

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2000-1662**
(22) Přihlášeno: **05.11.1998**
(30) Právo přednosti: **07.11.1997 GB 1997/9723669**
(40) Zveřejněno: **11.10.2000**
(Věstník č. 10/2000)
(47) Uděleno: **02.11.2005**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **11.01.2006**
(Věstník č. 1/2006)
(86) PCT číslo: **PCT/GB1998/003317**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 1999/024036**

(11) Číslo dokumentu:

296 066

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/7048 (2000.01)
A61K 31/436 (2000.01)
A61K 31/445 (2000.01)
A61K 47/12 (1990.01)
A61K 38/13 (1995.01)
A61K 9/06 (1968.09)
A61P 17/00 (2000.01)

(73) Majitel patentu:

WYETH, Madison, NJ, US

(72) Původce:

Ormerod Anthony David, Aberdeen, GB
Winfield Arthur, Shuwaikh Campus, KW

(74) Zástupce:

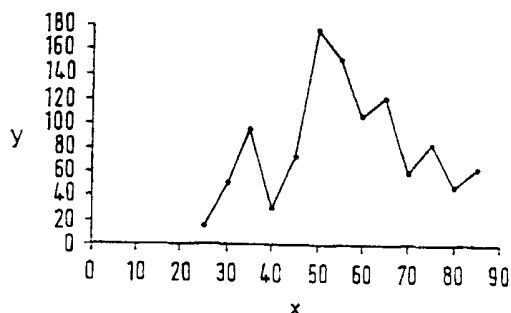
JUDr. Zdeňka Korejzová, Spálená 29, Praha 1, 11000

(54) Název vynálezu:

Prostředek pro místní podání

(57) Anotace:

Prostředek pro místní podání pro léčení chorobných kožních stavů obsahuje imunosupresivní makrolid ze skupiny sirolimus, FK506, SDZ ASM 981 a farmakologicky přijatelné analogy, deriváty nebo prekurzory těchto látek a modulátor průniku pokožkou ze skupiny alkankyselin a alkenkyselin za předpokladu, že v případě, že imunosupresivním makrolidem je FK506, pak je modulátor průniku odlišný od kyseliny olejové, přičemž modulátor průniku pokožkou a makrolid nebo jeho farmakologicky přijatelný analog, derivát nebo prekurzor jsou obsaženy v takovém relativním množství, že při aplikaci na pokožku dochází pouze k minimálnímu systemickému účinku.



CZ 296066 B6

Prostředek pro místní podáníOblast techniky

5

Vynález se týká prostředku pro místní podání pro léčení chorobných stavů pokožky, zejména lupénky.

10 Dosavadní stav techniky

Chorobné stavy pokožky jsou velmi nepříjemné a většinou působí také nepříznivě na psychický stav nemocného, takže je zapotřebí tyto stavy účinně a bezpečně léčit. Některé z těchto stavů jsou vyvolány příliš aktivním imunitním systémem. Jako příklad je možno uvést lupénku, vypa-
15 dávání vlasů, lichen planus, lupus erythematosus, pyoderma gangrenosum, vitiligo a odmítnutí štěpu hostitelem. Některé další tyto stavy mohou být vyvolány bakteriální infekcí, zejména hni-
savými infekcemi pokožky.

Chorobné stavy pokožky, vyvolané příliš aktivním imunitním systémem, je možno léčit podává-
20 ním makrolidů, které potlačují imunitní systém, jako je sirolimus (rapamycin), FK-506 (tacrolimus) nebo SDZ ASM 981. Stavy, které jsou vyvolány bakteriemi nebo hrubšími infekcemi, jako akné nebo hidranitis suppurativa, je možno léčit makrolidovými antibiotiky, jako jsou erythro-
mycin, azithromycin a clarithromycin. Tyto účinné látky se většinou podávají ve formě krémů a
emulzí místně nebo je možno je podávat perorálně.

25

Lupénka postihuje 2,4 % populace a je patrně na počátku vyvolána imunocyty. Tyto buňky spo-
lečně s keratinocyty jsou vzájemně stimulovány a aktivovány produkcí cytokinů, TGF α , IL-6 a
IL-8 z lymfocytů. Tímto mechanismem dochází k hyperproliferaci epidermis při rychlém, pouze
36 hodin trvajícím cyklu množení keratinocytů.

30

FK506 je makrolidové antibiotikum s částečnou homologií se sloučeninou sirolimus. Výzkumy
na modelech prokázaly, že tato látka má určitou účinnost při místním styku se zanícenou pokož-
kou, u alergického ekzému a v malém stupni i u lupénky. O cyklosporinu je rovněž známo, že je
možno jej použít k léčení široké škály kožních onemocnění. Použití uvedených látek je však
35 omezené vzhledem k možným vedlejším účinkům, k nimž dochází při systemickém podávání
těchto látek.

Další možností léčení chorobných stavů pokožky je místní použití steroidních látek, tyto látky
však rovněž mají nežádoucí účinky, z nichž nejzávažnějšími jsou irreverzibilní atrofie a purpura.

40

Při léčení lidského i živočišného organismu by se mělo postupovat tak, že zvolený lék by pokud
možno měl ovlivnit pouze chorobnou část organismu. Je známo, že množství látek v oběhu by
mělo být udržováno na co nejnižší koncentraci, aby nedocházelo k nežádoucím mutacím. Pro-
blémem, který vzniká při místním podávání léčivých látek na pokožku je skutečnost, že účinná
45 látka může pronikat pokožkou a dostávat se tak do oběhového systému. To je však při léčení
kožních onemocnění nežádoucí.

Makrocyclický lakton, antibiotikum rapamycin, bylo popsáno v EP 533 433. Tato látka již byla
použita místně k léčení některých kožních onemocnění jako lupénka a kožní záněty. Nebyly však
50 vyvíjeny žádné snahy omezit množství rapamycinu, pronikající pokožkou do celého organismu.
Nebyla ani diskutována možnost snížení obíhajícího rapamycinu nebo jiné makrolidové látky,
užívané pro léčení kožních poruch.

Nyní bylo zjištěno, že omezení průniku je možno dosáhnout tak, že se k uvedeným látkám přidá sloučenina, která mění průnik účinných látek pokožkou. V oboru jsou již známé látky, které tento průnik podporují, účelem těchto látek je zvýšit průnik účinných látek pokožkou. I když tyto látky proniknou pokožkou do stratum corneum, neměly by však procházet až do krevního řečiště nebo do lymfatického systému.

Je rovněž známo, že imunosupresivní látky, podávané perorálně a steroidy, podávané místně, je možno využít k léčení kožních onemocnění, jako jsou lupénka a ekzémy. Účinnost těchto látek je však často nespecifická a mimo to může docházet k nežádoucím vedlejším účinkům. Bylo by proto žádoucí navrhnout prostředky pro místní podání s obsahem imunosupresivních látek, kterými by bylo možno přednostně léčit pouze chorobné oblasti pokožky, aniž by přitom došlo ve větší míře ke vstřebávání do krevního oběhu. Tímto způsobem by bylo možno vyloučit nežádoucí účinky, spojené s používáním těchto látek.

Sirolimus je makrocyclické laktonové antibiotikum, produkované mikroorganismem *Streptomyces hygroscopicus*. Je známo, že tato látka má vysoký imunosupresivní účinek. Sirolimus působí specifickou vazbou na skupinu cytosolických imunofilinů, označovanou jako bílkoviny, schopné se vázat na FK, jinak označované také FKBP. Komplex sirolimus - FKBP působí nejméně na třech místech. Především blokuje fosforylační aktivaci kinázy p70 s6, jde o enzym, působící na 40S ribosomální podjednotce bílkoviny s6, čímž dochází ke snížení účinnosti translace. Dále působí tato látka prevencí aktivace specifických elongačních faktorů, nezbytných pro syntézu bílkovin. Mimo to ještě působí tato látka inhibicí enzymatické účinnosti kinázy komplexu cdK-cyklin E, závislé na cyklinu, která řídí přechod G1/S při dělení buněk inhibicí normálního poklesu inhibitoru p27 cdk, při němž by došlo ke stimulaci IL-2. Sirolimus má oproti jiným imunosupresivním látkám při léčení lupénky tu výhodu, že má inhibiční účinek na proliferaci keratinocytů. Při pokusech in vitro bylo prokázáno, že k tomuto inhibičnímu účinku dochází při koncentraci v rozmezí 3 až 10 µg/ml. Je možno použít i širší rozmezí, např. 1 až 20 µg/ml, avšak účinnější rozmezí je 5 až 8 µg/ml.

30 Podstata vynálezu

Podstatu vynálezu tvoří prostředek pro místní podání pro léčení chorobných kožních stavů, který obsahuje imunosupresivní makrolid ze skupiny sirolimus. FK506, SDZ ASM 981 a farmakologicky přijatelné analogy, deriváty nebo prekurzory těchto látek a modulátor průniku pokožkou ze skupiny alkankyselin a alkenkyselin za předpokladu, že v případě, že imunosupresivním makrolidem je FK506, pak je modulátor průniku odlišný od kyseliny olejové, přičemž modulátor průniku pokožkou a makrolid nebo jeho farmakologicky přijatelný analog, derivát nebo prekurzor jsou obsaženy v takovém relativním množství, že při aplikaci na pokožku dochází pouze k minimálnímu systemickému účinku.

Pod pojmem "minimální systemický účinek" se rozumí, že množství účinné látky, prokazatelné v oběhu je s výhodou nižší než 0,3 ng/ml v průběhu 4 až 24 hodin po podání, s výhodou jde o koncentraci 0,1 ng/ml.

45 Makrocyclické laktonové antibiotikum se s výhodou volí ze skupiny erythromycin, azithromycin nebo clarithromycin. Tato makrocyclická laktonová antibiotika jsou účinná při léčení hnisavých a bakteriálních kožních infekcí, jako je acne vulgaris.

50 Imunosupresivní makrolidová látka se volí obvykle ze skupiny sirolimus, FK-506 nebo SDZ ASM 981. Sirolimus je velmi vhodnou látkou vzhledem k tomu, že je také účinným antibiotikem, takže brání mikrobiální infekci prostředku. Mikrobiologické vlastnosti této látky jsou rovněž

výhodné v případě léčení lupénky vlasové části hlavy, kožních zánětů, zejména v oblasti výskytu mazových žlázek a v případě sekundárně infikovaného alergického ekzému.

5 Ve výhodném provedení je modulátorem průniku pokožkou látka ze skupiny alkankyselin nebo alkenkyselin, s výhodou o 6 až 20 atomech uhlíku. Může jít o kyselinu kaprinovou, oktanovou, olejovou o kyseliny se střední délkou řetězce. Modulátor průniku napomáhá průniku imunosupresivní makrolidové látky nebo makrocyclického antibiotika přes stratum corneum, které je hlavní bariérou pro průnik účinných látek. Stratum corneum obsahuje shluky keratinových buněk, mezi nimiž se nachází vrstvy lipidů a voda. Přidáním modulátoru průniku k farmaceutickému prostředku, dochází k částečnému rozrušení této bariéry, zejména lipidových struktur. Pak je možno vytvořit gradient účinné látky, pronikající stratum corneum, což usnadní difuzi imunosupresivní makrolidové látky nebo makrocyclického laktonového antibiotika přes stratum corneum do živé epidermis. Relativní koncentrace makrolidu nebo antibiotika a modulátoru průniku se volí tak, aby došlo pouze k částečnému průniku pokožky. Tímto způsobem je možno přivést 15 makrocyclické laktonové antibiotikum nebo imunosupresivní makrolidovou látku až do míst, kde má být vyvíjen jejich léčebný účinek, avšak nedochází ke značnějšímu vstřebávání do systemického oběhu, takže nedochází k systemickým nežádoucím vedlejším účinkům.

20 Je vhodné použít látku, upravující průnik spolu se systémem rozpouštědel, který zahrnuje aromatický alkohol, jako fenylalkanol nebo biologicky přijatelný benzenový derivát, popř. ve směsi s monoglyceridy a/nebo s estery mastných kyselin, např. izopropylmyristátem. Z dalších použitelných rozpouštědel je možno uvést benzaldehyd, benzylbenzolát a acetol. Kombinace rozpouštědla a modulátoru průniku optimalizuje průchod imunosupresivního makrolidu nebo makrocyclického laktonového antibiotika přes stratum corneum.

25 Koncentrace makrocyclického laktonového antibiotika nebo imunosupresivního makrolidu je s výhodou až 10 % hmotnostních, vztaheno na hmotnost prostředku. Výhodné rozmezí koncentrace makrocyclického laktonového antibiotika nebo imunosupresivního makrolidu je 0,5 až 5,9 % nebo 6 až 12 % hmotnostních. Ještě výhodnější rozmezí koncentrace makrocyclického antibiotika nebo imunosupresivního makrolidu je 1 až 5 nebo 6 až 8 % hmotnostních. Koncentrace 0,5 až 2 % hmotnostní je nejvýhodnější pro léčení ekzému. Pojem "procento hmotnostní" je 30 vždy vztaheno na hmotnost výsledného prostředku.

35 Svrchu uvedené rozmezí množství makrocyclického laktonového antibiotika nebo imunosupresivního makrolidu nebo jeho analogu nebo prekurzoru se s výhodou užije v prostředku, který současně obsahuje také modulátor průniku. Koncentrace tohoto modulátoru je 0,1 až 60 % hmotnostních, s výhodou 0,1 až 39,9 % nebo 40 až 80 % hmotnostních, velmi výhodné rozmezí je 0,1 až 19,9 %, 20 až 39,9 % nebo 40 až 60 % hmotnostních.

40 Svrchu uvedené rozmezí množství makrocyclického laktonového antibiotika nebo imunosupresivní látky a modulátoru průniku se s výhodou užije v prostředku ve spojení se systémem rozpouštědel, tento systém rozpouštědel je obsažen v koncentraci 5 až 90 % hmotnostních. Výhodné rozmezí koncentrace systému rozpouštědel je 0,1 až 49,9 nebo 50 až 90 % hmotnostních. Velmi výhodné koncentrační rozmezí systému rozpouštědel je 0,1 až 19,9, 20 až 39,9, 40 až 69,9 nebo 45 70 až 90 % hmotnostních.

Prostředek s výhodou obsahuje také zahušťovadlo. V případě, že jde o prostředek pro místní podání, měl by tento prostředek mít příslušnou konzistenci. Z tohoto důvodu je vhodné zařadit zahušťovadlo, jako cetostearylalkohol nebo bílý měkký parafin, vhodný pro tento účel. Tímto 50 způsobem může dojít ke snížení průniku imunosupresivní látky, přesto je zahušťovadlo vhodné pro účinnou aplikaci. Prostředky tohoto typu jsou zvláště vhodné pro použití ve vlasové části hlavy.

Kromě kapalného a pevného nosného prostředí, tak jak bylo uvedeno svrchu, může prostředek podle vynálezu dále obsahovat ještě vonné látky, kluzné látky, látky, napomáhající rozpouštění nebo vzniku suspenze a také plniva.

- 5 Prostředek může také být rozpuštěn nebo uveden do suspenze v jakémkoliv farmaceuticky přijatelném kapalném nosiči, jako je voda nebo farmaceuticky přijatelný olej nebo tuk. Kapalný nosič tohoto typu může obsahovat další farmaceuticky vhodné přísady, jako pomocná rozpouštědla, emulgátory, pufry, konzervační prostředky, suspenzní činidla, zahušťovadla, barviva, regulátory viskozity, stabilizátory nebo látky pro úpravu osmotického tlaku.

10

Vynález bude dále popsán v souvislosti s přiloženými výkresy.

Přehled obrázků na výkresech

- 15 Na obr. 1 je grafické znázornění účinku obsahu kyseliny kaprinové a benzylalkoholu v měnícím se poměru na průtok sloučeniny sirolimus (osa y) v mikrogramech/h/cm², na ose x je nanášeno procentuální množství kyseliny kaprinové v benzylalkoholu.

- 20 Na obr. 2 je grafické znázornění účinku obsahu kyseliny oktanové a benzylalkoholu při měnícím se poměru těchto látek na průtok sloučeniny sirolimus (osa y) přes stratum corneum, x znamená procentuální množství oktanové kyseliny v benzylalkoholu.

- 25 Na obr. 3 je grafické znázornění účinku obsahu kyseliny olejové a benzylalkoholu v měnícím se poměru na průnik sloučeniny sirolimus v mikrogramech/h/cm² přes stratum corneum, x znamená procentuální množství kyseliny olejové v benzylalkoholu.

- 30 Na obr. 4 je grafické znázornění vlivu koncentračních změn sloučeniny sirolimus v mg/ml (osa y) na průnik této látky v mikrogramech/h/cm² přes stratum corneum, koncentrace této látky je nanášena na ose x, poměr kyseliny kaprinové a benzylalkoholu zůstává v tomto případě konstantní.

- Na obr. 5 je grafické znázornění výsledků klinických pokusů (osa y) po aplikaci prostředku s obsahem sloučeniny sirolimus (prázdný sloupec) a po aplikaci placeba (tečkovaný sloupec) podle příkladu 3.

- 35 Na obr. 6 je grafické znázornění rozdílu ve výsledcích klinických pokusů po podání prostředku s obsahem sloučeniny sirolimus z příkladu 3. Na ose y je uveden počet osob v každé skupině. Je zřejmé, že kladné výsledky, znázorněné na ose x se zlepšují při použití prostředku s obsahem účinné látky.

- 40 Na obr. 1 až 4 jsou znázorněny výsledky pokusů in vitro. Tyto výsledky byly využity k optimalizaci koncentrace sloučeniny sirolimus a také k optimalizaci poměru množství látky, modifikující průnik a rozpouštědla v prostředku, který byl pak použit ke klinickým zkouškám in vivo.

- 45 Praktické provedení vynálezu bude osvětleno následujícími příklady, které však nemají sloužit k omezení rozsahu vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

- 50 Příklad 1

Byl připraven prostředek, obsahující 8 % sloučeniny sirolimus a 92 % nosného prostředí, tvořeného 50 % kyseliny kaprinové a 50 % benzylalkoholu. Tento prostředek byl podroben zkouškám

na 4 dobrovolnících se zdravou pokožkou. Byla užitá jediná aplikace. Po této aplikaci byly po 4, 7 a 24 hodinách odebrány vzorky žilní krve, v nichž nebylo možno prokázat významnější koncentrace účinné látky při použití MSGCMS, jímž je možno prokázat koncentrace uvedené látky až do 0,1 ng/ml.

5

Po sedmi hodinách byly rovněž odebrány vzorky pokožky, které byly uloženy na skleněné podložní sklíčko a pak byly vytvořeny horizontální sériové řezy za vzniku 4 vrstev s tloušťkou 0,7 mm, tyto řezy byly extrahovány acetonitrem. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 1. V této tabulce jsou uvedeny koncentrace účinné látky ve tkáni sedm hodin po podání směsi kyseliny kaprinové a benzylalkoholu v poměru 50:50 s obsahem 8 % sloučeniny sirolimus. Tloušťka horizontálních kožních řezů byla 0,7 mm. Tzn., že např. řez 2 pokožkou je horizontální vrstva pokožky ve vzdálenosti 0,7 až 1,4 mm od povrchu pokožky.

10

Tabulka 1

Řez pokožkou	Koncentrace sirolimus (µg/mg)			
	A	B	C	D
1	0,059	0,288	0,301	0,216
2	NP	0,108	0,144	0,126
3	0,255	0,173	0,339	0,256
4	0,239	0,214	0,370	0,241

15

NP = nebylo provedeno
řez 1 = povrch pokožky

Příklad 2

20

Prostředek, obsahující 2,2 % sirolimus v prostředí, tvořeném 40 % izopropylmyristátu, 10 % benzylalkoholu a 50 % kyseliny kaprinové byl podroben zkouškám jedinou aplikací u 3 jednotlivců se zdravou pokožkou. Po 4, 7 a 24 hodinách po aplikaci byly odebrány vzorky žilní krve, v nichž nebylo možno při použití MSGCMS prokázat sirolimus.

25

Po 7 hodinách byly od dvou z těchto dobrovolníků odebrány vzorky pokožky. Tyto vzorky byly rozděleny na 2 řezy paralelně s povrchem pokožky, čímž byla získána horní a spodní polovina vzorku, v podstatě odpovídající vrstvě epidermis a dermis. Tyto vzorky byly homogenizovány v acetonitru a koncentrace účinné látky byla stanovena pomocí HPLC. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2, jde o koncentrace sirolimus 7 hodin po jeho podání v prostředku, který obsahoval 2,2 % sirolimus ve směsi kyseliny kaprinové, izopropylmyristátu a benzylalkoholu v poměru 50:40:10.

30

Tabulka 2

Kožní segment	Koncentrace sirolimus µg/mg	
	Subjekt A	Subjekt B
Horní (1)	0	1,5
Spodní (2)	0,333	0,5

35

Příklad 3

40

Byla provedena dvojité slepé zkoušky srovnání účinku sirolimus v prostředku z příkladu 1 a 2 při místním podání na pravou a levou stranu těla. Zkouška byla provedena na 24 nemocných, trpících déle než 3 měsíce lupénkou. Jednotlivé plaky byly léčeny prvních šest týdnů prostředkem z příkladu 2 s nižším obsahem účinné látky. Po této době byl k léčení použit prostředek z příkla-

du 1 s vyšším obsahem účinné látky, který byl podáván 6 týdnů nebo až do té doby, kdy došlo ke zřetelnému zlepšení na jedné straně.

5 Do zkoušky byly zařazeni dospělí nemocní s jasně ohraničenými chronickými lupénkovými plaky tak, aby bylo možno nalézt na každé straně alespoň jeden srovnatelný plak s velikostí přibližně 50 cm². Všichni nemocní byli starší 18 let, byli schopni sami nanášet krém a netrpěli žádnou další zjevnou chorobou. Koncentrace transamináz u těchto nemocných byla nejvyšší dvojnásobná ve srovnání s normální hodnotou a do zkoušky byli zařazeni nemocní, kteří neplánovali v průběhu 6 až 12 týdnů pokusu dovolenou nebo období slunění.

10 Před začátkem pokusu nebyla lupénka u těchto nemocných léčena a byly nanášeny pouze změkčovací krémy bez jakýchkoliv účinných látek.

15 Pak byla provedena dvojitá slepá zkouška, rozdělení do skupin bylo náhodné. Prostředky byly nanášeny dvakrát denně čistě umytýma rukama. Prostředek s obsahem účinné látky byl trvale nanášen na plak na jedné straně těla, na druhou stranu těla bylo nanášeno pouze nosné prostředí bez obsahu účinné látky. Jako místo aplikace byly pokud možno vybrány lokty nebo paže vzhledem k tomu, že tyto části těla nebývají zkříženě kontaminovány.

20 Výsledky byly vyhodnoceny v týdnech 0, 2, 4 a 6 při aplikaci prostředku s nižší koncentrací účinné látky a v týdnech 8, 10 a 12 při aplikaci prostředku s vyšší koncentrací účinné látky za předpokladu, že nedošlo k žádným příznakům ani k laboratornímu průkazu toxicity. Na konci léčení nebo při přerušení testu byly odebrány vzorky z testovaného i kontrolního plaku. Tyto vzorky nebyly odebrány v případě, že došlo k nežádoucí reakci na aplikaci prostředku vzhledem k tomu, že tyto případy byly vyřazeny ze zkoušky.

30 Vyhodnocení plaků bylo provedeno jednou za 14 dnů při použití stupnice 0 až 8 od zčervenání kůže přes její ztlustění až do olupování. Objektívni zlepšení bylo sledováno na zkušebním plaku i na kontrolním plaku na konci použití každého prostředku s nižší nebo vyšší koncentrací účinné látky. V těchto případech byla tloušťka plaků měřena pomocí ultrazvuku a zčervenání bylo měřeno odrazem světla při použití příslušného zařízení, každý plak byl analyzován na pěti místech a z výsledků byl vypočítán průměr. Získané výsledky byly srovnávány s výsledky, dosaženými po aplikaci prostředku s obsahem betamethasonu.

35 Při každé kontrole byl také určen počet všech krvinek, byly provedeny biochemické zkoušky včetně stanovení koncentrace močoviny, elektrolytů, jaterních enzymů, bilirubinu, vápníku, hořčíku, kyseliny močové, glukózy, amylázy, svalových enzymů, lipidů a cholesterolu. Koncentrace sirolimus byly stanoveny každé dva týdny v průběhu léčení. Vzorky byly uloženy při teplotě -80 °C a zaslány do centrální referenční laboratoře pro analýzu LC/MS/MS (Wyeth Ayerst Research).

40 Ve vzorcích pokožky byla měřena tloušťka pokožky a imunohistochemicky byl stanoven obsah imunoperoxidázy při použití následujících protilátek.

45 Protilátka Ki-67 byla použita pro stanovení hyperproliferace v epidermis, lymfocyty CD4 byly použity ke stanovení autoimunitní aktivity, která lupénku vyvolává.

50 Počítání buněk ve tkáních byla prováděna automaticky při použití analýzy obrazu pomocí počítače (Seescan). Údaje byly analyzovány Studentovým t-testem pro párové údaje a Wilcoxonovým testem.

Při srovnání konečných výsledků pro účinnou látku a placebo byla zjištěna statistická významnost při 0,032 pro t-test nebo 0,0457 pro Wilcoxonův test, jak je uvedeno v tabulce 3 a na obr. 5 a 6. Měření zarudnutí a tloušťky pomocí ultrazvuku se statisticky významně neodlišovalo. U tří

nemocných došlo v průběhu léčení ke vzniku citlivosti na použité místní prostředky. U jednoho z nich šlo o citlivost k benzylalkoholu, u druhého o citlivost k sirolimus a u třetího o citlivost k oběma těmito látkám.

- 5 Při zkouškách s protilátkou Ki-67 bylo možno prokázat statisticky významné snížení proliferace buněk od průměrné hodnoty $83/\text{mm}^3$ u kontrol na $55/\text{mm}^3$ při použití sirolimus, výsledek byl statisticky významný pro $p = 0,027$ (t-test). Při použití buněk CD4 byly kontrolní hodnoty $61/\text{mm}^3$, po podání rapamycinu bylo dosaženo hodnoty $32,7/\text{mm}^3$, což znamená statistickou významnost při $p = 0,0026$ (t-test). Tento test byl nepárový vzhledem k chybějícím vzorkům.

10

V následující tabulce 3 jsou uvedeny výsledky klinických zkoušek po místním podání sirolimus. Bylo použito stupnice 0 až 24, přičemž vyšší hodnoty znamenají lepší výsledek, dále byla stanovena tloušťka v mm pomocí ultrazvuku, zarudnutí bylo hodnoceno odhadem.

15 Tabulka 3

	Sirolimus		Kontrola		Významnost
	Průměr	S. D.	Průměr	S. D.	
Klinický výsledek	11,2	5,8	9,1	4,8	$p = 0,032$
Tloušťka pokožky	2,99	0,6	2,96	0,72	NS
Zarudnutí	34,5	7,9	33,1	7,7	NS

Výsledky prokazují, že dochází k průniku sirolimus z prostředku podle vynálezu. Je pravděpodobné, že zejména v případě aplikace na vlasovou část hlavy bude možno při použití tohoto prostředku účinněji léčit lupénku v této lokalizaci.

20

PATENTOVÉ NÁROKY

25

1. Prostředek pro místní podání pro léčení chorobných dermatologických stavů, **v y z n a -**
č u j í c í s e t í m, že obsahuje:

- 30 - imunosupresivní makrolid ze skupiny sirolimus, FK506, SDZ ASM 981 a farmakologicky přijatelné analogy, deriváty nebo prekurzory těchto látek,

- modulátor průniku pokožkou ze skupiny alkankyselin a alkenkyselin za předpokladu, že v případě, že imunosupresivním makrolidem je FK506, pak je modulátor průniku odlišný od kyseliny olejové,

- 35 přičemž modulátor průniku pokožkou a makrolid nebo jeho farmakologicky přijatelný analog, derivát nebo prekurzor jsou obsaženy v takovém relativním množství, že při aplikaci na pokožku dochází pouze k minimálnímu systemickému účinku.

2. Prostředek podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje až 10 % hmotnostních imunosupresivního makrolidu nebo jeho analogu, derivátu nebo prekurzoru, přičemž
40 modulátor průniku je přítomen v množství 0,1 až 60 % hmotnostních.

3. Prostředek podle nároku 1 nebo 2, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se alkankyselina nebo alkenkyselina volí ze skupiny kyselina kaprinová, oktanová a olejová.

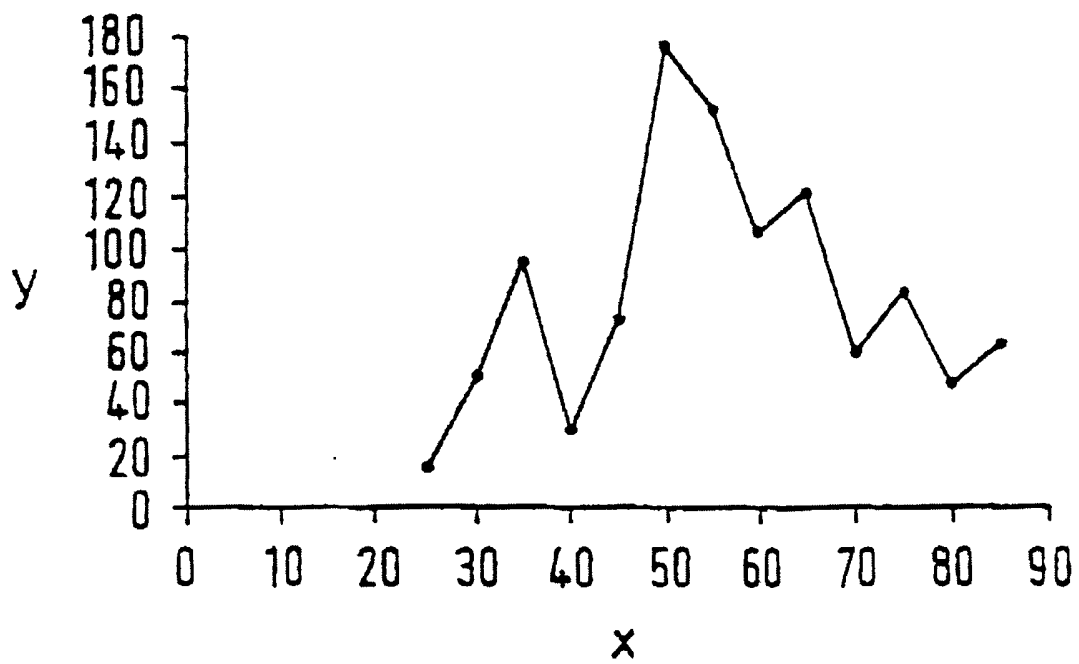
- 45 4. Prostředek podle některého z nároků 1 až 3, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že dermatologickým chorobným stavem je lupénka, alopecie, ekzematická dermatitida, lichen planus, lupus

erythematosus, pyoderma gangrenosum, vitiligo, reakce mezi štěpem a hostitelem, hnisavé kožní infekce, bakteriální infekce kůže nebo akné vulgaris.

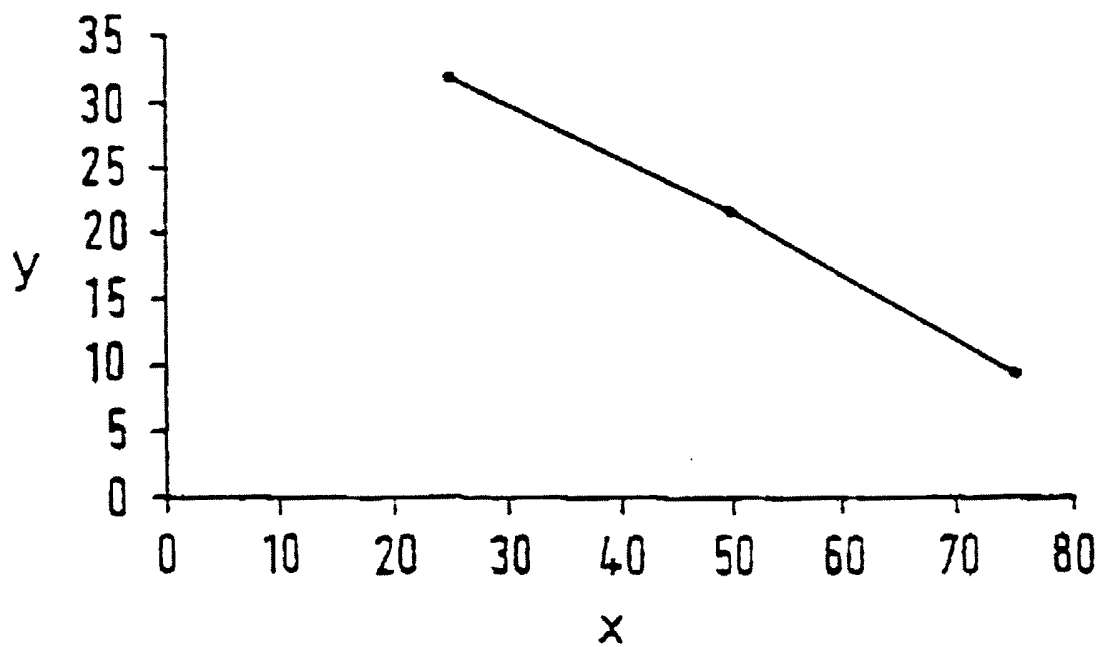
5. Prostředek podle nároku 4, **vyznačující se tím**, že dermatologickým chorobným stavem je ekzematická dermatitida a koncentrace imunosupresivního makrolidu nebo jeho analogu, derivátu nebo prekurzoru je 0,05 až 2 % hmotnostní.
6. Prostředek podle některého z nároků 1 až 5, **vyznačující se tím**, že se modulátor průniku použije spolu se systémem rozpouštědel.
7. Prostředek podle nároku 6, **vyznačující se tím**, že systém rozpouštědel obsahuje aromatický alkohol nebo biologicky přijatelný benzenový derivát, popřípadě ve směsi s monoglyceridy a/nebo estery mastných kyselin.
8. Prostředek podle nároku 6 nebo 7, **vyznačující se tím**, že modulátor průniku obsahuje kyselinu kaprinovou a systém rozpouštědel obsahuje benzylalkohol.
9. Prostředek podle některého z nároků 6 až 8, **vyznačující se tím**, že koncentrace systému rozpouštědel je v rozmezí 5 až 90 % hmotnostních.
10. Prostředek podle některého z nároků 1 až 9, **vyznačující se tím**, že dále obsahuje zahušťovadlo.
11. Prostředek podle nároku 10, **vyznačující se tím**, že se zahušťovadlo volí ze skupiny bílý měkký parafín, cetostearylalkohol, žlutý měkký parafín, cetylalkohol, stearylalkohol, mýdla dvojsytných karboxylových kyselin a karnaubský vosk.
12. Prostředek podle některého z nároků 1 až 11, **vyznačující se tím**, že jako imunosupresivní makrolid obsahuje sirolimus.
13. Použití imunosupresivního makrolidu ze skupiny sirolimus, FK506, SDZ ASM 981 a farmakologicky přijatelných analogů, derivátů a prekurzorů těchto látek pro výrobu prostředků pro místní podání podle některého z nároků 1 až 12.

3 výkresy

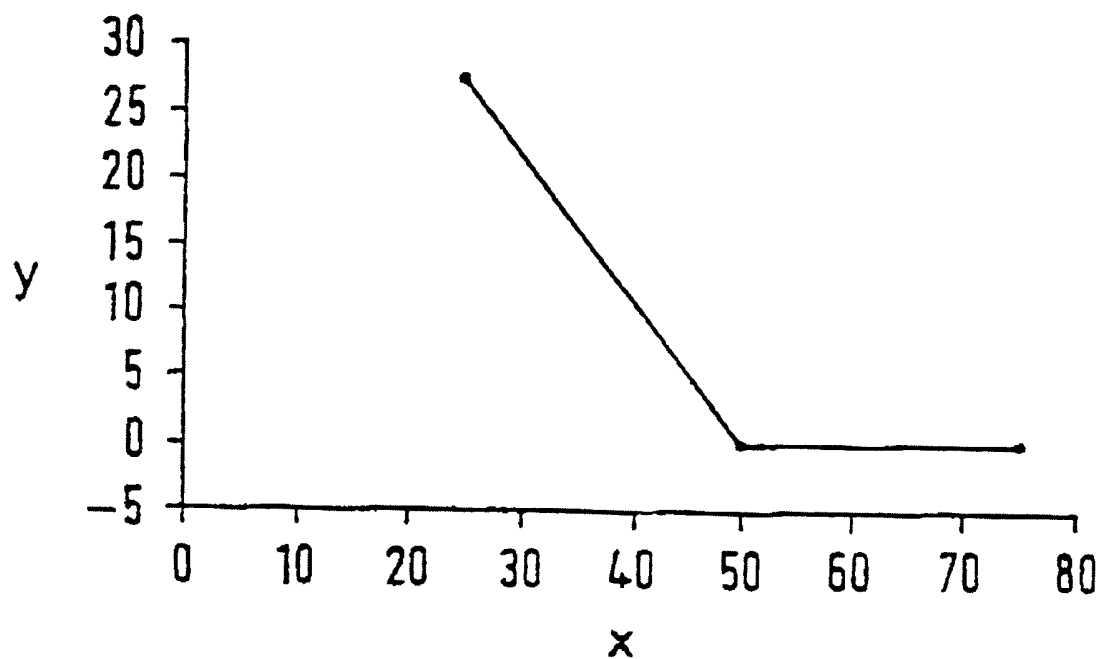
OBR. 1



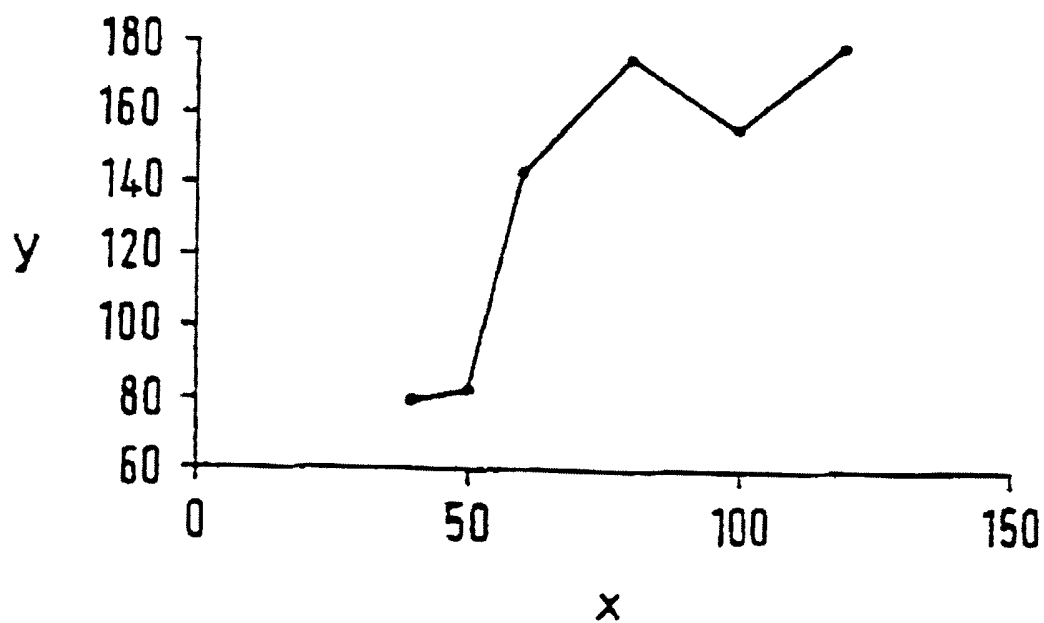
OBR. 2



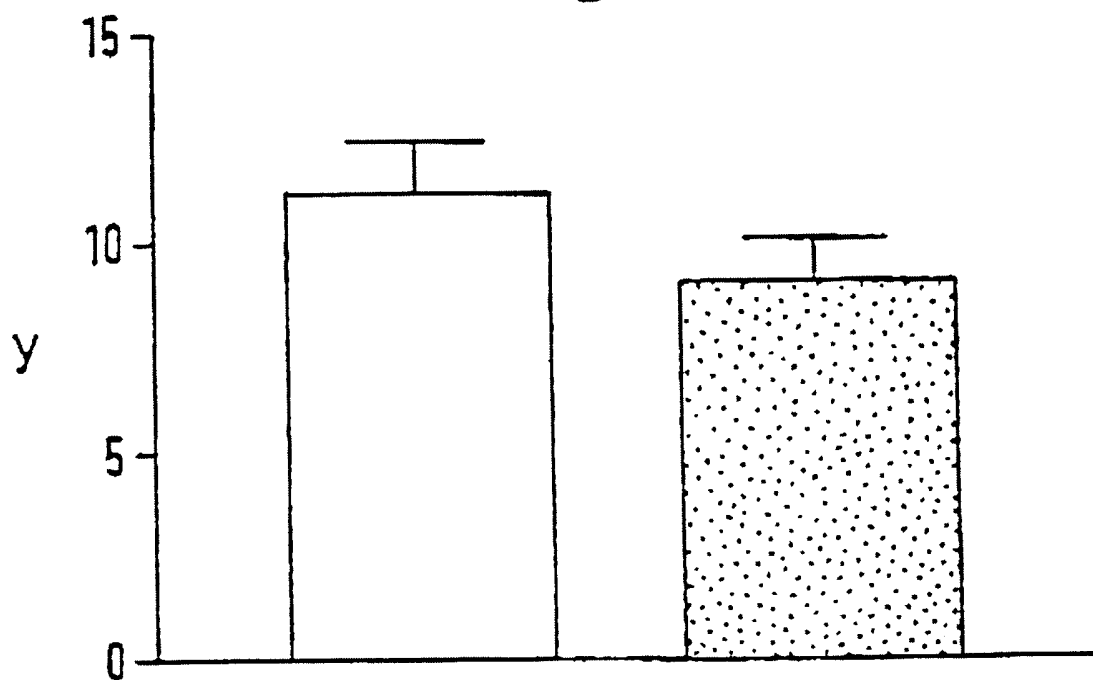
OBR. 3



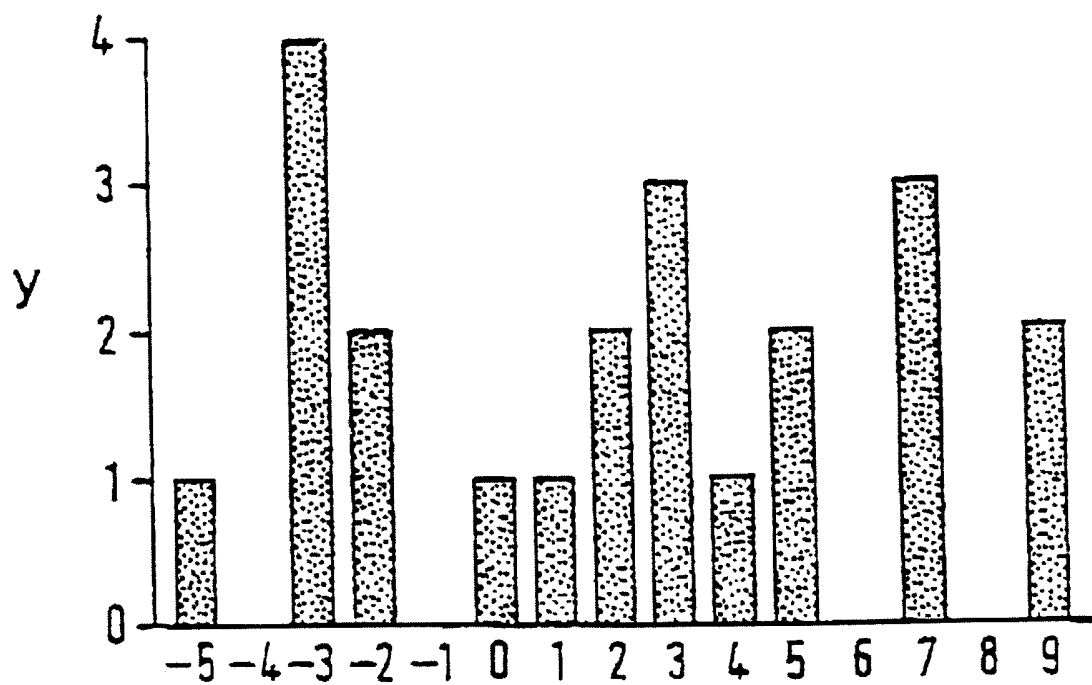
OBR. 4



OBR. 5



OBR. 6



Konec dokumentu
