban beszámoltak az eritromicin humán epiteliális sejtekben kifejtett, IL-8 kifejezésre gyakorolt gátló hatásáról, melynek klinikai hatékonyságáért feltehetőleg az ilyen hatásmód tehető felelőssé [Takizawa és mtsai: Am. J. Respir. Crit. Care Med., 156, 266-271 (1997)].

A roxitromicin a nazális polip fibroblasztokban szintén képes az IL-8 csökkentésére [Nonaka és mtsai: Acta Otolaryngol., Suppl.539, 71-75 (1998)]. Az ízületi gyulladás szinovocitáiban az IL-1 α , IL-6, IL-8, GM-CSF termelés klaritromicinnal gátolható [Matsuoka és mtsai: Clin. Exp. Immunol., 104(3), 501-508 (1996)]. A teljes vérben az IL-8 termelés *ex vivo* meghatározása megerősítette, hogy az eritromicin az IL-8 termelést képes gátolni [Schultz és mtsai: J. Antimicrob. Chemother., 46, 235-240 (2000)]. Hasonló megfigyeléseket tettek a humán hörgő epiteliális

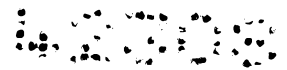
sejteknél is [Desaki és mtsai: Biochim. Biophys Res. Commun., 267, 124-128 (2000)]. Napjainkban végzett vizsgálatokban azonban beszámoltak arról is, hogy az azitromicin a PMN-ben *in vitro* az IL-8 termelést nem módosítja [Koch és mtsai: J. Antimicrob. Chemother., 46, 19-26 (2000)].

A citokin és a kemokin koncentrációkat ELISA készletekkel határozták meg. Számos eltérő válasz mintázatot láthatunk a szérumban citokin és kemokin koncentrációkban, amikor az azitromicin kezelést három napig folytatjuk. Gyors és kifejezett csökkenés figyelhető meg a plazma neutrofil stimuláló kemokin, IL-8 és GRO- α koncentrációk esetében az utolsó azitromicin dózis után 2 óra 30 perc elteltével (1. táblázat). Az IL-8 koncentrációja lényegében az alapszintre tér vissza 28 nap elteltével, míg a GRO- α ekkor lecsökken.

Ezek az adatok világosan érzékeltetik az azitromicin akut gátló hatását a IL-8 *ex vivo* kibocsátására, kiterjesztve ezt a tulajdonságot a GRO- α kemokin kibocsátásának gátlására is. Meg kell állapítani, hogy a szérumban kemokin koncentrációt mérték. Ezért nem vonható le semmilyen következtetés a kemokinek celluláris forrását tekintve.

Az IL-1 alacsony alapvonalis szérumban koncentrációja az utolsó azitromicin dózis után fokozatosan nőtt, 24 óra után ez a növekedés szignifikáns szintet ért el (1. táblázat). A koncentráció 28 nappal az azitromicin kezelés után visszatért az alapszintre. Ezzel szemben az IL-6 szérumban koncentrációja folyamatosan csökkent, 28 nappal az azitromicin kezelés után szignifikáns értéket ért el (1. táblázat).

Az adhéziós molekulák analízise



A korábban közzétett adatokkal szemben [Semaan és mtsai: J. Cardiovasc. Pharmacol., 36, 533-537 (2000)], melyben az azitromicin kezelés az oldható VCAM plazma szintekre szignifikánsan nem hatott, ebben a vizsgálatban az utolsó azitromicin dózis után 24 órával a szérumban az sVCAM csökkent, és szignifikánsan csökkentett szinten maradt 28 nap elteltével, ami arra utal, hogy az azitromicin mind a neutrofil peptidek képzésében, mind kifejezésében potenciális gátlóanyag, valamint az aktivált leukociták adhézións molekuláinak kibocsátásában szerepet játszik (1. táblázat). A humán sVCAM szérum koncentrációjának mennyiségi meghatározásához ELISA készletet használtunk (R&D systems, UK).

A PMN-ben a fehérjéket a szakirodalomban leírt eljárással határoztuk meg [Bradford: Anal. Biochem., 72, 208-254 (1976)], standardként borjú szérum albumint használva.



SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Aktív alkotórész használata, melyet a következők közül választunk ki: azitromicin, gyógyszerészetileg elfogadható származéka, gyógyszerészetileg elfogadható hidrátja, gyógyszerészetileg elfogadható komplexe vagy kelátja és gyógyszerészetileg elfogadható sója, amit gyógyszerészeti összetételek előállításához alkalmazunk emberekben és állatokban a nem fertőző neutrofil túlsúlyú gyulladásos betegségek kezelésére, amelyet a következők közül választunk ki: felnőttkori légzési rendellenesség szindróma (ARDS), emfizéma, neutrofil dermatózisok, beleértve a pikkelysömör jellegű dermatózisokat, mint például a pikkelysömört és a Reiter-féle szindrómát, autoimmun bullous dermatózisokat, a véredény alapú neutrofil dermatózisokat, mint például leukocitoklasztikus vaszkulitist, Sweet-féle szindróma, pustuláris vaszkulitisz, erythema nodosum és családi mediterrán láz, és a pioderma gangrenozum, autoimmun betegség, melyben a neutrofilek beszűrődése aktivált komplement faktorokkal súlyosbított, különösen a vesebetegség, beleértve a glomerulonefritist, és autoimmun betegség, mely akut neutrofil túlsúlyú fázissal jellemzett, mint például az ízületi gyulladás.

2. Az 1. igénypont szerinti használat, melyben az aktív alkotórész az azitromicin O-metil-származéka.

3. Az 1. igénypont szerinti használat, melyben az aktív alkotórész az azitromicin észtere.

4. Az 1. igénypont szerinti használat, melyben az aktív alkotórész az azitromicin monohidrátja.

5. Az 1. igénypont szerinti használat, melyben az aktív alkotórész az azitromicin dihidrátja.



6. Az 1. igénypont szerinti használat, melyben az aktív alkotórész az azitromicin fémionnal képzett komplexe vagy kelátja.

7. A 6. igénypont szerinti használat, ahol az azitromicin és a fém aránya 1:1-1:4.

8. A 6. vagy a 7. igénypont szerinti használat, ahol a fémiók kétértékűek.

9. A 6. vagy a 7. igénypont szerinti használat, ahol a fémiók háromértékűek.

10. Az 1. igénypont szerinti használat, melyben az aktív alkotórész az azitromicin alkáli fém-, alkáli földfém- vagy ammóniumsója.

11. Az 1. igénypont szerinti használat, melyben az aktív alkotórész az azitromicin savaddíciós sója.

12. A 11. igénypont szerinti használat, melyben a savaddíciós sót szerves savval állítjuk elő.

13. A 11. vagy a 12. igénypont szerinti használat, melyben a szerves sav a következő: hidrogénbromid, salétromsav, foszforsav vagy kénsav.

14. A 11. igénypont szerinti használat, melyben a savaddíciós sót szerves savval állítjuk elő.

15. A 14. igénypont szerinti használat, melyben a szerves sav a következő: például ecetsav, benzoésav, fahéjsav, citromsav, etánszulfonsav, fumársav, glikolsav, maleinsav, almasav, malonsav, mandelinsav, metánszulfonsav, oxálsav, propionsav, p-toluén-szulfonsav, piroszőlősav, szalicilsav, borostyánkősav, borkősav.

16. Az 1-15. igénypontok bármelyike szerinti használat, melyben a gyógyszerészeti összetétel kellő mennyiségben



tartalmaz aktív alkotórészt a betegség megszüntetéséhez vagy csökkentéséhez vagy progressziójának megállításához.

17. A 16. igénypont szerinti használat, melyben a gyógyszerészeti összetétel aktív alkotóját naponta egy-háromszor 20-2000 mg dózisban adják be.

18. A 17. igénypont szerinti használat, melyben a gyógyszerészeti összetétel aktív alkotóját naponta egy-háromszor 30-1500 mg dózisban adják be.

19. Az 1-18. igénypontok bármelyike szerinti használat, melyben a gyógyszerészeti összetételt orálisan, szilárd vagy folyékony formában adják be.

20. A 19. igénypont szerinti használat, melyben a gyógyszerészeti összetétel az orális beadáshoz kapszula, lingualette, tabletta, pirula, por, liposzóma, tapasz, késleltetett bevonatú kiszerelés és szemcse.

21. A 19. vagy a 20. igénypont szerinti használat, melyben az orális beadáshoz a szilárd gyógyszerészeti összetételek legalább egy inert gyógyszerészetileg elfogadható hordozót tartalmaznak.

22. A 21. igénypont szerinti használat, melyben az inert gyógyszerészeti hordozót a következők közül választjuk ki: laktóz, szacharóz vagy keményítő.

23. A 19-22. igénypontok bármelyike szerinti használat, melyben az orális beadáshoz a szilárd gyógyszerészeti összetételek további anyagokat tartalmaznak, melyeket a következők közül választunk ki: síkosítók, így magnézium-sztearát, tömeget biztosító és/vagy pufferelő szerek, valamint ízesítő anyagok.



24. A 19-23. igénypontok bármelyike szerinti használat, melyben az orális beadáshoz a szilárd gyógyszerészeti összetételeket enterikus bevonattal készítik.

25. A 19. igénypont szerinti használat, melyben az orális beadáshoz a folyékony gyógyszerészeti összetételek gyógyszerészetileg elfogadható emulziók, szuszpenziók vagy szirupok.

26. A 25. igénypont szerinti használat, melyben az orális beadáshoz a folyékony gyógyszerészeti összetételek legalább egy gyógyszerészetileg elfogadható inert hordozót tartalmaznak.

27. A 26. igénypont szerinti használat, melyben az inert gyógyszerészeti hordozó víz vagy fiziológiás sóoldat.

28. A 25-27. igénypontok bármelyike szerinti használat, melyben az orális beadáshoz a folyékony gyógyszerészeti összetétel további anyagokat tartalmaz, melyeket a következők közül választjuk ki: adjuvánsok, sók az ozmotikus nyomás biztosításához, pH-t szabályozó szerek, bőrbe behatolást elősegítő szerek, nedvesítő szerek, emulgeáló és szuszpendáló szerek.

29. Az 1-18. igénypontok bármelyike szerinti használat, melyben a gyógyszerészeti összetételeket parenterálisan adjuk be.

30. A 29. igénypont szerinti használat, melyben a parenterális beadáshoz a gyógyszerészeti összetételek infúziók vagy injekciók.

31. A 29. vagy a 30. igénypont szerinti használat, melyben a parenterális beadáshoz a gyógyszerészeti összetételek steril vizes vagy nem vizes oldatok, szuszpenziók vagy emulziók.

32. A 29-31. igénypontok bármelyike szerinti használat, melyben a parenterális beadáshoz a gyógyszerészeti összetételek nem vizes oldószereket vagy hordozókat tartalmaznak.



33. A 32. igénypont szerinti használat, melyben a nem vizes oldószer vagy hordozó propilén-glikol, polietilén-glikol, növényi olajok, mint például olíva- és gabona olaj, zselatin, és injektálható szerves észterek, mint például etil-oleát.

34. A 29-33. igénypontok bármelyike szerinti használat, melyben a parenterális beadáshoz a gyógyszerészeti összetételek adjuvánsokat, mint például konzerváló, nedvesítő, emulgeáló és diszpergáló szereket tartalmaznak.

35. Az 1-18. igénypontok bármelyike szerinti használat, melyben a gyógyszerészeti összetételeket rektálisan vagy vaginálisan adjuk be.

36. A 35. igénypont szerinti használat, melyben a rektális vagy vaginális beadáshoz a gyógyszerészeti összetételek kúpok, beöntések vagy habok.

37. A 35. vagy a 36. igénypont szerinti használat, melyben a rektális vagy vaginális beadáshoz a gyógyszerészeti összetételek kötőanyagokat tartalmaznak, mint például kakaóvaját vagy kúpviaszt.

38. Az 1-37. igénypontok bármelyike szerinti használat, melyben a neutrofil túlsúlyú, nem fertőző gyulladáshoz vezető betegségek kezeléséhez a gyógyszerészeti összetételek egy vagy több további alkotórészt tartalmaznak, melyek a kiválasztott betegségek gyógyításában hasznosak, mint például nem szteroid gyulladásgátlókat, szteroid gyulladásgátlókat, hörgőtágítókat, reuma elleni szereket, immunmódosító szereket, immunszuppresszív szereket, kortikoszteroidokat, β_2 -agonistákat és kolinerg antagonistákat.

39. A 38. igénypont szerinti használat, melyben a további aktív alkotórészek dózisa a gyógyszerészeti összetételekhez ké-



pest csökkentett, melyek kizárólag egy további aktív alkotórészt tartalmaznak.

40. Gyógyszerészeti összetétel a nem fertőző, neutrofil túlsúlyú gyulladáshoz kapcsolódó betegségek emberekben és állatokban való kezeléséhez, ahol a betegségeket a következők közül választjuk ki:

felőttkori légzési rendellenesség szindróma (ARDS), emfizéma, neutrofil dermatózisok, beleértve a pikkelysömör jellegő dermatózisokat, mint például a pikkelysömört és a Reiter-féle szindrómát, autoimmun bullous dermatózisok, a véredény alapú neutrofil dermatózisokat, mint például leukocitoklasztikus vaszkulitist, Sweet-féle szindróma, pustuláris vaszkulitisz, erythema nodosum és családi mediterrán láz, és a pioderma gangrenozum, autoimmun betegség, melyben a neutrofilek beszűródése aktivált komplement faktorokkal súlyosbított, különösen a vesebetegség, beleértve a glomerulonefritist, és autoimmun betegség, mely akut neutrofil túlsúlyú fázissal jellemzett, mint például az ízületi gyulladás, melyhez az aktív alkotórészt a következők közül választjuk ki: azitromicin, gyógyszerészetileg elfogadható származéka, gyógyszerészetileg elfogadható hidrátja, gyógyszerészetileg elfogadható komplexe vagy kelátja és gyógyszerészetileg elfogadható sója.

41. A 40. igénypont szerinti gyógyszerészeti összetétel, melyben az aktív alkotórész az azitromicin O-metil-származéka vagy észtere.

42. A 40. igénypont szerinti gyógyszerészeti összetétel, melyben az aktív alkotórész az azitromicin monohidrátja vagy dihidrátja.



43. A 40. igénypont szerinti gyógyszerészeti összetétel, melyben az aktív alkotórész az azitromicin kétértékű vagy háromértékű fémionnal képzett komplexe vagy kelátja.

44. A 43. igénypont szerinti gyógyszerészeti összetétel, melyben az azitromicin és a fém aránya 1:1-1:4.

45. A 40. igénypont szerinti gyógyszerészeti összetétel, melyben az aktív alkotórész az azitromicin alkáli fém-, alkáli földfém- vagy ammóniumsója.

46. A 40. igénypont szerinti gyógyszerészeti összetétel, melyben az aktív alkotórész az azitromicin savaddíciós sója.

47. A 46. igénypont szerinti gyógyszerészeti összetétel, melyben a savaddíciós sót szerves savval állítjuk elő, mint például hidrogénbromiddal, salétromsavval, foszforsavval vagy kénsavval.

48. A 46. igénypont szerinti gyógyszerészeti összetétel, melyben a savaddíciós sót szerves savval állítjuk elő, mint például ecetsav, benzoésav, fahéjsav, citromsav, etánszulfonsav, fumársav, glikolsav, maleinsav, almasav, malonsav, mandelinsav, metánszulfonsav, oxálsav, propionsav, p-toluénszulfonsav, piroszőlősav, szalicilsav, borostyánkősav, borkősav.

49. A 40-48. igénypontok bármelyike szerinti gyógyszerészeti összetétel, melyben az aktív alkotórész kellő mennyiségben fordul elő a betegség megszüntetéséhez vagy csökkentéséhez vagy progressziójának megállításához.

50. A 40-49. igénypontok bármelyike szerinti gyógyszerészeti összetétel, mely egy vagy több további adalékanyagot tartalmaz, melyek a kiválasztott betegségek kezelésében hasznosak, mint például nem szteroid gyulladásgátlókat, szteroid gyulladásgátlókat, hörgőtágítókat, reuma elleni szereket, immunmódosító



szereket, immunszuppresszív szereket, kortikoszteroidokat, β 2-agonistákat és kolinerg antagonistákat.

51. Az 50. igénypont szerinti gyógyszerészeti összetétel, melyben a további aktív alkotórészek dózisa a gyógyszerészeti összetételekhez képest csökkentett, melyek kizárólag egy további aktív alkotórészt tartalmaznak.

52. Eljárás gyógyszerészeti összetétel előállítására, azzal jellemelve, hogy emberben vagy állatokban a nem fertőző, neutrofil túlsúlyú gyulladásos betegség kezelésére szolgál, melyeket a következők közül választunk ki: felnőttkori légzési rendellenesség szindróma (ARDS), emfizéma, neutrofil dermatózisok, beleértve a pikkelysömör jellegű dermatózisokat, mint például a pikkelysömört és a Reiter-féle szindrómát, autoimmun bullous dermatózisok, a véredény alapú neutrofil dermatózisokat, mint például leukocitoklasztikus vaszkulitist, Sweet-féle szindróma, gennyhólyagos vaszkulitisz, erythema nodosum és családi mediterrán láz, és a pioderma gangrenozum, autoimmun betegség, melyben a neutrofilek beszűrődése aktivált komplement faktorokkal súlyosbított, különösen a vesebetegség, beleértve a glomerulonefritist, és autoimmun betegség, mely akut neutrofil túlsúlyú fázissal jellemzett, mint például az ízületi gyulladás, melyhez az aktív alkotórészt a következők közül választjuk ki: azitromicin, gyógyszerészetiileg elfogadható származéka, gyógyszerészetiileg elfogadható hidrátja, gyógyszerészetiileg elfogadható komplexe vagy kelátja és gyógyszerészetiileg elfogadható sója, ahol az eljárás az aktív alkotórészek adalékanyagokkal és szabadon megválaszthatóan további aktív alkotórészekkel történő összekeverését tartalmazza, melyek az ilyen betegségek kezelésében hasznosak, majd a következőket foglalja magában: a keletkező keverék



feloldása vagy szuszpendálása steril vizes vagy vizes/alkoholos elegyben, az oldat pH-jának 4-7-re állítása, végül az oldat fiolákba vagy ampullákba töltése.

53. Az 52. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a további aktív alkotórészeket a következők közül választjuk ki: nem szteroid gyulladásgátlók, szteroid gyulladásgátlók, hörgőtágítók, reumaelleni szerek, immunmódosító szerek, immunszuppresszív szerek, kortikoszteroidok, β 2-agonisták és kolinerg antagonisták.

A meghatalmazott:

Derzsi Katalin
szociális ügyvéd
az S.B.G. & J. Szociális és Jogi Iroda
tagja
H-1092 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 461-1090 Fax: 461-1099

rajz nélkül

2004. 01. 28.

PK