PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **14.12.2001**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **14.12.2001**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **2001EP/0114749**
(33) Země priority: **WO**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **10.11.2004**
(Věstník č. 11/2004)
(86) PCT číslo: **PCT/EP2001/014749**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2003/051385**

(21) Číslo dokumentu:
2004-778
(13) Druh dokumentu: **A3**
(51) Int. Cl.[7]:
A 61 K 38/13
A 61 K 9/107
A 61 P 17/00
A 61 P 29/00
A 61 P 37/06

(71) Přihlašovatel:
JAGOTEC AG, Muttenz, CH

(72) Původce:
Wohlrab Johannes, Halle/S., DE
Neubert Reinhard, Halle/S., DE
Jahn Konstanze, Beyendorf, DE

(74) Zástupce:
Ing. Ivana Jirotková, Nad Štolou 12, Praha 7, 17000

(54) Název přihlášky vynálezu:
Farmaceutická formule zahrnující cyklosporin a její použití

(57) Anotace:
Řešení se týká formulace léčiva v koloidní formě k topické aplikaci pro terapii a profylaci chorobných změn kůže a/nebo útvarů kožních výrůstků a/nebo sliznic, včetně sliznic trávicího traktu, urogenitálního traktu, jakož i bronchiálního systému a/nebo spojivky,, obsahující lipofilní fázi v množství 1 až 10 hmotn. %, směs tenzidu a kotenzidu v množství 1 až 50 hmotn. %, hydrofilní fázi v množství 40 až 80 hmotn. % a jako účinnou látku cyklosporin a/nebo jeho deriváty v koncentraci 0,1 až 20 hmotn. %.

CZ 2004 - 778 A3

28.07.04 2004-778

Farmaceutická formulace zahrnující cyklosporin a její použití

Oblast techniky

Vynález se týká koloidních farmaceutických nosičových systémů, obsahujících cyklosporin, pro topickou aplikaci na pokožku a sliznici, sestávajících ze směsi tenzid/kotenzid (polyoxyethylenglycerol-monooleát/poloxamery), hydrofilní báze, např. směsí polyethylenglykol/voda, lipofilní fáze (isopropyl-palmitát resp. kyselina olejová) a urychlovačů penetrace.

Tento vynález se týká zejména farmaceutických přípravků obsahujících cyklosporin A (CsA) k topické aplikaci pro terapii chorobných změn pokožky, útvarů kožních výrůstků nebo sliznic, zejména atopické dermatitidy a psoriasis vulgaris, použití těchto přípravků a způsobu jejich přípravy.

Dosavadní stav techniky

Je známo, že CsA je cyklický peptid utvořený z 11 aminokyselin s molekulovou hmotností 1202 g/mol, který je produkován půdní houbou Tolypocladium inflatum. CsA je jen velmi těžko rozpustný ve vodě (>0,04 mg/ml při 25 °C), naproti tomu dobře v olejích a alkoholech. Jeho imunomodulující účinek je založen na inhibici uvolňování interleukinu-1 z makrofágů a interleukinu-2 z pomocných T-buněk, které pak aktivují cytotoxické T-prekursorové buňky, ze kterých vznikají cytotoxické T-buňky. Tím je potlačována transkripce genů, které kódují jmenované cytokiny. Přitom tělu vlastní obranyschopnost ovlivňuje CsA jen v malé míře. Z galenického pohledu je tato léková substance substancí nevhodnou zejména pro topickou terapii, protože vysoká lipofilie činí penetraci epidermální lipidovou barierou téměř nemožnou. Jako důvod neúspěchu dosavadních pokusů přípravy a aplikace různých lipofilních, hydrofilních a liposomálních preparátů k topické aplikaci se většinou udává nedostatečná penetrace lékové substance.

V dermatologii se CsA osvědčil při systémové aplikaci zejména při ošetřování těžké psoriasis a atopické dermatitidy. Nadto dále existují zprávy a studie o účinnosti po systémové aplikaci u velkého počtu dalších zánětlivých dermatóz (např. dermatitis ulcerosa, lichen ruber, aktinický retikuloid, diseminovaný granuloma anulare).

28.07.04

Ve WO 9302664 se popisují mikroemulze voda/olej, které obsahují lipofilní fázi (triglyceridy se středním řetězcem a tenzid s nízkou HLB-hodnotou v poměru 5:1 až 1,5:1), vodnou hydrofilní fázi, tenzid s vysokou HLB-hodnotou a ve vodě rozpustné terapeutické agens.

GB 2222770 zahrnuje mikoemulzní prekoncentráty sestávající z CsA, hydrofilní fáze (propylenglykol nebo parciální ether nízkomolekulárních mono- resp. polyoxyalkandiolů (Transcutol/Glycofurol), lipofilní fáze (triglyceridy se středním řetězcem) a tenzidu (Cremophor RH 40). Systémy jsou vhodné pro perorální aplikaci a ve srovnání s existujícími systémy zlepšují biodostupnost.

EP 760237 popisuje mikroemulze olej/voda pro aktivní, ve vodě nerozpustné látky jako CsA, které jsou zcela rozpuštěny v dispergovaných olejových kapkách. Systémy sestávají z C_8-C_{20} substituovaného rostlinného triglyceridu, lecitinu a dalšího tenzidu a hydrofilní fáze obsahující propylenglykol.

WO 97/22358 obsahuje mikroemulzní prekoncentráty s CsA, přičemž léčivo je rozpuštěno v systému sestávajícím z hydrofobních (tokoferoly resp. deriváty tokoferolů) a hydrofilních komponent (propylen-karbonát a polyethylenglykol s molekulovou hmotností < 1000) a rovněž tenzid.

Ve WO 94/08603, WO 94/08605 a WO 99/39700 se popisují formulace léčiv, které jako možnou účinnou látku v koloidním systému uvádějí cyklosporin a jeho deriváty.

Dosud uváděné systémy však vykazují několik podstatných nevýhod. K solubilizaci se zčásti používají organická rozpouštědla, která následně musí být z formulace beze zbytku odstraněna. Častokrát jsou kombinace tenzid/kotenzid používány ke zlepšování rozpustnosti lékové substance v příliš vysokých koncentracích (více než 20 % m/m). Některé publikace zmiňují systémy, které nejsou výhradně složeny z komponent snášenlivých pro pokožku. Popisují se mikroemulzní prekoncentráty, jejichž vlastní struktura se má vytvářet *in situ* teprve po aplikaci. Dále pak existující systémy vykazují daleko větší průměry částeček.

Podstata vynálezu

Proto je úkolem vynálezu navrhnout nový koloidní farmaceutický nosičový systém, který je v podstatě tvořen z dermatologicky snášenlivých složek, přičemž

28.07.04

tento farmaceutický nosičový systém by měl současně vykazovat poměrně nízké obsahy směsi tenzid/kotenzid.

Úkol je řešen charakterizujícími znaky patentového nároku 1. Z hlediska použití je vynález řešen znaky nároků 14 až 20.

Podle vynálezu se tedy navrhuje, že formulace léčiva v koloidní formě sestává ze čtyř podstatných součástí. Formulace léčiva podle vynálezu tedy obsahuje lipofiní fázi, směs tenzidu a kotenzidu, hydrofiní fázi a účinnou látku cyklosporin v koncentracích udávaných v nároku 1.

Výhodu koloidního nosičového systému podle vynálezu lze vidět zejména ve skladbě z výhradně dermatologicky snášenlivých komponent, v poměrně malém obsahu tenzidu/kotenzidu, jakož i malé velikosti částeček dispergovaných částic.

Z pohledu substancí se jako lipofilní fáze pro formulaci léčiva podle vynálezu hodí oleje, vosky nebo tuky. Ve vztahu k lipofilní fázi mohou být použity všechny lipofilní fáze, které jsou podle stavu techniky dosud známy. Upřednostňovány jsou zejména triglyceridy, isopropyl-myristát, 2-oktyldekanol, isopropyl-palmitát nebo kyselina olejová. Lipofilní fáze je ve formulaci obsažena v množství 1 až 10 hmotn. %.

Podstatným prvkem formulace léčiva podle vynálezu je směs tenzidu a kotenzidu, která se používá v množství 1 až 50 hmotn. %, přednostně 20 až 30 hmotn. %. Z pohledu substancí jsou preferovány tenzidy volené z polyoxyethylenglycerol-esterů mastných kyselin a polyoxyethylensorbitan-esterů mastných kyselin. Příklady pro kotenzid jsou poloxamery, blokové kopolymery z polyoxyethylenu a polyoxypropylenu.

Zvlášť preferovaný poměr mísení je hmotnostní poměr 1,5 až 2,5 pro tenzid a 2,5 až 3,5 pro kotenzid. Vynálezci mohli dokázat, že zejména dodržení tohoto poměru mísení tenzidu/kotenzidu je důležité pro stabilitu a použitelnost formulace léčiva.

Jestliže směs tenzidu/kotenzidu z polyoxyethylenglycerol-esterů mastných kyselin a poloxamerů je v hmotnostním poměru 2: 3, mohly být docíleny zvláště dobré výsledky.

Formulace podle vynálezu obsahuje dále hydrofilní fázi, která, jak je ze současného stavu techniky známo, sama o sobě může sestávat z polyolů, vody nebo polyolu, nebo směsi polyol-pufr anebo jen pufru. Koncentrace této složky činí 40 až 80 hmotn. %, přednostně 60 až 75 hmotn. %.

29.07.04

Další výhodné provedení vynálezu spočívá v tom, že se u hydrofilní fáze používá směs propylenglykolu a vody v poměru 1:10 až 10:1. Zvlášť preferovaný poměr mísení je 2:1.

Podle vynálezu obsahuje formulace léčiva jako účinnou látku cyklosporin a/nebo jeho derivát v koncentraci 0,1 až 20 hmotn. %. Přednost má zejména, když formulace léčiva obsahuje cyklosporin A a/nebo jeho deriváty. Preferovaná koncentrace přitom leží v rozsahu 0,01 až 10 hmotn. %, a zejména se preferuje 0,5 až 5 hmotn. %.

Je samozřejmě také možné, že vedle cyklosporinu A a/nebo jeho derivátů je ve formulaci léčiva obsažena další účinná látka. Příkladem pro takové účinné látky jsou kortikosteroidy, antibiotika, antimykotika a/nebo virostatika.

Jak je samo o sobě ze stavu techniky známo, mohou být do formulace léčiva podle vynálezu přidávána i obvyklá aditiva, jako jsou urychlovače penetrace. Pokud se urychlovače penetrace přidávají, mají přednost dimethylsulfoxid nebo alkoholy s krátkým řetězcem v koncentraci 5 až 10 hmotn. %.

Formulace léčiva podle vynálezu je v koloidní formě. Přitom se preferuje, když disperzní fáze vykazuje průměry částic v řádu velikostí od 5 do 200 nm. Přednostně leží průměry částic v rozsahu velikostí od 5 do 100 nm.

Formulace léčiva podle vynálezu se hodí zejména k profylaxi zánětlivých onemocnění pokožky a sliznice, k terapii a profylaxi atopické dermatitidy, k terapii a profylaxi psoriasis vulgaris.

Jiná vhodná použití jsou terapie a profylaxe kolagenóz, chronických poranění, popálenin a/nebo chronicky zánětlivých onemocnění pokožky a sliznice, stejně jako k terapii a profylaxi chronicky zánětlivých onemocnění střev a k terapii a profylaxi zánětlivých onemocnění oka a po transplantacích.

V následujícím je vynález blíže popisován na základě různých složení a výsledků výzkumu.

Příklady provedení vynálezu

Složení a příprava nosičových systémů

Byly vyvinuty tři koloidní farmaceutické nosičové systémy, jejichž složení je patrné z tabulky 1.

28.07.04

Tabulka 1

Vyvinuté kolodidální systémy nosiče lékové substance

IPP-systém		**m [g]**	**% [hm.]**
Cyklosporin A 2,0 hm.%	Cyklosporin	0,2	2,0
Tagat®02 / Synperonic® PE/L 101, 2:3,	Tagat® 02	0,8	8,0
20 hm.%	Synperonic® PE/L 101	1,2	12,0
Isopropyl-palmitát (IPP) 5,0 hm.%	Isopropyl-palmitát	0,5	5,0
Propylenglykol / voda 2:1, 73,0 hm.%	Propylenglykol	4,87	48,7
	Voda	ad 10,0	24,3
DMSO-systém			
Cyklosporin A 2,0 hm.%	Cyklosporin	0,2	2,0
Tagat®02 / Synperonic® PE/L 101, 2:3,	Tagat® 02	0,8	8,0
20 hm.%	Synperonic® PE/L 101	1,2	12,0
Kyselina olejová (KO) 5,0 hm.%	Kyselina olejová	0,5	5,0
Dimethylsulfoxid (DMSO) 5,0 hm.%	Dimethylsulfoxid	0,5	5,0
Propylenglykol / voda 2:1, 68,0 hm.%	Propylenglykol	4,53	45,3
	Voda	ad 10,0	22,7
KO-systém			
Cyklosporin A 2,0 hm.%	Cyklosporin	0,2	2,0
Tagat®02 / Synperonic® PE/L 101, 2:3,	Tagat® 02	0,8	8,0
20 hm.%	Synperonic® PE/L 101	1,2	12,0
Kyselina olejová (KO) 5,0 hm.%	Kyselina olejová	0,5	5,0
Propylenglykol / voda 2:1, 73,5 hm.%	Propylenglykol	4,9	49,0
	Voda	ad 10,0	24,5

Příprava systémů se prováděla konkrétním sledem následujících kroků:

- navážení léčiva
- přidání směsi tenzid/kotenzid
- dobře rozetřít
- přidání potřebného množství IPP
- dobře promísit
- přidání připravené směsi z propylenglykolu a vody
- míchání až do vyčeření, případně krátké ošetření koloidálního systému ultrazvukem

Jako emulgátory byly zvoleny polyoxyethylenglykol-monooleát (Tagat® 02) a poloxamer (Synperonic® PE/L 101 resp. 121). Ke zhotovení vehikulového systému se při tom jako zvlášť vhodná prokázala kombinace obou v poměru 2:3 hmotnostních podílů.

28.07.04

Směsi obou tenzidů a rovněž propylenglykol/voda byly připraveny předem. Nejdříve bylo léčivo ve formě prášku pečlivě rozetřeno se směsí tenzidu a potom byla přidána lipofilní fáze (isopropyl-palmitát nebo kyselina olejová). Následně proběhlo přidání hydrofilní fáze (směsi propylenglykol/voda) a míchání až do vyčeření. Nakonec byl zapracován DMSO. Pokud bylo třeba, byly systémy ponechány na několik minut v ultrazvukové lázni.

Jako lipofilní komponenty byly použity isopropyl-palmitát resp. kyselina olejová, které obě fungují jako rozpouštědlo pro CsA. Kyselina olejová splňuje dále funkci urychlovače penetrace, aby usnadňovala permeaci CsA skrze stratum corneum. Dimethylsulfoxid byl přidáván ke zlepšení rozpustnosti CsA ve vehikulu a pro svoje penetraci podporující vlastnosti. Jako směs tenzidu/kotenzidu byly zvoleny polyoxyethylenglycerol-monoleát, který je snášen lidskou pokožkou ve 100% koncentraci bez reakce a je dobře snášenlivý sliznicí, a poloxamery, které jsou přípustné pro intravenozní administraci.

Charakterizace nosičových systémů

Farmaceutické nosičové systémy byly mezi jiným charakterizovány pomocí rozptylu laserového světla. Tento postup je vhodný pro stanovení velikostí koloidních částic v kapalných mediích. Pro formulace bez lékové substance mohly být zjištěny průměry částic cca 20 nm.

Analytika

Stanovení CsA probíhalo pomocí HPLC metody (modifikované podle Merck KgaA – Darmstadt). Technická data jsou patrná z tabulky 2.

28.07.04

Tabulka 2

Analytická data

Zařízení HPLC	Merck-Hitachi L-4250, UV-VIS AS-4000A Detektor, Intelligent Autosampler, D-6000A Interface, L-6200A Intelligent Pump
Stacionární fáze	Lichospher® RP select B (Merck), 125 x 4 mm vnitřní průměr, 5 µm
Mobilní fáze	acetonitril/voda 70/30 (objemové podíly)
Proudění	1 mll/min, isokraticky
Teplota	60 °C
Detekce	UV 210 nm

Výzkumy uvolňování

Pomocí modelu vícevrstvého membránového systému bylo v závislosti na čase zkoumáno uvolňování léčiva ze shora jmenovaných formulací *in vitro*. Jednotlivé buňky modelu se skládaly ze základního a krycího disku, mezi kterými byly uspořádány vrstvy membrán. Přes prohlubeninu krycího disku (4 cm^2) bylo na membrány aplikováno definované množství formulace (10 až 20 mg). Jako akceptor sloužily membrány dodekanol – kolodium s obsahem 2 % dodekanolu, které byly zhotoveny pomocí přístroje pro potahování filmem. Stanovením rozpustnosti nasycení CsA v dodekanolu mohla být zjištěna kapacita absorpce akceptorem. To je důležité, aby se zjistilo, že dosažení rozpustnosti nasycení lékové substance v membránách není limitujícím faktorem uvolňování. Použitím tří nad sebou uložených membrán byly zjištěny podmínky poklesu v akceptoru.

Během trvání experimentu (30, 100, 300 a 1000 minut) byl model temperován na 32±1 °C. Po proběhnutí doby experimentu byla přebytečná formulace opatrně odstraněna, membrány byly odděleny, extrahovány směsí ethanol – voda (80/20 objemově) a podrobeny stanovení obsahu pomocí HPLC. Za dobu pokusu bylo provedeno stanovení pětkrát.

Z obrázku 1 je zřetelné, že všechny tři formulace uvolňují ~25 % obsaženého CsA již po 30 minutách. Při delších dobách experimentu se množství uvolněné lékové substance zvyšuje. Na obrázku 2 jsou pro lepší porovnání rozdílně koncentrovaných vehikulů znázorněna množství uvolněné lékové substance pro 10 mg aplikované formulace.

29.07.04

Tyto výzkumy byly uskutečněny, aby se zjistilo, že probíhá dostačující uvolňování CsA z vehikulů a tím je splněn předpoklad pro penetraci lidskou pokožkou.

Výzkumy penetrace

Použita byla lidská kůže z mammy, která byla získána při plastikách zmenšování prsu. Nařezané kousky kůže byly skladovány při –3 °C. Po roztátí byla na povrchu ulpívající kapalina odstraněna vatovým tamponem a byla vyseknuta definovaná plocha o 3,14 cm^2. Na povrch bylo naneseno asi 6 mg radioaktivně značeného testovacího preparátu na cm^2 tak, že na povrchu kůže vznikl co nejvíce rovnoměrný film. Následně byl na gáze položený kousek kůže napnut do Franzovy difuzní cely temperované na 32 °C. Týž byl před započetím pokusu v naplněném stavu podroben třicetiminutové ekvilibrační fázi. Na spodní straně kůže, resp. gázy hraničilo medium akceptoru, které pro zmenšení tloušťky difuzní vrstvy bylo stále mícháno. Aby se simulovaly fyziologické podmínky, byl jako kapalina akceptoru použit isotonický roztok NaCl. Experimenty byly prováděny vždy na 3 různých operačních preparátech jako stanovení trojnásobná. Po proběhnutí doby působení byly kousky kůže vyňaty a pomocí špendlíků fixovány na pěnový polystyren obalený aluminiovou folií. Potom byl testovaný preparát otřen chomáčem mulu.

Stratum corneum se odstranilo šablonou, která obsahovala kruhovité prohloubení (d = 16 mm). Tímto prohloubením bylo z povrchu kůže, velkého 2,0106 cm^2, odebráno 20 proužků Tesafilm (Tesa Film® 4 204, 33 m x 19 mm; fa Beiersdorf AG, Hamburg). Vždy dva po sobě získané proužky byly měřeny společně.

Ze zbylého kusu kůže byly pomocí Kromayerovy raznice (průměr 6 mm; Stiefel Laboratorium GmbH, Offenbach) přibližně ze středu plochy kůže vyseknuty 3 válce s celkovým povrchem 0,848 cm^2. Pomocí mrazícího mikrotomu byly takto získané válce postupně hluboce zmrazeny na –40 °C a nařezány horizontálně k povrchu kůže. Přitom byly odebrány řezy 10 x 20 μm k odstranění vitálních podílů epidermu a řezy 15 x 80 μm pro zpracování škáry. Poté zůstaly zbytek škáry (pahýl) a medium akceptoru.

Z obrázků 3 až 5 je zřejmé, že u všech tří formulací již po 30 minutách je >25 % (IPP 35 %, KS 32 %, DMSO 27 %) obsaženého CsA penetrováno do akceptoru. Při delších dobách pokusu se množství penetrované lékové substance zvyšuje

28.07.04

nepatrně. Pro lepší srovnání různě koncentrovaných vehikulů jsou penetrovaná množství lékové substance v μg uvedena na obrázcích 6 až 8.

Dosud publikovaná galenická data o cyklosporin obsahujících preparátech pro topickou aplikaci ukazují na nedostačující uvolňování a/nebo penetraci účinné substance. Přitom se prozkoumávaly hydrofilní a lipofilní standardní systémy, resp. liposomální přípravky. Mnohokrát se také v publikacích nenajdou žádné exaktní odkazy na obsahové látky použitých preparátů, způsob přípravy nebo galenická data. Pro nedostavující se klinický účinek se uvádějí dva důvody. Za prvé kvůli silné lipofilitě CsA dochází k příliš nízkému uvolňování a/nebo penetraci účinné látky v koriálních vrstvách kůže. Za druhé je nutno vidět faktor zřetelně inhibující penetraci ve vysoké molární hmotnosti. Předkládané výsledky poprvé ukazují stupně uvolnění a penetrace z 25 až 30 % aplikované koncentrace účinné látky v prvních 30 až 100 minutách na zdravé a také barierově intaktní kůži *ex vivo*. Na poškozené kůži (např. psoriatický plak) je zásadně možno předpokládat příznivější podmínky penetrace ve srovnání se zdravou kůží.

Topická aplikace CsA poskytuje ve srovnání se systémovou terapií zřetelné výhody. Při topické aplikaci je třeba, i při velkoplošném ošetřování, počítat s minimálními a nikoliv klinicky relevantními, systémovými vedlejšími účinky. Známé nežádoucí účinky lékové substance, zejména poruchy funkce ledvin a arteriální hypertonie, není třeba očekávat nebo jen v malé míře. Použití může přicházet v úvahu dokonce u pacientů, u nichž se systémovou terapií vedlejší účinky již vyvinuly, a proto nemohou být pomocí CsA dále ošetřováni. Nadto se dále pomocí topické aplikace naskýtá rozšířené spektrum účinku. U značného počtu zánětlivých dermatóz stojí v centru patogeneze tvorba a účinek oxidu dusnatého (NO), který se tvoří z L-argininu enzymem NO-syntázou. Nejnovější výsledky výzkumu ukazují, že zprostředkování a udržování zánětu při psoriáze se děje podstatně prostřednictvím NO. Jak známo, CsA je dostatečným blokátorem NOS, který je přítomen i v dermálních mikrovaskulárních endotelových buňkách kvůli isoenzymům eNOS a iNOS a je inhibován pomocí vysoké koncentrace CsA v tkáni po topické aplikaci silněji než při aplikaci systémové. K tomu má CsA také proliferaci inhibující efekt na keratinocyty, který synergicky ovlivňuje účinek na psoriatickou kůži při topické aplikaci. Vzhledem k menšímu potřebnému množství CsA by bylo příznivé i omezení nákladů na případ.

28.07.04

Nevýhody topické aplikace a s tím spojené snížené koncentrace systému se pozorují především v nenastávajícím účinku na lymfatické nervové uzliny, v nichž se odehrávají podstatné aktivační pochody na T-celulární úrovni. Nadto se nedá očekávat terapeutický efekt při psoriasis arthropathica.

Předkládané výzkumy poprvé dokazují, že je možno vyvinout galenický systém, který splňuje předpoklady pro penetraci CsA až do vrchních vrstev škáry (koria) ve vyhovující koncentraci. Jsou k dispozici stabilní vehikulové systémy, do kterých může být CsA dostatečně zapracován. Záměrně se volilo velmi vysoké zatížení systému, aby se podnítily galenické vlastnosti systémů a vytvořily příznivé předpoklady pro klinickou aplikaci. Menší koncentrace CsA se dají při dostačující klinické účinnosti realizovat bez problémů. Pokusy s uvolňováním dokazují, že v relevantní době se uvolňují množství léčivé substance mezi 25 % a 40 % a jsou k dispozici pro penetraci do kůže.

Pro preklinický vývoj se rozhodujícím způsobem zhodnocují penetrační pokusy za podmínek *ex vivo*. Objasňují, že po relevantní době aplikace (30 až 100 minut) probíhá penetrace přibližně 25 až 30 % účinné látky do koriální vrstvy, resp. skrze ni, a tím je k dispozici na požadovaném místě.

Obsahové látky preparátů jsou voleny podle dermatologických hledisek. Nejsou obsaženy žádné vysoce účinné senzibilizující substance a pokusy na vlastní osobě ukázaly dobrou snášenlivost, která velmi nepravděpodobně dovolí projevit iritativní nebo toxický účinek i při poruchách barierové funkce u různých dermatóz. Jako hlavní oblasti indikace vyplývají psoriasis vulgaris chronického stacionárního typu resp. atopická dermatitis. Nadto se dále nabízí značný počet možných indikaci v souvislosti se systémovou terapií. Použití se považuje za možné zejména při kolagenozách, popáleninách, transplantacích kůže nebo sliznice a chronických poraněních.

Použití systémů se nepředpokládá pouze na vnější kůži. V zásadě se naskýtá možnost aplikace na oko při transplantaci rohovky nebo k terapii jizvícího slizničního pemfigoidu, resp. aplikace v oblasti ústní sliznice při lichen ruber mucosae, resp. jako klystýr při chronických zánětlivých onemocnění střev (např. morbus Crohn, colitis ulcerosa), v případě potřeby také intraluminální pěnou.

28.07.04 2004-778

Patentové nároky

1. Farmaceutická formulace v koloidní formě k topické aplikaci pro terapii a profylaxi chorobných změn kůže a/nebo útvarů kožních výrůstků a/nebo sliznic, včetně sliznic trávicího traktu, urogenitálního traktu, jakož i bronchiálního systému a/nebo spojivky, obsahující

a) lipofilní fázi v množství 1 až 10 hmotn. %,
b) směs tenzidu a kotenzidu v množství 1 až 50 hmotn. %, přičemž směs tenzidu a kotenzidu je použita v hmotnostním poměru 1,5 až 2,5 pro tenzid a 2,5 až 3,5 pro kotenzid,
c) hydrofilní fázi v množství 40 až 80 hmotn. % a
d) jako účinnou látku cyklosporin a/nebo jeho deriváty v koncentraci 0,1 až 20 hmotn. %.

2. Formulace podle nároku 1 **vyznačující se tím, že** lipofilní fáze je volena z farmaceutických olejů, vosků nebo tuků.

3. Formulace podle nároku 2 **vyznačující se tím, že** lipofilní fáze je volena z triglyceridů, isopropyl-myristátu, 2-oktyldekanolu, isopropyl-palmitátu nebo kyseliny olejové.

4. Formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 3 **vyznačující se tím, že** tenzid je volen z polyoxyethylenglycerol-esterů mastných kyselin a polyoxyethylensorbitan-esterů mastných kyselin.

5. Formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 4 **vyznačující se tím, že** kotenzid je volen z poloxamerů, blokových kopolymerů z polyoxyethylenu a polyoxypropylenu.

6. Formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 5 **vyznačující se tím, že** směs tenzidu a kotenzidu sestává z polyoxyethylenglycerol-esterů mastných kyselin a poloxamerů v hmotnostním poměru 2 : 3.

28.07.04

7. Formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 6 **vyznačující se tím, že** hydrofilní fáze je volena z polyolů, vody nebo směsí polyol-pufr.

8. Formulace podle nároku 7 **vyznačující se tím, že** hydrofilní fází je směs propylenglykolu a vody v poměru od 1 : 10 do 10 : 1, přednostně 2 : 1.

9. Formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 8 **vyznačující se tím, že** cyklosporin A a/nebo jeho deriváty jsou obsaženy v koncentraci 0,01 až 10 hmotn. %, přednostně 0,5 až 5 hmotn. %.

10. Formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 9 **vyznačující se tím, že** vedle cyklosporinu A a/nebo jeho derivátů je obsažena alespoň jedna další účinná látka, například kortikosteroid.

11. Formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 10 **vyznačující se tím, že** navíc jsou obsaženy urychlovače penetrace, jako například dimethylsulfoxid nebo alkoholy s krátkým řetězcem v koncentraci 5 až 10 hmotn. %.

12. Formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 11 **vyznačující se tím, že** disperzní fáze vykazuje průměr částic v řádu velikostí od 5 až do 200 nm.

13. Použití formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 12 k terapii a profylaxi zánětlivých onemocnění kůže a sliznice.

14. Použití formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 13 k terapii a profylaxi atopické dermatitidy.

15. Použití formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 14 k terapii a profylaxi psoriasis vulgaris.

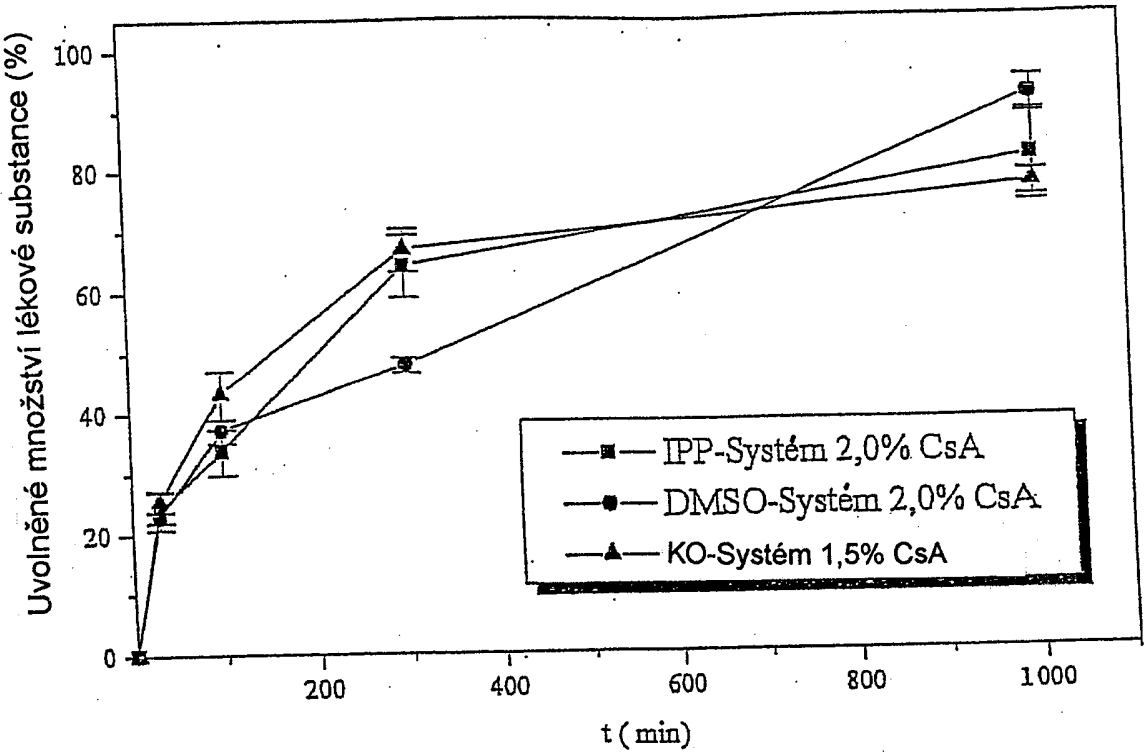
16. Použití formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 15 k terapii a profylaxi kolagenoz, chronických poranění, popálenin a/nebo chronických zánětlivých onemocnění kůže a sliznice.

28.07.04

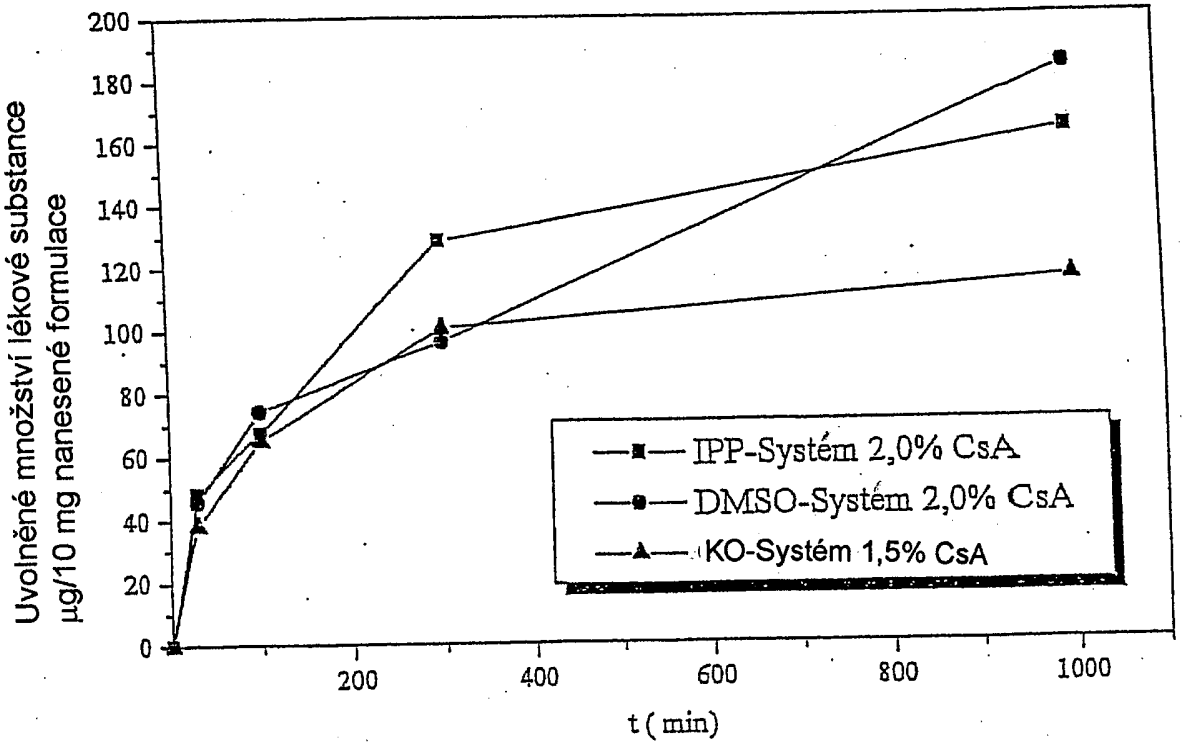
17. Použití formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 16 k terapii a profylaxi chronických zánětlivých onemocnění střev.

18. Použití formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 17 k terapii a profylaxi chronických zánětlivých onemocnění oka.

19. Použití formulace podle alespoň jednoho z nároků 1 až 18 k terapii a profylaxi odmítavých reakcí po transplantacích.

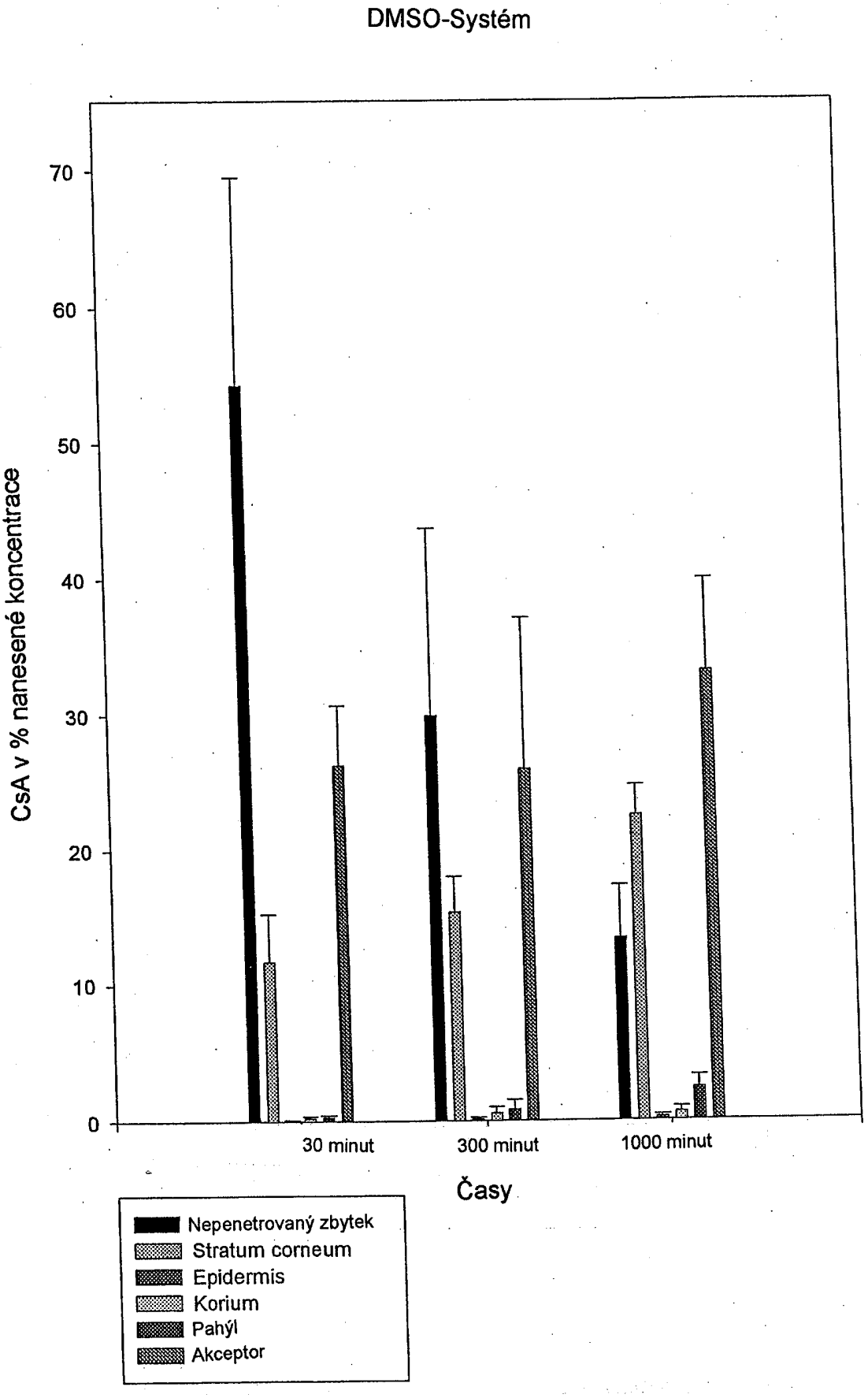


Obr. 1 Uvolněné množství lékové substance v závislosti na čase, $\bar{x} \pm s$, n=5

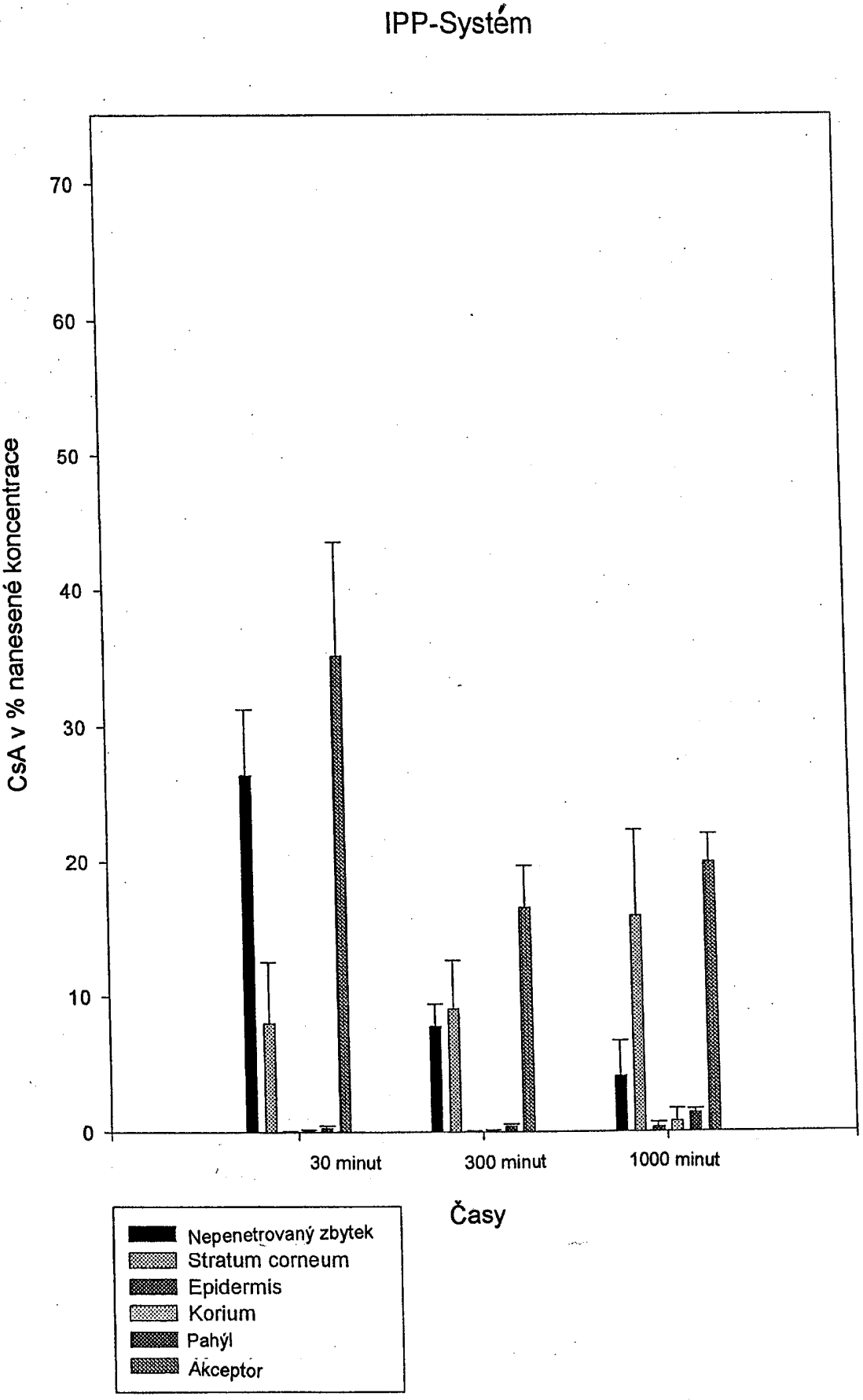


Obr. 2 Uvolněné množství lékové substance v µg/ 10 mg aplikované formulace v závislosti na čase

28.07.04 2004-778

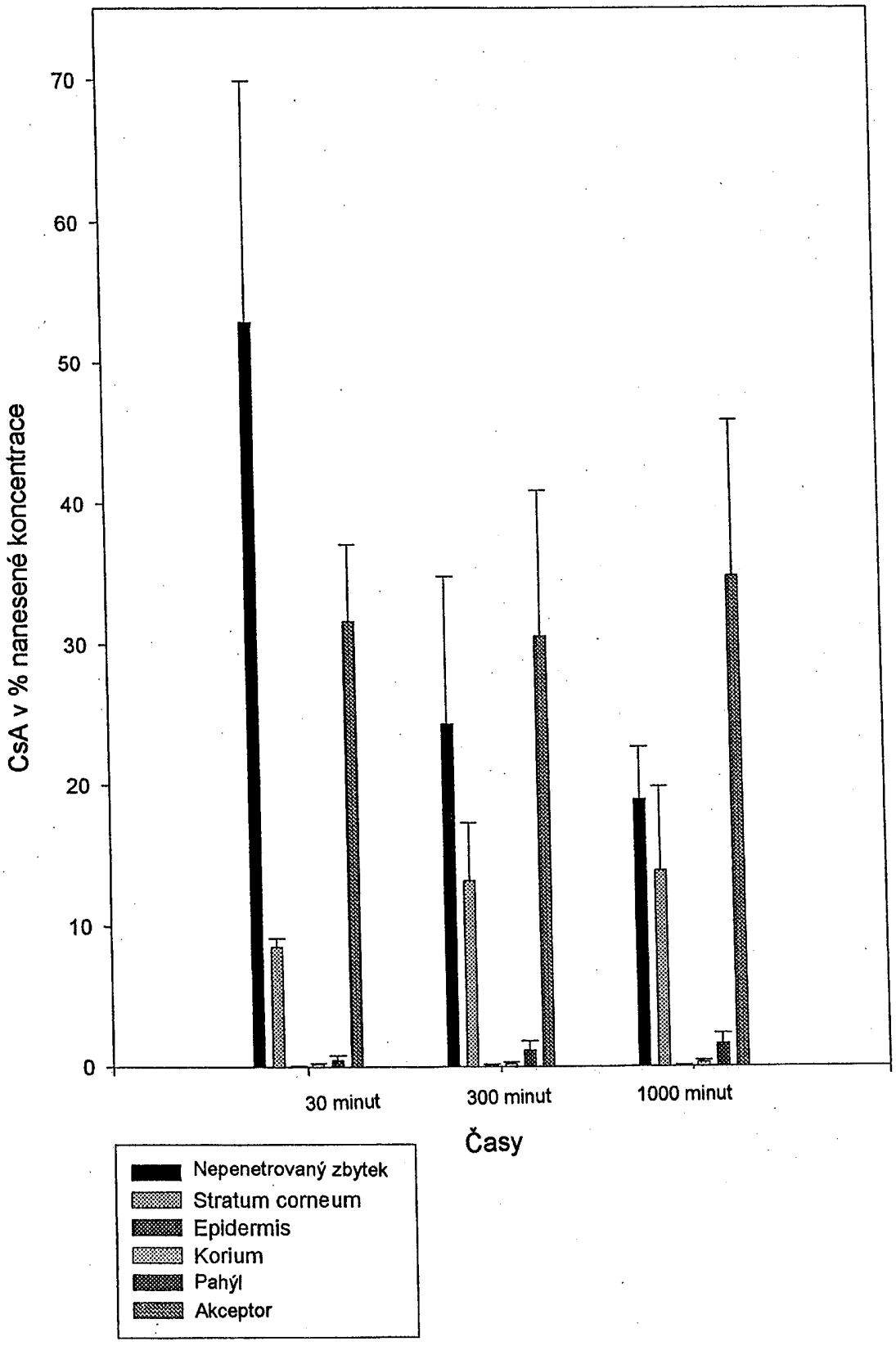


Obr. 3


IPP-Systém
CsA v % nanesené koncentrace
70
60
50
40
30
20
10
0
30 minut
300 minut
1000 minut
Časy
Nepenetrovaný zbytek
Stratum corneum
Epidermis
Korium
Pahýl
Akceptor

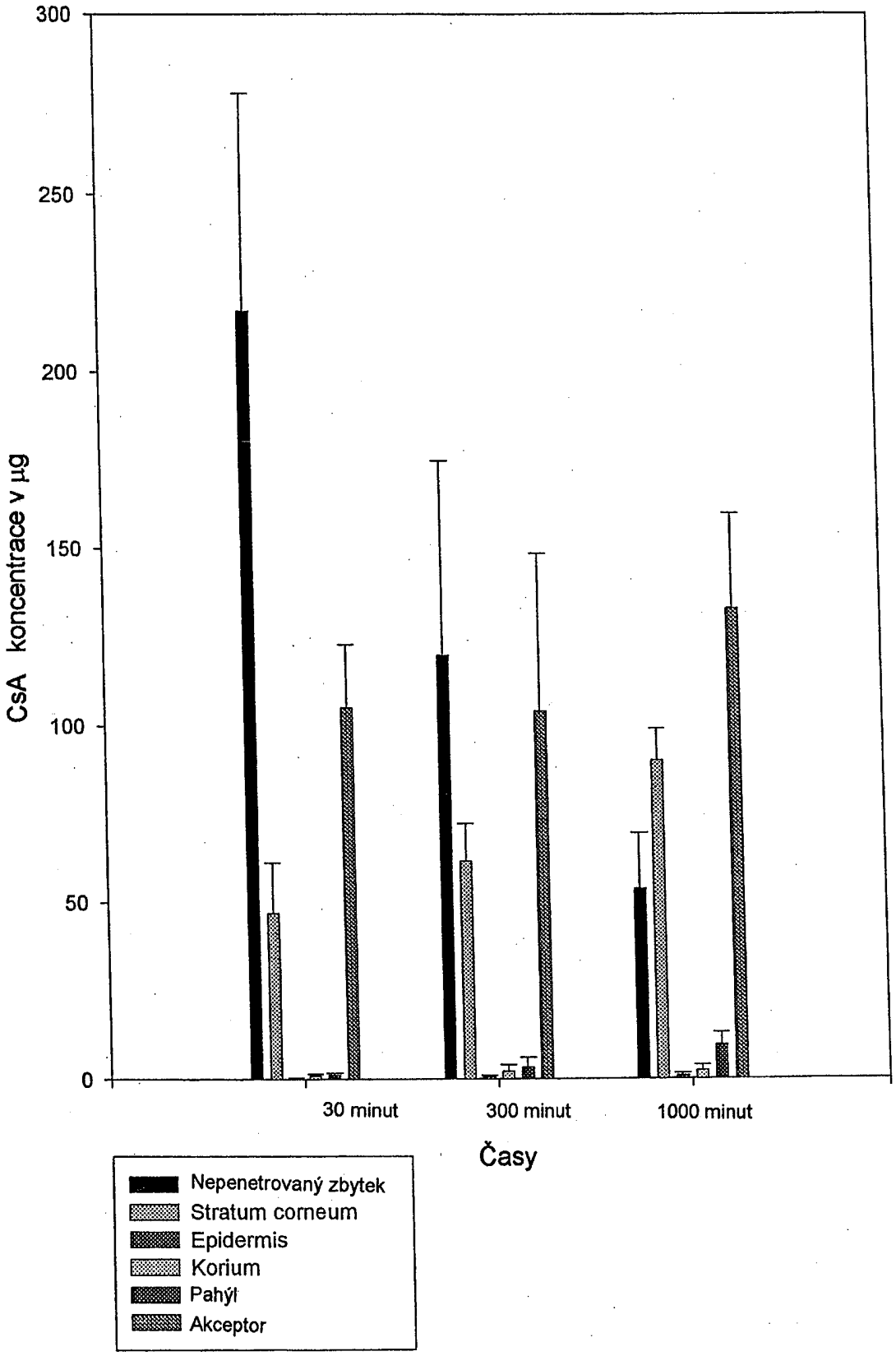
Obr. 4

KO-Systém

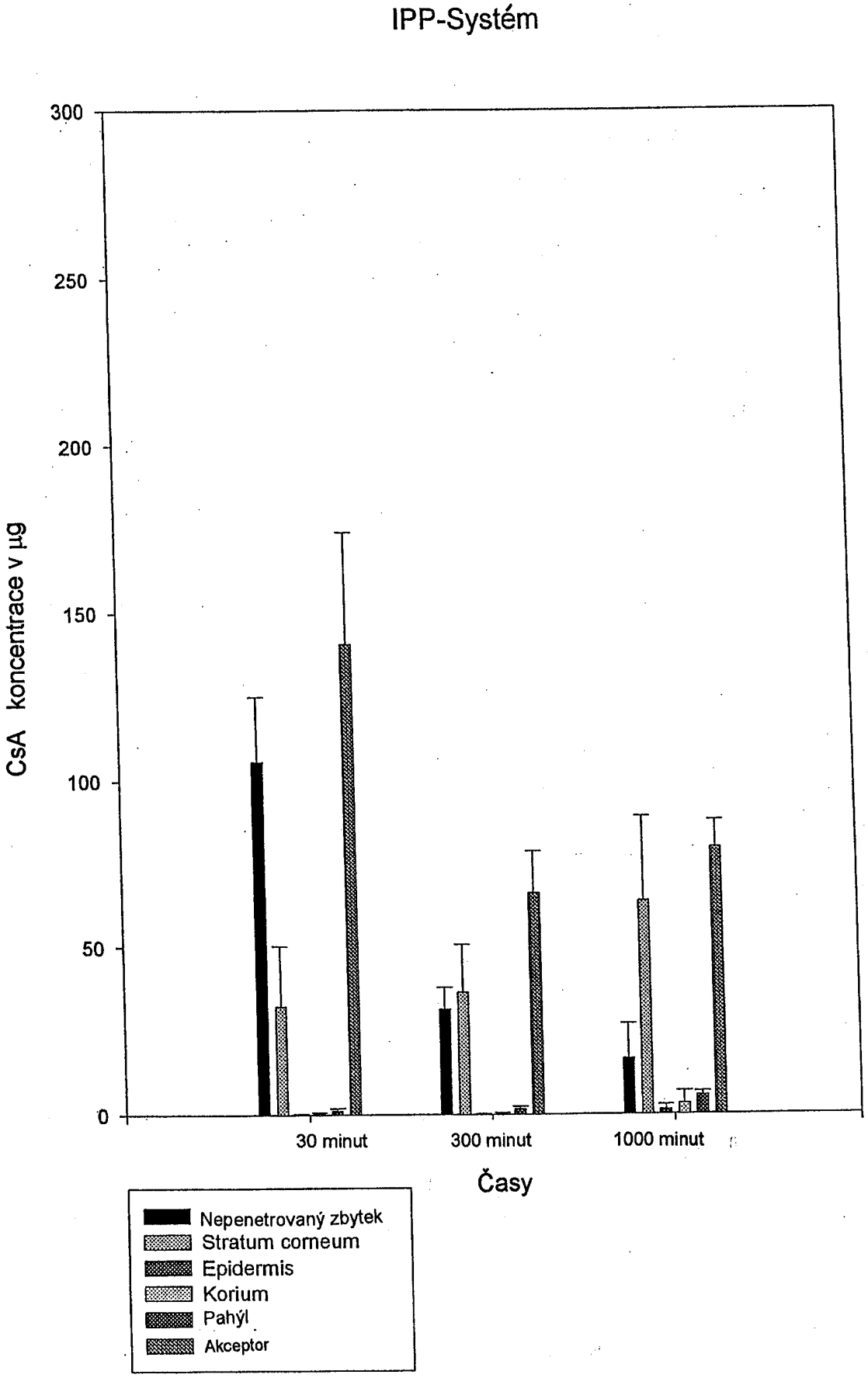


Obr. 5

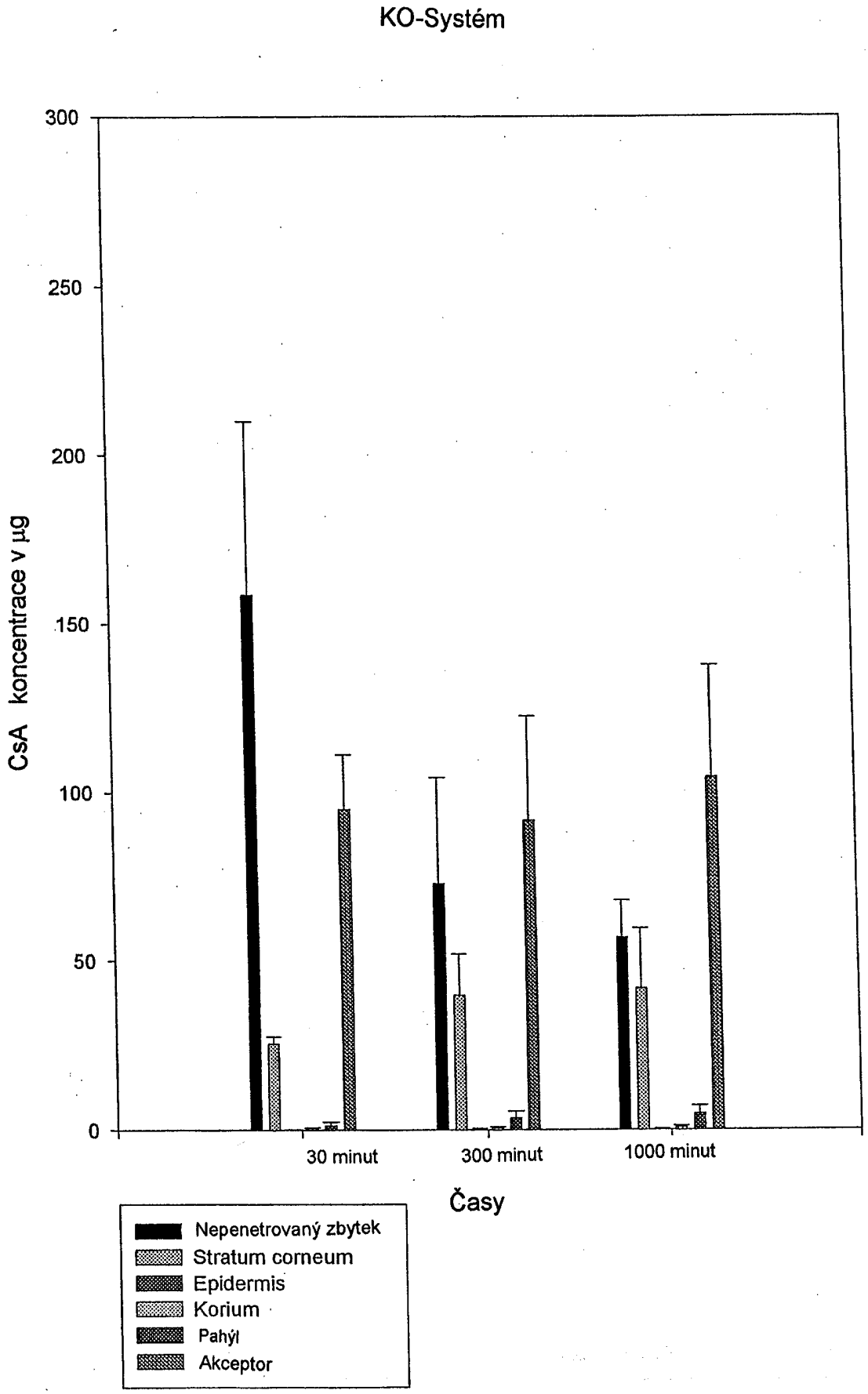
DMSO-Systém



Obr. 6


IPP-Systém
300
250
200
150
100
50
0
CsA koncentrace v µg
30 minut
300 minut
1000 minut
Časy
Nepenetrovaný zbytek
Stratum corneum
Epidermis
Korium
Pahýl
Akceptor

Obr. 7


KO-Systém
300
250
200
150
100
50
0
CsA koncentrace v µg
30 minut
300 minut
1000 minut
Časy
Nepenetrovaný zbytek
Stratum corneum
Epidermis
Korium
Pahýl
Akceptor

Obr. 8