

(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

213 111 B

(21) A bejelentés ügyszám: 5550/89
(22) A bejelentés napja: 1989. 09. 19.
(30) Elsőbbségi adatok:
88/22052 1988. 09. 20. GB
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/GB 89/01096
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 90/03174

(51) Int. Cl.⁶

A 61 K 31/71

A 61 K 47/18

(40) A közzététel napja: 1996. 01. 29.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1997. 02. 28.

(72) Feltalálók:

Murphy, Anthony Gabriel, London (GB)
Neal, Ralph Arthur, St. Alban's, Hertfordshire (GB)

(73) Szabadalmaz:

Farmitalia Carlo Erba S.r.l., Milánó (IT)

(74) Képvisező:

DANUBIA Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.,
Budapest

**(54) Eljárás Leishmaniasis kezelésére alkalmas, paromomicint és karbamidot
tartalmazó gyógyszerkészítmény előállítására**

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás bőr-Leishmaniasis topikális kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására, oly módon, hogy lényegében nem-toxikus hordozóanyagokat, 5–30 tömeg% karbamidot és egyetlen

gyógyhatású vagy profilaktikus szerként 1–20 tömeg% paromomicint vagy nem-toxikus savaddíciós sóját vagy észterét elkeverik és topikális adagolásra alkalmas készítménnyé alakítják.

A találmány bőr-Leishmaniasis topikális kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítási eljárására vonatkozik.

A Leishmaniasis, amely a *Leishmania* nemzetséghez tartozó ostoros véglények által okozott fertőzőes megbetegedés, a világ számos részén ismert járványos betegség. A betegség klinikai formája függ a *Leishmania* fajtól és így módon lehet a belső szerveket, beleket, a bőr-nyálkahártyát, vagy a bőrfelületet megtámadó betegség. A bőr-Leishmaniasis külső megjelenésében sebes bőrelváltozást jelent, amely nagy területre is kiterjedhet és halálos végződésű is lehet, valamint nagymértékű bőrelváltozást és hegesedést is okozhat.

Jelenleg nem ismeretes teljesen hatásos kezelési módszer a bőr-Leishmaniasis esetében. Azok a gyógyszerek, amelyeket eddig a Leishmaniasis szisztémás kezelésére alkalmaztak, így például az 5-értékű antimon-származékok, hátrányosak abból a szempontból, hogy hatásosságuk különböző és igen hosszú parenterális adagolást igényelnek, amely viszont már toxikus lehet.

A legutóbbi időkben az aminoglükozid antibiotikum paromomicint, O-2,6-diamino-2,6-didezoxi- β -L-jódpiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)-O- β -D-ribofuranozil-(1 $\rightarrow$ 5)-O-[2-amino-2-dezoxi- α -D-glükopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)]-2-dezoxi-szteaptamint alkalmazták parenterálisan kedvező hatással a kísérletileg és természetesen előforduló bőr-Leishmaniasis szisztémás kezelésére. Azonban az ezen a területen végzett munkálatok csupán kísérleti jellegűek ezideig. A 2 117 237 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásban szinergetikus készítményt ismertetnek a bőr-Leishmaniasis topikális kezelésére, amelynél paromomicint egy másik vegyülettel, amely topikális fertőzés ellenes hatású gyógyszer, együttesen alkalmazunk. A második komponensként alkalmazott vegyületek kvaterner-ammónium-vegyületek, így például metil-benzetonium-klorid és dimetil-szulfoxid (DMSO). Az említett szabadalmi leírásban írják, hogy a paromomicin és a másik fertőzés-ellenes szer külön-külön hatástalanok a Leishmaniasis topikális kezelése esetén, a kettő kombinációja azonban hatásosnak bizonyult a BALB/c egerek topikális kezelésénél, valamint az ezt követően humán betegeknek végzett klinikai vizsgálatoknál.

A független vizsgálatok elvégzett kísérleti vizsgálatoknál meglepetéssel azt tapasztaltuk, hogy a paromomicin és a kvaterner-ammónium-vegyületeket kombináltan tartalmazó készítmények esetében lokális toxicitás jelenségei mutatkoznak, amikor ezeket a bőr-Leishmaniasis okozta sebek kezelésére alkalmaztuk, amelyek olyan súlyosak voltak, hogy a kezelést nem lehetett tovább folytatni. Egy bizonyos vizsgálatnál, amelynél 12% metil-benzetonium-kloridot tartalmazó paromomicin kenőcsöt alkalmaztunk BALB/c egerek kezelésére, azt tapasztaltuk, hogy 30 perccel a kezelés után igen komoly zavar következett be, amelynél az egerek hiperaktivitását figyelhettük meg és csak a mellő lábakat használták, a hátsó lábakkal csak rugdostak.

Azt tapasztaltuk, hogy paromomicint tartalmazó készítmények alkalmas hordozóanyag felhasználásával kvaterner ammónium-vegyület vagy DMSO jelenléte

nélkül igen hatásosan alkalmazhatók Leishmaniasis okozta sebek kezelésére BALB/c egerek esetében a lokális toxicitás jelensége nélkül.

A paromomicin egy igen nagy molekula, amely nem képes könnyen a bőrbe bejutni. A gyakorlatban ezt a hatóanyagot általában savaddíciós sója vagy észtere, különösen szulfátja formájában alkalmazzák. Általában számos lehetőség van, amellyel elősegíthető a hatóanyag bőrön keresztül való felszívódása. Az egyik ilyen lehetőség, hogy a hatóanyag-oldatot emulgeálják, amikoris krémet vagy kenőcsöt kapnak. Erre a célra emulgeáló szereket alkalmaznak.

Az egyik általánosan alkalmazott emulgeálószer például a gyapjúsír (lanolin), amelyet kezdettől fogva alkalmaztak paromomicin esetében. A paromomicint, gyapjúsírt és inert hordozóanyagot különböző mennyiségben tartalmazó készítményeket vizsgáltak egereknél Leishmaniasis major okozta sebek vagy sérülések kezelésére. A kapott eredmények reményt keltőek voltak, de a későbbiekben a klinikai vizsgálatok folyamán a készítmények igen kis hatásúnak mutatkoztak. Ez valószínűleg annak tudható be, hogy az egerek és az emberek bőrének szerkezete igen eltérő.

Egy másik lehetőség a bőrön keresztül való felszívódást elősegítő emulziók előállítására az, hogy a hatóanyagot transzdermális penetrációt fokozó szer jelenlétében formulázzák. Ezért egy olyan szert akartunk alkalmazni a paromomicinnel együtt, amelynek nincs a kvaterner ammónium-vegyülethez hasonló toxikus hatása. Egyike az ilyen szereknek a karbamid, amelyet paromomicinnel kombináltan alkalmaztunk inert hordozóanyag jelenlétében, és meglepően nagy klinikai hatást tapasztaltunk. Ez különösen váratlan volt a gyapjúsírral kapott eredménytelenség ismeretében.

A fentieknek megfelelően a találmányunk bőr-Leishmaniasis topikális kezelésére alkalmas készítmények előállítására vonatkozik, amely lényegében nem toxikus hordozóanyagot, karbamidot és csupán egyetlen gyógyhatású vagy profilaktikus szert, paromomicint vagy annak nem toxikus savaddíciós sóját vagy észterét tartalmazza.

Közelebbről, a készítmény nem tartalmaz kvaterner ammónium-vegyületet, így például metil-benzetonium-kloridot, amely topikális anti-infekciós hatású anyag.

A találmány szerinti készítmények alkalmasak bőr-Leishmaniasis kezelésére, amelynél a fentiek szerinti gyógyszerkészítmény hatásos mennyiségét alkalmazzuk.

A találmány szerinti készítményekkel lehetségessé válik a bőr-Leishmaniasis hatásos kezelése, de anélkül, hogy az eddig ismert készítményekhez hasonló lokális toxikusság fellépne, mint például amilyen a 2 117 327 számú nagy-britanniai szabadalmi leírás szerinti paromomicin-tartalmú készítménnyel fellép. Így módon a találmány szerinti készítmények igen jelentős haladást jelentenek a Leishmaniasis topikális kezelése területén.

A találmány szerinti készítményeknél inert hordozóanyagként különösen alkalmasak a szénhidrogén bázisú anyagok, így például a kemény vagy fehér lágy paraffin vagy más egyéb hordozóanyagok vagy hordo-

zóanyag-kombinációk is felhasználhatók, így például használhatók különböző emulgeálószeresek, nem-toxikus oldószeresek vagy víz-oldható anyagok. Azokon a területeken, ahol a bőr-Leishmaniasis járványszerűen előfordul, a környezeti hőmérséklet igen gyakran igen magas, így például 40 °C vagy a fölötti érték és emiatt szükség van a hordozóanyag olyan megválasztására, hogy az kellő mértékben tapadjon a bőrhöz. A hordozóanyag vagy hordozóanyagok általában a találmány szerinti készítmény össztömegére vonatkoztatva 99–50 tömeg%, például 94–50 tömeg%, vagy 85–60 tömeg% mennyiségűek, különösen előnyös, ha 80 vagy 75 tömeg% mennyiségben kerülnek felhasználásra.

A kenőcs és krém készítmények mellett más alkalmas formában is előállíthatjuk a találmány szerinti készítményeket, így például lemosó vagy ecsetelő készítmények formájában. Ezen túlmenően előnyös még a bőr impregnálására szolgáló készítmények is.

A találmány szerinti gyógyszerkészítményekben a paromomicin vagy sója vagy észtere általában 1–20 tömeg%, így például 3–20 tömeg% vagy 5–20 tömeg% mennyiségben van jelen. A 8–16 tömeg%, így például a 9–15 tömeg%, vagy 10–14 tömeg% hatóanyag mennyiség különösen előnyös. Mint már a fentiekben említettük, a paromomicint előnyösen nem toxikus sója, így például szulfátja vagy például észtere, így például alkilésztere, így például 1–4 szénatomos alkilésztere formájában alkalmazzuk.

A paromomicint a készítményben, így például kenőcs készítményben általában igen finom por formájában (Brit gyógyszerkönyvi előírások) alkalmazzuk. A szemcseméret általában 125 µ vagy ez alatti érték és ez befolyásolhatja a hatóanyag bőrön keresztül történő felszívódását. Ennek megfelelően a készítmények előállításánál a paromomicint a kenőcsbe való bevitel előtt a megfelelő szemcseméretre kell mikronizálni, hogy a kívánt hatásosságot elérjük.

A karbamidot a találmány szerinti készítményekben szintén általában finom por, különösen 125 µ vagy ez alatti szemcsefinomságú por formájában visszük be. A karbamid mennyisége általában 5–30 tömeg%, így például 8–25 tömeg% vagy 10–20 tömeg%, különösen előnyösen 10 tömeg%.

A találmány szerinti készítmények előállítását úgy végezzük, hogy a paromomicint vagy nem toxikus savaddíciós sóját vagy észterét elkeverjük a karbamiddal és a hordozóanyaggal. Az előállításnál a gyógyszerkészítmények előállításánál általában ismert szokásos módszereket alkalmazzuk. Így például a kenőcs készítmények esetében úgy járunk el, hogy a finom por formájú paromomicint vagy nem toxikus sóját vagy észterét a karbamiddal együtt szobahőmérsékleten a kenőcs alapanyagban diszpergáljuk. Ha krémkészítményt kívánunk előállítani, akkor a karbamidot és a paromomicint vagy nem toxikus sóját vagy észterét vízben feloldjuk és a kapott oldatot a krém alapanyaggal általában 50–70 °C közötti hőmérsékleten elkeverjük.

A humán és állatgyógyászatban a találmány szerinti gyógyszerkészítményekkel a Leishmania nem-

zetséghez tartozó véglények által okozott bőrfertőzések kezelését úgy végezzük, hogy a készítményből, amely lényegében nem toxikus hordozóanyagot, karbamidot és egyetlen hatóanyagként paromomicint vagy annak savaddíciós sóját vagy észterét tartalmaz, hatásos mennyiséget viszünk fel a bőrfelületre topikális kezelésként.

A találmány szerinti készítményeket általában a beteg bőrfelületre naponta többször, előnyösen naponta kétszer visszük fel. A készítményt előnyösen 5 mm belső átmérőjű csővéggel felszerelt tubusból adagoljuk. Az ily módon kialakított tubusból 1 cm hosszan kinyomott kenőcs paromomicin és karbamid tartalmát a következőképpen határozzuk meg.

Polisztirol bemérőcsónakokat megszámozzunk és 1 cm hosszúságban golyóstollal megjelöljük. Mindegyik bemérőcsónakot kitérítjük és az előzőek szerint 5 mm belső átmérőjű csővéggel ellátott tubusból 15% paromomicin-szulfátot és 10% karbamidot fehér lágy paraffin alapanyagban tartalmazó kenőcsöt nyomunk bele. A kenőcsöt a kinyomás előtt a csővéggel leegyengettük, majd 1 cm hosszan szikével levágtuk. A bemérő csónakokat ezután ismét megmértük a kenőcs tömegének meghatározására. A kapott eredményeket 15 párhuzamos mérés esetében a következő táblázatban foglaljuk össze:

Bemérőcsónak száma	Kenőcs tömege (mg)	Bemérőcsónak száma	Kenőcs tömege (mg)
1	194	9	209
2	198	10	183
3	187	11	188
4	164	12	212
5	209	13	177
6	207	14	173
7	190	15	196
8	190		

A kenőcsök átlagos tömege = 191,8±3,5 mg.

Ezek alapján az 1 cm átmérőjű sebre adagolt paromomicin hatóanyag mennyisége kb. 29 mg és az ebben a dózisban lévő karbamid mennyisége 19 mg (egerek esetében). A humán betegeknek a beteg sebfelület átmérője általában nagyobb, így például 3 cm átmérőjű. A kenőcsöt ennek megfelelően általában az úgynevezett átlós technikával adagoljuk, amikor is két kenőcsöcsköt viszünk fel a sebre kereszt alakban, majd ott szétkenjük. E módon általában hatszor 1 cm-es kenőcs dózist viszünk fel 3 cm átmérőjű sebre, amikor is 173 mg paromomicint és 115 mg karbamidot adagolunk kezelésként.

A találmány szerinti készítményeket természetesen más alkalmas módon is adagolhatjuk, az alkalmazott dózis általában 2–60 mg, így például 10–30 mg paromomicin 1 cm nagyságú sebfelületre kezelésként.

A következő példakkal a találmányt illusztráljuk közelebbről.

1. példa

Készítmény előállítás

Kenőcs készítményt állítunk elő oly módon, hogy paromomicin-szulfát port és karbamidot fehér, lágy paraffinban (WSP) diszpergálunk szobahőmérsékleten. Az alkalmazott paromomicin-szulfát részecskemérete 125 μ és a karbamid részecske mérete kisebb mint 125 μ . Több készítményt állítunk elő, amelyek összetétele a következő:

- A: Paromomicin-szulfát 15 t%
Karbamid 10 t%
WSP a 100%-ig fennmaradó rész
- B: Paromomicin-szulfát 10 t%
Karbamid 10 t%
WSP a 100%-ig fennmaradó rész

1. összehasonlító példa

125 μ részecskeméretű paromomicin felhasználásával a következő készítményeket állítottuk elő:

- C: Paromomicin-szulfát 15 t%
Gyapjúsír 32 t%
WSP 25 t%
Víz 25 t%
- D: Paromomicin-szulfát 10%
WSP a 100%-ig szükséges mennyiségben
- E: Gyapjúsír 10%
Víz 16,7%
WSP 30,6%
- F: Paromomicin-szulfát 5%
Gyapjúsír 50,5%
Víz 8,5%
WSP 36%
- G: Paromomicin-szulfát 15%
WSP a 100%-ig szükséges mennyiségben
- H: Paromomicin-szulfát 25%
Metil-benzetionium-klorid 12%
WSP a 100%-ig szükséges mennyiségben
- I: Gyapjúsír 50%
WSP 25%
Víz 25%

A fenti A, D és H készítmények kenőcs készítmények, amelyeket a finomeloszlású paromomicin-szulfát WSP-ben való diszpergálásával állítottunk elő szobahőmérsékleten.

A C, E és F készítmények krémkészítmények, amelyeket úgy állítottunk elő, hogy paromomicin-szulfátot vízben oldottunk, majd a kapott oldatot WSP-ben és a gyapjúsírban 60 °C-on diszpergáltuk. Az így kapott krémet teljes lehűlésig kevertük.

Az I készítmény krémkészítmény, amelyet úgy állítottunk elő, hogy a gyapjúsírt és a WSP-t 60 °C hőmérsékleten összekevertük, majd a teljes lehűlésig homogenizáltuk.

A H készítmény a 2 117 237 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásban ismertetett készítmény.

2. példa

In vivo vizsgálatok egereken

Az 1. példa és az 1. összehasonlító példa szerinti készítményeket a következőképpen vizsgáltuk.

A 10 mm átmérőjű sérült bőrfelületre 10 mm hosszúságú csíkokat nyomtunk az 5 mm belső átmérőjű csővéggel ellátott tubusból. A felvitt készítmények átlagos tömege $203 \pm 4,6$ mg volt, a készítmények paromomicin tartalma 5–15 t%, így az átlagos topikális dózis 10–30 mg paromomicin kezelésenként.

A vizsgálatokhoz BALB/c egereket a fartájon az L. major JISHA 118 clone 6 Saudi Arabian törzs 1×10^7 mennyiségével inokuláltuk. Miután a sérülés kifejlődött, topikális kezelést alkalmaztunk kétszer naponta 10 napon át. A kezelés hatását hetente követtük a sebfelület átmérőjének meghatározásával 4 hónapon át. A seb túlnyomórészt fekélyszerű volt, de zárt göbök is jelen voltak a kísérlet kezdetén egyes állatoknál.

A kapott eredményeket az 1. és 2. táblázatban foglaljuk össze. Kivéve a G készítményt, amely kvaterner ammónium vegyületet tartalmazott, a kezelés első 10 napja alatt gyakorlatilag nem volt változás a sebfelületen. Ugyanakkor az A jelű, karbamidot tartalmazó készítmény viszonylag eredményesnek mutatkozott. Ezután a seb éles szélei megszűntek, a fekélyesedés felöltődött a szövet burjánzással és epitélium vont be a sebhelyet. A sebhelyen a szőrnövekedés lassan megindult. A hatás lassú volt, a maximális hatást először 3-4 héttel a kezelés befejezése után lehetett megfigyelni.

A kvaterner-ammónium-vegyületek, metil-benzetionium-kloridot tartalmazó készítménnyel kezelt egereknél 30 perccel a kezelés megkezdése után nagyfokú zavar mutatkozott. A kísérleti állatok hiperaktívvá váltak, mellső lábaikat mozgatták, összegömbölyödtek és a hátsó lábaikkal rugdalóztak. A kezelés 7. napján a fekélyesedés fokozódott, bőrelhalás, fekete elszíneződés jelentkezett, a seb környékén a szőr kihullott, pirosdás lépett fel és elhalt bőrrészek váltak le. A készítmény adagolásának befejezése után a seb igen lassan gyógyult. A sebhely nagyobb volt és gyulladtabb, mint a többi kezelések esetén.

1. táblázat

15% paromomicin-készítmény BALB/c egerek L. major által okozott sebek topikális kezelésére

Készítmény	Kezelés (mg)	Seb átl. átmérője (mm) 4. hét	Gyógyulás mértéke (Seb nélküli egerek száma/kezelt egerek száma)	
			4. hét	3. hónap
–	Kezeletlen	$15,5 \pm 0,5$	0/7	0/7
G	Fehér lágy paraffin	$0,1 \pm 0,5$	6/7	0/7
A	10% karbamid fehér lágy paraffinban	$1,3 \pm 1,0$	5/7	1/7
C	Fehér lágy paraffin, víz, víz-es gyapjúsír	$1,2 \pm 1,0$	6/7	2/7

Készít- mény	Kezelés (mg)	Seb átl. át- mérője (mm) 4. hét	Gyógyulás mértéke (Seb nélküli egerek száma/kezelt egerek száma)	
			4. hét	3. hónap
H	2 117 237 sz. nagy-britan- niai szab. szerint	0	5/7	1/7

2. táblázat

Különböző mennyiségű paromomicint tartalmazó készítmények alkalmazása *L. major*-fertőzött BABL/c egerek kezelésére

Készít- mény	Paromo- micin (%)	Seb átl. át- mérője (mm) 3. hét	Gyógyulás mértéke (Seb nélküli egerek száma/kezelt egerek száma)	
			3. hét	3. hónap
	–	12,6±0,1	0/7	–
I	–	11,9±1,2	0/7	–
E	15	0	7/7	7/7
D	10	0	7/7	7/7
F	5	1,0±0,9	1/7	0/7
G	15	0,4±0,4	1/6	6/6
A	15	0	6/6	6/6

3. példa

Klinikai vizsgálatok

L. major, *L. infantum* vagy *L. tropica* törzsek által okozott bőrelváltozásokban szenvedő betegeket kezeltünk topikálisan az 1. példa szerinti A és az összehasonlító példa szerinti C és H készítményekkel. Derékszögű kereszt alakban 5 mm belső átmérőjű csővéggel ellátott tubusból nyomtuk a készítményeket a sebekre, majd a kenőcsöt a sebfelületen egyenletes vastagságban szétkentük.

A kapott eredményeket a 3. táblázatban foglaljuk össze. Az eredmények azt mutatják, hogy bár a metilbenzetonium-kloridot és paromomicint kombináltan tartalmazó készítmény gyógyhatása megközelíti a karbamid hatását, azonban a készítmény alkalmazása igen komoly helyi toxicitást okoz, ami felhasználhatatlanná teszi gyógyászati célra. Ily módon a karbamid tűnik a leghatásosabb transzdermális hatást fokozó szernek.

3. táblázat

Készít- mény	Paromo- micin melleti adjuváns	Kezelt betegek száma („a” viz- sgálatsoro- zat)	Kezelt betegek száma („b” viz- sgálatsoro- zat)	Vizsgálatok ered- ménye	
				Elégte- len (bete- gek szá- ma („a” sorozat)	Betegek száma, ahol toxi- kusság jelentke- zett („b” sorozat)
A	Karba- mid	7	6	1*	1**
C	Gyapjú- zsír	3	0	3	0
H	Metil- benzeto- nium- klorid	12	10	2	10

* Paraziták elpusztultak, de a sebgyógyulás elégtelen az ischémias lábak miatt

** Ismételt alkalmazásnál sem figyelhető meg toxicitás

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás bőr-Leishmaniasis topikális kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy lényegében nem-toxikus hordozóanyagot, 5–30 tömeg% karbamidot és egyetlen gyógyhatású vagy profilaktikus szerként 1–20 tömeg% paromomicint vagy nem-toxikus savaddíciós sóját vagy észterét elkeverjük és topikális adagolásra alkalmas készítménnyé alakítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás *azzal jellemezve*, hogy a paromomicint vagy nem-toxikus sóját vagy észterét 8–16 tömeg% mennyiségben alkalmazzuk.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás *azzal jellemezve*, hogy nem-toxikus savaddíciós sóként paromomicin-szulfátot alkalmazunk.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás *azzal jellemezve*, hogy hordozóanyagként fehér, lágy paraffint alkalmazunk.

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás *azzal jellemezve*, hogy a paromomicint, sóját vagy észterét mikronizált formában alkalmazzuk.

6. Az 1. igénypont szerinti eljárás *azzal jellemezve*, hogy a finomeloszlású paromomicint, sóját vagy észterét és a finomeloszlású karbamidot kenőcs alapanyagban diszpergáljuk, vagy a paromomicint vagy sóját vagy észterét és a karbamidot vízben oldjuk és a kapott oldatot krém-alapanyagban diszpergáljuk.