



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

231205

(11)

(B1)

(22) Přihlášeno 20 01 81
(21) (PV 402-81)

(51) Int. Cl.³
A 61 K 31/71
C 07 H 15/20
C 07 H 15/22

(40) Zveřejněno 13 01 84

(45) Vydáno 15 06 86

(75)
Autor vynálezu

KULCSÁR GÁBOR dr., SEBESTYÉN GYULA dr., DÁVID ÁGOSTON dr.,
ZILÁHI TIBOR, BUDAPEŠT (MLR)

(54) Nový synergetický, antimikrobiálně účinný terapeutický preparát

Synergetický, antimikrobiálně účinný, terapeutický preparát podle vynálezu obsahuje 5 až 50 % hmot. primycinu nebo jeho derivátu, počítáno na celkový obsah účinných látek, 95 až 50 % hmot. doxycyklinu nebo jeho derivátu a/nebo sisomycinu nebo jeho derivátu, počítáno na celkový obsah účinných látek a inertní, pevné nebo kapalné netoxické nosiče jako například uhličitán hořečnatý, stearat hořečnatý, škroby, talek nebo vodu a popřípadě další přísady jako například plniva, látky podporující rozpad, kluzné prostředky nebo emulgátory.

Nové preparáty podle vynálezu lze s výhodou používat proti polyrezistentním, vážné nákazy působícím a vážné onemocnění působícím silně patogenním mikroorganismům.

Vynález se týká nového synergeticky, antimikrobiálně účinného, terapeutického preparátu.

Je známo, že rezistence původců nemocí vůči obvykle podávaným účinným látkám se podstatně zvýšila a s ohledem na to nelze dnes již podávat řadu účinných látek, které se dříve dobře osvědčily.

Ze vývoj rezistence je vedle chromozomální rezistence v první řadě zodpovědná "plasmidová" rezistence, která byla poznána teprve v poslední době. Vlastností původců nemocí je schopnost bezprostředně předávat dále svou "plasmidovou" rezistenci a to nejen uvnitř téhož druhu (species), nýbrž i na individua, která s ohledem na systematiku, náleží k jinému druhu (species). Tím mohou během krátké doby vzniknout velká množství polyrezistentních původců nemocí.

Znalost těchto skutečností přivedla do popředí použití kombinací účinných látek-antagonismus, synergismus- je již dlouhou dobu znám. V případě synergismu se účinek kombinace cíleně podporuje, což je zejména výhodné při smíšených infekcích.

Mimo nového preparátu podle vynálezu je popsán i způsob jeho výroby.

Podstata nového synergeticky, antimikrobiálně účinného terapeutického preparátu podle vynálezu spočívá v tom, že obsahuje 5 až 50 % hmot. primycinu nebo jeho derivátu, počítáno na celkový obsah účinných látek a 95 až 50 % hmot. doxycyklinu nebo jeho derivátu a/nebo sisomycinu nebo jeho derivátu, počítáno na celkový obsah účinných látek a inertní, pevné nebo kapalné, netoxické nosiče a popřípadě přísady.

Přednosti nových preparátů podle vynálezu lze shrnout následovně:

1. Tím, že se dá zasáhnout látková výměna původců onemocnění na více místech, dosáhne se bezpečně "cíd" účinku, který je mnohem výhodnější než "statický" účinek v důsledku jednoduchého brzdění vývoje.

2. V případě současného útoku více cest látkové výměny může se jen stěží, nebo po dlouhé době, vyvinout rezistence vůči použitým kombinacím účinných látek.

V důsledku synergetického účinku vznikajícího mezi složkami účinných látek lze ve velké míře snížit množství složek účinných látek. Toto je výhodné i ze dvou důvodů:

a) V případě trvalého dávkování se redukuje individuální toxicita značnou měrou tím, že se efektivní množství, přiváděná organismu, mohou vynikajícím způsobem snížit.

b) Použití sníženého množství drahého preparátu se může projevit významně i po stránce ekonomické.

Je nutné vyzvednout ještě tu skutečnost, že v případě několika kombinací účinných látek je podstatně nižší nejen nejmenší inhibiční koncentrace (minimal inhibitory concentration "MIC"), nýbrž je větší i spektrum účinnosti.

Nyní bylo zjištěno, že primycin nebo jeho deriváty, vyrobené fermentačním způsobem z kmene *Thermospora galeriesis* (mař. patent č. 153 593) použitý v hmotnostním poměru 5 až 50 % významně synergizuje účinek sisomycinu a/nebo doxycyklinu použitých ve hmotnostním poměru 95 až 50 %.

Vzhledem na významný synergetický účinek jsou kombinace vyrobené způsobem podle vynálezu velmi účinné a mají široké spektrum účinnosti, mohou se s výhodou použít proti polyrezistentním, vážné náklady a onemocnění působícím silně patogenním mikroorganismům. Jejich použití je výhodné obzvláště v případech velmi nebezpečných smíšených infekcí.

Preparáty podle vynálezu mohou obsahovat primycin popřípadě složky primycinu s výhodou v heterokoloidní formě (brit. pat. 1 512 604).

Preparáty podle vynálezu mohou jako derivát doxycyklinu obsahovat sůl vytvořenou s minerální kyselinou, s výhodou hydrochlorid doxycyklinu nebo doxycyklinhydrochlorid.

Preparáty podle vynálezu mohou obsahovat jako derivát sisomycinu sisomycin substituívaný na dusíku nízkou alkylovou, nízkou hydroxyalkylovou, nízkou aminoalkylovou nebo nízkou alkanoylovou skupinou nebo sůl sisomycinu, vytvořenou s kyselinou. Jako deriváty sisomycinu se mohou s výhodou používat N-metylsisomycinhydrochlorid, N-hydroxymetylsisomycinhydrochlorid, N-acetylsisomycinhydrochlorid.

Doxycyklin a shora uvedené deriváty (brit. patent 845 649) a sisomycin a shora uvedené deriváty (USP 3 907 771) jsou známé sloučeniny.

Podle jedné metody provedení způsobu se jako výchozí látky použije primycin a sisomycin. Podle jiné metody provedení se jako účinné látky použijí primycin a doxycyklin. Ve shora uvedených kombinacích lze použít i shora uvedené deriváty antibiotik.

Velmi výhodný preparát obsahuje vztaženo na celkový obsah účinných látek 30 až 35 % primycinu, 30 až 35 % doxycyklinu nebo ekvivalentní množství hydrochloridu a 30 až 35 % sisomycinu.

Synergeticky působící terapeutické preparáty podle vynálezu se mohou formulovat v pevné formě (například tablety, kapsle, dražé, nebo čípky) nebo kapalně formě (injikovatelny roztok, suspenze nebo emulze). Z výhodných formulací mohou být zmíněny gely, masti, zásypy, injekční roztoky nebo suspenze, právě tak jako kombinace ampulek s prášky a ampulek s roztoky.

Preparáty podle vynálezu mohou být dávkovány perorálně, parenterálně nebo rektálně, nebo se mohou používat lokálně (například masti, zásypy).

Preparáty podle vynálezu mohou obsahovat obvyklé terapeutické nosiče (například uhlíčitý hořečnatý, stearát hořečnatý, škroby, talek, voda atd.) a popřípadě pomocné látky (například plniva, látky podporující rozpad, kluzné prostředky, emulgační látky atd.).

Perorálně použitelné látky se mohou předkládat například ve formě tablet, kapslí nebo dražé. Preparáty, obsahující synergetické kombinace účinných látek, se mohou používat i ve veterinární medicíně, například ve formě práškovitých směsí, přimíchaných ke krmivu, nebo ve formě roztoku, přimíchaného k nepájecí tekutině. Jako parenterálně použitelné preparáty se mohou používat vodné emulze, nebo suspenze. Lokálně se mohou používat masti, vodné nebo olejové emulze, suspenze nebo spreje.

Podle jedné výhodné formy provedení se mohou preparáty, vhodné pro parenterální použití vyrobit tak, že se sisomycin a doxycyklin naplní v přítomnosti octanu sodného do ampulí pro prášky, zatímco se do ampulky pro roztok naplní heterokoloidální sisomycin, a povrchově aktivní prostředek, s výhodou kvarterní amonná sůl (například cetyltrimetylammoniumbromid). Obsah ampulky s roztokem se bezprostředně před použitím vstříkne do ampulky s práškem. Po rozpuštění se získá injekční preparát, použitelný dobře i ve veterinární medicíně.

Preparáty vhodné pro parenterální použití se mohou s výhodou vyrábět tak, že se vodně-alkoholický roztok primycinu smísí s odpovídajícími nosiči (například ricinovým olejem) a po oddestilování alkoholu se po ochlazení suspendují ve směsi s ricinovým olejem sisomycinové a/nebo doxycyklinové složky.

Mastí se vyrobí tím, že se složky účinné látky rovnoměrně rozdělí v obvyklých mastových základech (například vazelině).

Biologická aktivita (in vitro) preparátů podle vynálezu je uvedena v následujících příkladech:

Při pokusech byly použity následující internacionálně rezistentní a/nebo polyrezistentní, mikroorganismy patogenní pro lidi nebo zvířata:

1. *Vibrio parahaemolyticus* CCM. 5938.,
2. *Pseudomonas acidovorans* CCM. 283.,
3. *Proteus vulgaris* CCM. 1799.,
4. *Proteus mirabilis* CCM. 1944.,
5. *Shigella sonnei* CCM. 1373.,
6. *Salmonella typhimurim* CCM. 5445.,
7. *Salmonella cholerae-suis* CCM. 5438., (Inst. Pasteur strain),
8. *Salmonella cholerae-suis* CCM. 5874.,
9. *Salmonella cholerae-suis* subsp. Kunzendorf. CCM. 5967.,
10. *Escherichia coli* DSM. 30038.,
11. *Escherichia coli* ATTC 11775, cystitis, původce onemocnění drůbeže,
12. *Escherichia coli* CCM. 180, lysogenicus, colicinogenicus,
13. *Escherichia coli* CCM. 5863, haemolyticus,
14. *Klebsiella pneumoniae* CCM. 1848.,
15. *Serratia Marcescens* CCM. 303.,
16. *Staphylococcus aureus* CCM. 885.,
17. *Staphylococcus aureus* DSM. 20231.,
18. *Staphylococcus aureus* CCM. 2317, human mastitis,
19. *Staphylococcus aureus* CCM. 2326, human mastitis,
20. *Staphylococcus aureus* CCM. 2515, beta haemolysis,
21. *Staphylococcus aureus* CCM. 2515, Coagulase positiv,
22. *Streptococcus faecalis* CCM. 885.,
23. *Streptococcus agalactiae* CCM. 5153, z mléka krávy onemocnělé mastitidou,
24. *Streptococcus agalactiae* CCM. 5534., z mléka krávy, onemocnělé mastitidou,
25. *Bacillus cereus* CCM. 2010.,
26. *Listeria monocytogenes* CCM. 5576.

ATTC = The American Type Culture Collection (americká sbírka druhů kultur)

CCM = Czechoslovak Collection of Microorganismus (československá sbírka mikroorganismů)

DSM = německá sbírka mikroorganismů.

Vysvětlení označení v tabulkách:

- P = síran primycinu,
 S = síran sisomycinu,
 D = doxycyklinhydrochlorid,
 µg/ml = mikrogram/mililitr
 MIC = nejmenší koncentrace inhibitoru
 0 = žádný růst, inhibice mikroorganismu je dokonalá
 + = velmi malý růst
 + = malý růst
 ++ = střední růst
 +++ = silný růst, prakticky žádná inhibice.

Pokusy byly provedeny na živných půdách DIFCO Bouillon.

Vyhodnocení po 24, popřípadě 48hodinové inkubaci při 37 °C.

Uvedených 13 tabulek (I až XIII), popřípadě celkem 39 příkladů, ukazují názorně, že při působení primycinu, vyrobeného z fermentační tekutiny *Thermospore galeriensis* jak u sisomycinu, tak i u doxycyklinu vzniká synergetický účinek a potencující účinek vztaženo na základní aktivitu může dosáhnout i 30 až 40násobné hodnoty.

Tereapeutické preparáty podle výsledku mohou popřípadě obsahovat i jiné účinné látky (například chemoterapeutika).

T a b u l k a I
Primycin + sisomycin

Staphylococcus aureus CCM 2317				Staphylococcus aureus CCM 2326				Staphylococcus aureus CCM 2514			
P μg/ml	S μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P μg/ml	S μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P μg/ml	S μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h	
0,1	0,1	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
0; 0,75	0,1	0	0	0,25	0,25	0	0	0,25	0,25	0	0
0,075	0,075	0	0	0,1	0,25	0	0	0,1	0,25	0	0
0,05	0,1	0	0	0,075	0,25	0	0	0,075	0,25	0	0
0,05	0,075	0	0	0,1	0,1	0	+++	0,1	0,1	0	+++
0,025	0,075	0	0	0,1	0,075	0	+++	0,1	0,075	0	+++
0,05	0,05	0	+	0,075	0,1	0	+++	0,075	0,1	0	+++
0,025	0,05	0	+	0,075	0,075	0	+++	0,075	0,075	+	+++
0,025	0,025	+++	+++	0,05	0,01	+++	+++	0,05	0,01	+++	+++
0,01	0,01	+++	+++	0,05	0,075	0	+++	0,05	0,075	+++	+++
Kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++
MIC: P = 0,25, S = 0,25				MIC: P = 0,5, S = 0,5				MIC: P = 0,5, S = 0,5			

T a b u l k a II

Primycin + sisomycin

Staphylococcus aureus DSM, 20231				Streptococcus faecalis CCM 1875				Streptococcus agalactiae CCM 5534			
P μg/ml	S μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P μg/ml	S μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P μg/ml	S μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h	
0,5	0,5	0	0	1	2,5	0	0	0,5	2,5	0	0
0,25	0,25	0	0	0,75	1	0	0	0,25	1	0	0
0,1	0,25	0	0	0,75	0,75	0	0	0,25	0,75	0	0
0,075	0,25	0	0	0,5	1	0	0	0,1	1	0	0
0,1	0,1	0	+++	0,5	0,75	0	0	0,1	0,75	0	0
0,1	0,075	0	+++	0,5	0,5	0	0	0,25	0,5	0	+++

pokračování tabulky II

Staphylococcus aureus DSM, 20231				Streptococcus faecalis CCM 2875				Streptococcus agalactiae CCM 5534			
P	S	inkubace		P	S	inkubace		P	S	inkubace	
μg/ml	μg/ml	24 ^h	48 ^h	μg/ml	μg/ml	24 ^h	48 ^h	μg/ml	μg/ml	24 ^h	48 ^h
0,075	0,1	0	+++	0,25	1	0	0	0,1	0,5	+	+++
0,075	0,075	0	+++	0,25	0,75	0	+++	0,1	0,25	+++	+++
0,05	0,01	+++	+++	0,25	0,5	+++	+++	0,1	0,1	+++	+++
0,05	0,075	+++	+++	0,25	0,25	+++	+++	0,075	0,5	+	+++
kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++
MIC: P = 0,5, S = 0,5,				MIC: P = 1, S = 2,5				MIC: P = 0,5, S = 2,5			

Tabulka III
Primycin + sisomycin

Bacillus cereus CCM 2010				Vibrio parahaemolyticus CCM 5938				Proteus vulgaris CCM 1799			
P	S	inkubace		P	S	inkubace		P	S	inkubace	
μg/ml	μg/ml	24 ^h	48 ^h	μg/ml	μg/ml	24 ^h	48 ^h	μg/ml	μg/ml	24 ^h	48 ^h
0,25	1	0	0	25	150	0	0	200	2,5	0	0
0,1	0,75	0	0	10	100	0	0	150	2,5	0	0
0,1	0,5	0	0	5	100	0	0	150	1	0	0
0,075	0,75	0	0	5	75	0	0	100	1	0	0
0,075	0,5	0	0	5	50	0	0	50	1	0	0
0,1	0,25	++	+++	2,5	100	0	0	50	0,75	0	0
0,1	0,1	+++	+++	2,5	75	0	0	50	0,5	0	+
0,075	0,25	+++	+++	2,5	50	0	0	25	1	+	++
0,075	0,1	+++	+++	2,5	25	++	++	25	0,75	+	++
0,05	0,1	+++	+++	2,5	10	++	++	25	0,25	+++	+++
kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++
MIC: P = 0,25, S = 1				MIC: P = 25, S = 150				MIC: P = >200, S = 2,5			

T a b u l k a IV

Primycin + sisomycin

Salmonella Cholerae-suis CCM 5874				Salmonella Cholerae-suis subsp. Kunzendorf CCM 5967				Escherichia coli DSM 30038			
P µg/ml	S µg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P µg/ml	S µg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P µg/ml	S µg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h	
75	2,5	0	0	200	2,5	0	0	200	2,5	0	0
50	1	0	0	150	2,5	0	0	150	2,5	0	0
50	0,75	0	0	100	1	0	0	150	1	0	0
25	1	0	0	50	1	0	0	100	1	0	0
25	0,75	0	0	50	0,75	0	+++	50	1	0	0
10	1	0	0	50	0,5	0	+++	50	0,75	0	0
25	0,5	0	+	25	1	0	±	50	0,5	0	0
10	0,75	0	++	25	0,75	0	+++	25	1	±	±
10	0,5	0	++	25	0,75	+++	+++	25	0,75	±	±
25	0,25	+++	+++					25	0,25	+++	+++
kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++
MIC: P = 75, S = 2,5				MIC: P = 200, S = 2,5				MIC: P = 200, S = 2,5			

T a b u l k a V

Primycin + doxycyklin

Staphylococcus aureus CCM 885				Staphylococcus aureus CCM 2326				Staphylococcus aureus CCM 2514			
P µg/ml	D µg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P µg/ml	D µg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P µg/ml	D µg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h	
0,5	0,25	0	0	0,5	1	0	0	0,5	1	0	0
0,25	0,1	0	0	0,25	0,75	0	0	0,25	0,75	0	0
0,25	0,075	0	0	0,25	0,5	0	0	0,25	0,5	0	0
0,1	0,1	0	0	0,25	0,25	0	0	0,25	0,25	0	0
0,075	0,1	0	0	0,1	0,5	0	0	0,1	0,5	0	0
0,1	0,075	0	++	0,1	0,25	0	0	0,1	0,25	0	0
0,075	0,075	0	+++	0,1	0,1	0	0	0,1	0,1	0	0
0,075	0,05	0	+++	0,075	0,5	0	0	0,075	0,5	0	0
0,05	0,075	±	+++	0,075	0,1	0	+	0,075	0,1	0	0
0,05	0,05	+++	+++	0,05	0,05	+++	+++	0,05	0,05	+++	+++
kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++
MIC: P = 0,5, D = 0,25				MIC: P = 0,5, D = 1				MIC: P = 0,5, D = 1			

T a b u l k a VI

Primycin + doxycyklin

Staphylococcus aureus DSM 20231				Staphylococcus aureus CCM 2515				Streptococcus agalactiae CCM 5153			
P μg/ml	D μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P μg/ml	D μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P μg/ml	D μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h	
0,5	0,5	0	0	0,25	0,25	0	0	0,5	0,5	0	0
0,25	0,25	0	0	0,1	0,1	0	0	0,25	0,25	0	0
0,1	0,25	0	0	0,1	0,075	0	0	0,1	0,25	0	0
0,075	0,25	0	0	0,075	0,1	0	0	0,075	0,25	0	0
0,1	0,1	0	+	0,075	0,075	0	0	0,1	0,1	0	+
0,075	0,1	0	+++	0,075	0,05	0	+++	0,075	0,1	0	+
0,075	0,075	+	+++	0,05	0,1	0	+	0,075	0,075	0	+++
0,05	0,1	0	+++	0,05	0,075	0	+++	0,05	0,075	+	+++
0,05	0,075	+++	+++	0,05	0,05	±	+++	0,05	0,05	++	+++
				0,025	0,025	+++	+++	0,01	0,01	+++	+++
kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++
MIC: P = 0,5, D = 0,5				MIC: P = 0,25, D = 0,25				MIC: P = 0,5, D = 0,5			

T a b u l k a VII

Primycin + doxycyklin

Bacillus cereus CCM. 2010				Listeria monocytogenes CCM 5576				Salmonella Choleraesuis subsp. Kunzendorf CCM 5967			
P μg/ml	D μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P μg/ml	D μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h		P μg/ml	D μg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h	
0,25	1	0	0	0,25	0,25	0	0	200	2,5	0	0
0,1	0,75	0	0	0,1	0,1	0	0	150	1	0	0
0,1	0,5	0	0	0,1	0,075	0	0	100	1	0	0
0,1	0,25	0	0	0,075	0,1	0	0	100	0,75	0	0
0,075	0,75	0	0	0,075	0,075	0	0	50	1	0	+
0,075	0,5	0	0	0,075	0,05	0	0	50	0,75	0	+
0,05	0,5	0	0	0,05	0,1	0	0	50	0,5	+	++
0,075	0,25	0	0	0,05	0,075	0	+	25	1	±	++
0,075	0,1	0	++	0,05	0,05	0	+	25	0,5	+++	+++
0,05	0,1	++	+++	0,025	0,025	+++	+++	10	0,5	+++	+++
kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++	kontrola		+++	+++
MIC: P = 0,25, D = 1				MIC: P = 0,25, D = 0,25				MIC: P = 200, D = 2,5			

Tabulka VIII
Primycin + sisomycin + doxycyklin

Staphylococcus aureus CCM 2326					Staphylococcus aureus CCM 885					Staphylococcus aureus CCM 2515				
P	S	D	inkubace		P	S	D	inkubace		P	S	D	inkubace	
µg/ml	µg/ml	µg/ml	24h 48h		µg/ml	µg/ml	µg/ml	24h 48h		µg/ml	µg/ml	µg/ml	24h 48h	
0,1	0,1	0,25	0	0	0,25	0,25	0,25	0	0	0,1	0,1	0,1	0	0
0,1	0,1	0,1	0	0	0,25	0,1	0,25	0	0	0,1	0,075	0,1	0	0
0,1	0,075	0,1	0	0	0,25	0,1	0,1	0	0	0,1	0,075	0,075	0	0
0,11	0,075	0,075	0	0	0,1	0,1	0,1	0	0	0,075	0,075	0,075	0	0
0,075	0,075	0,075	0	0	0,1	0,075	0,1	0	0	0,075	0,05	0,075	0	0
0,05	0,075	0,075	0	0	0,1	0,075	0,075	0	0	0,075	0,05	0,05	0	0
0,05	0,05	0,075	0	0	0,075	0,075	0,075	0	+++	0,05	0,05	0,05	0	0
0,05	0,05	0,05	0	0	0,05	0,05	0,05	±	+++	0,025	0,05	0,05	0	0
0,025	0,025	0,025	0	0	0,05	0,05	0,025	+++	+++	0,025	0,025	0,05	+++	+++
0,01	0,025	0,025	+++	+++	0,05	0,025	0,025	+++	+++	0,025	0,025	0,025	+++	+++
kontrola			+++	+++	kontrola			+++	+++	kontrola			+++	+++
MIC: P = 0,5 S = 0,5 D = 1					MIC: P = 0,5 S = 0,25 D = 0,25					MIC: P = 0,25 S = 0,25 D = 0,25				

T e b u l k a IX

Primycin + sisomycin + doxycyklin

Streptococcus agalactiae CCM 5153					Bacillus cereus CCM 2010					Listeria monocytogenes CCM 5576				
P	S	D	inkubace		P	S	D	inkubace		P	S	D	inkubace	
µg/ml	µg/ml	µg/ml	24h 48h		µg/ml	µg/ml	µg/ml	24h 48h		µg/ml	µg/ml	µg/ml	24h 48h	
0,1	5	0,1	0 0		0,1	0,5	0,5	0 0		0,1	0,1	0,1	0 0	
0,1	2,5	0,1	0 0		0,1	0,25	0,5	0 0		0,075	0,1	0,1	0 0	
0,1	2,5	0,075	0 0		0,1	0,25	0,25	0 0		0,075	0,1	0,075	0 0	
0,1	2,5	0,05	0 0		0,075	0,25	0,25	0 0		0,075	0,075	0,075	0 0	
0,1	1	0,05	0 0		0,075	0,1	0,25	0 0		0,05	0,075	0,075	0 0	
0,075	1	0,075	0 0		0,05	0,25	0,25	0 0		0,05	0,075	0,05	0 0	
0,075	1	0,05	0 0		0,075	0,25	0,1	0 +++		0,05	0,05	0,05	0 0	
0,05	1	0,075	0 0		0,075	0,1	0,1	0 +++		0,025	0,05	0,025	0 0	
0,05	0,75	0,05	0 0		0,05	0,1	0,1	0 +++		0,025	0,025	0,025	0 +++	
0,05	0,05	0,05	+++ +++		0,05	0,075	0,075	++ +++		0,01	0,025	0,01	+ +++	
kontrola			+++ +++		kontrola			+++ +++		kontrola			+++ +++	
MIC: P = 0,5 S = 50 D = 0,5					MIC: P = 0,25 S = 1 D = 1					MIC: P = 0,25 S = 0,75 D = 0,25				

T a b u l k a X

Primycin + sisomycin + doxycyklin

Vibrio parahaemolyticus CCM 5938				Pseudomonas acidovorans CCM 283				Proteus mirabilis CCM 1944			
P µg/ml	S µg/ml	D µg/ml	inkubace 24h 48h	P µg/ml	S µg/ml	D µg/ml	inkubace 24h 48h	P µg/ml	S µg/ml	D µg/ml	inkubace 24h 48h
10	100	0,25	0 0	5	10	0,1	0 0	100	1	75	0 0
10	50	0,25	0 0	5	5	0,1	0 0	100	1	50	0 0
5	50	0,25	0 0	1	1	0,1	0 0	50	1	25	0 0
5	50	0,1	0 0	5	5	0,075	0 0	50	0,5	25	0 0
2,5	25	0,1	0 0	5	5	0,05	0 0	25	0,5	10	0 0
1	25	0,1	0 0	5	2,5	0,075	0 0	10	0,5	10	0 0
2,5	10	0,1	+ ++	2,5	2,5	0,075	0 0	10	0,5	5	0 +++
2,5	10	0,075	++ ++	2,5	2,5	0,05	0 0	10	0,5	2,5	0 +++
2,5	10	0,05	++ ++	2,5	2,5	0,025	0 0	5	0,25	2,5	+++ +++
1	10	0,1	+ ++	1	1	0,01	++ +++	5	0,1	2,5	+++ +++
kontrola				kontrola							

MIC: P = 25 S = 150 D = 0,5 MIC: P = 50 S = 50 D = 0,5 MIC: P = > 200 S = 2,5 D = 150

T a b u l k a X I

Primycin + sisomycin + doxycyklin

Shigella sonnei CCM 1317				Salmonella typhimurium CCM 5445				Salmonella cholerae-suis CCM 5438			
P µg/ml	S µg/ml	D µg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h	P µg/ml	S µg/ml	D µg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h	P µg/ml	S µg/ml	D µg/ml	inkubace 24 ^h 48 ^h
100	1	1	0 0	100	0,5	2,5	0 0	50	0,5	2,5	0 0
50	1	1	0 0	50	0,5	2,5	0 0	25	0,5	2,5	0 0
25	1	1	0 0	25	0,5	2,5	0 0	25	0,25	1	0 0
10	0,5	1	0 0	25	0,25	2,5	0 0	10	0,25	1	0 0
10	0,5	0,5	0 0	10	0,1	1	0 0	5	0,25	1	0 0
10	0,5	0,25	0 0	5	0,1	2,5	0 0	5	0,1	1	0 0
5	0,5	0,5	0 0	10	0,075	2,5	0 +++	1	0,1	1	0 0
5	0,25	0,5	0 0	5	0,075	2,5	0 +++	2,5	0,1	0,75	0 0
5	0,1	0,5	0 +++	10	0,075	1	+++ +++	2,5	0,075	0,5	++ +++
5	0,1	0,25	+++ +++	10	0,1	1	+++ +++	2,5	0,05	0,5	+++ +++
kontrola			+++ +++	kontrola			+++ +++	kontrola			+++ +++
MIC: P = 150 S = 2,5 D = 2,5				MIC: P = 150 S = 0,75 D = 5				MIC: P = 75 S = 0,75 D = 5			

T a b u l k a XII

Primycin + sisomycin + doxycylin

Salmonella cholerae-suis						Salmonella cholerae-suis subsp. Kunzendorf						Escherichia coli					
CCM 5874						CCM 5967						DSM 30038					
P	S	D	inkubace	24 ^h 48 ^h	µg/ml	P	S	D	inkubace	24 ^h 48 ^h	µg/ml	P	S	D	inkubace	24 ^h 48 ^h	µg/ml
µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml			µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml			µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml		
50	1	2,5	0	0		100	1	1	0	0		25	0,5	1	0	0	
25	1	2,5	0	0		50	1	1	0	0		10	0,5	1	0	0	
10	1	2,5	0	0		25	1	1	0	0		10	0,25	1	0	0	
5	0,5	1	0	0		25	0,5	0,5	0	0		10	0,5	0,75	0	0	
5	0,5	0,75	0	0		10	0,5	0,5	0	0		10	0,25	0,75	0	0	
5	0,5	0,5	0	0		10	0,25	0,5	0	0		10	0,5	0,5	0	0	
2,5	0,5	0,75	0	+++		10	0,5	0,25	0	0		5	0,5	0,5	0	0	
2,5	0,5	0,5	0	+++		5	0,5	0,5	0	0		5	0,25	0,25	+	+++	
2,5	0,25	0,5	+++	+++		5	0,25	0,25	0	+++		2,5	0,25	0,25	+	+++	
2,5	0,25	0,25	+++	+++		5	0,1	0,1	+++	+++		1	0,25	0,25	+++	+++	
kontrola			+++	+++		kontrola			+++	+++		kontrola			+++	+++	
MIC: P = 75 S = 2,5 D = 5						MIC: P = 200 S = 2,5 D = 2,5						MIC: P = 200 S = 2,5 D = 5					

T a b u l k a XIII

Primycin + sisomycin + doxycyklin

Escherichia coli									
Escherichia coli					Escherichia coli				
P µg/ml	S µg/ml	D µg/ml	inkubace 24h 48h		P µg/ml	S µg/ml	D µg/ml	inkubace 24h 48h	
25	0,5	2,5	0	0	10	0,25	1	0	0
10	0,5	2,5	0	0	5	0,25	1	0	0
10	0,5	1	0	0	5	0,1	1	0	0
10	0,25	1	0	0	5	0,1	0,75	0	0
5	0,5	1	0	0	2,5	0,1	1	0	0
5	0,25	1	0	0	2,5	0,1	0,75	0	0
5	0,25	0,75	0	0	2,5	0,1	0,5	0	0
1	0,25	0,5	0	+	1	0,1	0,75	0	0
1	0,1	0,5	0	+++	1	0,075	0,75	0	0
1	0,05	0,1	+++	+++	1	0,05	0,5	+++	+++
kontrola					kontrola				
+++					+++				
MIC: P = > 200 S = 1 D = 5					MIC: P = 200 S = 0,75 D = 2,5				
					MIC: P = 200 S = 10 D = 25				

Další podrobnosti předloženého vynálezu jsou uvedeny v následujících příkladech, aniž by se vynález omezoval pouze na tyto příklady.

Příklad 1

I. složení prášku v ampulce:

sisomycin	0,10 g
doxycyklin HCl	0,10 g
octan sodný	0,533 g

II. složení rozpouštědla v ampulce:

primycin (v heterokoloidní formě)	
(obsah účinné látky 0,1 g)	10,0 g
cetyltrimetylamoniumbromid	0,5 mg

Výroba preparátu:

Sisomycin, doxycyklin a předem na prášek rozdrcený octan sodný se promísí, homogenizují, směs se naplní do ampulky na prášek a ampulka se uzavře (I). V heterokoloidním primycinu se rozpustí cetyltrimetylamoniumbromid a naplní se do ampulky o obsahu 10 ml a ampulka se uzavře (II). Před použitím se obsah ampulky s tekutinou vstříkne do ampulky s práškem a roztok se po rozpuštění vstříkne stříkačkou z umělé hmoty do otočné vakuové frakcionační předlohy. Tímto způsobem vyrobený preparát se může známým způsobem naplnit i do dvoukomorové stříkačky.

Příklad 2

sisomycin	0,10 g
doxycyklin	0,10 g
primycin (v heterokoloidní formě)	
(obsah účinné látky 0,1 g)	10,00 g
octan sodný	0,1 g
cetyltrimetylamoniumbromid	0,5 mg

Výroba preparátu

V heterokoloidním primycinu se rozpustí octan sodný, naplní se do ampulky pro prášek a obvyklým způsobem se lyofilizuje. K lyofilizátu se přidá sisomycin a doxycyklin v práškové formě, ampulka s práškem se uzavře obvyklým způsobem gumovou zátkou. Před použitím se obsah ampulky s práškem rozpustí v 10,0 ml destilované vody, popřípadě homogenizuje, potom se pomocí injekční stříkačky z plastické hmoty nastříká do otočné vakuové frakcionační předlohy.

Příklad 3

Primycin (v heterokoloidní formě)	
(alkoholická suspenze)	
obsah účinné látky 0,10 g	10,00 g
ricinový olej	10,00 g
cholesterin	0,25 g
sisomycin	0,10 g
doxycyklin.HCl	0,10 g

Výroba preparátu

Alkoholická suspenze (toztok) heterokoloidního primycinu se smísí s ricinovým olejem a alkohol se potom s výhodou oddestiluje ve vakuu. Potom se s výhodou za tepla rozpustí ve zbytku cholesterolu. V ochlazené směsi se obvyklým způsobem suspenduje usušený sisomycin a doxycyklin.

Tímto způsobem vyrobená suspenze se naplní do odpovídající ampulky z plastické hmoty nebo do hliníkové tuby a opatří se vhodnou jehlou (jehlou z plastické hmoty).

Příklad 4

I. Složení prášku v ampulce

sisomycin	0,10 g
doxycyklin.HCl	0,10 g

II. Složení rozpouštědla v ampulce

primycin (obsah účinné látky 0,1 g)	10,0 g
cetyltrimetylamoniumbromid	0,5 g
hydrogenfosforečnan sodný kryst.	0,171 6 g
kyselina citrónová kryst.	0,759 6 g

Výroba preparátu

Doxycyklin a sisomycin se promísí a uzavřou v ampulce (I). V heterokoloidním primycinu se rozpustí v cetyltrimetylamoniumbromid, jakož i krystalický hydrogenfosforečnan sodný ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) a kyselina citrónová ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$), naplní se do ampulky a tato se uzavře.

Příklad 5

Mast

sisomycin	0,10 g
doxycyklin.HCl	0,10 g
primycin	0,10 g
polyetylglykol 400	4,85 g
polyetylglykol 4000	4,85 g

Příprava preparátu

Předem usušený a rozpráškový (pod 50 μm) sisomycin, doxycyklin a primycin se použije pro přípravu masti. Polyetylglykol 400 a polyetylglykol 4000 se homogenizují. Účinné látky se smísí s malým množstvím základní masťové látky a potom se po částech smísí s veškerou mastí. Nakonec se směs naplní do tub.

Příklad 6

Aerosolová filmotvorná látka

sisomycin	0,10 g
doxycyklin.HCl	0,10 g
primycin	0,10 g
polyvinylpyrrolidon	2,0 g
alkohol (abs.)	47,7 g
freon 11/12 5050	50,0 g

Výroba preparátu

Předem usušené práškované (pod 50 μm) účinné látky sisomycin, doxycyklin.HCl a primycin se podle předpisu vnesou do aerosolových lahví a přidá se alkoholický roztok polyvinylpyrrolidonu. Potom se podle známé aerosolové techniky naplní a uzavřou.

P ř í k l a d 7

Aerosolový zásyp

sisomycin	0,10 g
doxycyklin.HCl	0,10 g
primycin	0,10 g
isopropylmyristat	1,0 g
freon 11/12 5050	98,7 g

Výroba preparátu

Předem usušené, rozpráškové (pod 50 μm) účinné látky sisomycin, doxycyklin.HCl a primycin se homogenizují a rozetřou s isopropylmyristátem. Potom se směs po dávkách naplní do aerosolových lahví. Lahve se známým způsobem uzavřou.

P ř í k l a d 8

Srovnávací pokusy s primycinem a kombinací primycinu u mastitid pacientů

Byl zkoušen účinek primycinu a kombinace na klinicky se projevující mastitidě pacientů. Zkoušky byly prováděny metodou termografie (cholesterový Fil-Set).

Při vyšetřování byly použity referenční látky, které jsou v Maďarsku prodávány jako speciality (Neomasticur, Mastalone).

Rozdělení pacientů

jednoduchý katarální zánět vemene,
akutní nakažlivý katarální zánět vemene,
chronický infekční katarální zánět vemene,
hnisavý zánět vemene spojený s tvorbou abscesů.

Léčení:

1. Primycin 100 mg/na struk vemene z 15 případů 8 případů uzdravení.

2. Kombinace primycinu

Složení prášku v ampulce:

sisomycin (suchý)	85 mg
doxycyklin (suchý)	100 mg
octan sodný (bezvodý)	533 mg
prednisolon	10 mg

Složení rozpouštědla v ampulce

primycin (heterokoloidní)	
(obsah účinné látky 0,1 g)	20 ml
cetyltrimetylamoniumbromid	1 mg

Kombinace primycinu se ukázala být účinná ve 14 případech ze 16 případů. V jednom ze zbývajících případů muselo být zvíře vzhledem k vážnému stavu poraženo (tvorba abscesů), zatím co druhý případ byl chronický infekční katarální zánět vemene.

Pokusy in vitro potvrdily shora uvedené výsledky.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Synergeticky, antimikrobiálně účinný, terapeutický preparát, vyznačující se tím, že obsahuje 5 až 50 % hmotnostních primycinu nebo jeho derivátu, počítáno na celkový obsah účinných látek, 95 až 50 % hmotnostních doxycyklinu nebo jeho derivátu a/nebo sisomycinu nebo jeho derivátu, počítáno na celkový obsah účinných látek a inertní, pevné nebo kapalné, netoxické nosiče jako například uhličitán hořečnatý, stearát hořečnatý, škroby, talek nebo vodu a popřípadě další přísady jako například plniva, látky podporující rozpad, kluzné prostředky nebo emulgátory.

2. Preparát podle bodu 1, vyznačující se tím, že je formulován do formy mastí, zásypů na rány nebo aerosolových filmotvorných látek.

3. Preparát podle bodu 1, vyznačující se tím, že je formulován do injikovatelné formy s výhodou injekčního roztoku nebo suspenze nebo do formy kombinace ampulky s práškem a ampulky s rozpouštědlem.