

1492/97

16170

63.720/BE

A

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

KIVONAT

77527

**Szexuális úton átvihető betegségek elleni készítmény és  
alkalmazása**

COLUMBIA LABORATORIES, INC., COCONUT GROVE, FL, US

A bejelentés napja: 1995. 10. 06.

Elsőbbsége: 1994.10.07., 08/319,495 US

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US95/13424

A nemzetközi közzététel száma: WO 96/10989

A találmány egy térhálósított polikarbonsav polimert és egy anti-STD-t (szexuálisan átvihető betegség = sexually-transmitted disease elleni szert) tartalmazó kibocsátószer-készítményen alapuló hatóanyag-készítményre és alkalmazására vonatkozik, amelynek célja, hogy az anti-STD-t, például a nonoxonil-9-et nyálkahártya-felületekre, különösen egy testüreg nyálkahártya-felületére adagolják, mégpedig bármely anti-STD esetén olyan lokális koncentrációkat biztosítva, amely elegendő egy STD általi fertőzés gátlására vagy megelőzésére, miközben a lokális szövetirritációk és az anti-STD hatóanyagok készítményeivel gyakran együttjáró mellékhatások lényegesen csökkennek.

Jell. Lbw. —

1998. 12. 19.

1492/97

16 170

**S.B.G. & K.**  
Nemzetközi  
Szabadalmi Iroda  
H-1062 Budapest, Andrásy út 113.  
Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-323

**63.720/BE**

A

**KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY**

**Szexuális úton átvihető betegségek elleni készítmény és alkalmazása**

**COLUMBIA LABORATORIES, INC., COCONUT GROVE, FL, US**

**Feltalálók:**

**BOLOGNA William Joseph, NEW YORK, NY, US**

**LEVINE Howard Leslie, OCEANSIDE, NY, US**

**A bejelentés napja: 1995.10.06.**

**Elsőbbsége: 1994.10.07., 08/319,495 US**

**A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US95/13424**

**A nemzetközi közzététel száma: WO 96/10989**

A találmány anti-STD szerek viszonylag kis koncentrációinak nyújtott hatását biztosító bioadhezív polimer készítményre vonatkozik, ahol a készítmény legalább egy térhálósított polikarbonsav polimert és egy anti-STD szert tartalmaz.

A HIV (Human Immunodeficiency Virus) valószínűleg az AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) etiológiai anyaga. A HIV fertőzés mechanizmusának felderítésére, valamint a HIV fertőzés megelőzésére vagy gyógyítására alkalmas szerek felkutatására igen erőteljes és kiterjedt vizsgálatok történtek már és folynak jelenleg is, sajnálatos módon nem sok sikerrel.

A vizsgálatok egyik részének középpontjában a vírus általi fertőzés megelőzése áll. A heteroszexuális népesség számára szolgáló egyik módszer olyan szereknek a nemi érintkezés előtti és alatti vaginalis alkalmazására vonatkozik, amelyek inaktívváják a vírust vagy megszüntetik annak fertőzőképességét. Ennek egyik példája az olyan, felületaktívanyag- vagy detergens-alapú spermicidek, például a nonoxinol-9 ("N-9") alkalmazása, amelyekről bizonyított, hogy a spermicidnek a vaginába történő coitus előtti elhelyezése után a közösülés ideje alatt várható koncentrációja HIV ellenes és egyéb szexuális úton átvihető betegségek (sexually-transmitted diseases, STD-k) elleni aktivitást biztosít. Azonban az anti-STD és a spermicid aktivitás egyidejű jelenléte nem szükségszerű követelmény. Az N-9 jelenleg hozzáférhető készítményei olyan zselék és szivacsok, amelyek a vaginában történő spermicid felhasználásra szolgálnak. Viszont azoknál a koncentrációknál, amelyek hatásosan csökkentik a cervicalis Gonococcus- és Chlamydia-fertőzések mértékét,

a vagina és/vagy a penis szimptomatikus irritációja jelentős mértékben fokozódik. A korábbiakban megvizsgálták, hogy az N-9 fogamzásgátló szivacs milyen mértékben képes megakadályozni fokozottan veszélyeztetett nők esetén a szexuális úton történő HIV fertőződést. Megállapították, hogy az N-9 a HIV fertőzés csökkentése szempontjából hatástalan, viszont a genitális fekélyek és a vulvitis gyakorisága ugrásszerűen megnőtt.

A fentiek alapján érthető, hogy jelentős érdeklődés mutatkozik az anti-STD-k olyan adagolási rendszerei iránt, amelyek a gazdaszervezet vagy a partner szervezetének károsítása nélkül megtartják az anti-STD és a fertőző ágens közötti kapcsolatot.

Az N-9-ről már bizonyítást nyert, hogy hatékonyan gátol számos szexuális úton átvihető betegséget, amilyenek például a következők: AIDS, gonorrhoea, clamidia- és trichomonasfertőzések, szifilisz és herpes genitalis [lásd például: Niruthisard, S. et al., LANCET, 339, 1371 (1992)].

Azt is igazolták már, hogy egy kereskedelmi forgalomban megvásárolható, 5 % N-9-et tartalmazó fogamzásgátló zselé vaginális alkalmazása egerekben hatékonyan gátolja a 2-es típusú herpes simplex vírus (HSV-2) fertőzések vaginális átvitelét [Whaley, K. J., et al. J. INFECT. DISEASES, 168, 1009, 1010-1111 (1993)]. A dextránokról és a poliszacharidok karragén típusairól kimutatták, hogy nagy valószínűséggel HIV-ellenes hatással rendelkeznek [lásd például: Pearce-Pratt, R., et al. BIO. REPROD., 48, 431, 432 (1993)].

Egy térhálósított polikarbonsav polimer alapú készítményről leírták, hogy az hatásosan alkalmazható a bőr vagy a nyál-

kahártyák, például a vaginalis szövet nedvesítésére (90300327.5 és 90300340.8 sorozatszámú európai szabadalmi bejelentés).

A jelen találmány anti-STD szerek terápia, a gazdaszövet-re gyakorolt lényeges hatás nélküli koncentrációban történő beadására szolgáló olyan eljárásra és hatóanyag-kibocsátó készítményre vonatkozik, amely fokozva az anti-STD aktivitását lehetővé teszi a hatóanyag lényegesen kisebb koncentrációban történő alkalmazását. A találmány egy olyan készítmény alkalmazásán alapul, amely egy bioadhezív térhálósított polikarbonsav polimer tartalmaz egy anti-STD szernek egy STD-t okozó fertőző anyag veszélyének kitett nyálkahártya-felületen lokálisan történő adagolására. Az említett nyálkahártya legjellegzetesebben egy testüreg, például a vagina vagy a rectum nyálkahártyája. Az eljárás a gazdaszervezet STD ágensek általi fertőzésének megelőzésére alkalmazható.

Az 1. ábra önmagában az N-9-nek és egy olyan készítménynek (F-Po/N9) az összehasonlító *in vitro* virucid hatását mutatja be, amely készítmény N-9-et és polikarbofilt tartalmaz (a részletes ismertetés az 1. példában található). Amint az a logaritmusos grafikonon látható, a termelődött syncytiasejtek számának csökkenése egyértelműen igazolja az N-9 vírusellenes hatásának a találmány szerinti fokozását. Az 1. ábrán látható, hogy önmagában a nonixonol-9 1 és 0,1 µg/ml koncentrációban 36 %-ra és 72 %-ra csökkentette a vírusfertőzést az alábbi 1. példában ismertetett HIV vírusszuszpenzió által okozott vírusfertőzéshez képest. Ugyanakkor azonban, ha a vírust ehelyett olyan F-Po/N9 készítménnyel érintkeztettük, amelyben az N-9 koncentráció csak

0,35 és 0,035 µg/ml volt, a HIV vírusszuszpenzió által okozott vírusfertőzés 23 %-ra és 47 %-ra csökkent. Az 1. ábrán az N-9-re vonatkozó adatokat négyzetekkel, míg az F-Po/N9 készítmény esetén nyert értékeket háromszögekkel jelöltük.

A jelen találmány egy térhálósított polikarbonsav polimert és egy anti-STD-t tartalmazó kibocsátószer-készítményen alapuló hatóanyag-készítmény alkalmazására vonatkozik, amelynek célja, hogy az anti-STD-t, például az N-9-et nyálkahártya-felületekre, különösen egy testüreg nyálkahártya-felületére adagoljuk, mégpedig bármely anti-STD esetén olyan lokális koncentrációkat biztosítva, amely elegendő egy STD általi fertőzés gátlására vagy megelőzésére, miközben a lokális szövetirritációk és az anti-STD hatóanyagok készítményeivel gyakran együttjáró mellékhatások lényegesen csökkennek.

Egy térhálósított polikarbonsav polimer és egy anti-STD hatóanyag kombinációjának alkalmazása számos előnnyel jár az anti-STD hatóanyag önmagában történő alkalmazásával szemben. Az ilyen polimerek azáltal, hogy az anti-STD-t érintkezésben tartják a gazdaszervezet testüregszövetével és a fertőzött szövetekkel vagy sejtekkel, fokozzák az anti-STD hatóanyag anti-STD hatását, és meghosszabbítják a fertőzőanyag-ellenes komponens és a fertőző anyag közötti kölcsönhatás időtartamát. Ennek egyik eredményeként a fertőzőanyag-ellenes aktivitás eléréséhez az STD komponenst elegendő kisebb koncentrációban alkalmazni. Ilyen kisebb koncentráció mellett lényegesen lecsökken az anti-STD hatóanyag által okozott mellékhatások és epithelialis irritációk súlyossága és kiterjedése. A bioadhezív polimer rend-

szernek az egyik legnagyobb előnye az, hogy viszonylag hosszú, például 48-72 órás időtartamon keresztül megmarad a testüregben, például a vaginában, míg a legtöbb hatóanyag-kibocsátó rendszer négy órán belül leválik a vagina faláról. A polimer erősen tartja a fertőzőanyag-ellenes hatóanyagot és az idő előrehaladásával lassan teszi szabaddá azt. A hatóanyag-kibocsátó rendszer közvetlenül érintkezhet a nemi közösülés során odakerült vagy a közösülés előtti vaginalis vagy penis szekrétumban jelen lévő spermával és/vagy fertőző anyaggal. Az kibocsátó rendszer annyi fertőzőanyag-ellenes hatóanyagot tesz szabaddá, ami egyrészt elegendő a fertőzés esélyének hatékonyan csökkentéséhez, másrészt viszont csak lényegesen kisebb gyakorisággal okoz kellemetlen irritációt a genitális szöveteken.

A testüreg nyálkahártya-felületi irritáció vagy más epithelialis szövetirritáció csökkenése lehetőséget nyújt a hatóanyag megbízhatóbb alkalmazására, azaz az STD és/vagy a terhesség hatékonyabb megakadályozására. Eltérően a legtöbb terméktől, amelyek síkosítóanyagokon (lubrikánsokon) alapulnak, a találmány szerinti alapkészítmény egy nedvesítőszer, ami tovább fokozza komfortérzetet. Tehát a kisebb koncentrációk hatékony alkalmazása lehetőséget nyújt arra, hogy dózisonként kisebb mennyiségű N-9-et alkalmazzunk. A találmány szerinti megoldás egy másik előnye az, hogy a találmány szerinti készítmények viszonylag egyszerűen előállíthatók. A jelen találmány további előnye, hogy a találmány szerinti készítmények könnyen alkalmazhatók, amelyhez nincs szükség szivacsra vagy más olyan eszközre, amit fizikálisan be kell vezetni és az adott helyen kell

hagyni, majd egy későbbi időpontban el kell távolítani a hatás kifejtésének helyéről. A készítményből csak kisebb mennyiségre van szükség, ami a tisztább alkalmazást segíti elő, ugyanakkor csökkenti a szivárgás veszélyét, illetve fokozza a megfelelő alkalmazás biztonságát. A találmánynak egy ismét további előnyét jelenti, hogy a felhasználó a terméket a nemi közösülés előtt nemcsak néhány perccel, hanem lényegesen hosszabb idővel korábban is alkalmazhatja, anélkül hogy a készítmény hatékonysága lényegesen csökkenne, ami ugyancsak kényelmesebbé teszi a termék használatát.

A hatóanyag-kibocsátó készítményben alkalmazott polimer egy olyan térhálósított polikarbonsav polimer, amelyben a polimert alkotó monomerek legalább 80 %-a legalább egy karboxilcsoportot tartalmaz. A térhálósító szernek olyan mennyiségben kell jelen lennie, ami elegendő bioadhéziót biztosít ahhoz, hogy a rendszer a megcélzott epithelialis felületekhez tapadva maradjon, előnyösen 24-48 órán keresztül. Ilyen klinikai eredményeket mérhetünk különböző időtartamokon keresztül, ha a vaginalis üregből nyert mintákat megvizsgáljuk az anti-STD hatóanyag koncentrációjára vagy a polimer folyamatos jelenléte következtében fellépő pH-csökkenésre, illetve mindkettőre nézve.

Az ilyen mértékű bioadhéziót szokásosan akkor érjük el, ha a térhálósító szer a polimer körülbelül 0,1-6,0 tömeg%-ának, előnyösen körülbelül 1,0-2,0 tömeg%-ának megfelelő mennyiségben van jelen. A bioadhézió értékét a tapadószilárdság mérésére alkalmas, kereskedelmi forgalomban lévő felületifeszültség-mérőkel is meghatározhatjuk. Az alkalmas térhálósító szerek közé

tartoznak — egyebek mellett — például a következők: divinil-glikol, divinil-benzol, *N,N*-diallil-akrilamid, 3,4-dihidroxi-1,5-hexadién, 2,5-dimetil-1,5-hexadién stb.

A találmány szerinti hatóanyag-kibocsátó rendszer alapkészítményét — azaz azt a térhálósított polikarbonsav polimer készítményt, amelyhez hozzáadjuk az anti-STD hatóanyagot — általában a 4 615 697. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertetik. A jelen találmány szerinti megoldásban történő felhasználásra alkalmas polimerek egyik előnyös példája a Polycarbophyl, U.S.P. (a továbbiakban: polikarbofil), ami kereskedelmi forgalomban NOVEON<sup>®</sup>-AA1 márkanéven a következő cégtől szerezhető be: B. F. Goodrich Specialty Polymers of Cleveland, Ohio, Amerikai Egyesült Államok. Az amerikai gyógyszerkönyv (The United States Pharmacopeia, 1995 edition, United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Maryland, pp. 1240-1241) szerint a polikarbofil egy divinil-glikollal térhálósított poliakrilsav.

A 4 615 697. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban további, a jelen találmány szerinti megoldásban felhasználható bioadhezív polimereket is megemlítenek. Egyebek mellett ezek közé tartoznak a például 3,4-dihidroxi-1,5-hexadiénnel térhálósított poliakrilsav polimerek és a például divinil-benzollal térhálósított polimetakrilsav polimerek.

Ezeket a polimereket nem szabad a sóformáikban alkalmazni, mivel ez csökkentené a polimerek bioadhéziós képességét. Az ilyen bioadhezív polimereket szokásos szabad gyökös polimerizációval állíthatjuk elő, amelynek során iniciátorokként például

benzoil-peroxidot, azo-bisz(izobutiro-nitril)-t stb. alkalmazhatunk. Az alkalmas bioadhezívek példaszerű előállítására megtalálható a 4 615 697. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban.

Ezenkívül a hatóanyag-kibocsátó rendszer maximális hatékonysága, illetve a beteg komfortérzetének növelése érdekében a 4 615 697. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertetett adalékokat is összekeverhetjük a készítményben a térhálósított polimerrel. Az ilyen adalékok közé tartoznak — egyebek mellett — például a következők: síkosítószerrek (lubrikánsok), lágyítók, tartósítószerrek, gélképzők, kötőanyagok, vivőanyagok, színezőszerrek, íz- és/vagy illatszabályozó anyagok, nedvesítők, viszkozitásszabályozó anyagok stb. Az adalékok előnyösen semmiféle káros hatást nem gyakorolnak a hatóanyag-kibocsátó készítmény anti-STD és/vagy spermicid aktivitására.

Az N-9-cel kezelhető STD-k közé tartoznak — egyebek mellett — például a következő betegségek: AIDS, gonorrhoea, clamidia- és trichomonasfertőzések, szifilisz és herpes genitalis. Az egyéb anti-STD hatóanyagok magukban foglalják például a következőket: egyéb detergens/felületaktív anyagok, például oktoxinol-9, klórhexidin és benzalkónium-klorid, amelyek általában ugyancsak hatásosak az STD-ékkal szemben; anti-metabolitok, például AZT; valamint kompetitív kötésinhibitorok, például dextránok, amelyek mindegyike igen hatásos a vírusos STD-vel, például a HIV-vel és a herpes genitalis-szal szemben.

A készítménybe történő bekeverés során az anti-STD rever-

zibilisen kapcsolódik a polimerrel. A felhasználás során az anti-STD az idő előrehaladásával lassan kilép a készítményből; ennek sebességét a készítmény komponenseinek részarányai és koncentrációi határozzák meg. A különféle STD-k esetén a pontos koncentrációkat teszteléssel és az egyedi STD-vel szemben alkalmazott anti-STD különféle koncentrációi esetén nyert eredmények összehasonlításával határozhatjuk meg, például az alábbi 2. példában ismertetett tesztekhez hasonló vizsgálatok során.

Például egy 50 kg-os F-Po/N9 készítmény összetétele a következő lehet:

ÖSSZETEVŐ	MENNYISÉG (kg)
nonoxinol-9	1,750
metil-parabén	0,090
szorbinsav	0,040
carbomer 934P	0,250
polikarbofil	0,500
glicerin	5,000
ásványolaj	2,500
hidrogénezett pálmaolaj- -glicerid	0,500
nátrium-hidroxid	0,0125
tisztított víz	39,3575

A metil-parabén és a szorbinsav tartósítószer, amelyek helyett bármely más megfelelő tartósítószer, például benzooesavat vagy propionsavat is felhasználhatunk.

A carbomer 934P egy gélképző, amely más gélképzőkkel, például carbomer 974-gyel, carbomer 980-nal, metil-cellulózzal vagy propil-cellulózzal kicserélhető.

A glicerín nedvesítőszer; alternatív nedvesítőszer például a propilén-glikol vagy a dipropilén-glikol.

Az ásványolaj és a hidrogénezett pálmaolaj síkosítóanyag (lubrikáns). Kicserélhetők bármely ásványolajjal vagy növényi olajjal, például kanolaolajjal, pálmaolajjal vagy könnyű ásványolajjal.

A nátrium-hidroxid egyszerűen erős bázis, amelynek feladata a pH-érték beállítása; ugyanerre a célra bármely más szokásosan alkalmazott bázis is felhasználható.

Az előállítás általános lépései során hidratáljuk a polimereket, külön-külön összekeverjük a vízdékony összetevőket ("polimerfázis") és az olajoldékony komponenseket ("olajfázis"), összekeverjük és melegítjük a két fázist, majd homogenizáljuk a keveréket. Ebben a példában valamennyi összetevő jól ismert, amelyeket az iparban általánosan ismert szállítóktól egyszerűen beszerezhetünk.

Például a polimerfázist úgy állíthatjuk elő, hogy a szorbinsavat és a metil-parabént előnyösen 75-78 °C hőmérsékleten feloldjuk tisztított vízben (ennek során a párolgási veszteségre tekintettel általában 3 %-os feleslegben vesszük a vizet). Az oldatot lehűtjük, általában szobahőmérsékletre, majd hozzáadjuk a polikarbofilit és carbomer 934P-t. A polimereket több órán keresztül, általában 2-3 órán át keverve addig hidratáljuk, amíg egy egyenletes, homogén, csomómentes, gélszerű polimerkeveréket nyerünk. Amikor a polimerek tökéletesen hidratálódtak, hozzáadjuk a nonoxinol-9-et, majd a keveréket addig keverjük, amíg egyenletes preparátumot nyerünk.

Az olajfázist általában úgy állítjuk elő, hogy a hidrogénezett pálmaolaj-gliceridet, a glicerint és az ásványolajat összeolvasztjuk. A keveréket körülbelül 60 °C hőmérsékletre hűtjük, miközben a polimerfázist körülbelül ugyanilyen hőmérsékletre melegítjük.

Ezt követően a polimerfázishoz hozzáadjuk az olajfázist, majd a két fázist igen alaposan összekeverve egy egyenletes, krémszerű, fehér terméket nyerünk. A nátrium-hidroxid bekeverésével a pH-t körülbelül 2,5-4,5 közötti értékre, általában körülbelül 4-re állítjuk be. Amikor a keverék lehűlt, levegőmentesítjük. Az előállítás jellegének, a pH-nak és a tartósítószer jelenlétének köszönhetően az így nyert termék aseptikus.

Az ezen a területen jártas szakember számára nyilvánvaló, hogy a készítmény összetételét egy egyedi koncentrációjú anti-STD hatóanyag hatékonyságának szabályozása érdekében módosíthatjuk. Például nagyobb vagy kisebb bioadhézió biztosításához megváltoztathatjuk a bioadhezív polimer koncentrációját. A gél viszkozitását a pH változtatásával, illetve a polimer vagy a gélképző anyag koncentrációjának módosításával állíthatjuk a megfelelő értékre. Az olajok vízhez viszonyított relatív koncentrációinak a változtatásával módosíthatjuk a hatóanyag-kibocsátó rendszerből történő anti-STD hatóanyag-felszabadulás sebességét. A készítmény hatóanyag-felszabadulási sebességét és bioadhezivitását a pH változtatásával is módosíthatjuk.

A hatóanyag-kibocsátó rendszert különféle, a szakterületen ismert módokon, például plunger, irrigátor, hüvelykúp illetve végbélkúp alkalmazásával vagy manuálisan juttathatjuk be a

testüregbe, például a vaginába vagy a rectumba. A bejuttatás egyik előnyös eljárása a D345 211. számú amerikai egyesült államokbeli ipari mintaoltalmi leírásban ismertetett eszköz alkalmazását foglalja magában. Az eszköz egy hosszúka, üreges tartály, amelynek az egyik vége nyitható, és a másik, összenyomható vége tartalmazza a bejuttatandó készítmény legnagyobb részét. Ezek az eszközök lehetőséget nyújtanak egy viszonylag könnyen felhasználható, a bejuttatandó polimer és hatóanyag előzetesen bemért mennyiségeit tartalmazó zárt tartály alkalmazására. A felhasználásig a tartályok is steril állapotban tartják a hatóanyagot és a polimert. A felhasználás során felnyitjuk a tartályt, a nyitott véget a kezelendő személy vagy partnere behelyezi a testüregbe, majd a másik véget összenyomva a tartály tartalmát bepréseli a testüregbe. Ennek megfelelően az F-Po/N9-et előnyösen egy olyan készlet (kit) formájában hozzuk forgalomba, amely legalább egy darab egyszeres dózisú bejuttató eszközt tartalmaz. A készlet a készítmény egyszeres vagy többszörös dózisát tartalmazhatja.

Az egyik előnyös készítmény esetén az F-Po/N9-et polikarbofil, U.S.P. (B. F. Goodrich Specialty Polymers of Cleveland, Ohio, Amerikai Egyesült Államok) alkalmazásával állítjuk elő, ahol a polimer egy körülbelül 1 %-os olyan gélkészítményben van, amelynek a pH-ja például nátrium-hidroxiddal körülbelül 2,5-4,5 közötti értékre van beállítva, és így a készítmény 40,000-90,000 Pa·s (40000-90000 cp) viszkozitású. Az anti-STD hatóanyag N-9, amelyet a teljes készítmény tömegére vonatkoztatva előnyösen körülbelül 2-5 tömeg%, optimálisan körülbelül

3,5 tömeg% mennyiségben alkalmazunk. A készítményt dózisonként a készítmény össztömegére vonatkoztatva előnyösen körülbelül 1 g és körülbelül 2,5 g közötti, legelőnyösebben körülbelül 1,5 g mennyiségben alkalmazzuk, ami az N-9 koncentrációja alapján számítva dózisonként előnyösen körülbelül 50 mg és 55 mg közötti mennyiségű, legelőnyösebben körülbelül 52,5 mg hatóanyagot jelent. Miután az alany megfelelő gyakorlással elsajátította a készítmény helyes alkalmazását, ideális esetben az alanynek egyetlen dózist kell felhasználnia minden egyes nemi aktus előtt. Az alkalmazott applikátor előnyösen egyszer használatos eszköz, amely alkalmas a kívánt mennyiség pontos adagolására. Ilyenek például a D345 211. számú amerikai egyesült államokbeli ipari mintaoltalmi leírásban, valamint a 29/019 916. sorozatszámú amerikai egyesült államokbeli ipari mintaoltalmi bejelentésben ismertetett eszközök, amelyek a készítmény kívánt dózisának legalább körülbelül  $\pm 5$  %-os pontosságú adagolását biztosítják.

A leírásban ismertetett példák korlátozó jelleg nélkül csak a találmány illusztrálására szolgálnak. A találmány oltalmi körén belül számos módosítást és változtatást hajthatunk végre a bemutatott példákban alkalmazott megoldásokban.

#### PÉLDÁK

##### 1. példa

Az N-9, a polikarbofil készítmény és az N-9-et tartalmazó polikarbofil készítmény HIV LAV1 BRU klón vírusszuspenzióra gyakorolt hatásainak összehasonlítása

Nonoxinol-9-et (N-9), egy 2 %-os polikarbofil készítményt (F-Po) és egy körülbelül 3,5 % N-9-et és körülbelül 1 % polikarbofilit tartalmazó készítményt (F-Po/N9) egy HIV LAV1 BRU retrovírus klón által okozott HT4LacZ celluláris fertőzésre gyakorolt hatásra nézve teszteltünk. A készítményeket a fentiekben tárgyalt leírásnak megfelelően állítottuk elő, azzal az eltéréssel, hogy az F-Po készítményt körülbelül 2 % polikarbofillel, N-9 nélkül és 0,5 % helyett körülbelül 1 % koncentrációjú carbomer 934P-vel készítettük el, és a hiányt (2 %) víz hozzáadásával pótoltuk.

Kontrollként üres vírusmintát, pozitív kontrollként pedig AZT-t alkalmaztunk. Az egyes készítményeket megfelelő koncentrációjú vizes szuszpenziókként állítottuk össze. A vírus-szuszpenzió 500 µl-es részleteit külön-külön összekevertük az egyes tesztoldatok egy-egy 50 µl-es részletével. Harminc perc elteltével minden egyes keverék 55 µl-ét egy DEAE dextránt is tartalmazó vájatban közvetlenül teszteltük a HT4LacZ sejteken. A tenyésztés ideje alatt a vírus bejuttatja a HT4LacZ sejtekből hiányzó tat gént, ami a  $\beta$ -galaktozidázt kódoló LacZ gén transzaktiválásához vezet; a folyamatot hisztokémiai színezéssel jelezzük. A tenyésztést 72 órán keresztül folytatjuk, majd a fertőzést egy fixátor hozzáadásával leállítjuk. Tíz perc elteltével PBS-sel kétszer mosást végzünk, majd a rendszerhez hozzáadjuk a színezőanyagot. Kilenc perc múlva, miután a syncytialis sejtek (többmagvú óriássejtek, amelyek számos sejt összeolvadásával képződnek, ha a sejtek HIV-vel fertőzöttek) kialakultak, a színezőanyagot vízzel helyettesítjük. Optikai mikroszkóppal

megfigyelést végzünk, amelynek eredményeit az 1. táblázatban foglaljuk össze.

1. táblázat

AZ F-PO/N9, AZ F-PO ÉS AZ N-9 HIV-ELLENES AKTIVITÁSA

Anyag	Végkoncentráció ( $\mu\text{g/ml}$ )	Syncytia-szám/vájat 2-4 vájat	Syncytia-szám összesen	Átlagos syncytia-szám/vájat	Százalékos csökkenés
referenciavírus	-	16, 15, 17	48	16	Ø
N-9	1,0	6, 5, 7, 5	23	5,75	64
N-9	0,10	12, 11, 13, 10	46	11,5	28
F-Po/N9	0,35	4, 3, 4, 4	15	3,75	77
F-Po/N9	0,035	8, 7, 9, 6	30	7,5	53
F-Po	200	13, -, 11, -	24	12	25
AZT	( $10^{-5}$ M)	0, 0, 0, 0	0	0	100

Az 1. táblázatban egy adott készítmény esetén a Ø %-os csökkenés a referenciavírus által okozott 100 %-os fertőzésnek felel meg, és a 100 %-os csökkenés a syncytiasejtek teljes hiányát jelenti a vájatokban. Míg az AZT pozitív kontroll 100 %-os

hatékonyságot mutatott a vírussal szemben (0 syncytiasejt képződött), addig a referenciavírus vájatonként átlagosan 16 syncytiasejt képződését eredményezte. A képződött syncytiasejtek számának csökkenése alapján mérve az N-9 önmagában 0,1 és 1 µg/ml végkoncentrációnál — az előbbi sorrendnek megfelelően — 28 %-os és 64 %-os hatékonyságot nyújtott a fertőzéssel szemben. Ehhez képest az F-Po/N9 még 0,35 és 0,035 µg/ml végső N-9 koncentrációban is — az előbbi sorrendnek megfelelően — 77 %-os és 53 %-os hatékonyságot biztosított a fertőzéssel szemben. Az F-Po 200 µg/ml polikarbofil végkoncentráció mellett a fertőzés 25 %-os csökkenését eredményezte. Amint az az 1. ábrán is látható, egyértelmű, hogy az N-9-et tartalmazó polikarbofil készítményben lévő N-9 lényegesen nagyobb koncentráció-hatékonyságot mutatott, mint az N-9 önmagában.

## 2. példa

### Az F-Po/N9 és az F-Po készítmény HIV-ellenes aktivitásának összehasonlítása

Összehasonlítottuk az 1. példa szerinti F-Po/N9 és F-Po készítmény HIV-ellenes hatásait. A vizsgálat során az MT2 sejtekből származó p24 core protein képződésének növekedését használtuk, ahol a vírusreplikáció indikációjához a sejttenyésztő folyadékban ELISA-t alkalmaztunk.

Az F-Po/N9 HIV-replikációra gyakorolt hatásának értékeléséhez a vírus hatásának kitett MT2 sejttenyésztő folyadék mintáit sorozathígításnak vetettük alá, majd a hígításokat a p24 antigén növekedésére nézve teszteltük. Feljegyeztük az egyes

vírushígítások esetén nyert abszorbanciaértékeket, majd kiszámítottuk az 50 %-os végpont értékét. Ebben a vizsgálatban az 50 %-os végpont annak a vírushígításnak felel meg, amely 450 nanométeres hullámhossznál 1000-es abszorbanciát eredményezne.

A CEM és CEMCBL1 sejt vonalak együttes tenyésztésével termelt HIV-IIIB vírusinokulumot szobahőmérsékleten egy percen keresztül összekevertük a készítmények egyenlő mennyiségével. Ezt követően a keveréket 1:10 térfogatarányú hígításnak megfelelően hozzáadtuk 800  $\mu$ l izotóniás acetátpufferhez. Az így kapott keverék 100  $\mu$ l-ét ezután egy kis szövettenyésztő palackban hozzáadtuk  $2 \times 10^6$  sejthez. Amennyiben a töménység szükségessé teszi, a keveréket a sejtek inokulálása előtt meghígítjuk annak érdekében, hogy a sejtekkel érintkező termékek végkoncentrációját 1  $\mu$ g/ml-nél kisebbre csökkentjük. Kontrollként a vírust összekevertük a pufferrel, majd egy perc elteltével a keveréket hasonló módon hígítottuk. A vírus sejtadszorpciójához és a fertőzés végbemeneteléhez egyórás 37 °C hőmérsékletű inkubálást végeztünk, majd a térfogat 11-ml-re történő kiegészítéséhez friss szövettenyésztő táptalajt adtunk a palackba. A palack tartalmát óvatosan összekevertük, a sejttenyésztésből 1 ml-es mintát vettünk, a mintát a mikrotiter teszt alkalmazásával a fertőző vírusra nézve titráltuk, majd a p24 antigén teszteléséig -20 °C hőmérsékleten tároltuk. A palackot 14 napon keresztül 37 °C hőmérsékleten inkubáltuk, amelynek során 1 ml-es mintákat vettünk a sejttenyésztő folyadékból, amelyeket titráltunk és a p24 teszteléséig tároltuk.

A vírusreplikáció időbeli folyamatának méréséhez indirekt

ELISA alkalmazásával valamennyi mintát teszteltük a p24 anti-génre nézve. Az inaktivált vírus állandó p24 szintet mutatna, jelezve azt, hogy replikáció nem történt.

Az F-Po készítmény a polikarbofil 2,0 mg/ml és 0,0002 mg/ml közötti koncentráció-tartományában körülbelül harmadával csökkentette a HIV-replikációt. Az F-Po/n9 készítmény viszont 100 mg/ml (3,5 mg/ml N-9) koncentráció mellett gyakorlatilag teljesen inaktiválta a HIV-replikációt, 0,10-10 mg/ml (0,0035-0,35 mg/ml N-9) koncentrációnál körülbelül harmadával, míg 0,01 mg/ml (0,00035 mg/ml) koncentráció mellett 20 %-nál kisebb mértékben csökkentette a HIV replikációját.

### 3. példa

#### Az N-9-et tartalmazó polikarbofil készítmény irritációs és kényelmi klinikai vizsgálatai

A fentiek szerint formált, alkalmazásonként körülbelül 52,5 mg hatóanyagot tartalmazó F-Po/N9 készítményt összehasonlítottuk a Today<sup>®</sup> szivaccsal, ami egy kereskedelmi forgalomban kapható, alkalmazásonként 1 g nonoxinol-9-et tartalmazó fogamzásgátló szivacstermék, valamint a Conceptrol<sup>®</sup> géllal, ami pedig egy kereskedelmi forgalomban kapható, alkalmazásonként 100 mg nonoxinol-9-et tartalmazó vaginalis fogamzásgátló gél. A vizsgálat során 31 nő naponként egyszer alkalmazta hétnapos periódusokban az egyes termékeket; az egyes termékek hétnapos alkalmazási időszakai között 21 napos "kiürülési" periódust iktattunk be. A szivacstermék alkalmazása során 24 órán keresztül hagytuk a helyén a szivacsot.

Az N-9 szérumkoncentrációjának méréséhez különböző időpontokban vérmintákat vettünk. A termékek egyike sem okozott szignifikáns szérumkoncentrációt egyik kísérleti alanyánál sem. A kísérletek során egy nőgyógyász vizsgálatot végzett a vaginalis vagy cervicalis irritációk, köztük a kivörösödés, a petechia, a fekélyesedés, a fertőzés, a pettyesség, a mozaikképződés, a leukoplakia, a nemszennyező pikkelyes epithelium, az oszlopos epithelium vagy a fehér epithelium jelenlétére és mértékére nézve is. A Conceptrol<sup>®</sup> gél esetén lényegesen nagyobb átlagos irritációs számot figyeltünk meg, mint az F-Po/N9-nél, míg a Today<sup>®</sup> szivacsnál az irritáció intenzitása volt szignifikánsan nagyobb, mint az F-Po/N9 készítmény esetén.

Egy különálló vizsgálatban 19 női kísérleti alanyt arra kértünk, hogy számoljon be az eltérő időpontokban alkalmazott F-Po/N9 készítménnyel és Today<sup>®</sup> szivaccsal kapcsolatos relatív irritációra és kényelmetlen érzetre vonatkozó szubjektív véleményéről. Tizennyolc kísérleti alany esetén azt is kértük, hogy jelölje meg, melyik terméket részesíti előnyben a másikkal szemben. Tíznapos periódusokban mindegyik terméket naponként alkalmazták a kísérleti alanyok. Az F-Po/N9 készítmény egységdózisa körülbelül 52,5 mg N-9 hatóanyagot tartalmazott, míg a Today<sup>®</sup> szivacs termék egységdózisai 1 g N-9 hatóanyagot tartalmaztak. A kísérleti alanyok a szivacs termékkel szemben egyértelműen az F-Po/N9 készítményt részesítették előnyben.

A találmány szerinti megoldás *in vivo* STD-ellenes hatékonyságának igazolására hasonló klinikai vizsgálatokat végezhettünk, mint amilyeneket a következő szakirodalmi helyeken ír-

tak le: Kreiss, J., et al., J.A.M.A., 268 (4), 477-482 (1992); és Niruthisard, S., et al., LANCET, 339, 1371-1375 (1992). Valamennyi vizsgálat során előzetesen nem fertőzött kísérleti alanyok meghatározott időn keresztül a nonoxinol-9 egyik vagy másik formáját alkalmazták, majd ezt követően a kísérleti alanyokat gondosan megfigyelték a különféle STD-kre vonatkozóan.

A fentieknek megfelelően vagy más módon formált F-Po/N9 készítményt a kontrollal párhuzamosan naponként alkalmazhatjuk a teszt kísérleti alanyainál, akiket az előzetesen elvégzett igen alapos szűrés során nemfertőzöttnek találtunk. A gondos megfigyelés és tesztelés alapján megállapíthatjuk egy egyedi STD esetén a relatív fertőzési arányt, és így az adott egyedi F-Po/N9 készítmény hatékonyságát.

Az N-9 egy olyan hatóanyag, amelyről a korábbiakban már bebizonyították, hogy semlegesíti a HIV-et és a HIV-tartalmú lymphocytákat. Ugyanakkor azonban az N-9-et általában olyan nagy koncentrációkban — alkalmazásonként szokásosan 100-400 mg, esetenként alkalmazásonként 1 g mennyiségben — alkalmazzák, ami igen súlyos és gyakori mellékhatásokat okoz, esetenként még a gazdasejtek lízise is előfordulhat. Az ilyen sérülés a fertőzésre való hajlam fokozódását is eredményezheti, ami az N-9 fertőzőanyag-ellenes aktivitásával részben vagy teljesen ellentétes eredményre vezet. A találmány lehetőséget nyújt arra, hogy az N-9 által biztosított, HIV-fertőzéssel vagy egyéb STD-kkel szembeni védelem csökkentése vagy a készítmény spermicid hatásának gyengítése nélkül például egy olyan terméket alkalmazzunk, amely egy polimerként polikarbofil alkalmazásával

előállított készítményben csak körülbelül 52,5 g nonoxinol-9-et tartalmaz. Ezen túlmenően a polimer önmagában is HIV-ellenes hatású. Ez a hatás feltehetően a polianionoknak azon a bizonyított képességén alapul, amelynek értelmében a polianionok — valószínűleg elektrosztatikus szűrés útján — gátolják a HIV-nek az érzékenysejtekhez történő kapcsolódását. Nyilvánvaló, hogy a találmány szerinti készítmény fokozza az N-9 HIV-ellenes aktivitását.

Az ezen a területen jártas szakember számára nyilvánvaló, hogy a fenti leírás alapján a találmánynak a mellékelt szabadalmi igénypontok által meghatározott oltalmi körén belül számos módosítást és változtatást végezhetünk.

## SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Készítmény, **azzal jellemezve**, hogy egy bioadhezív térhálósított polikarbonsav polimert és egy anti-STD hatóanyagot tartalmaz.

2. Egy 1. igénypont szerinti készítmény, **azzal jellemezve**, hogy a polimer polikarbofil.

3. Egy 1. vagy 2. igénypont szerinti készítmény, **azzal jellemezve**, hogy 0,1-6 tömeg% polimert tartalmaz.

4. Egy 1-3. igénypontok bármelyike szerinti készítmény, **azzal jellemezve**, hogy 2,5-4,5 közötti pH-értéket biztosító mennyiségben nátrium-hidroxidot is tartalmaz.

5. Készítmény, **azzal jellemezve**, hogy

- a. egy anti-STD hatóanyagot;
- b. 1-2 tömeg% bioadhezív térhálósított polikarbonsav polimert;
- c. egy gélképző szert;
- d. egy nedvesítőszeret; és
- e. egy síkosítóanyagot;

valamint adott esetben egy vagy több tartósítószeret, adjuvánst, savat vagy bázist tartalmaz.

6. Egy 1-5. igénypontok bármelyike szerinti készítmény, **azzal jellemezve**, hogy a készítmény egységdózisformában van.

7. Egy 6. igénypont szerinti készítmény, **azzal jellemezve**, hogy a dózis 50-55 mg anti-STD hatóanyagot tartalmaz.

8. Egy 1-7. igénypontok bármelyike szerinti készítmény,

**azzal jellemezve**, hogy az anti-STD hatóanyag nonoxinol-9.

**9. Készítmény, azzal jellemezve**, hogy

- a. egy anti-STD hatóanyagot;
- b. 1-2 tömeg% bioadhezív térhálósított polikarbonsav polimer;

valamint adott esetben egy vagy több tartósítószer, adjuvánst, savat vagy bázist tartalmaz.

**10.** Egy 1-9. igénypontok bármelyike szerinti készítmény egy szexuális úton átvihető betegség átviteli valószínűségének vagy egy szexuális úton átvihető betegség által okozott fertőzésnek a megelőzésére vagy csökkentésére szolgáló eljárásban történő felhasználásra.

**11.** Egy készítmény a 10. igénypont szerinti felhasználásra, ahol a szexuális úton átvihető betegség AIDS.

**12.** Egy bioadhezív térhálósított polikarbonsav polimer 1-2 tömeg%-ának és egy anti-STD hatóanyagának a felhasználása egy szexuális úton átvihető betegség átviteli valószínűségének vagy egy szexuális úton átvihető betegség által okozott fertőzésnek a megelőzésére vagy csökkentésére szolgáló gyógyszerkészítmény előállítására.

**13.** Hatóanyag-kibocsátó készítmény, **azzal jellemezve**, hogy egy anti-STD hatóanyagot olyan mennyiségben tartalmazó bioadhezív polikarbonsav polimer készítményt tartalmaz, amely anti-STD hatóanyag-mennyiség a testüregben történő szabadbá váláskor anti-STD aktivitást biztosít, anélkül, hogy a helyi epithelialis szövetek lényeges irritációját okozná.

14. Egy 13. igénypont szerinti készítmény, **azzal jellemmezve**, hogy a polimer polikarbofil.

15. Egy 13. igénypont szerinti készítmény, **azzal jellemmezve**, hogy még legalább egy adjuvánst is tartalmaz.

16. Egy 13. igénypont szerinti készítmény, **azzal jellemmezve**, hogy az anti-STD hatóanyag egy HIV-ellenes hatóanyag.

17. Egy 16. igénypont szerinti készítmény, **azzal jellemmezve**, hogy az anti-STD hatóanyag N-9.

18. Egy 17. igénypont szerinti készítmény, **azzal jellemmezve**, hogy a polimer karbofil.

19. Egy 18. igénypont szerinti készítmény, **azzal jellemmezve**, hogy a készítmény vaginalis alkalmazásra szolgál.

20. Egy 19. igénypont szerinti készítmény, **azzal jellemmezve**, hogy a készítmény egyetlen dózisa körülbelül 52,5 mg N-9-et tartalmaz.

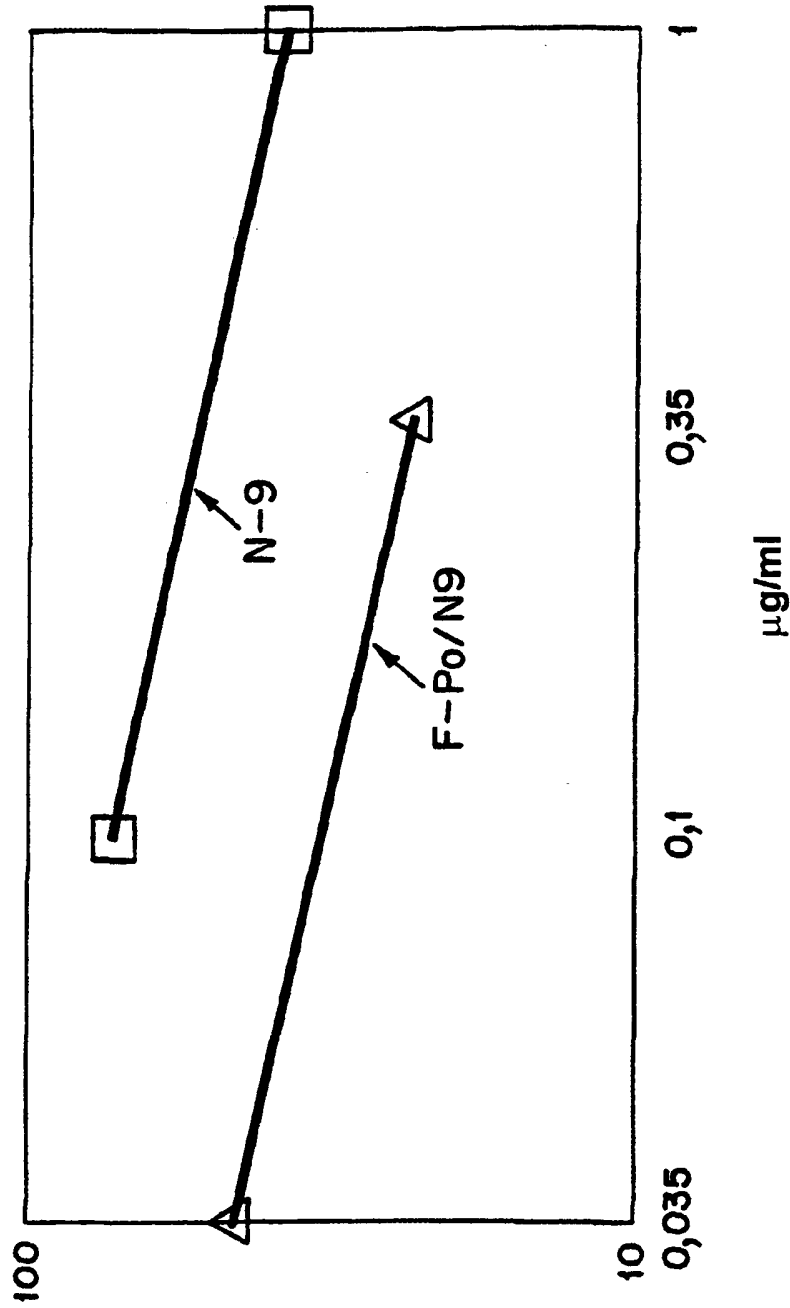
21. Anti-STD bioadhezív készítmény, **azzal jellemezve**, hogy egy térhálósított polikarbonsav polimer készítményt tartalmaz.

22. Bioadhezív hatóanyag-kibocsátó készítmény, **azzal jellemezve**, hogy egy térhálósított polikarbonsav polimerből és nonoxinol-9-ből álló készítményt tartalmaz.

A meghatalmazott:

**Beliczay László**  
szabadalmi ügyvivő  
az S.F. G. & K. Nemzetközi  
Szabadalmi Iroda tagja  
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.  
Telefon: 34-24-934, Fax: 34-24-333

+ 1. köp. 2017  
[Handwritten signature]



Virucid aktivitás  
(a kontrollal szemben)

1. ábra