P01 03274

A2

A melanin pigment szintézisét stimuláló készítmény és eljárás előállítására

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

KIVONAT

A találmány a humán gyógyászat ágával, ezen belül a dermatológiával kapcsolatos, közelebbről a bőrben levő melanin pigmentek szintézisének stimulálására képes készítményre vonatkozik, mely ezáltal hasznos a vitiligó, valamint a bőr bármilyen nemű (például leégés miatti) depigmentációjának kezelésére.

A találmány tárgya kiterjed a szóban forgó készítmény előállítási eljárására is, melynek értelmében humán méhlepényszigetet szerves oldószerrel extrahálunk, és az extraktumot tisztítás és szárítás után 0,2 - 4,0 mg/ml koncentrációban kalcium-kloridot tartalmazó, 90 - 96°-os alkoholban újraoldjuk.

PK

P0103274

A2 [illegible]

A melanin pigment szintézisét stimuláló készítmény és eljárás előállítására

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

A találmány a humán gyógyászat ágával, ezen belül a dermatológiával kapcsolatos, közelebbről a bőrben levő melanin pigmentek szintézisének stimulálására képes, ezáltal a vitiligó kezelésére alkalmas készítményre, valamint a szóban forgó készítmény előállítási eljárására vonatkozik.

A vitiligó, vagy más néven leukoderma vagy bőrpigmenthiány vagy foltos festékhiány az emberiség által az egyik legrégebben ismert betegség, melyre jellemző a bőrben levő melanin pigmentet termelő sejtek számának csökkenése. A betegség a világ népességének mintegy 1 %-át érinti korra, nemre és fajra való tekintet nélkül. Kóroktana ismeretlen, és máig nem létezik rá egyértelmű kezelés. A betegség az extrém idegfeszültséggel járó helyzeteknek kitett betegekben a bőr fokozatos depigmentációjában nyilvánul meg, mely kedvezőtlenül befolyásolja a beteg pszichés állapotát és társadalmi viselkedését, ha egyszer megkezdődnek a külső tünetek, azaz a főként az arcon, a törzsön és az ízületi területeken mutatkozó hiperpigmentált udvarral körülvett fehér bőrterületek.

A technika állásából ismert, hogy bizonyos növényi eredetű vagy félszintetikusan előállított kémiai anyagok, nevezetesen a pszoralének alkalmazhatók vitiligó kezelésére. Ezek az anyagok orálisan vagy topikálisan beadva a melanocitákban, vagyis bőrpigmentet termelő sejtekben koncentrálódnak, abszorbeálják az ultraviola sugárzásból

származó energiát, és előmozdítják az említett pigment, a melanin termelődését (Arnold, M. J. Jr. "Psoralens and Suntan", *Hawaii Med. J.*, 1957-16391); (Becker, S.W. Jr. "Methods of increasing skin pigmentation", *J. Sec. Cosmetic Ehem.*, 1958-9-80); (Fitzpatrick, T.B. „Pigmentary Diseases" *Current Therapy* 1958-314); (Becker, S.W. Jr. "Effect of 8-Methoxy Psoralen and ultraviolet light in human skin". *Science* 1958-127-878); (Sidi, E. Planat, P. „Practical considerations on current treatment of vitiligo", *Revue of Medicins*, 1968-23 Dec).

Viszont a pszoralének nem mentesek toxikus mellékhatásoktól, topikális alkalmazás esetén képesek dermatitisz vagy a bőr nekrózisának előidézésére. Ráadásul hatásuk lassú, és az esetek többségében a kezelés abbahagyásakor reverzibilis.

Másrészt ezen anyagok alkalmazása nehézkes, a betegeket topikális beadás esetén naponta fokozatosan növekvő ideig ultraviola sugárzásnak kell kitenni, mely néha súlyos toxikus reakciókat, például égéseket vált ki, vagy orális beadás esetén májelégtelenséget, emésztőrendszeri, vese és idegrendszeri rendellenességet okoz.

Találmányunkhoz közelebb álló másik analóg technikai megoldás a Melagenin Lotion®, lásd FR 8220746 számú szabadalom.

A Melagenin Lotion® egészséges terhes nőktől normális gyermekszülés után aszeptikus körülmények között kapott humán méhlepény 50 %-os, alkoholos extraktuma. Az extraktum egy 1500 - 4000 dalton molekulatömegű lipoproteint

tartalmaz, ez a hatóanyag. Ez az anyag stimulálja a melanociták szaporodását, és a melanin pigment szintézisét, valamint gyorsítja az L-dopa aminosav oxidációját napfény jelenlétében, ami elősegíti melaninná történő átalakulását belső kémiai folyamatok után.

A Melagenin Lotion®-t máig sikeresen használják vitiligó kezelésére. Az elvégzett klinikai vizsgálatok szerint alkalmazásával minden kezelt betegben jelentős hatást értek el [Miyares Cao C., Taboas M. és López H. "Informe preliminar sobre el empleo de extracto placentario humano en la terapéutica del Vitiligo". *Revista Cubana de Farmacia* 10 (1). 1976; Miyares Cao C. és munkatársai: "Estudio experimental y clínico del efecto pigmentante epidérmico del extracto placentario humano", *Revista Cubana de Farmacia*, 20. kötet, 6. szám, 1981. november-december; Sharma S. K., Jain R. K. and Sharma A. K. Topical human placental extract for the treatment of Vitiligo, A preliminary study; Miyares C. és munkatársai: Estudio experimental y clínico del efecto pigmentante epidérmico del extracto placentario humano. *Annais Brasileiros de Dermatologia*, (1986), 61: 3 (kiegészítés); Miyares Cao C. Melagenina Producto Cubano. Nuevo y Eficaz medicamento para el tratamiento del Vitiligo. Serie de Reseñas Nacionales. Ed. Palacio de las Convenciones. La Habana, 15. oldal (1986)].

Bár a Melagenin Lotion®-nak nincsenek káros mellékhatásai, a terméket naponta háromszor kell alkalmazni 8 órás időközönként, és az egyik alkalmazás során napfénnyel vagy

infravörös fénnyel való megvilágítás szükséges, ami nehézkessé teszi a kezelés alkalmazását a betegek nagy részénél.

A technika állásából az is ismert, hogy a kalcium aktív szerepet játszik a bőr pigmentációjának folyamatában a melanociták kiválasztási aktivitásának stimulálása által az ion koncentrációjától függően [Meyer, A., Influence of calcium on the melanocytes in the inner ear. Kivonat; 13th International Pigment Cell Conference, Október 5-6, Tucson, Arizona, USA (1986); és Negishi, S. (1986), The role of calcium in light response of onyzias melonophores. Kivonat; 13th International Pigment Cell Conference Oct. 5-6, Tucson, Arizona, USA].

A találmány újdonsága egy olyan új készítményben áll, mely ugyanazt a hatóanyagot tartalmazza, mint a Melagenin Lotion®, ebben az esetben egy humán méhlepényszigetből szerves oldószerekkel kinyert és kalcium-kloridot tartalmazó etanolban újra feloldott alfa-lipoproteineket, melynek következtében olyan terméket kapunk, melyben a két komponens pigmentképző hatása szinergikus, ezáltal az alkalmazások száma a 8 óránkénti egyszeri alkalmazásról 24 óránkénti egyszeri alkalmazásra csökken, és nincs szükség arra, hogy a beteg bármelyik alkalmazás után napsugárzásnak vagy infravörös sugárzásnak tegye ki magát.

A kapott új terméket, melyet a továbbiakban "Melagenin Plus"-nak nevezünk, használhatjuk naponta egyszeri alkalmazásban, mely megfelel a jelenlegi terápiás gyakorlatnak.

A termék stimulálja a bőrben lévő melanin pigmentek szintézisét, és a melanociták szaporodását, ahogyan ezt a végrehajtott farmakológiai vizsgálatokban bemutattuk, és a toxikológiai, teratológiai és klinikai vizsgálatok szerint nincsen semmilyen komoly mellékhatása.

A terméket könnyű előállítani és alkalmazni, és az újra pigmentálódás a kezelés megkezdése után gyorsan megkezdődik (15-20 nap múlva), a hatás irreverzibilis a termék alkalmazásának megszüntetése után. A kapott bőrszín az alkalmazás területén megegyezik a beteg normális bőrszínével, és a szín intenzitása később nem erősödik.

Mivel a kiindulási anyag, amiből a hatóanyagot kiextraháljuk, emberi eredetű, nem kell tartani immunológiai reakcióktól, és az alkalmazásakor nincsenek korral, nemmel vagy fajjal kapcsolatos összeférhetetlenségek.

A Melagenin Plus készítmény hatóanyagának kinyerése

A találmány szerinti készítmény hatóanyagának kinyeréséhez az alábbi eljárást hajtottuk végre:

1 kg méhlepényszigetet használtunk 7-10 napon át tartó fagyasztás után, majd összezúztuk és etanollal maceráltuk 90-96 °C hőmérsékleten egyenlő tömeg/térfogatrészben. Ezután a macerátumot sűrű gézen szűrtük és 24 órán át állni hagytuk. Meghatároztuk a felülúszó pigmentáló aktivitását, mely Balb/C 57 BL 6 egerek fülén 20-50 napon át tartó topikális alkalmazás után pozitívnak mutatkozott.

Ebből a pigmentáló faktort tartalmazó extraktumból 200 ml-hez injekciós tűvel hozzáadtunk 10 ml telített, 90-96 °-os etanollal készült benzoesav oldatot, melyet úgy

készítettünk, hogy 2-8 g benzoesavat oldottunk 5-12 ml, 90-96 °-os etanolban.

Az elegyet 10-50 percen át kevertük, majd Whatman szűrőpapíron szűrtük. A kapott csapadékot 200 - 500 ml desztillált vízzel készült telített benzoesav oldattal mostuk, melyet úgy készítettünk, hogy 2 - 10 g benzoesavat oldottunk 300 - 1000 ml desztillált vízben.

A csapadékot ezután eltávolítottuk a szűrőpapírról, és hozzáadtunk 30% 100 - 500 ml tiszta acetont. Ezt követően 1500 fordulat/perc fordulatszámon centrifugáltuk 10--30 percen át, és a felülúszót elvetettük.

A csapadékot ismét mostuk 2 - 10 alkalommal 100 - 500 ml acetonnal, és vákuumban szárítottuk szobahőmérsékleten. A terméket 0,2 - 4,0 mg/ml koncentrációban kalcium-kloridot tartalmazó, 90 - 96 °-os alkoholban újra feloldottuk.

A fenti, biológiai aktivitással rendelkező termékből 5 ml-t Sephadex G-30 vagy 100-on keresztül szűrtünk 5×10^{-1} - 5×10^{-6} mol, pH = 4 - 8 foszfátpufferrel ekvilibrálva, majd 1 - 3 cm széles és 18 - 40 cm magas oszlopba töltöttünk. Az áramlási sebesség 10 - 30 csepp/perc, és a gyűjtött frakciók térfogata 5 - 10 ml volt.

Két fehérjét tartalmazó csúcsot kaptunk, az első 100 -- 300 mg/ml, és a második 20 - 150 mg/ml koncentrációjú. A második csúcs pigmentáló aktivitása pozitív volt, a hatás a liofilizált elegy tengerimalacon való topikális alkalmazásának megkezdése után 10 - 20 nappal jelentkezett.

Mindkét fehérjét tartalmazó csúcs liofilizált keverékét elektroforézis berendezésben futtattuk poliakrilamid gélen és agarózon, az elsőt proteinekre festettük (amidofeketével), és a másodikat lipidekre (szudán). A fehérjék elektroforézisénél egy kis színezett sávot figyeltünk meg, melyet egy másik sáv követett elszíneződés nélkül, mindkettő keveset vándorolt; egy jól látható sávot is megfigyeltünk az albumin régiójában. A lipidek elektroforézisénél egy sávot figyeltünk meg abban a régióban, ahova az alfa-lipoproteinek vándorolnak.

A melagenin és a kalcium szinergikus pigmentáló hatása

A kapott termék melanocitopoietikus aktivitását a Melagenin Plus B6 D2 fajtájú fetekeegerek fülének epidermiszén 5 napon át tartó napi topikális alkalmazása révén határoztuk meg. A kísérlethez 60 fekete egeret négy csoportra osztottunk, a csoportokat A, B, C és D-vel jelöltük és mindegyiket 15 egér alkotta, melyeken az alábbi kezeléseket alkalmaztuk:

Csoport	Napi tokális kezelés
A	70 % alkohol, mint a Melagenin® hordozója (kontroll)
B	70 %-os alkoholos oldat 1 mg/ml koncentrációjú kalcium-klorid hozzáadásával
C	Melagenin Lotion®
D	Melagenin Lotion® 1 mg/ml koncentrációjú kalcium-klorid hozzáadásával (Melagenin Plus)

A 70 %-os alkoholt, az 1 mg/ml kalcium-kloridot tartalmazó 70 %-os alkoholos oldatot, valamint a Melagenin Lotion®-t és a Melagenin Plus-t úgy alkalmaztuk, hogy a terméket a kezelő az ujjaival az állatok fülére dörzsölte.

A kezelés után 48 órával az állatokat elaltattuk annak érdekében, hogy a fülükből az epidermiszt elkülönítsük, és L-dopa oxidáz hisztokémiai eljárásnak vessük alá, mely mikroszkópos megfigyelés által lehetővé teszi a melanociták mm^2-re eső számának meghatározását az említett hisztológiai struktúrában.

A melanociták mm^2-enkénti számának meghatározásához minden fülből 5 különböző területet választottunk ki a sűrű populációjú zónákból, és egy külön erre a célra kidolgozott programmal, (de ebben az esetben specifikus kimetszés a sejtszámláláshoz), meghatároztuk a sejtek mm^2-re eső számát mind az 5 területen, így minden csoportnál 150 értéket kaptunk a melanociták mm^2-enkénti számára (15 állat/csoport és 10 számlálás/állat).

A kapott melanocitaszám/mm^2 értékeket egyszerű osztályozású variációs elemzésnek vetettük alá egy Kruskal-Wallis-féle teszt és Student Newman-Keuls (SNK) teszt után, annak érdekében, hogy meghatározzuk ezen csoportok között létező szignifikáns különbségeket.

A kísérletben kapott eredményeket az 1. táblázatban foglaltuk össze, és az 1. ábrán grafikusan ábrázoltuk.

I. táblázat

Kruskai-Wallis teszt

Melanociták száma/mm^2

X	N
180,66 a	150
111,29 b	150
66,83 c	150
62,79 d	150 $p < 0,001$ esetén

a = Melagenin Plus

b = Melagenin Lotion®

c = 70 %-os alkohol + 1 mg/ml kalcium

d = 70 %-os alkohol

Megfigyeltük, hogy $p < 0,001$ esetén a melanociták száma/mm^2 értékben jelentős növekedés volt tapasztalható a Melagenin Lotion®-nal és a Melagenin Plus-szal kezelt fekete egerek fülének epidermiszén, az alkohollal kezelt és a kezelés nélküli csoportokhoz képest.

A melanociták számának növekedése nagyobb mértékű volt a Melagenin Plus-szal kezelt állatok esetében.

Egyéb talált különbségek:

- szignifikáns különbség van a Melagenin Plus-szal és a csak Melagenin Lotion®-nal kapott eredmények között.
- Szignifikáns különbség van a Melagenin Plus-szal és az alkohol + kalciummal kapott eredmények között.

- Szignifikáns különbség van a Melagenin Plus-szal és a csak alkohollal kapott eredmények között.
- Szignifikáns különbség van a Melagenin Lotion®-nal és az alkohol + kalciummal kapott eredmények között.
- Szignifikáns különbség van a Melagenin Lotion®-nal és a csak alkohollal kezelt kontroll csoportra kapott eredmények között.
- Nincs szignifikáns különbség a kontroll csoportra kapott és az alkohol + kalciummal kezelt csoportra kapott eredmények között.

Továbbá bebizonyítottuk, hogy amikor a Melagenin Lotion®-t és a Melagenin Plus-t biológiai vizsgálatokban alkalmaztuk, megfigyeltük, hogy a Melagenin Plus esetén a hím tengerimalacok emlőbimbóján a pigmentáló hatás csak 13 nap múlva jelentkezik, míg a Melagenin Lotion® esetén ez 18 nap múlva történt meg. Ehhez hasonlóan a feketeegér farkán nagyobb melanin koncentrációt figyeltünk meg a Melagenin Plus alkalmazásával, amikor a metszeteket hisztokémiai módszerrel kezeljük, ahol a melanociták számában nagyobb növekedés figyelhető meg az epidermisz bazális régiójában.

Az állatok bőrirritációjának vizsgálata

A Melagenin Plus-t egy állatcsoporton alkalmaztuk 42 cm^2 területen 20 mg/cm^2 dózisban, és ugyanezen az állaton alkalmaztuk az oldószert.

A vizsgálat két hete alatt semmilyen típusú irritációt vagy bőrkárosodást nem figyeltünk meg. A hisztopatológiai vizsgálatok nem mutatnak károsodást.

Következésképpen megállapíthatjuk, hogy a Melagenin Plus nem okoz bőrirritációt.

Klinikai vizsgálatok embereken

Ehhez a vizsgálathoz véletlenszerűen 30 vitiligóban szenvedő beteget választottunk ki.

A betegeket két csoportra osztottuk, melyeket I-gyel és II-vel jelöltünk. Mindegyik csoport 15 betegből állt. Az egyes csoportba tartozó betegek Melagenin Lotion®-t (humán méhlepény 50 %-os, alkoholos extraktuma) használtak, és topikálisan, ujjal való eldörzsöléssel alkalmazták a betegség miatt depigmentálódott bőrterületen naponta háromszor, 8 óránként (reggel 6 órakor, délután 2 órakor és este 10 órakor).

Ezek közül egyik alkalommal a kezelt területet 15 percen át 250 W intenzitású, 40 cm távolságra helyezett infravörös lámpával kell megvilágítani. A készítmény alkalmazását ebben az időszakban 5 percenként meg kell ismételni.

A II csoportba tartozó emberek Melagenin Plus-t (emberi méhlepény 50 %-os, alkoholos extraktuma, mely kalcium-kloridot is tartalmaz) használtak, melyet hasonlóan alkalmaztak, de naponta csak egyszer, 24 óránként és infravörös sugárzás alkalmazása nélkül. A kísérletben résztvevő betegek a kísérlet megkezdése előtt nem részesülhetnek semmilyen specifikus kezelésben.

A kísérletben résztvevő betegeket havonta értékeltük egy 6-hónapos időszakon át, és mindkét csoportban megfigyeltük a termékekkel elért újra pigmentálódás fokát, valamint a mellékhatások megjelenését.

Mindkét csoportból 5 véletlenszerűen kiválasztott betegen a kísérlet elején és végén a depigmentált bőrterületről biopsziát végeztünk.

Ezekben a melanociták számát L-dopa oxidáz szövettani technika alkalmazásával határoztuk meg [Negishi, S. (1986), The Role calcium in light response of onyzias melanophores. Abst; 13th International Pigment cell Conference oct 5-6 Tucson, Arizona, USA].

Ezzel együtt meghatároztuk minden csoportban a gyógyszeres üvegek fogyásában levő különbségeket.

A csoportokban a depigmentált testfelület csökkenésének százalékos mértékének statisztikai elemzéséhez, valamint ugyanennek betegenkénti meghatározásához egy ilyen célra kidolgozott programot használtunk [Coyula, R. Automatización de la Creación de Historia Clínica de los enfermos de Vitiligo. 1ra Conferencia Latinoamericana de Aplicaciones de la Matemática y la Computación a la Biología. CENIC, 31 Oct. - 30 Nov. 1991, La Habana, Cuba].

A klinikai vizsgálatra kapott eredményeket a II, III, IV. és V. táblázatban foglaltuk össze, melyekben a betegek adataiként feltüntettük azonosítás céljából a kórtörténetük számát, korukat, nemüket (F=férfi, N=nő), fajukat és azt, hogy hány éve szenvednek a betegségben. A meghatározott paraméterek között feltüntettük a depigmentálódás



százalékos mértékét a kezelés elején és végén, az elért pigmentálódás mértékét és a kezeléshez felhasznált gyógyszeres üvegek számát. Továbbá feltüntettük a kezelt betegek vizsgált testfelületeit (arc, nyak, törzs, végtagok, nemi szervek) mindkét kezelés esetén.

II. táblázat

A Melagenin Lotion® alkalmazásával kapott eredmények

A beteg kór-történeti száma	Kor (év)	Nem	Faj	Betegség évei	% Depigm.		% Pigm.	Gyógyszeres-üveg
					kezdetben	végén		
255	13	F	N	12	26	16	10	18
268	14	N	B	3	8	3	5	6
277	12	F	B	2	5	2	3	6
286	5	F	B	2,6	6	0	6	6
292	10	F	B	3	24	21	3	18
293	56	F	B	12	11	9	2	12
381	34	F	B	10	23	16	7	18
591	21	F	M	11	59	39	20	98
674	5	M	M	3	58	30	28	48
771	4	M	B	0,2	8	5	3	6
849	44	F	N	10	13	8	7	12
838	5	F	B	0,6	8	2	6	6
852	5	M	N	3,5	43	32	11	48
1021	12	F	M	3	8	4	4	6
1044	27	M	B	5	9	3	6	6

III. táblázat

A Melagenin Lotion®-nal kezelt betegek vizsgált testfelülete

A vitiligó val érintett testfelület							
A beteg kórtörténeti száma	Arc	Nyak	Törzs		Végtagok		Nemi szervek
			Elöl	Hátul	Felső	Alsó	
255	X		X		X	X	X
268	X					X	
277	X		X		X		
286			X	X			
292	X				X	X	
293	X				X	X	
381	X		X		X	X	X
591		X	X		X	X	
674				X	X	X	
771			X	X		X	
849						X	
838	X		X	X		X	
852	X		X		X	X	
1021	X					x	
1044					X	X	

IV. táblázat

A Melagenin Plus alkalmazásával kapott eredmények

A beteg kórtörténeti száma	Kor (év)	Nem	Faj	Betegség évei	% Depigm.		% Pigm.	Gyógyszeresüveg
					kezdetben	végén		
2	20	M	M	1	2	0,5	1,5	1
31	1	F	B	5	5	2	4	2
126	5	F	N	0,2	1	0,5	0,5	1
154	9	F	B	0,5	39	7	22	8
219	3	F	B	8	40	7	13	8
231	8	F	B	9	11	3	8	4
341	3	M	B	1	4	2	2	2
486	5	F	N	2	4	1	3	2
491	5	F	M	4	24	1	3	6
733	5	F	B	3	13	0	3	4
779	3	F	N	0,6	4	2	2	2
781.	3	M	B	23	6	3	3	2
888	7	M	B	0,2	12	6	6	4
1096	6	F	B	4	14	0	4	4
1116	4	M	B	1	22	2	10	6

V. táblázat

A Melagenin Plus-szal kezelt betegek vizsgált testfelülete

A vitiligó val érintett testfelület							
A beteg kórtörténeti száma	Arc	Nyak	Törzs		Végtagok		Nemi szervek
			Elöl	Hátul	Felső	Alsó	
2	X						
31					X	X	
126							X
154	X		X		X	X	X
219	X		X	X	X	X	
231	X				X	X	X
341						X	
486					X		
491	X		X		X	X	
733			X			X	
779				X	X		
781						X	X
888	X			X			
1096	X	X			X		X
1116					X		X

Az előbbi táblázatokból megfigyelhetjük, hogy a 6 hónapon át tartó kezelés után a betegség miatt depigmentált testfelület kiterjedése átlagosan 59,11 %-kal csökkent a

Melagenin Lotion®-nal kezelt csoportnál, Melagenin Plus esetén ez 50,79 %, így nincs nagy különbség a két eredmény között $p < 0,05$ érték esetén.

A vizsgálat alá vetett betegek csoportjánál nem volt megfigyelhető helyi vagy szervezeti mellékhatás.

A csoportonként 5 betegen végzett biopszia a melanociták újramegjelenését mutatta a kezelés előtti és utáni szövettani vizsgálathoz kiválasztott, vitiligóval érintett területeken.

Végül pedig, nagyobb mértékű gyógyszerfogyasztást figyeltünk meg a Melagenin Lotion®-nal kezelt csoportnál: a 6 hónapon át tartó vizsgálat alatt összesen 264 üveg fogyott, azaz átlagosan 17,6 üveg betegenként, míg a Melagenin Plus-szal ugyanennyi idő alatt összesen 56 üveg fogyott, azaz átlagosan 3,7 üveg betegenként.

Az elvégzett szövettani vizsgálatok azt mutatták, hogy a vitiligóval érintett területek újrapigmentálódása mindkét termék esetén annak köszönhető, hogy indukálják a melanociták szaporodását ezeken a helyeken. A szervezeti és lokális mellékhatások hiánya mindkét terméknél megerősíti ártalmatlanságukat.

A kalcium és a melagenin szinergikus hatása megkönnyíti a kezelés végrehajtását a vitiligóban szenvedő betegeknél, csökkentve a termék napi alkalmazásainak számát, és ennek következtében csökkentve a kezeléshez felhasználandó gyógyszeres üvegek számát. Az új készítmény alkalmazása továbbá feleslegessé teszi a nap vagy infravörös sugárzás alkalmazását a kezelés után.

Az ábrák rövid ismertetése

Az 1. ábra a melanocitopoietikus hatást mutatja, melyet fekete egerek 4 (A, B, C, D) csoportján végzett kísérletben kaptunk az alábbi kezelések után:

Csoport	Napi tokális kezelés
A	70 % alkohol, mint a Melagenin® hordozója (kontroll)
B	70 %-os alkoholos oldat 1 mg/ml koncentrációjú kalcium-klorid hozzáadásával
C	Melagenin Lotion®
D	Melagenin Lotion® 1 mg/ml koncentrációjú kalcium-klorid hozzáadásával (Melagenin Plus)

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás a melanin pigment szintézisét stimuláló készítmény előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy

- 1 kg fagyasztott méhlepényszigetet összezúzunk és 90 - 96 °-os etanollal maceráljuk egyenlő tömeg/térfogatarányban;
- a macerátumot szűrjük és 24 órán át állni hagyjuk;
- a pigmentáló faktort tartalmazó extraktumból 200 ml-hez 90 - 96°-os etanollal készült, telített benzoesav oldatot adunk;
- az elegyet 10 - 50 percen át keverjük, majd szűrjük;
- a kapott csapadékot desztillált vízzel készült telített benzoesav oldattal mossuk;
- a csapadékot eltávolítjuk és hozzáadunk 30 % acetont;
- az extraktumot 1500 fordulat/perc fordulatszámon 10 - 30 percen át centrifugáljuk, és a felülúszót elvetjük;
- a csapadékot ismét acetonnal mossuk és szobahőmérsékleten vákuumban szárítjuk;
- a terméket 0,2 - 4,0 mg/ml koncentrációban kalcium-kloridot tartalmazó 90 - 96°-os alkoholban újraoldjuk;
- a kapott terméket Sephadex oszlopon szűrjük 4 - 8 pH-ékű nátrium-foszfát puffert alkalmazva.

2. Készítmény a melanin pigment szintézisének stimulálására, mely emberi méhlepény 50 %-os, 0,2 - 4,0 mg/ml koncentrációban kalcium-kloridot tartalmazó alkoholos extraktumából áll.

3. Emberi méhlepény 50 %-os, 0,2 - 4,0 mg/ml koncentrációjú kalcium-kloridot tartalmazó alkoholos extraktumának alkalmazása vitiligó kezelésére alkalmas gyógyászati készítmény előállítására, ahol a keveréket a betegség súlyosságától függően 6 hónap és 1 év közötti kezelési időtartamon át topikálisan alkalmazzuk a betegeken, az érintett területeken a készítményt ujjal bedörzsölve naponta egyszer anélkül, hogy szükség lenne infravörös sugárzással való megvilágításra.

1 oldal rajzzal
2001. 09. 17
PK.

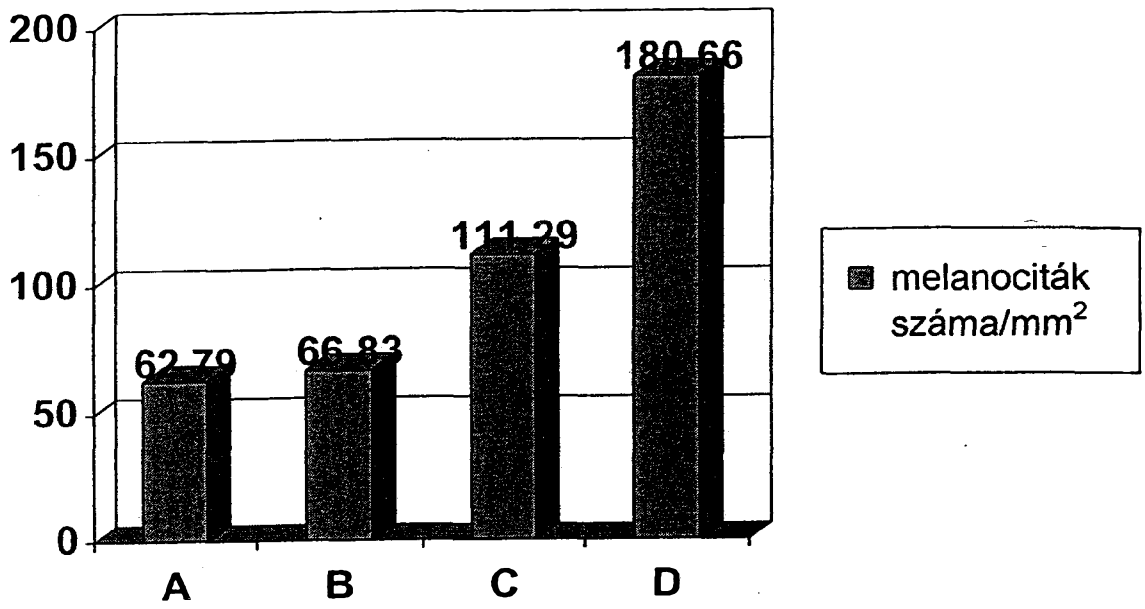
A meghatalmazott:

Danubia Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
Kmethy Boglárka
szabadalmi ügyvivőjelölt

P0103244

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



1. ábra