

3321/94

19002

KÖZZÉTÉTEL
FELDANI

71250

59.913/BE

K I V O N A T

Szürkehályog kezelésére szolgáló készítmény és eljárás
előállítására

SENJU PHARMACEUTICAL CO., LTD., OSAKA, JP

~~PAT. PHARMACEUTICAL CO., LTD., TOKYO, JP~~

A bejelentés napja: 1993. 05. 17.

Elsőbbsége: 1992. 05. 20. /127672/1992/ JP

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/JP93/00643

A nemzetközi közzététel száma: WO 93/23032

A találmány tárgyát szürkehályog kezelésére és
megelőzésére szolgáló készítmények képezik.

A találmány szerinti készítmények hatóanyaga a /+/-
-/2S,3S/-3-[/S/-3-metil-¹⁷3-metil-butyl-karbamoil/-butyl-
-karbamoil]-2-oxirán-karbonsav, ennek sója vagy etil-észtere.

A találmány szerinti készítményeket elsősorban szem-
cseppek vagy szemkenőcs formájában állítják elő. A készítmé-
nyek szemcseppek formájában 0,001-10 tömeg/térfogat% ható-
anyagot tartalmaznak és pH-értékük 3-7. A szemkenőcsök ható-
anyagtartalma 0,001-10 tömeg%.

52

332/94
& K.
vizi
oda
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-323

19003

59.913/BE

A

KÖZZÉTÉTEL FELDANI

Szürkehályog kezelésére szolgáló készítmény és eljárás
előállítására

SENJU PHARMACEUTICAL CO., LTD., OSAKA, JP
~~TAISHO PHARMACEUTICAL CO., LTD., TOKYO, JP~~
Feltalálók:

AZUMA Mitsuyoshi, HYOGO, JP

ABE Yoshimasa, HYOGO, JP

SOGO Shunji, OSAKA, JP

A bejelentés napja: 1993. 05. 17.

Elsőbbsége: 1992. 05. 20. /127672/1992/ JP

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/JP93/00643

A nemzetközi közzététel száma: WO 93/23032

A találmány tárgyát a $/+/-/2S,3S/-3-[/S/-3-$
 $-metil-1-/3-metil-butyl-karbamoil/-butyl-karbamoil]-2-$
 $-oxirán-karbonsavat$ /a továbbiakban E-64c/, ennek sóját
/a továbbiakban E-64c só/ vagy etil-észterét /a további-
akban E-64d/ tartalmazó új készítmények képezik és az
eljárás ezek előállítására.

A szürkehályog olyan betegség, amelynél a lencse
különböző faktorok miatt behomályosodik, ami a lencse
átlátszatlansága /homályossága/ által előidézett fény-
szórás eredményeképpen látászavarban nyilvánul meg, mi-
vel a fényszórás azt eredményezi, hogy a retinán /ideg-
hártyán/ nem tud normális kép kialakulni.

Az okoktól függően, a szürkehályog lehet veleszü-
letett szürkehályog, öregkori szürkehályog, szövődmenyes
szürkehályog, sérüléssel szürkehályog, cukorbetegség okoz-
ta szürkehályog stb., ezenkívül ismertek még a sugárzás-
ra keletkező szürkehályog, üveggyári dolgozók szürkehá-
lyogja stb., amelyek mindegyike a lencse homályossága
következtében csökkent látóképességgel járó súlyos szem-
betegséget jelent.

A szürkehályogot eddig különböző gyógyszerek be-
adásával kezelték, ilyenek az antikinoidok, például pire-
noxin, a glutation-szintézissel kapcsolatos anyagok, pél-
dával a cisztein, SH-csoportot tartalmazó szerek, például
tiopronin, aldóz-reduktáz inhibitorok, például tolresta
vagy hasonlóak. Ezeknek a szereknek a beadása azonban nem

teljesen kielégítő, részben a lencse igen lassu anyagcseréje miatt. Ezért jelenleg a szürkehályog kezelése a sebészeti beavatkozásra korlátozódik. A sebészeti kezelés a szemgolyón belül a homályosság áthelyezéséből vagy az egész lencsének a szemgolyóból való eltávolításából áll. A betegeknek mindkét módszer terhes, ezeknél a szaruhártya bemetszése és varrása és a lencse vágási sebhelye elkerülhetetlen, még akkor is, ha a legmodernebb sebészeti eljárást alkalmazzák is.

Az, hogy mi okozza a szürkehályogot, nem ismert, de valószínű, hogy a kristályos protein oxidációja, bomlása és agglutinációja kapcsolatos a betegséggel, és a kalcium megnövekedett mennyiségét figyelték meg a behomályosodott lencsékben [Invest. Ophthalmol., 13, 204-209 /1974/].

Ismertették, hogy a transz-epoxi-szukcinil-leucilamid-4-guanidino-bután /a továbbiakban E-64/, amely inhibitora a kalpainnak, egy cisztein-proteáznak a lencsében, amit a kalcium aktivál, meg tudja akadályozni a lencse homályosságát tenyésztett patkányok lencséinek szelektív szürkehályog modelljeiben és diabetikus /cukorbetegség okozta/ szürkehályog modelljeiben [Atarashii Ganka, 6, 1573-1576 /1989/]. Az E-64 hatása azonban olyan csekély szürkehályog kezelésében, hogy gyakorlatilag nem használják.

Ismertették továbbá, hogy az E-64c, a cisztein-proteáz szintézisének egy inhibitora, ennek sója és az

E-64d hatásosak a központi idegrendszer akut sérülései kezelésére, amelyeket az agyban és a gerincvelőben akut sérülések és/vagy keringési rendellenességek okoztak, a cisztein-proteázra gyakorolt inhibitorhatásuk alapján [255423/1987. számú nem vizsgált japán szabadalmi leírás].

Tekintve a fentieket, a jelen találmány feltalálói intenzív kutatásokat folytattak szürkehályog kezelésére és megelőzésére alkalmas kiváló szer felfedezésére és előállítására, és azt találták, hogy az E-64c, az E-64c sója és az E-64d meglepő módon kitűnő és nem várt hatásuk szürkehályog kezelésére és megelőzésére, és kidolgoztak egy eljárást, a szürkehályog kezelésére és megelőzésére alkalmas készítmények előállítására, amelyek hatóanyagként valamely fenti vegyületet tartalmazzák. A feltalálók azt tapasztalták továbbá, hogy az E-64c, E-64c sók és E-64d könnyen behatolnak a szaruhártyába és gyógyhatást fejtenek ki 3-7 pH-tartományban és, hogy az E-64d kiváltképpen stabil a fenti pH-tartományban, ami a találmány sikerét jelenti.

A fentieknek megfelelően a találmány tárgyát képezik a következők:

1. szürkehályog kezelésére és megelőzésére szolgáló készítmények, amelyek legalább egy E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyületet tartalmaznak és amelyek 3-7 pH-tartományuk /a továbbiakban a szürkehályog kezelésére és megelőzésére szolgáló készítményeket röviden a szürkehályog kezelésére szolgáló készítményeknek nevezzük/;

2. eljárás szürkehályog kezelésére és megelőzésére, oly módon, hogy legalább egy E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyület hatásos mennyiségét a betegnek beadjuk /a továbbiakban az eljárás szürkehályog kezelésére és megelőzésére röviden az eljárás szürkehályog kezelésére/;
3. legalább egy E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyület alkalmazása szürkehályog kezelésére szolgáló készítmények előállítására;
4. eljárás szürkehályog kezelésére szolgáló készítmények előállítására szemcseppek formájában, oly módon, hogy beállítjuk egy vizes oldószer pH-értékét, úgy, hogy a végső készítmény pH-értéke 3-7 tartományu legyen, mielőtt vagy miután legalább egy E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyületet a vizes oldószerhez keverünk; és
5. eljárás a fenti vegyületek egyikét tartalmazó vizes folyadék előállítására oly módon, hogy egy vizes oldószer pH-értékét beállítjuk úgy, hogy a végső vizes folyadék pH-értéke 3-7 tartományu legyen, mielőtt vagy miután az E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyületek legalább egyikét a vizes oldószerhez keverjük.

Az E-64c és E-64d az /I/ általános képletnek felel meg; a vegyület az E-64c, ha R hidrogénatom és a vegyület E-64d, ha R etilcsoport.

Az E-64c só nincs alávetve speciális korlátozásnak, amennyiben a só gyógyszerészetileg elfogadható, ez lehet például egy alkálifém-, így nátrium- vagy káliumsó, egy

alkáliföldfém-, így kalcium- vagy báriumsó, egy bázisos aminosavval, így lizinnel vagy argininnel képezett só vagy egy aminnal, így dimetil-aminnal vagy trietil-aminnal képezett só.

Az E-64c, E-64c só és E-64d vegyületek könnyen előállíthatók, például a nyilvánosságra hozott 115878/1980 számú nem vizsgált japán szabadalmi leírás /4 382 889 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás/ szerint.

A találmány szerinti készítményekben használt E-64c, E-64c só és E-64d vegyületek kiváló inhibitorhatásuk a lencse homályosságára, amit a későbbi kísérleti példák igazolnak, és mint hatásos gyógyszerek alkalmazhatók szürkehályog kezelésére és megelőzésére.

Ha az E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyületeket mint szürkehályog kezelésére szolgáló készítményeket használjuk, akkor ezeket elkészíthetjük porok, granulátumok, tabletták, kapszulák, injekciók, szemcseppek vagy szemkenőcsök, előnyösen szemcseppek, szemkenőcsök vagy injekciók formájában.

Ezek a készítmények orálisan vagy parenterálisan alkalmazhatók.

A találmány szerinti készítményeket úgy állítjuk elő, hogy az E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyületek legalább egyikét /amelyeket a továbbiakban csak vegyületeknek vagy hatóanyagoknak nevezünk/ egy gyógyszerészeti alapanyaggal keverjük.

Az alapanyag egy gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyag, kötőanyag, hígító stb., amelyek önmagukban ismertek.

Az alapanyag szemcseppekhez lehet egy vizes oldószer, így steril tisztított víz, fiziológiás sóoldat vagy egy puffer.

Az alapanyag szemkenőcsökhöz előnyösen vazelin, "plastibase", paraffinolaj, polietilénglikol vagy karboximetil-cellulóz.

Szemcseppek és szemkenőcsök esetében hatóanyagként előnyösen E-64d-t használunk, mivel ez a vegyület könnyen áthatol a szaruhártyán és a szemben lévő enzimek gyorsan E-64c-vé hidrolizálják, amely ennek aktív formája és a kívánt kezelési és preventív hatásokkal rendelkezik.

A találmány szerinti szemcseppek pH-értéke általában 3-7, előnyösen 4-6, még előnyösebben 4,5-5,5. Ha a pH-értéke 3 alatt van, akkor mellékhatások lépnek fel, így rendellenességek a szem szövetében és a vegyület instabil, míg ha a pH-érték 7 felett van, akkor a vegyület nem kívánt módon szintén instabillá válik.

Az E-64c, E-64c só és E-64d vegyületek egy alapvető vizes oldószerben oldhatók vagy szuszpendálhatók.

A szemcseppekhez megfelelő adalékanyagok például a következők:

pufferok, például foszfát-puffer, borát-puffer, citrát-puffer, tartarát-puffer, acetát-puffer és aminosavak. Előnyös az a puffer, amelynek pufferkapacitása 2-9 pH-tartományu;

izotonizáló szerek, például cukrok, így szorbit, glükóz, és mannit, többértékű alkoholok, így glicerín, poli-

etilénglikol és polipropilénglikol, valamint sók, így nátrium-klorid;

konzerválószeresek, például benzalkónium-klorid, benzetónium-klorid, p-hidroxi-benzoátok, így p-hidroxi-benzoésav-metil-észter és p-hidroxi-benzoésav-etil-észter, benzilalkohol, fenetilalkohol, szorbinsav és sói, timerozal és klór-butanol;

sűrítőszeresek, például hidroxietil-cellulóz, hidroxipropil-cellulóz, metil-cellulóz, hidroxipropilmetil-cellulóz és karboximetil-cellulóz és sói;

szolubilizáló /stabilizáló/ szeresek, például a vízoldható polimerek, így a ciklodextrinek és a polivinilpirrolidon, továbbá felületaktív anyagok, így a poliszorbát 80;

kelátképző anyagok, például az etiléndiamin-tetraecetsav-dinátrium só /EDTA- Na_2 /, nátrium-citrát és kondenzált nátrium-foszfát;

szuszpendálószeresek, például a felületaktív anyagok, így a poliszorbát 80 és a vízoldható polimerek, így a nátrium-metil-cellulóz, hidroxipropilmetil-cellulóz és a metil-cellulóz.

A szemcseppeket úgy állítjuk elő, hogy az alapanyagot, így egy vizes oldószert, az említett adalékanyagokat és legalább egy E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyületet megfelelő sorrendben összekeverünk, és a keverék pH-értékét megfelelő módon 3-7 tartományba beállítjuk, majd megfelelő módon sterilizáljuk a készítményt.

A sterilizálási módszerek a szokásosak, ilyen például a sterilizálás szűréssel, a nagynyomású gőzzel végzett

sterilizálás és az áramló gőzzel végzett sterilizálás.
Az előnyös módszer a szüréssel végzett sterilizálás,
0,22 μ m-es membránszűrőt használva.

Egy olyan szemcseppet, amelyben a vegyületet feloldjuk, előnyösen úgy állítjuk elő, hogy az adalékokat és legalább egy hatóanyag komponenst, így az E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyületet megfelelő sorrendben hozzáadjuk az alapanyaghoz, és a pH-értéket 3-7-re beállítjuk. Ha puffert használunk, akkor a pH-értékét előnyösen 4-6-ra állítjuk be, miután a puffert - amelynek pufferkapacitása 2-9 pH-tartományu - hozzáadtuk.

Egy olyan szemcseppet, amelyben a vegyületet szuszpendáljuk, előnyösen úgy állítjuk elő, hogy az alapanyaghoz adjuk az adalékokat, a pH-értékét 3-7-re beállítjuk, az oldatot sterilizáljuk, és a külön sterilizált vegyületet a készítményhez keverjük. Ha puffert használunk, akkor a pH-értékét előnyösen 4-6-ra állítjuk be, miután a puffert - amelynek pufferkapacitása 2-9 pH-tartományu - hozzáadtuk.

A pH-értéket beállító szerek, amelyeket jelen esetben alkalmazunk, a szokásosak, például sósav, ecetsav, foszforsav, nátrium-hidroxid vagy ammónium-hidroxid, előnyös az 1n sósav és az 1n nátrium-hidroxid.

Ha a szürkehályog kezelésére szolgáló találmány szerinti készítményt szemkenőcs alakjában használjuk, akkor ezt úgy állítjuk elő, hogy legalább egy E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyületet összekeverünk egy szemkenőcsökhöz

szokás szerint alkalmazott alapanyaggal, majd a szokásos műveleteket elvégezzük.

A szürkehályog kezelésére szolgáló találmány szerinti készítményekben az E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyület mennyisége ugyan változik a választott vegyülettől, az előállítási formától stb. függően, de a szemcseppekben körülbelül 0,001-10 tömeg/térfogat%, előnyösebben körülbelül 0,01-1 tömeg/térfogat% mennyiségben, a szemkenőcsökben körülbelül 0,001-10 tömeg%, előnyösebben körülbelül 0,01-1 tömeg% mennyiségben van jelen.

Ha az E-64c, E-64c só vagy E-64d vegyületet használjuk szürkehályog kezelésére, akkor a dózis függ az alkalmazott vegyület fajtájától, a beteg korától, testtömegétől, szimptómáitól, a készítmény formájától stb. Ha a készítményt szürkehályogos felnőttnek adjuk be, akkor a vegyületet egy szemészeti oldat vagy szuszpenzió körülbelül 0,001-10 tömeg/térfogat%, előnyösen körülbelül 0,01-1 tömeg/térfogat% mennyiségben tartalmazza, és a cseppeket 3-5-ször naponta adjuk be, alkalmanként egy vagy több csep-pet. Szemkenőcs esetében ez a vegyületet előnyösen körülbelül 0,001-10 tömeg%, előnyösebben körülbelül 0,01-1 tömeg% mennyiségben tartalmazza, és a kenőcsöt a szimptómáktól függően naponta 1-4-szer alkalmazzuk.

A szürkehályog kezelésére szolgáló találmány szerinti készítmény tartalmazhat egy vagy több más, szürkehályog kezelésére szolgáló szert, így antioxidánsokat, például pirenoxint, a glutation-szintézissel kapcsolatos

anyagokat, például ciszteint, SH-csoportot tartalmazó szereket, például tiopronint, aldóz-reduktáz inhibitorokat, például tolrestátot és hasonlókat, megfelelőképpen kombinálva, úgy, hogy a találmány célja ne szenvedjen kárt.

A szürkehályog kezelésére szolgáló találmány szerinti készítmények a fent említett, szürkehályog kezelésére szolgáló különböző egyéb szerek mellett tartalmazhatnak más, különböző gyógyszerészeti hatásokkal bíró komponenseket, amennyiben ezek a találmány célját nem befolyásolják hátrányosan.

A szürkehályog kezelésére szolgáló találmány szerinti készítmények és a szürkehályog kezelésére alkalmas találmány szerinti eljárás igen kiváló hatásuk különböző eredetű szürkehályogok kezelésére és megelőzésére.

Az ábrák rövid ismertetése

Az 1A és az 1B ábra az E-64c vegyület hatását szemlélteti patkányoknak intraperitoneálisan beadva, illetve az E-64d vegyületét, galaktóz-szürkehályogos patkányoknak becsepegtetve.

A 2. ábra grafikonja az E-64 és az E-64d vegyület inhibitorhatását szemlélteti kalcium-ionoforral előidézett szürkehályogra tenyésztett patkány lencséjében, összehasonlítva a kezeletlen kontrollcsoport lencséinek homályosságára gyakorolt inhibitorhatással.

A találmányt részletesen az előállítási példákkal és a kísérleti példákkal szemléltetjük, amelyek azonban

a találmány oltalmi körét nem korlátozzák.

1. példa

Szemészeti szuszpenzió

Szemészeti szuszpenziót készítünk a következő összetétellel:

E-64d	1 g
polivinilalkohol	0,5 g
nátrium-monohidrogén-foszfát. $12\text{H}_2\text{O}$	0,5 g
nátrium-dihidrogén-foszfát. $2\text{H}_2\text{O}$	0,2 g
EDTA- Na_2	0,02 g
nátrium-klorid	0,7 g
benzalkónium-klorid	0,007 g
steril, tisztított víz	szükséges mennyiség
Összes mennyiség	100 ml

Előállítási eljárás: a 0,5 g polivinilalkoholt, 0,5 g nátrium-monohidrogén-foszfát. $12\text{H}_2\text{O}$ -t, 0,2 g nátrium-dihidrogén-foszfát. $2\text{H}_2\text{O}$ -t, 0,02 g EDTA- Na_2 -ot, 0,7 g nátrium-kloridot és 0,007 g benzalkónium-kloridot 80 ml steril, tisztított vízben feloldjuk, és az oldathoz még steril tisztított vizet adunk 100 ml összes mennyiségig. Az oldatot $0,22\text{ }\mu\text{m}$ -es membránszűrőn sterilre szűrjük. Az oldat pH-értéke 6. Ezután az előzetesen sterilizált 1 g E-64d vegyületet az oldatban szuszpendáljuk, így szemészeti szuszpenziót kapunk.

2. példaSzemészeti oldat

Szemészeti oldatot készítünk a következő összetétellel:

E-64c	0,1 g
bórsav	1,7 g
nátrium-tetraborát	0,4 g
EDTA- Na_2	0,02 g
benzalkónium-klorid	0,005 g
steril tisztított víz	szükséges mennyiség
Összes mennyiség	100 ml

Előállítási eljárás: az 1,7 g bórsavat, 0,4 g nátrium-tetraborátot, 0,02 g EDTA- Na_2 -ot, 0,005 g benzalkónium-kloridot és 0,1g E-64c vegyületet a steril, tisztított vízben feloldjuk, és az oldathoz még steril, tisztított vizet adunk 100 ml összes mennyiségig. Az oldatot 0,22 μm -es szűrőn sterilre szűrjük, így szemészeti oldatot kapunk, az oldat pH-értéke 7.

3. példaSzemkenőcs

Szemkenőcsöt készítünk a következő összetétellel:

E-64c	0,5 g
paraffinolaj	1 g
fehér vazelin	szükséges mennyiség
Összes mennyiség	100 ml

Előállítási eljárás: a paraffinolajat és a fehér vazelint előzetesen hevítéssel sterilizáljuk. Az E-64c vegyületet /0,5 g/ az 1 g paraffinolajjal alaposan eldörzsöljük és a szükséges mennyiségű fehér vazelinnal összegyurjuk, így szemkenőcsöt kapunk.

4. példa

Szemkenőcs

Szemkenőcsöt készítünk a következő összetétellel:

E-64d	0,1 g
paraffinolaj	1 g
fehér vazelin	szükséges mennyiség
Összes mennyiség	100 ml

Előállítási eljárás: a paraffinolajat és a fehér vazelint előzetesen hevítéssel sterilizáljuk. A 0,1 g E-64d vegyületet alaposan eldörzsöljük az 1g paraffinolajjal és összegyurjuk a megfelelő mennyiségű fehér vazelinnal, így szemkenőcsöt kapunk.

5. példa

Szemészeti oldat

: Szemészeti oldatot készítünk a következő összetétellel:

E-64c	1 g
nátrium-acetát	0,05g
nátrium-klorid	0,9 g

p-hidroxi-benzoésav-metil-észter	0,026g
p-hidroxi-benzoésav-propil-észter	0,014g
ln sósav-oldat	szükséges mennyiség
steril, tisztított víz	szükséges mennyiség
Összes mennyiség	100 ml

Előállítási eljárás: 80 ml steril, tisztított vizet felmelegítünk körülbelül 80°C-ra és feloldjuk benne a 0,026 g p-hidroxi-benzoésav-metil-észtert és a 0,014g p-hidroxi-benzoésav-propil-észtert. Az oldatot szobahőmérsékletre lehűtjük, feloldjuk benne a 0,05g nátrium-acetátot, 0,9g nátrium-kloridot, és az lg E-64c vegyületet, és az oldat pH-értékét ln sósav-oldattal 5-re beállítjuk. Az oldathoz steril, tisztított vizet adunk 100 ml összes mennyiségig, és az oldatot 0,22 μ m-es membránszűrőn szűrve sterilizáljuk, így szemészeti oldatot kapunk.

6. példa

Szemészeti oldat

Szemészeti oldatot készítünk a következő összetétellel:

E-64c	1 g
nátrium-dihidrogén-foszfát	0,1 g
glicerín	2,6 g
EDTA-Na ₂	0,01 g
benzalkónium-klorid	0,005g

ln sósav-oldat	szükséges mennyiség
steril, tisztított víz	szükséges mennyiség
Összes mennyiség	100 ml

Előállítási eljárás: a 0,1 g nátrium-dihidrogén-foszfátot, 2,6 g glicerint, 0,01g EDTA- Na_2 -ot, 0,005 g benzalkónium-kloridot és az 1 g E-64c vegyületet 80 ml steril, tisztított vízben feloldjuk, és az oldat pH-értékét ln sósav-oldattal 6-ra beállítjuk. Az oldathoz steril, tisztított vizet adunk 100 ml összes mennyiségig, és az oldatot 0,22/ μm -es membránszűrőn átszűrve sterilizáljuk, így szemészeti oldatot kapunk.

7. példa

Szemészeti szuszpenziót készítünk a következő összetétellel:

E-64d	1 g
ϵ -amino-kaprónsav	0,1 g
nátrium-klorid	0,9 g
poliszorbát 80	0,1 g
benzalkónium-klorid	0,005g
ln sósav-oldat	szükséges mennyiség
steril, tisztított víz	szükséges mennyiség
Összes mennyiség	100 ml

Előállítási eljárás: a 0,1g ϵ -amino-kaprónsavat, 0,9 g nátrium-kloridot, 0,1 g poliszorbát 80-at és 0,005 g benzalkónium-kloridot 80 ml steril, tisztított vízben feloldjuk,

és az oldat pH-értékét ln sósav-oldattal 5-re beállítjuk. Az oldathoz steril, tisztított vizet adunk 100 ml összes mennyiségig, és az oldatot 0,22 μ m-es membránszűrőn szűrve sterilizáljuk. Ezután az oldathoz adjuk az előzetesen sterilizált 1 g E-64d vegyületet, így szemészeti szuszpenziót kapunk.

8. példa

Szemészeti szuszpenzió

Szemészeti szuszpenziót készítünk a következő összetétellel:

E-64d	1 g
nátrium-acetát	0,05 g
nátrium-klorid	0,9 g
p-hidroxi-benzoészter	0,026g
p-hidroxi-benzoészter	0,014g
ln sósav-oldat	szükséges mennyiség
steril, tisztított víz	szükséges mennyiség
Összes mennyiség	100 ml

Előállítási eljárás: 80 ml steril, tisztított vizet felmelegítünk körülbelül 80°C-ra, és feloldjuk benne a 0,026 g p-hidroxi-benzoésztert és a 0,014 g p-hidroxi-benzoésztert. Az oldatot lehűtjük szobahőmérsékletre, hozzáadjuk a 0,05 g nátrium-acetátot és a 0,9 g nátrium-kloridot, és az oldat pH-értékét ln sósav-oldattal 4-re beállítjuk. Az oldathoz steril, tisztított

vizet adunk 100 ml összes mennyiségig, és az oldatot 0,22 μ m-es membránszűrőn megszűrve sterilizáljuk. Ezután az 1 g E-64d vegyületet szuszpendáljuk az oldatban, így szemészeti szuszpenziót kapunk.

9.---példa

Szemkenőcs

Szemkenőcsöt készítünk a következő összetétellel:

E-64d	0,1 g
paraffinolaj	2 g
fehér vazelin	szükséges mennyiség

Összes mennyiség	100 ml
------------------	--------

Előállítási eljárás: a paraffinolajat és a fehér vazelint előzetesen melegítéssel sterilizáljuk. Az E-64d vegyületet /0,1 g/ a 2 g paraffinolajjal alaposan eldörzsöljük és a megfelelő mennyiséget fehér vazelinnal összegyurjuk, így szemkenőcsöt kapunk.

10.---példa

Szemkenőcs

Szemkenőcsöt készítünk a következő összetétellel:

E-64c	0,1 g
paraffinolaj	2 g
plastibase	szükséges mennyiség

Összes mennyiség	100 ml
------------------	--------

Előállítási eljárás: a paraffinolajat és a plastibase-t előzetesen melegítéssel sterilizáljuk. A 0,1 g E-64c vegyületet a 2 g paraffinolajjal alaposan eldörzsöljük és összegyurjuk a megfelelő mennyiségű plastibase-val, így szemkenőcsöt kapunk.

Kísérleti példák

Az alábbiakban ismertetjük a szürkehályog kezelésére szolgáló találmány szerinti készítmények hatásosságát igazoló farmakológiai tesztek és azok eredményeit.

1. Kísérleti példa

Az E-64c intraperitoneális beadásának és E-64d becsepegtetésének hatása galaktóz okozta szürkehályogra patkányokban

Háromhetes him SD patkányokat /n = 30/ tenyésztünk $24 \pm 4^{\circ}\text{C}$ hőmérsékletű és $55 \pm 15\%$ nedvességtartalmu tenyésztőhelyiségben, Labo MR tápanyagon /Nihon Nosan Kogyo Co., Ltd., Japan/ és csapvizen.

Kísérleti gyógyszerekként 1/ 1%-os E-64c-oldatot használunk, amit úgy készítünk, hogy az E-64c ömlesztett porát 0,1n nátrium-hidroxid-oldatban feloldjuk, az oldat pH-értékét 0,1n sósav-oldattal 5-re beállítjuk és tisztított vizet adunk hozzá; és 2/ 1%-os E-64d szuszpenziót használunk, amit úgy állítunk elő, hogy az E-64d ömlesztett porát 0,3%-os Tween 80-ban szuszpendáljuk, és mindkettő ozmózis nyomását nátrium-kloriddal 290 mOsm/kg H_2O -ra beállítjuk. Kontrollként

3/ fiziológias sóoldatot alkalmazunk.

A kísérleti állatokat 1 hétig előtenyésztjük, majd 25%-os galaktóz-tápon /galaktóz és Labo MR táppor 1:3 arányu megkeményedett keveréke/ tartjuk. Az állatokat az első hét napon, naponta 24 órán át etetjük és a nyolcadik naptól naponta 9 órán át. A kísérleti gyógyszereket az állatoknak attól a naptól kezdve adjuk, amikor a galaktóz-tápot elkezdjük és az 1/ oldatot intraperitoneálisan adjuk be naponta egyszer [100 mg/kg, 1 ml/100 g mint folyadék], és a 2/ szuszpenziót csak a jobb szembe naponta négyszer becsepegtetjük, alkalmanként 5 µl-t. A bal szemet nem kezeljük. A kontrollcsoportnak a 3/ sóoldatot csepegtetjük be, ugyanugy mint a 2/ esetében, a bal szemet nem kezelve.

A lencsét a pupilla kitágítása mellett vizsgáljuk meg, fényrész lánpat /SL-5D/ használva, a kísérleti gyógyszer és a fiziológias sóoldat /kontroll/ beadásának megkezdésétől 7 napos időközökben a 28. napig, és a szürkehályog előrehaladását a beérett szürkehályogig kiértékeljük a szürkehályog fokozatának nyolc alábbi stádiuma szerint Sippel módszerével [Invest. Ophthalmol., 6, 568-575 /1966/].

Fokozat	A szürkehályog előrehaladása
0	Tiszta /átlátszó/
0,5	Fokozódó vakuóla képződés az ekvatoriális zónán /a szemlencse két felszínét elválasztó sík/
1	Fokozódó vakuóla képződés az elülső kéreg 1/3 részén

1,5	Fokozódó vakuólaképződés az elülső kéreg 2/3 részén
2	A vakuólák folyamatos növekedése és összeolvadása
3	Egyenletes opaleszcencia vagy hátulsó elhomályosulás
4	Nukleáris szürkehályog
5	Teljes elhomályosulás

A fiziológiás sóoldattal, illetve az E-64c vagy E-64d kísérleti gyógyszerekkel kezelt kísérleti állatok egyes stádiumainak arányát a szürkehályog megfigyelésének időpontjában az 1A és 1B ábra szemlélteti. Az 1A és 1B ábrán az ordináta mutatja mindegyik stádium arányát a Sippel-féle skála szerint, a megfelelő megfigyelési periódusokban, szignifikáns differenciát a kontrollcsoporttól így fejezzük ki: +; $0,05 < P < 0,10$, * ; $P < 0,01$.

Amint az az 1A és 1B ábra eredményeiből nyilvánvaló, a Wilcoxon eljárása szerint végzett meghatározás kimutatja, hogy a szürkehályog képződésének szignifikáns lassulása az E-64c-vel kezelt csoportban 14 nappal a kezelés megkezdése után volt megfigyelhető; és az E-64d-vel kezelt csoportban a szürkehályog képződésének szignifikáns lassulása a kezelés megkezdése után 7-14 nappal, és lassulási tendencia 21 nappal a kezelés megkezdése után volt megfigyelhető. Az idősor varianciaanalízise megmutatta, hogy az E-64c vagy E-64d vegyülettel kezelt csoportban a szürke-

hályog szignifikáns lassulása mutatkozott összehasonlítva a kontrollcsoporttal.

2. Kisérleti példa

Az E-64d hatása kalcium-ionoforral előidézett szürkehályog-
ra, tenyésztett patkányok lencséiben

Négyhetes him S.D. patkányok szemlencséit kipreparáljuk és 1 napig tenyésztjük 1/ alaptáptalajban /MEM/, 2/ 10 μ M kalcium-ionoforral /A 23187/ kiegészített fenti 1/ táptalajban vagy 3/ a 2/ szerinti táptalajban, amit kiegészítünk 4, 20, 100 vagy 500 μ M E-64 vagy E-64d vegyülettel. Ezután a táptalajokat változtatjuk a következőképpen: 1/ alap táptalaj; 2/ alap táptalaj; és 3/ alap táptalaj az E-64 vagy E-64d néhány koncentrációjával; és a tenyésztést még 4 napig folytatjuk, majd ezután megmérjük a lencsék homályosságát képanalizátort használva.

A 2. ábra mutatja a lencsehomály kifejlődésének gátlási arányát a kísérleti gyógyszerekkel /E-64, E-64d/, a kontrollcsoportéhoz hasonlítva. A 2. ábrán az abszcisszára van felvive az egyes gyógyszerek koncentrációja a táptalajban μ M/, és az ordináta mutatja a lencsehomály százalékos gátlását az egyes gyógyszerek által a kontrollcsoport homályossága alapján.

Amint az a 2. ábra eredményeiből nyilvánvaló, az E-64 vagy az E-64d inhibitorhatást gyakorol a lencsék kalcium-ionoforral előidézett homályosságára, a koncentrációtól

függő módon. Az inhibitorhatás erősebb az E-64d, mint az E-64 vegyülettel és a lencse homályosságát 20 μ m koncentrációban 50%-kal vagy ennél többel gátolja.

3. Kisérleti példa

E-64d intraperitoneális beadásának hatása Nakano egér szürkehályogjára

35 darab 9 napos Nakano egeret három csoportba osztunk, és mindegyik csoportnak intraperitoneálisan beadunk egyszer naponta 30 mg/kg vagy 100 mg/kg E-64d vegyületet vagy a kontrollcsoportnak 5%-os gumiarábikum-oldatot. Az E-64d vegyületet 5%-os gumiarábikum-oldatban szuszpendáltuk 0,15, illetve 0,5%-os koncentrációban, és így adtuk be az egereknek. Miután az egerek szeme kinyílt, megfigyeltük a lencsék homályosságát fényréses lámpát használva, és kiértékeljük a szürkehályog előrehaladását.

A kísérlet eredménye szerint a kontrollcsoport szemlencséje homályosságot mutatott, amikor az egerek 21 naposak voltak, és a homályosság az egereknek körülbelül 40%-ánál mutatkozott. Ezzel ellentétben az E-64d-vel [30 mg/kg] kezelt csoportnak körülbelül 12%-a mutatott homályt a lencsében, és homály kifejlődése nem volt megfigyelhető abban a csoportban, amelyik 100 mg/kg E-64d-t kapott. Az időben végzett megfigyelés azt mutatta, hogy abban a csoportban, amelyet E-64d-vel kezeltünk, a lencsehomály kisebb foku volt mint a kontrollcsoportban.

4. Kisérleti példa

A pH-érték hatása a szaruhártya E-64c permeabilitására
/in vitro/

A szaruhártya permeabilitását /áteresztőképességét/ in vitro vizsgáltuk, "side-by-side" típusu áteresztő cellát használva, ^{amit} albino nyúl szaruhártyájával szereltünk fel. Az alábbi összetételű pufferral készített 1%-os E-64c-oldatot betöltjük a donor cellába és magát a puffert a receptor cellába, és ezeket 34°C-on inkubáljuk. Mérjük az E-64c mennyiségét az időben, ami a receptor cellába behatol. Az áteresztett E-64c felgyülemelő mennyiségét 1, 2 és 3 óra után mérjük. Az eredmények azt mutatják, hogy az E-64c-t, a szaruhártya legfeljebb 7 pH-értékén ereszti át, és az áteresztőképesség függ a pH-értéktől. Ha a pH-érték 3 vagy ennél alacsonyabb, szaruhártyahomályt előidéző szövetrendellenességek figyelhetők meg.

A puffer összetétele:

kalcium-klorid	0,175	g
kálium-klorid	0,4	g
magnézium-szulfát	0,4	g
foszforsav-nátrium-dihidrid	0,187	g
nátrium-klorid	7,97	g
glükóz	1	g
tisztított víz	1000	ml

1. táblázat

A szaruhártya áteresztőképessége E-64c-re /in vitro/

	Áteresztőképesség / $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ /		
	1 óra	2 óra	3 óra
7 pH-értéken	1,69	6,15	13,78
5 pH-értéken	63,9	309,6	611,6
3 pH-értéken	145,6	790,4	1479,9

5. Kisérleti példa

A pH-érték hatása a szaruhártya E-64d permeabilitására
/in vitro/

A szaruhártya áteresztőképességét 1%-os E-64d szuszpenzióra /pH=7/ a 4. Kisérleti példa szerint vizsgáljuk. Az E-64d nem volt kimutatható a receptor-oldatban, de közvetlenül a kísérlet kezdetétől fogva kimutattuk az E-64c-t, amelyet a szaruhártyában lévő enzimek hidrolizissel termeltek. Az E-64c metabolizált termék mennyisége, amit a receptor cellában 20 perc, 1 óra, 2 óra és 3 óra múlva kimutattunk, 2,8, 5,8, 10,3 illetve 21,4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ volt.

6. Kisérleti példa

Az E-64d pH-stabilitása

Vizsgáltuk 1%-os E-64d szuszpenzió stabilitását,

különböző pH-értékekre beállítva. A stabilitási vizsgálat eredményeit a 2. táblázat szemlélteti. Azt találtuk, hogy az E-64d 4-6 pH-érték körül stabil.

2. táblázat

Az E-64d stabilitása

	Maradék mértéke /%/	
	40 ^o C /4 wk/	60 ^o C /1 wk/
4 pH-értéken	96,6	98,7
5 pH-értéken	99,8	98,7
6 pH-értéken	95,2	97,9
7 pH-értéken	75,7	

Szabadalmi igénypontok

1. Szürkehályog kezelésére és megelőzésére szolgáló készítmények, amelyekben a hatóanyag legalább egy $/+/-/2S,3S/-3-[/S/-3\text{-metil-1-}/3\text{-metil-butil-karbamoil/-butil-karbamoil}]/2\text{-oxirán-karbonsav}$, ennek sója vagy etil-észtere.
2. Az 1. igénypont szerinti készítmények, amelyekben a hatóanyag a $/+/-/2S,3S/-3-[/S/-3\text{-metil-1-}/3\text{-metil-butil-karbamoil/-butil-karbamoil}]/2\text{-oxirán-}$ karbonsav vagy sója.
3. Az 1. igénypont szerinti készítmények, amelyekben a hatóanyag a $/+/-/2S,3S/-3-[/S/-3\text{-metil-1-}/3\text{-metil-butil-karbamoil/-butil-karbamoil}]/2\text{-oxirán-karbonsav-etil-}$ észter.
4. Az 1. igénypont szerinti készítmények szemcseppek formájában.
5. A 4. igénypont szerinti szemcsepp készítmények, amelyek 0,001-10 tömeg/térfogat% hatóanyagot tartalmaznak.
6. A 4. vagy 5. igénypont szerinti készítmények, amelyek pH-értéke 3-7.
7. Az 1. igénypont szerinti készítmények szemkenőcs formájában.

8. A 7. igénypont szerinti szemkenőcs készítmények, amelyek 0,001-10 tömeg% hatóanyagot tartalmaznak.

9. Eljárás szürkehályog kezelésére és megelőzésére, azzal jellemezve, hogy a betegnek a $/+/-/2S,3S/-3-[-/S/-3\text{-metil-1-}/3\text{-metil-butil-karbamoil}/\text{-butil-karbamoil}]-2\text{-oxirán}$ ^{-karbonsav}, ennek sója vagy etil-észtere közül legalább egy hatóanyag terápiásan hatásos mennyiségét beadjuk.

10. A 9. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a hatóanyagot szemcsepp formájában adjuk be.

11. A 10. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy 0,001-10 tömeg/térfogat% hatóanyagot tartalmazó szemcseppet adunk be.

12. A 10. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy 3-7 pH-értékű szemcseppet adunk be a betegnek.

13. A 9. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a hatóanyagot szemkenőcs alakjában alkalmazzuk.

14. A 13. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy 0,001-10 tömeg% hatóanyagot tartalmazó szemkenőcsöt alkalmazunk.

15. A $/+/-/2S,3S/-3-[-/S/-3\text{-metil-1-}/3\text{-metil-butil-karbamoil}/\text{-butil-karbamoil}]-2\text{-oxirán}$ -karbonsavnak, ennek sójának vagy etil-észterének alkalmazása szürkehályog kezelésére és megelőzésére szolgáló készítmények előállítására.

16. A 15. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a szürkehályog kezelésére és megelőzésére szolgáló készítményeket szemcseppek formájában állítjuk elő.

17. A 16. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a szemcseppben a hatóanyagot 0,001-10 tömeg/térfogat% mennyiségben használjuk.

18. A 16. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy 3-7 pH-értékű szemcseppet használunk.

19. A 15. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a szürkehályog kezelésére és megelőzésére szolgáló készítményeket szemkenőcs alakjában állítjuk elő.

20. A 19. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a szemkenőcsben a hatóanyagot 0,001-10 tömeg% mennyiségben használjuk.

21. Eljárás szürkehályog kezelésére és megelőzésére szolgáló készítmények előállítására, azzal jellemezve, hogy a /+/-/2S,3S/-3-[/S/-3-metil-1-/3-metil-butyl-karbamoil/-butyl-karbamoil]-2-oxirán-karbonsavnak, ennek sójának vagy etil-észterének legalább egyikét egy gyógyszerészeti alapanyaggal keverjük.

22. A 21. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a szürkehályog kezelésére és megelőzésére szolgáló

gáló készítményeket szemcseppek formájában állítjuk elő.

23. A 21. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy egy vizes oldószer pH-értékét beállítjuk, úgy, hogy a végső készítmény pH-értéke 3-7 legyen, mielőtt vagy miután a hatóanyagot a vizes oldószerrel keverjük.

24. A 22. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a vizes oldószer pH-értékét úgy állítjuk be, hogy a végső készítmény pH-értéke 4-6 legyen, mielőtt vagy miután a hatóanyagot a vizes oldószerrel keverjük.

25. A 24. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a végső készítmény pH-értékét 4-6-ra állítjuk be, miután adott esetben 2-9 tartományban pufferkapacitással rendelkező puffert adtunk hozzá.

26. A 23-25. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a készítményt sterilizáljuk.

27. Eljárás a /+/-/2S,3S/-3-[/S/-3-metil-1-/3-metil-butyl-karbamoil/-butyl-karbamoil]-2-oxirán-karbonsav, ennek sója vagy etil-észtere közül legalább egyet tartalmazó vizes oldatok előállítására, egy vizes oldószer pH-értékét beállítva, úgy, hogy a végső vizes készítmény pH-értéke 3-7 legyen, mielőtt vagy miután a hatóanyagot a vizes oldószerrel keverjük.

28. A 27. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a vizes oldószer pH-értékét úgy állítjuk be,

hogy a végső vizes készítmény pH-értéke 4-6 legyen, mielőtt vagy miután a hatóanyagot a vizes oldószerrel keverjük.

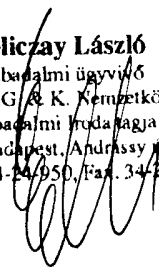
29. A 28. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a pH-értékét 4-6-ra állítjuk be, miután adott esetben 2-9 pH-tartományban pufferkapacitással rendelkező puffert adtunk a készítményhez.

30. A 27-29. igénypont bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a készítményt sterilizáljuk.

A meghatalmazott

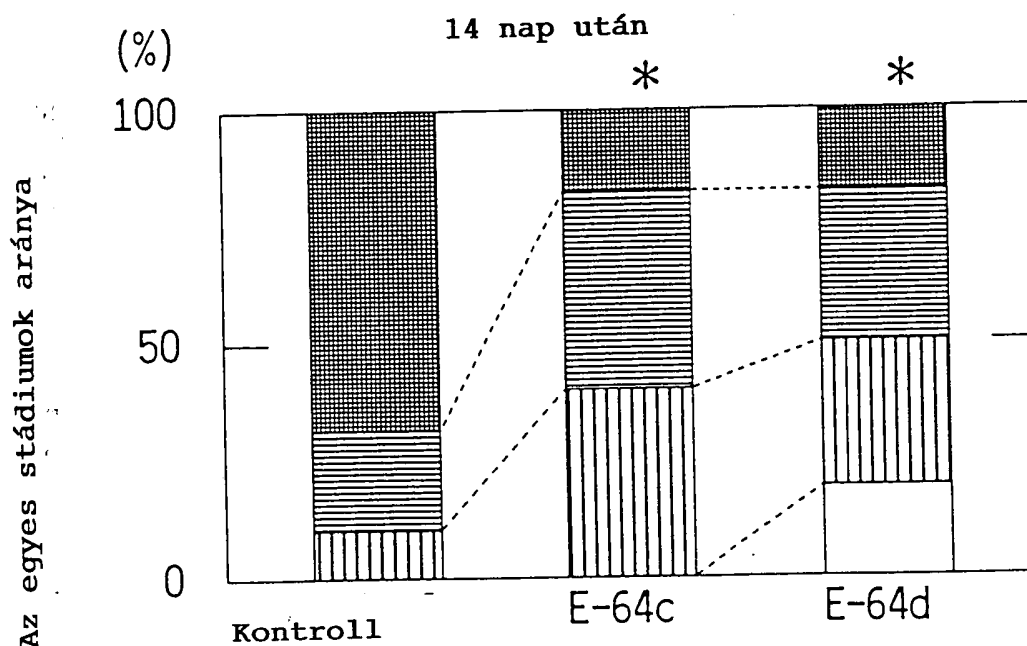
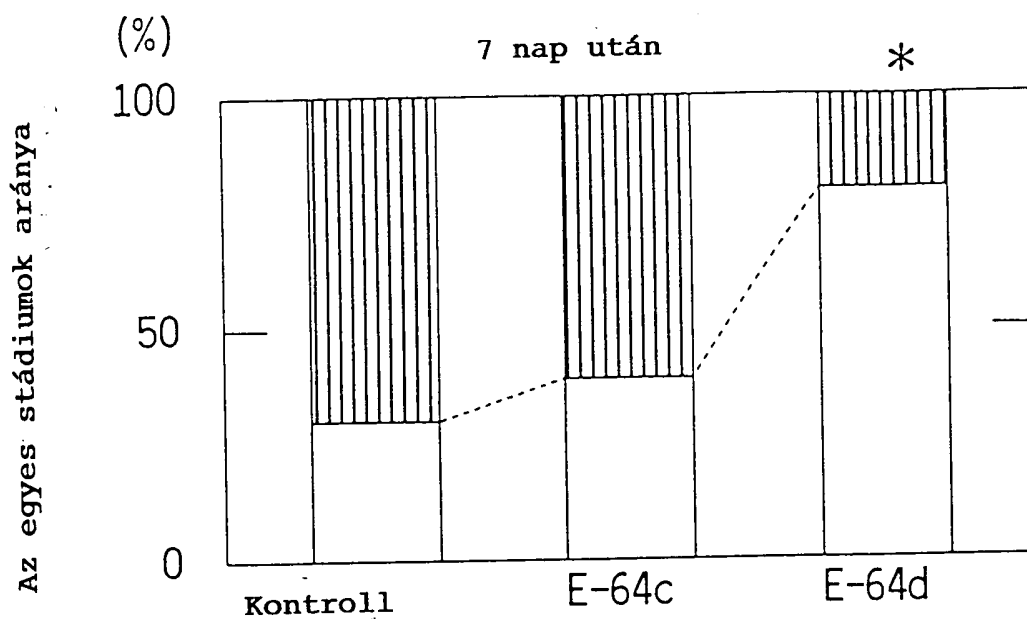


Beliczay László
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & K. Nemzetközi
Szabadalmiroda tagja
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-323



ÖZTÉTÉ I FELDANI

1A. ábra



stádium 0,5

stádium 1

stádium 1,5

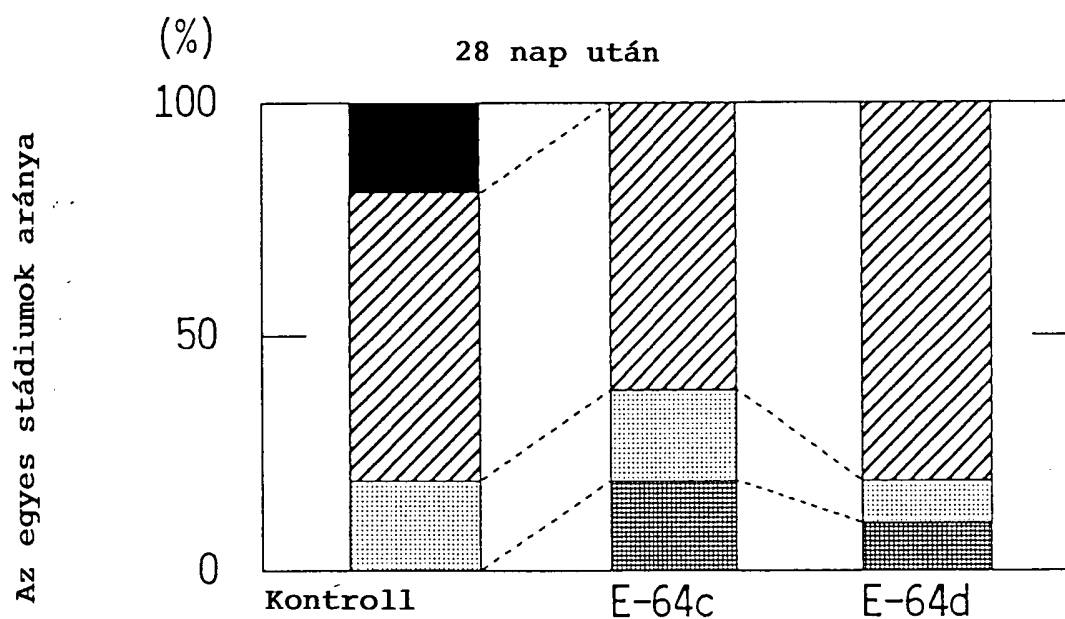
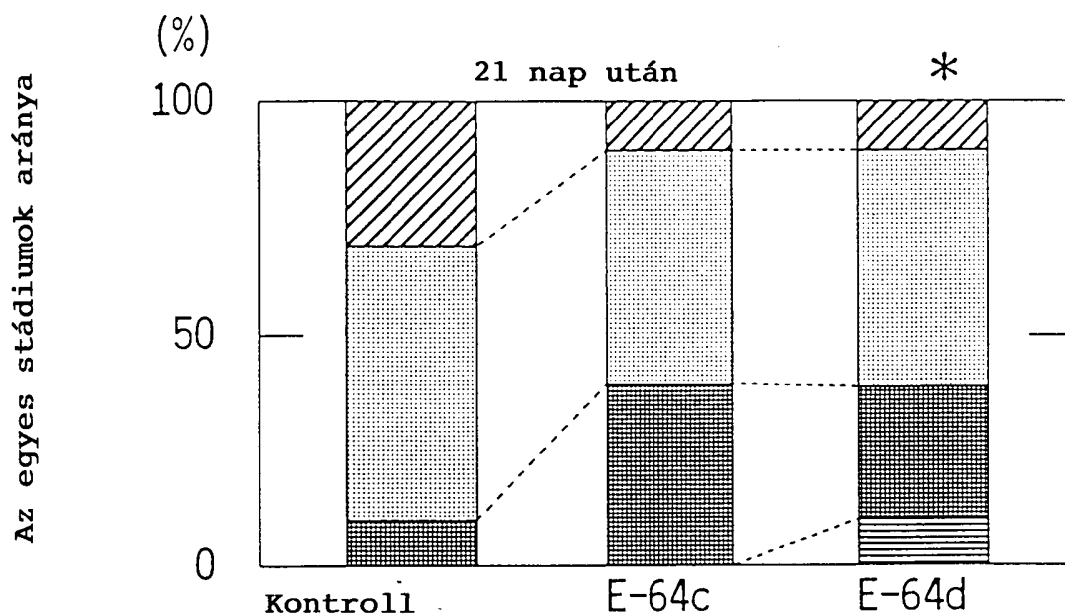
stádium 2

3321/94

1900: 59.913/BE
3/2

KÖZZÉTÉTEL FELDANI

1B. ábra



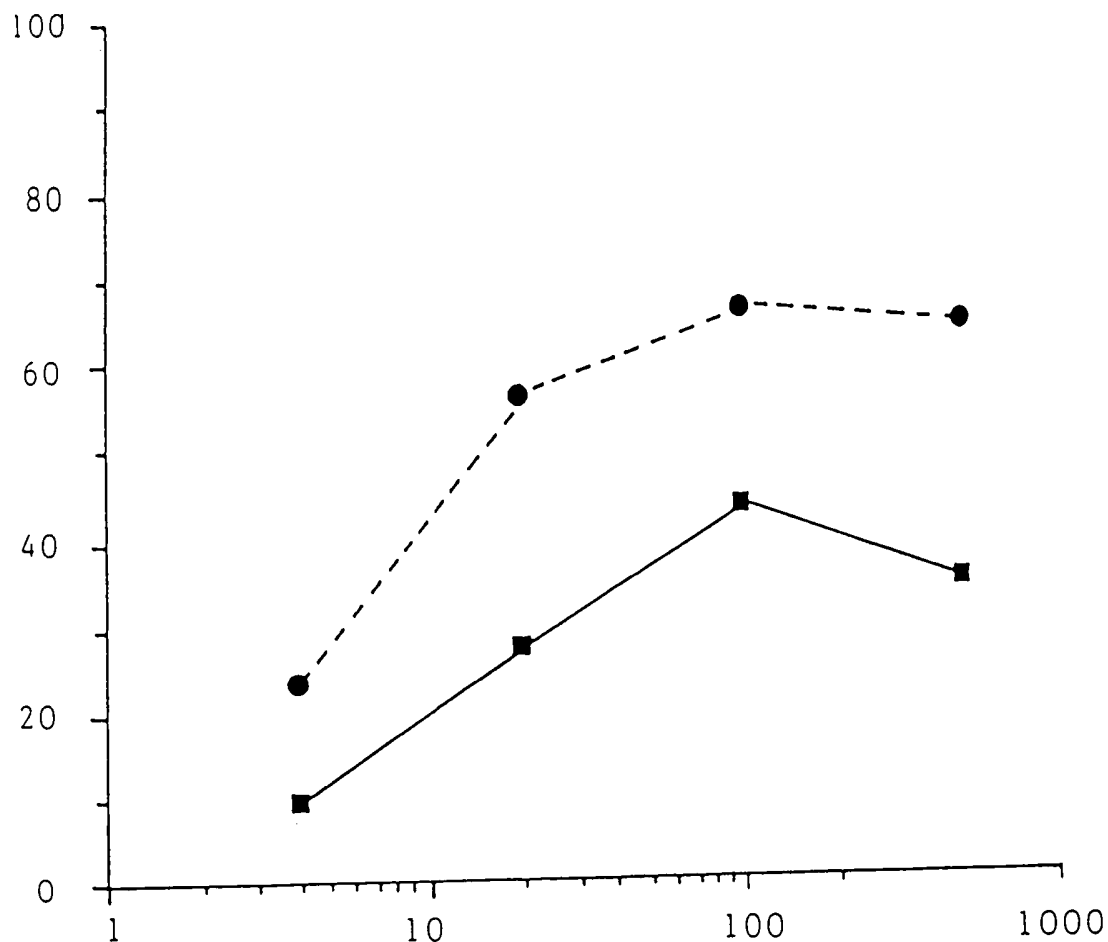
stádium 1,5
 stádium 2
 stádium 3
 stádium 4
 stádium 5

Beliczay László
 szabadalmi ügyvivő
 az S.B.G. & K. Nemzetközi
 Szabadalmi Iroda tagja
 H-1062 Budapest, Apórássy út 113.
 Telefon: 34-24-920, Fax: 34-24-323

KÖZZÉTÉTEL FELDANI

2. ábra

A vizsgált hatóanyagok százalékos inhibitor hatása a lencse homályosságára, a kontroll csoport homályosságához viszonyítva (%)



A vizsgált hatóanyagok koncentrációja a táptalajban (µM)

—■—

E-64

---●---

E-64d

Beliczay László
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & K. Nemzetközi
Szabadalmiroda tagja
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-900, Fax: 34-24-323