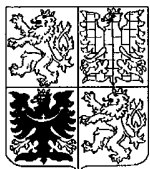


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **11.03.1999**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **12.03.1998**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **1998/041266**
(33) Země priority: **US**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14.03.2001**
(Věstník č. 3/2001)
(86) PCT číslo: **PCT/US99/05311**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/45973**

(21) Číslo dokumentu:

2000 -3301

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

A 61 L 15/44

(71) Přihlašovatel:
THE PROCTER & GAMBLE COMPANY, Cincinnati,
OH, US;

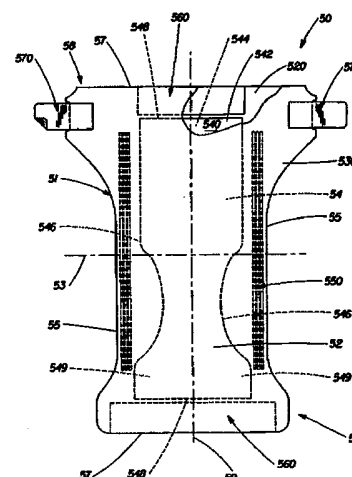
(72) Původce:
Roe Donald Carroll, West Chester, OH, US;
Rourke Francis James, Sharonville, OH, US;
Osborne Scott Edward, Middletown, OH, US;

(74) Zástupce:
PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,
14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:
**Absorbční prostředek pro jedno použití
obsahující dermatologickou složku s inhibítorem
enzymu**

(57) Anotace:

Řešení popisuje absorpční prostředek, jehož alespoň jedna část obsahuje dermatologickou složku s inhibítorem enzymu, která se přinejmenším částečně přenáší z tohoto prostředku na kůži jeho uživatele při běžném kontaktu, pohybu uživatele a/nebo působením tělního tepla. Inhibitor enzymu se přenáší na kůži s dermatologickou složkou a je dostupný na rozhraních kůže/moč a kůže/stolice, kde inhibuje enzymatickou aktivitu na kůži a snižuje nebo zabraňuje vzniku zánětu. Opakovaná aplikace podobně upravených prostředků na kůži uživatele poskytuje dostupný zdroj, z kterého může inhibitor enzymu plynule přecházet na kůži a poskytovat proaktivní ochranu proti škodlivým enzymům při léčbě a/nebo prevenci plenkové dermatitidy.



13572 CPP

2000-1101

Absorpční prostředek pro jedno použití obsahující
dermatologickou složku s inhibítozem enzymu

Oblast techniky

Vynález pojednává o absorpčních prostředcích jako jsou např. plenky, cvičební spodky, vložky pro inkontinenci, dámské hygienické prostředky apod., které obsahují dermatologickou složku s obsahem inhibitoru enzymu, a to především na povrchu, který je v kontaktu s uživatelem. V průběhu běžného nošení prostředku se inhibitor enzymu přenáší s dermatologickou složkou aspoň na část kůže uživatele, kde může inaktivovat fekální enzymy a snížit zarudnutí a zánět, který se může vytvořit po dlouhé expozici kůže tělesným produktům.

Dosavadní stav techniky

Plenková vyrážka je běžná forma podráždění a zánětu těch částí dětského těla, která jsou běžně kryta plenkou. Tento stav se také nazývá plenková dermatitida. Přestože je tento stav určitě nejčastější u dětí, nevyskytuje se pouze u nich. U každého jedince, který trpí inkontinencí v rozsahu, který vyžaduje použití absorpčních prostředků, se může vyvinout toto onemocnění. Mezi náchylné jedince patří novorozenci, staří lidé, těžce nemocní nebo neambulantní jedinci. 21 C.F.R. 333 503 definuje plenkovou vyrážku jako „zánětlivé kožní onemocnění v plenkové oblasti (hráz, hýždě, podbřišek a vnitřní strana stehien) způsobené jedním nebo více z následujících faktorů: vlhkost, okluze, odírání, trvalý kontakt s močí nebo stolicí nebo oběmi, nebo mechanické nebo chemické

podráždění.“ Lékaři zpravidla pokládají plenkovou vyrážku nebo dermatitidu za stav, který je ve svém nejlehčím stadiu kontaktní iritační dermatitidou vzniklou na základě rozsáhlého kontaktu kůže s močí nebo stolicí nebo oběmi. Mezi nejčastěji zmiňovanými faktory, v souvislosti s plenkovou vyrážkou, jsou čpavek, enzymy ve stolici, bakterie, bakteriální produkty, pH moči a *Candida albicans*.

K dispozici je mnoho typů absorpčních prostředků na jedno použití, jako jsou např. plenky, cvičební spodky, prostředky pro inkontinenci, zdravotnické pleny apod., které mají vysokou absorpční kapacitu pro moč a jiné tělní výměšky. Výrobky pro jedno použití, tohoto typu, obvykle obsahují nějaký typ vrchního materiálu propustného pro kapaliny, absorpční jádro a pro kapalinu nepropustný spodní materiál. Ačkoliv tyto typy absorpčních struktur mohou být vysoce účinné pro absorpci tekutin, nemohou absorbovat stolicí. Obvykle se stolice zachytí mezi vnějším povrchem, pro kapalinu propustného vrchního listu, a kůží uživatele, čímž její většina přilne na kůži uživatele. Takto je kůže vystavena kontaktu se stolicí, často po dlouhou dobu, a je citlivá na dráždivé látky přítomné ve stolici, které vytváří nebo přispívají ke vzniku plenkové vyrážky.

Protože enzymy jsou přítomny v rostlinách, půdě, bakteriích, mléku, mléčných výrobcích a téměř ve všech zvířecích tkáních, stejně tak jako v trávicích šťávách gastrointestinálního traktu, jsou téměř vždy přítomny v plenkové oblasti, která byla znečištěna lidskými výměšky. Mezi enzymy přítomné ve stolici patří proteolytické enzymy, lipázy a jiné esterázy a diesterázy, ureázy a jiné enzymy včetně amyláz, elastáz, nukleáz apod. Přestože není

známo relativní zastoupení různých typů enzymů působících při vzniku kožního podráždění, existuje důkaz, že přinejmenším proteolytické a lipolytické enzymy ve stolici, které jsou střevního a/nebo pankreatického původu, mají přímý vliv na vznik kožního zánětu při plenkové dermatitidě.

Studie s inhibitory navrženými tak, že inhibovali enzymatickou aktivitu různých tříd proteáz ukázaly, že serinové proteázy, cysteinové proteázy a metaloproteázy jsou velmi pravděpodobně zodpovědné za celkovou proteolytickou aktivitu stolice. Je známo, že serinové proteázy, především trypsin a chymotrypsin, jsou téměř vždy přítomny ve velkém množství ve stolici zdravých mladých dětí a menší, ale detekovatelné množství je přítomno ve stolici zdravých dospělých. Lipázy, včetně esteráz, které hydrolyzují triglyceridy v potravě, jsou také přítomny v normální stolici a jsou schopny hydrolyzovat triglyceridy a jiné glyceridy, které se nachází na lidské kůži, čímž vytváří dráždivé mastné kyseliny a vedlejší produkty glycerolu. Když je kůže vystavena enzymům, jako např. lipázám a proteázám přítomným v tělních výměšcích, mohou být složky kůže, které obsahují proteiny a bílkoviny, poškozeny, což má za následek podráždění a zánět. Navíc porušení kožní bariéry umožňuje dalším složkám moči a stolice, čpavku, bakteriím apod., které by jinak dráždivě nepůsobily, proniknout skrz porušenou kožní bariéru za vzniku dalšího podráždění a případné infekce.

Je známo, že v tělních výměšcích jsou také přítomny žlučové soli. Žlučové soli normálně působí tak, že vytváří v těle lipidové emulze, čímž zajišťují působení lipáz na rozhraní lipid/voda. Žlučové soli jsou také aktivní, když jsou vyloučeny ve stolici a

jiných výměšcích a mohou působit jako koenzymy a posílit aktivitu lipáz, které napadají lipidy ve stratum corneum kůže, která je vystavena tělním výměškům.

Dráždivé účinky fekální enzymatické aktivity na kůži jsou obvykle zesíleny, pokud je přítomna moč a/nebo pokud je kůže kryta. Vytvoření hydroxidu amonného působením bakteriálního enzymu ureázy na moč má za následek zvýšení pH, např. k hodnotám 7,0 a vyšším, při kterém se aktivita proteáz a jiných enzymů, jako např. lipáz přítomných ve stolici, zvyšuje. Např. optimální rozmezí pH pro ureázu je 6,4 - 6,9, pro trypsin 7,8 - 8,2 a pro lipázy 7,5 - 9,5. Pokud pH přesáhne 7,0 začíná se z moči uvolňovat volný čpavek, který je další dráždivou toxickou sloučeninou působící na kůži. Sama moč může také přispívat k vytvoření plenkové vyrážky tím, že zvlhčuje prostředí. Voda, a to především voda ve formě moči, je obzvláště účinná při snižování kožní bariéry, čímž zvyšuje náchylnost kůže k podráždění enzymy stolice. Poněvadž moč a stolice jsou najednou běžně přítomny v absorpčním prostředí a expozice kůže po dobu několika hodin není neobvyklá, jsou přítomny vhodné podmínky a dostatek času pro vznik těchto interakcí a následné poškození kůže. Dalším faktorem, který přispívá k posílení enzymatické aktivity stolice je jeho alkalické pH. Například je dobře známo, že ačkoliv stolice přirozeně kojených dětí je obvykle kyselá, stolice uměle kojených dětí je zpravidla alkalická s pH v rozmezí od mírně alkalického (pH 7,2 - 7,5) až k silně alkalickému (pH 8,7 a vyšší). Takže především děti uměle kojené mají náchylnost k tomu, aby se u nich rozvinula plenková dermatitida způsobená zvýšenou aktivitou enzymů ve stolici díky vyššímu pH.

Z pohledu vlivu alkalického pH na zvýšenou aktivitu enzymů ve stolici bylo provedeno několik pokusů k udržení pH kůže pomocí látek ovlivňujících pH, jako jsou např. pufovací látky nebo slabé kyseliny, v absorpčním prostředku nebo jako přísady v lokálně aplikovaných dermatologických prostředcích. Předpokládá se, že účinné udržování pH kůže v jeho přirozeném nízkém pH (tj. od 3,0 do 5,5) může působit proti dráždivému účinku čpavku a snižovat aktivitu enzymů stolice. Snížení enzymatické aktivity kůže tímto způsobem je však dosti obtížné za situace, kdy je stolice přímo na kůži.

Určité antienzymové složky byly přidávány do lokálně aplikovaných přípravků pro léčbu a prevenci plenkové vyrážky způsobené dlouhým kontaktem lidské kůže s tělními výměškami. Například, U.S. 4 556 560 popisuje přípravky obsahující ve vodě rozpustné inhibitory lipázy, nejlépe soli kovů, jako např. chlorid zinečnatý v bariérovém přenašeči jakým je např. polyethylen glykol. Pokud je inhibitor lipázy vložen do plenkové vrchní vrstvy nebo do absorpčního jádra, potom je nejlepší pokud je ve vodním nebo těkavém médiu, jakým je např. ethanol, který usnadní přenos ke kůži po navlhčení plenky močí. U.S. 5 091 193 popisuje přípravky pro aplikaci na kůži při výměně plenky, které obsahují chelatující činidlo, jako např. kyselinu listovou, ethylendiamintetraoctovou kyselinu (EDTA) apod., které omezují dostupnost kovů, které ureáza a proteázy vyžadují jako kofaktory pro aktivitu. Přípravek může dále obsahovat lipázový substrát, jako např. ester mastného alkoholu nebo přidáný antienzym, nasycený nebo nenasycený, lineární nebo rozvětvený, zinkovou sůl mastné kyseliny o 2 až 22 atomech uhlíku

nebo aminoacylkyselinu, jako např. propionylcystein, propionylhydroxyprolin nebo caproylcystein.

Zatímco byly popsány přípravky pro léčbu plenkové dermatitidy, které obsahují určité inhibitory enzymové aktivity, nebyla dosud popsána možnost léčby nebo prevence plenkové dermatitidy při které jsou dermatologické přípravky obsahující inhibitory enzymů obsaženy v absorpčních prostředcích s automatickým přenosem ke kůži uživatele během běžného nošení upraveného prostředku nebo jejichž použití, nejlépe opakované, automaticky udržuje dostatečné hladiny inhibitorů enzymu ve zvolené oblasti kůže uživatele, čímž vytváří ochranu proti fekální penetraci a enzymové aktivitě. Navíc dříve nebyly popsány absorpční prostředky s dermatologickou složkou obsahující, na povrchu dotýkajícím se uživatele, znehynbněné inhibitory enzymů (při pokojové teplotě), a to především ve vrchní vrstvě, z které se dermatologická složka a enzymový inhibitor přenáší na kůži uživatele po ohřátí dermatologické složky na tělní teplotu.

Podstata vynálezu

Vynález popisuje absorpční prostředek, jehož část obsahuje dermatologickou složku obsahující inhibitor enzymu, a z kterého se dermatologická složka včetně inhibitoru enzymu aspoň částečně přenáší z prostředku na kůži uživatele prostředku v průběhu běžného kontaktu, pohybu uživatele a/nebo tělního tepla. Enzymový inhibitor je jakákoliv látka, která snižuje aktivitu jednoho nebo více enzymů, nejlépe při IC_{50} , tak jak je určeno níže, ne více než 500 mikromolární (μM). Vhodnými inhibitory enzymu pro použití v tomto prostředku jsou inhibitory proteáz, inhibitory lipáz, inhibi-

tory elastáz, inhibitory ureáz, inhibitory amyláz apod. a dále také inaktivátory žlučových solí, které by jinak působily jako kofaktory pro lipázy. Dermatologická složka obvykle obsahuje asi 0,001 % až asi 50 % inhibitoru enzymu, lépe je když obsahuje od 0,01 % do 25 %, ještě lépe pokud obsahuje od 0,1 % do 10 % a nejlépe od 0,1 % do 5 %.

Charakter dermatologické složky obsahující inhibitor enzymu může být značně rozdílný, ale v jednom navrhovaném provedení je tuhý nebo polotuhý při pokojové teplotě (20°C). V navrhovaném provedení, kterému dáváme přednost, obsahuje dermatologická složka ještě asi 5 % až 95 % změkčovadla, které je plastické nebo kapalné při 20°C. Dále by měla dermatologická složka obsahovat asi 5 % až 95 % látky, která je schopná v prostředí imobilizovat změkčovadlo a která má bod tání nejméně asi 35°C. Části absorpčního prostředku obsahující dermatologickou složku s inhibitorem enzymu by měl být nejlépe povrch, který je v kontaktu s uživatelem, nejlépe tedy pro kapalinu propustná vrchní vrstva.

Poněvadž se inhibitor enzymu přenáší na kůži s dermatologickou složkou je proto dostupný na rozhraních kůže/moč a kůže/stolice, kde inhibuje enzymatickou aktivitu na kůži a snižuje nebo brání rozvoji zánětu. Opakované použití podobně upravených prostředků nabízí dostupný zdroj z kterého přestupují inhibitory enzymů plynule na kůži, kde se kumulují a poskytují proaktivní ochranu proti škodlivým enzymům při léčbě a/nebo prevenci plenkové dermatitidy.

Přehled obrázků na výkresech

Obrázek 1 je schematickým zobrazením absorpčního prostředku ve formě plenky podle uvedeného vynálezu.

Obrázek 2 je pohled z boku znázorňující umístění kožního analogu použitého při přenosovém testu dermatologické složky a/nebo přenosovém testu inhibitoru proteáz.

Obrázek 3 je plošný pohled znázorňující umístění kožního analogu použitého při přenosovém testu dermatologické složky a/nebo přenosovém testu inhibitoru proteáz.

Podrobný popis vynálezu

I. Definice

Výraz „zahrnující“, tak jak je zde použit, znamená, že různé komponenty, složky nebo kroky mohou být společně použity při aplikaci uvedeného vynálezu. V souladu s tím obsahuje výraz „zahrnující“ také významově užší výrazy „složený především z“ a „složený z“.

Výraz „upravený prostředek“, tak jak je zde použit, znamená, že absorpční prostředek obsahuje na svém povrchu dermatologickou složku anebo je alespoň tato schopna se k povrchu dotýkajícímu se uživatele pohybovat.

Výraz „povrch v kontaktu s uživatelem“ absorpčního prostředku je jeden nebo více povrchů kterékoliv součásti prostředku, která se dotýká uživatele během nošení. Kontaktní povrchy uživatele zahrnují, ale nejsou jimi omezeny, části vrchní vrstvy, končetinové

manžety, pásovou oblast, boční pruhy, upínací poutka apod., které se dotýkají uživatele během nošení.

Výraz „dermatologická složka“, tak jak je zde použit, znamená jakoukoliv složku obsahující inhibitor enzymu, která se přenáší na kůži uživatele upraveného prostředku vlivem běžného kontaktu, pohybu uživatele a/nebo tělního tepla při jeho běžném nošení.

Výraz „ IC_{50} “ znamená inhibiční koncentraci (např. mikromolární koncentraci, μM) látky (inhibitoru), která sníží úroveň štěpení substrátu enzymem o 50 % při měření enzymové aktivity standartními testy *in vitro*, viz. níže. IC_{50} se vypočítá podle rovnice $IC_{50} = (I)/((v/v_i)-1)$, kde (I) je testovaná inhibiční koncentrace, v je úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru a v_i je úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru. Tak jak bude dále popsáno, IC_{50} inhibitoru enzymu může být měřeno pomocí Metody s purifikovaným enzymem nebo Metody fekálních enzymů.

Další výrazy jsou zde definovány při jejich prvním použití.

Všechna procenta, koeficienty a poměry, které jsou zde použity, jsou váhová pokud není stanoveno jinak.

II. Inhibitory enzymů

Inhibitory enzymové aktivity jsou dobře známé a jsou klasifikovány jako kompetitivní inhibitory (které soutěží se substrátem o navázání na aktivní místo enzymu) a nekompetitivní inhibitory (které inaktivují enzym navázáním na jiné místo než aktivní). Mnoho enzymů, např. metaloproteázy, jsou inaktivovány

látkami, které se naváží na skupinu kovu enzymu. Chelatující činidla jsou účinnými inhibitory ostatních enzymů, který vyžadují pro aktivaci přítomnost iontů kovu, jako jsou např. ionty vápníku, kobaltu, mědi, hořčíku, manganu, sodíku, draslíku nebo zinku. Poněvadž enzymy jsou proteiny, tak jsou proti specifickým enzymům účinné jako enzymové inhibitory také protilátky.

Inhibitory enzymů vhodné pro absorpční prostředky, které jsou zde popsány, mají obvykle hodnotu IC_{50} asi do 500 μM , lépe však asi do 250 μM a nejlépe asi do 100 μM . Je zřejmé, že určité inhibitory (např. EDTA) budou mít vyšší hodnoty IC_{50} , ale přesto je bude možno použít v absorpčních prostředcích zde popsaných. Materiály, u kterých nemůže být určena molekulová hmotnost budou snižovat enzymovou aktivitu nejméně o 50 % při koncentraci, která v dermatologické složce nepřesáhne asi 5 % hmotnosti. Reprezentativní způsoby měření enzymové inhibiční aktivity jsou zmíněny níže.

Jakýkoliv typ inhibitoru enzymu může být využit v dermatologické složce přenositelné na kůži uživatele z absorpčního prostředku uvedeného vynálezu, včetně jakéhokoliv přirozeně se vyskytujícího inhibitoru rostlinného, mikrobiálního a/nebo zvířecího původu (včetně lidského) a synteticky připravených chemických inhibitorů. Inhibitory enzymů mohou mít hydrofilní nebo hydrofobní charakter a mohou být proto rozpustné ve vodě nebo hydrofobním vehikulu. Inhibitory enzymů jsou obvykle přítomny v dermatologické složce v koncentraci od 0,001 % do asi 50 % hmotnosti, lépe je když obsahuje od 0,01 % do asi 25 %, ještě lépe pokud obsahuje od 0,1 % do asi 10 % a nejlépe od 0,1 % do 5 %. Kvůli pestrosti inhibitorů

enzymů použitých ve vynálezu musí být účinná koncentrace každého inhibitoru určena zvlášť, což je v oboru běžné.

Inhibitory enzymů mohou být použity samostatně nebo jako směs inhibitorů enzymů, jako např. „koktejl“ inhibitorů v jednom absorpčním prostředku. Navíc různé inhibitory enzymů mohou být použity v dermatologické složce na různých místech jednoho absorpčního prostředku.

Díky rozmanitosti enzymů přítomných ve stolici a jiných tělních výměšcích se dá očekávat, že látky, které inhibují určité třídy enzymů (např. proteázy) budou také inhibovat enzymy, které štěpí i jiné substráty než ty dané (např. proteiny a peptidy). A proto mohou inhibitory, které inhibují proteázy také inhibovat lipázy a jiné esterázy, amylázy a/nebo ureázy a naopak.

Pokud možno se do dermatologické složky vynalezeného absorpčního prostředku přidávají inhibitory enzymů a/nebo koenzymů, které se nejčastěji nachází ve stolici nebo jiných tělních výměšcích. Nejvhodnějšími inhibitory enzymů jsou inhibitory proteolytických enzymů, jako např. trypsin, chymotrypsin, aminopeptidáza a elastáza; lipázy; žlučové soli; amylázy; a/nebo ureázy.

Příklady vhodných inhibitorů proteáz pro použití v tomto vynálezu o kterých se předpokládá, že inhibují typ proteázy uvedený v závorce jsou, bez omezení na pouze tyto příklady, inhibitor trypsinu ze sóji a další inhibitory trypsinu rostlinného původu, jako např. inhibitor proteázy z limské fazole (*Phaseolus limensis*),

inhibitor proteázy z kukuřice apod; Bowman-Birkův inhibitor (inhibitor serinové a trypsinu podobné proteázy); inhibitor slinivkového trypsinu, jako např. inhibitor hovězího slinivkového zásaditého trypsinu a další inhibitory slinivkových trypsinů získané ze zvířat; inhibitor trypsinu vaječného bílku (inhibitor serinové a trypsinu podobné proteázy); ovomukoidy obsahující ovoinhibitory, jako např. z vaječného bílku kuřete nebo krocana (inhibitory trypsinu a chymotrypsinu); chymostatin (inhibitor serinové a chymotrypsinu podobné proteázy); aprotinin (inhibitor serinové proteázy); leupeptin a jeho analoga, jako např. propionyl-leupeptin, N- α -t-BOC-deacetyl-leupeptin (inhibitor serinové a cysteinové proteázy); bestatin a jeho analoga, jako např. epibestatin a nitrobestatin (inhibitory aminopeptidázy a metaloproteázy); amastatin a jeho analoga, jako např. epiamastatin (inhibitor aminopeptidázy); antipain (trypsinový inhibitor); antitrombin III (inhibitor serinové proteázy); hirudin (inhibitor trombinu podobné serinové proteázy); cystatin (inhibitor cysteinové proteázy vaječného bílku); E-64 (trans-epoxysukcinyl-L-leucylamido-(4-guanidino)-butan) a jeho analoga (inhibitor cysteinové proteázy); α_2 -makroglobulin (univerzální inhibitor endoproteáz); α_1 -antitrypsin (trypsinový inhibitor); pepstatin a jeho analoga, jako např. acetylpepstatin, pepstatin A, Nle-Sta-Ala-Sta (inhibitor aspartylproteázy); apstatin (inhibitor aminopeptidázy P); (2R)-2-merkaptomethyl-4-methylpentanoyl-b-(2-naftyl)-Ala-Ala amid (inhibitor matrix metaloproteázy); (2R)-2-merkaptomethyl-4-methylpentanoyl-Phe-Ala amid (inhibitor matrix metaloproteázy); N-acetyl-Leu-Leu-methioninal (inhibitor calpainu); N-acetyl-Leu-Leu-norleucinal (inhibitor calpainu); p-aminobenzoyl-Gly-Pro-D-Leu-D-Ala hydroxamová kyselina (inhibitor matrix metaloproteázy); 2(R)-

(N-(4-methoxyfenylsulfonyl)-N-(3-pyridylmethyl)amino)-3-methyl-butano-hydroxamová kyselina (inhibitor metaloproteázy); L-1-chlor-3-(4-tosylamido)-7-amino-2-heptanon-HCl (TLCK), L-1-chlor-3-(4-tosylamido)-4-fenyl-2-butanon (TPCK), tranexamová kyselina, glycerrhizinová kyselina, 18- β -glycerretinová kyselina a příslušné soli, stearyl-glycerretinát, koloidní ovesné extrakty, elhibin, soli zinku, jodacetát, fenylmethylsulfonylfluorid, fosforamidon, 4-(2-aminoethyl)-benzensulfonylfluorid HCl, 3,4-dichloroisokumarin, kvercetin apod. a jejich směsi.

Bylo zjištěno, že chelatující činidla jsou vhodná jako inhibitory proteáz i ureáz v koncentracích od 0,1 % do asi 2 %. Příklady chelatujících činidel jsou kyselina fytová, nitriltrioctová kyselina, EDTA, diethylen-triaminopentaoctová kyselina, hydroxyethyl-ethylen-diamintrioctová kyselina a jejich příslušné soli, popsané v patentu USA 5 091 93 podaným Enjolrasem 25. 2. 1992, jenž je zde zahrnut odkazem.

Pro použití v absorpčních prostředcích tohoto vynálezu dáváme přednost inhibitorům proteázy, která mají inhibiční účinek, který není omezen pouze na jednu třídu proteáz. Mezi takové sloučeniny patří, mimo jiné, hexamidin a jeho soli, pentamidin a jeho soli, benzamidin a jeho soli a deriváty, p-aminobenzamidin a jeho soli a deriváty a guanidinbenzoová kyselina a její soli a deriváty jako ty popsané v U.S. 5 376 655 podaném Imaki et al. 27. 12. 1994, jenž je zde zahrnut odkazem. Dalšími navrhovanými inhibitory proteáz jsou polymerové deriváty guanidinbenzoové kyseliny popsané v právě projednávané přihlášce vynálezu USA 09/041 196 (T. L. Underiner et al.), která byla podána současně s touto přihláškou.

Pro použití s tímto vynálezem dáváme přednost těmto inhibitorům proteáz: sójový inhibitor trypsinu, aprotinin, hexamidin (např. hexamidindiisothionát), p-aminobenzamidin, leupeptin, pepstatin A, chymostatin a polymerové deriváty kyseliny guanidinbenzoové (popsané v projednávané přihlášce vynálezu USA 09/041 196, která je zde zahrnuta odkazem). Nejvhodnějšími inhibitory proteázy jsou sójový inhibitor trypsinu, hexamidin, p-amino-benzamidin a předcházející polymerové deriváty guanidinbenzoové kyseliny.

Je známo, že ureázy jsou inhibovány za přítomnosti stopových množství iontů těžkých kovů, jako jsou např. stříbro, měď apod. Takže stopová množství (tak málo jako 0,001 % nebo méně) solí těchto kovů jsou dobrými inhibitory ureáz. Mezi další vhodné inhibitory ureáz patří, mimo jiné, acetylhydroxamová kyselina a její deriváty, jako např. cinamoylhydroxyamová kyselina a jiné alkylhydroxamové kyseliny, příslušné soli a deriváty; fosforamidát a jeho deriváty. Takové sloučeniny jsou kompetitivními inhibitory ureáz v koncentraci asi 2 mikromolární (μM). Bylo zjištěno, že chelatující činidla jsou dobrými inhibitory proteáz i ureáz v koncentraci od 0,1 % do asi 2 %. Příklady chelatujících činidel jsou kyselina fytová, nitriltriocetová kyselina, ethylendiamin-tetraoctová kyselina (EDTA), diethylentriaminopentaocetová kyselina, hydroxyethylethylendiamintriocetová kyselina a její příslušné soli, popsané v patentu USA 5 091 193, jenž je zde zahrnut odkazem. Další sloučeniny inhibující ureázy jsou popsány v patentu USA 3 952 862 (Kraskin), jenž je zde zahrnut odkazem a obsahuje aminokyselinové sloučeniny, jako např. hydroxyalkylaminokyseliny, sulfhydrylaminokyseliny, aminosulfonové kyseliny, sloučeniny

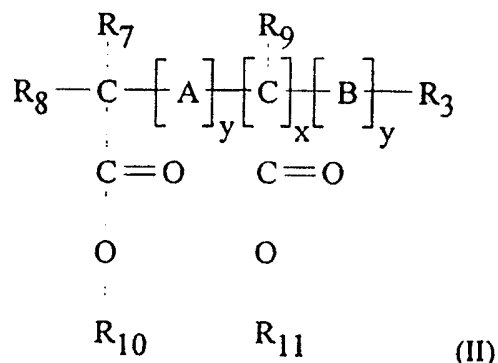
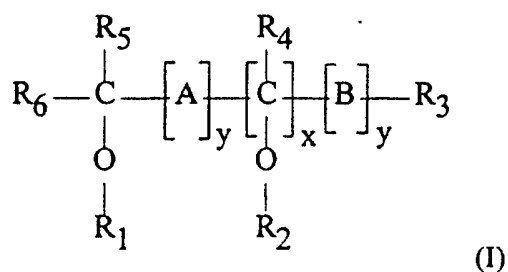
aminofosfonové kyseliny etherové aminokyseliny, jako např. methoxyethyliminodioctová kyselina, ethylen-bis-(oxypropylaminodioctová kyselina), ethylen-bis-(oxyethyliminodioctová kyselina), aminomethylfosfonová kyselina (N,N-dioctová kyselina) apod. a sloučeniny aminopolykarboxylové kyseliny, včetně kyselin a solí diethylentriaminopentaoctové kyseliny (DTPA), N-hydroxyethylendi-aminotrioctová kyselina (HEDTA) apod.

Další vhodné inhibitory ureáz jsou popsány v patentu USA 5 409 903 podaným Polak et al. 25. 4. 1995, jenž je zde zahrnut odkazem. Tento patent popisuje inhibitory ureáz jako jsou dvojvazný fosfát hořečnatý, dialdehydové polysacharidy a zeolit, použité samostatně, ve vzájemné kombinaci nebo se sloučeninami vápníku, octanu vápenatého, chloridu vápenatého, glukonátu vápenatého a kalcium laktátu nebo podobně se sloučeninami hořčíku, chloridu hořečnatého a citrátu hořečnatého.

Vhodnými inhibitory lipáz jsou, mimo jiné, ve vodě rozpustné soli kovů, jako např. kadmia, kobaltu, mědi, železa, molybdenu, stříbra, lantanu, cínu a zinku. Příklady sloučenin inhibujících lipázy jsou popsány v patentu USA 4 556 560, zde jsou zahrnuty odkazem, a zahrnují chlorid zinečnatý, octan zinečnatý, zinečnatý nitrát trihydrát, zinečnatý nitrát hexahydrát, chlorid železnatý, chlorid železnatý tetrahydrát, chlorid železitý, chlorid železitý monohydrát, chlorid železitý hexahydrát, laktát železnatý, laktát železitý, malát železitý, nitrát železnatý, nitrát železitý hexahydrát, nitrát železitý $9\text{H}_2\text{O}$, sulfát železnatý a jeho hydráty, sulfát železitý a jeho hydráty, sulfát měďnatý pentahydrát, chlorid cínu, chlorid kobaltu a chlorid lantanu, zinečnaté soli nasycených i nenasycených monokarbo-

xylových kyselin o 6 až 12 uhlících, blok kopolymerů propylenoxidu a ethylenoxidu (např. na trhu pod názvem Pluronic® a Tetronic® firmy BASF Corp.), glycerolové triestery mastných kyselin o 2 až 20 uhlících, jako např. triacetin apod. Další vhodné inhibitory lipáz jsou popsány v U.S. 5 091 193, zde jsou zahrnuty odkazem a patří mezi ně estery mastných alkoholů, jako např. nasycený nebo nenasycený, lineární nebo rozvětvený alkyl acetát, laktát nebo propionát o 10 až 20 uhlících, nasycené nebo nenasycené, lineární nebo rozvětvené zinečnaté soli mastných kyselin o 2 až 22 uhlících, jako ty vytvořené s propionovou kyselinou, kyselinou izomáselnou, kyselinou kapronovou, kyselinou undecylenovou apod., zinečnaté soli aminoacylovaných kyselin, jako např. propionylcystein, propionylhydroxyprolin nebo kaproylcystein apod. Bylo zjištěno, že vhodné koncentrace těchto inhibitorů lipáz jsou od 0,01 % do asi 10 %.

Dalšími vhodnými inhibitory lipáz, popsanými v naší patentové přihlášce EP97/120 699 (G. Palumbo et al.), jsou specifické estery, které působí jako náhradní substrát pro lipázy stolice a díky tomu patří mezi kompetitivní inhibitory lipáz. Vzorci těchto esterů jsou:



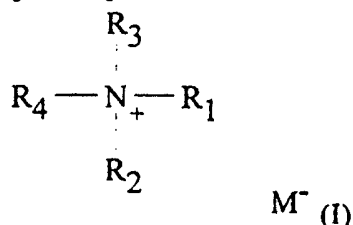
kde R_1 a jednotlivá R_2 jsou nezávisle acylovými skupinami o 2 až 22 uhlících nebo alkylové, alkenylové, arylalkylové, hydroxyalkylové

skupiny o 1 až 24 atomech uhlíku nebo vodíku, čímž je aspoň jedno R_1 nebo R_2 takovou acylovou skupinou, R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 a R_9 jsou buď alkylové, alkenylové, arylalkylové, hydroxyalkylové, alkoxylové skupiny o 1 až 24 uhlících, hydroxy skupiny nebo atom vodíku; R_{10} a R_{11} jsou buď alkylové, alkenylové, arylalkylové, hydroxyalkylové, alkoxylové skupiny o 2 až 24 uhlících, hydroxy skupiny nebo vodík; A a B mohou být C1 - C6 lineární nebo rozvětvené alkylenové, alkenylenové, alkoxylenové, hydroxyalkylenové skupiny; hodnoty x se pohybují od 0 do 15; hodnoty y jsou buď 0 nebo 1, s podmínkou, že když je $x=2$ a $y=0$, nejméně jedno R_2 je alkylová, alkenylová, arylalkylová, hydroxyalkylová skupina o 1 až 24 uhlících nebo atom vodíku.

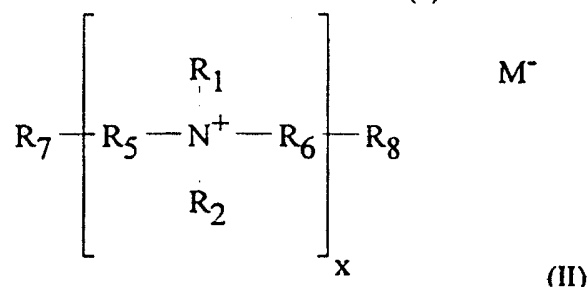
Další příklady inhibitorů lipázy jsou popsány v patentu USA 5 643 873, jenž je zde zahrnut odkazem, a náleží k nim: (2S,3S,5S)-5-((S)-2-formamido-4-methyl-valeryloxy)-2-hexyl-3-hydroxy-hexadekanový 1,3 acid lakton, známý také jako tetrahydrolipstatin; (2S,3S,5S,7Z,10Z)-5-((S)-2-formamido-4-methyl-valeryloxy)-2-hexyl-3-hydroxy-7,10-hexadekadienový 1,3 acid lakton, známý také jako lipstatin; 1-(trans-4-isobutylcyklohexyl)-2-(fenylsulfonyloxy)ethanon, známý také jako FL-386; 4-fenoxyfenylester 4-methylpiperidin-1-karboxylové kyseliny, známý také jako WAY-121898; N-(3-chloro-4-(trifluoromethyl)fenyl)-N'-(3-(trifluoromethyl)-fenyl)urea, také známá jako BAY-N-3176; N-formyl-L-valin-(S)-1-(((2S,3S)-3-hexyl-4-oxo-2-oxetanyl)methyl)hexyl ester, také známý jako valillakton; (2S,3S,5S,7Z,10Z)-5-((S)-2-acetamido-3-karbamoylpropionyloxy)-2-hexyl-3-hydroxy-7,10-hexadekadienový lakton, také známý jako esterastin; (3S,4S)-4-((1S,5R,7S,8R,9R,E)-8-hydroxy-1,3,5,7,9-pentamethyl-6-oxo-3-undecenyl)-3-methyl-2-

oxetanon, také známý jako ebelakton A; (3S,4S)-3-ethyl-4-((1S,5R,7S,8R,9R,E)-8-hydroxy-1,3,5,7,9-pentamethyl-6-oxo-3-undecenyl)-2-oxetanon, také známý jako ebelakton B; a 1,6-di(O-(karbamoyl)cyklohexanon oxim)hexan, také známý jako RHC 80267.

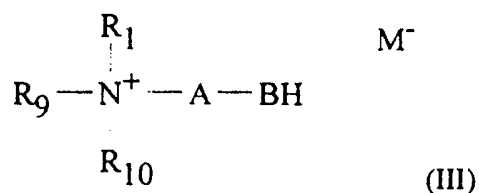
Příklady inhibitorů žlučových solí, které jsou koenzymy lipolytických enzymů a jsou vhodnými inhibitory lipáz v uvedeném absorpčním prostředí zahrnují, mimo jiné, kationtové sloučeniny popsané v patentové přihlášce EP 97/120,700 podané 26. 11. 1997 na jméno G. Palumbo et al., jenž je zde zahrnuta odkazem. Vzorce těchto sloučenin jsou:



nebo



nebo amfoterická sloučenina nejlépe kyselého původu, která má ve svém izoelektrickém bodě vzorec:



pro přípravu složky pro léčbu, prevenci nebo potlačení lipolytické dermatitidy, kde R₁, R₂, R₃ a R₄ jsou nezávisle C₁-C₂₂ alkylové, alkenylové, arylové, arylalkylové, amidoalkylové, (poly)alkoxylové, hydroxyalkylové nebo acylové skupiny nebo dvě nebo více skupin R₁, R₂, R₃ a R₄ vytváří společně jednu nebo více kruhových struktur;

R_5 , R_6 a A jsou nezávisle C1-C22 alkylenové, alkenylenové, (poly)alkoxylenové, hydroxyalkylenové, arylalkylenové nebo amidoalkylenové skupiny; R_7 a R_8 jsou nezávisle C1-C4 alkylové, alkenylové, alkoxylové skupiny nebo hydroxylové skupiny nebo atom vodíku; R_9 a R_{10} jsou nezávisle C1-C22 alkylové, alkenylové, arylové, arylalkylové, amidoalkylové, (poly)alkoxylové, hydroxyalkylové nebo acylové skupiny nebo dvě nebo více skupin R_1 , R_9 a R_{10} vytváří společně jednu nebo více kruhových struktur; BH skupina je donorem protonu; x je od 2 do 4; a M^+ je opačný iont.

Dalším příkladem vhodného inhibitoru žlučové soli je cholestyramin, popsáný v práci C. Michael White et al., nazvané „Cholestyramine Ointment to Treat Buttocks Rash and Anal Excoriation in an Infant“, The Annals of Pharmacotherapy 30:954-956, Sept. 1996.

Deriváty kyseliny p-guanidinbenzoové, především její estery, byly popsány jako inhibitory esteráz. Takové inhibitory jsou vhodné pro dermatologickou složku absorpčního prostředku tohoto vynálezu a jsou popsány v patentu USA 5 376 655 podaném Imaki et al. 27. 12. 1994, jenž je zde zahrnut odkazem.

Mezi vhodné inhibitory amyláz a/nebo inhibitory glukosidázových amyláz patří ty popsané v patentu USA 5 643 874, jenž je zde zahrnut odkazem, a zahrnují O-4,6-dideoxy-4-(((1S-(1 α ,4 α ,5 β ,6 α))-4,5,6-trihydroxy-3-(hydroxymethyl)-2-cyklohexen-1-yl)amino)- α -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)O- α -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glukosa, také známá jako akarbosa; 2(S),3(R),4(S),5(S)-tetrahydroxy-N-(2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-ethyl)-5-(hydroxy-

methylo-1(S)-cyklo-hexamin, známý jako vogliboza; 1,5-dideoxy-1,5-((2-hydro-xyethyl)imino)-D-glucitol, také známý jako miglitol; 1,5-dideoxy-1,5-(2-(4-ethoxykarbonylfenoxy)-ethylimino)-D-glucitol, známý jako emiglitát; 2,6-dideoxy-2,6-imino-7-(β -D-glukopyranosyl)-D-glycero-L-guloheptitol, také známý jako MDL-25637; 1,5-dideoxy-1,5-(6-deoxy-1-O-methyl- α -D-glukopyranosyl-6-imino)-D-glucitol, také známý jako kamiglibosa; 1,5,9,11,14-pentahydroxy-3-methyl-8,13-dioxo-5,6,8,13-tetrahydrobenzofenon-2-karboxylová kyselina, známá jako pradimicin Q; nebo také jako adiposin; a 1,2-dideoxy-2-(2(S),3(S),4(R)-trihydroxy-5-hydroxy-methyl-5-cyklohexen-1(S)-amino)-L-glukopyranoza, známá jako salbostatin. Mezi další vhodné inhibitory amylázy patří tendamistat, trestatiny a látky získané z rostlin, především z pšenice, rýže, kukuřice, ječmene a jiných obilných zrn, fazolí a mořských řas.

III. Absorpční prostředky

Výraz „absorpční prostředek“ je zde použit pro výrobek, který absorbuje a zadržuje tělní výměšky. Výraz „pro jedno použití“ je zde použit při popisu absorpčního prostředku, u kterého se nezvažuje jeho přepírání nebo jiné uvádění do původního stavu nebo jeho opakované použití. Příklady absorpčních prostředků pro jednu použití jsou dámské hygienické potřeby, jako např. zdravotnické utěrky, menstruační vložky a tampony, plenky, podložky a polštářky pro inkontinenci, cvičební kalhotky apod.

Typický absorpční prostředek na jedno použití se skládá z vrchní pro kapalinu propustné vrstvy, ze spodní nepropustné vrstvy a absorpčního jádra umístěného mezi vrchní a spodní vrstvou. Absorpční prostředky pro jedno použití a jejich součásti, včetně

vrchní vrstvy, spodní vrstvy, absorpčního jádra a kterékoliv jednotlivé vrstvy těchto částí, mají povrch, který přiléhá na tělo a povrch, který přiléhá na oděv. Zde použitý výraz „povrch přiléhající k tělu“ znamená, že tento povrch prostředku nebo jeho část má být nošena směrem k tělu uživatele, zatímco „povrch přiléhající k oděvu“ je na protilehlé straně a měl by být nošen směrem k oděvu.

Následující část popisuje obecně materiály pro absorpční jádro, vrchní vrstvu a spodní vrstvu, které jsou vhodné pro absorpční prostředky na jedno použití. Tento obecný popis se vztahuje na části specifického absorpčního prostředku zobrazeného na obrázku 1 a popsaného níže, vedle dalších absorpčních prostředků, které jsou zde obecně popsány.

Absorpční jádro je obvykle schopné absorbovat nebo udržovat tekutiny (např. krev, moč a/nebo jiné tělní výměšky). Absorpční jádro je zpravidla stlačitelné, tvarovatelné a nedráždí kůži uživatele. Absorpční jádro může být vyráběno v řadě velikostí a tvarů (např. obdélníkový, oválný, tvar přesýpacích hodin, tvar „T“, tvar psí kosti, asymetrický atd.). Navíc může absorpční jádro, mimo absorpční složky, obsahovat také některý z široké řady materiálů absorbujících tekutiny, jako např. buničinu. Příklady dalších vhodných absorpčních materiálů používaných pro absorpční jádro jsou celulózová vata; směsné polymery jako koform; chemicky zpevněná, upravená nebo křížem provázaná celulózová vlákna; syntetická vlákna, jako např. zvlněná vlákna polyesteru, rašelina, vrstvený papír, absorpční pěny, absorpční houbovitě materiály, superabsorpční polymery včetně kompozitů, absorpční gelové

materiály nebo nějaký podobný materiál, kombinace materiálů nebo jejich směsi.

Uspořádání a konstrukce absorpčního jádra mohou být různé (např. absorpční jádro může mít různé obkročné zóny a/nebo profil, který je silnější ve středu; hydrofilní gradienty; gradienty absorpčních složek; superabsorpční gradienty nebo oblasti s nižší průměrnou hustotou nebo nižší průměrnou hmotností základny, např. příjmové oblasti nebo může být složeno z jedné nebo více vrstev nebo struktur). Celková absorpční kapacita absorpčního jádra by však měla odpovídat navrhovanému zatížení a předpokládanému použití absorpčního prostředku. Dále musí být velikost a absorpční kapacita absorpčního jádra přiměřená pro různá použití, jako jsou plenky, inkontinenční polštářky, menstruační vložky, zdravotnické pleny a musí být přizpůsobena řadě uživatelů od dětí až k dospělým. Absorpční jádro může také obsahovat další absorpční složky, které jsou často používány v absorpčních prostředcích, např. zásypová vrstva, savá vrstva pro udržení moči nebo další vrchní vrstvu pro zvýšení komfortu uživatele.

Vrchní vrstva je obvykle poddajná, měkká a nedráždí kůži uživatele. Dále je vrchní vrstva propustná pro kapaliny, umožňuje kapalinám (např. krev a/nebo moč) jí snadno prostupovat. Vhodná vrchní vrstva může být vyrobena z řady materiálů, např. vlněných a nevlněných materiálů (např. netkaná síť vláken), včetně nevlněných materiálů s otvory; polymerů, jako např. porézního termoplastického filmu, porézního plastického filmu a hydroformních termoplastických filmů; porézní pěny; síťované pěny; síťovaných termoplastických filmů a termoplastických skrimů. Vhodnými

vlněnými a nevlněnými materiály jsou přírodní vlákna (např. vlákna ze dřeva nebo bavlny), syntetická vlákna (např. polymerová vlákna, jako např. polyesterová, polypropylenová nebo polyethylenová vlákna) nebo materiály vytvořené kombinací přírodních a syntetických vláken. Pokud je vrchní vrstva z nevlněného materiálu, tak může být materiál zpracován řadou známých technik. Sít' může být vyrobena například spřádáním, mykáním, vyfoukáním za tepla, vlhkým spletením, tvarováním za vlhka, kombinací výše zmíněného nebo podobně. Vrchní vrstva by měla obsahovat dermatologickou složku s inhibítorem enzymů, bez ohledu na to, zda je vyrobena z vlněného nebo nevlněného materiálu, viz. níže.

Spodní vrstva je pro kapaliny nepropustná (např. krev a/nebo moč) a zpravidla obsahuje tenkou plastovou vrstvu, ačkoliv mohou být použity i jiné nepropustné flexibilní materiály. Výraz „flexibilní“ je použit pro materiály, které jsou poddajné a snadno mění tvar podle tvaru a křivek lidského těla. Spodní vrstva brání výměškům absorbovaným a zadržovaným v absorpčním jádru v namočení věcí, které jsou v kontaktu s absorpčním prostředkem, jako např. prostěradlo, spodky, pyžamo a spodní oblečení. Spodní vrstva může tedy obsahovat vlněný či nevlněný materiál, polymerový povlak, jako např. termoplastickou vrstvu polyethylenu nebo polypropylenu nebo kompozitní materiály, jako např. potažený nevlněný materiál. Vhodnou spodní vrstvou je polyethylenový film o tloušťce od 0,012 mm do asi 0,051 mm. Vhodné polyethylenové filmy jsou vyráběny firmou Clopay Corporation of Cincinnati, Ohio, pod označením P18-1401 a Tredegar Film Products of Terre Haute, Indiana, pod označením XP-39385. Spodní vrstva je zpravidla vypouklá a/nebo matně opracována, aby měla vzhled textilu. Dále by

měla být spodní vrstva prostupná pro výpary z absorpčního jádra (tz. že spodní vrstva je prodyšná), přestože je nepropustná. Velikost spodní vrstvy je určena velikostí absorpčního jádra a jeho zvoleným tvarem.

Spodní vrstva a vrchní vrstva jsou umístěny, v daném pořadí, vedle povrchu absorpčního jádra přiloženého k oděvu a k tělu. Absorpční jádro je zpravidla spojeno s vrchní vrstvou, spodní vrstvou nebo s oběmi vrstvami některým z upínacích prvků (nezobrazeny na obrázku 1), které jsou běžně používány v oboru. Avšak provedení absorpčního prostředku mohou být patrná, pokud částí nebo celé absorpční jádro není připevněno buď k vrchní nebo spodní vrstvě nebo k oběma vrstvám.

Spodní vrstva a/nebo vrchní vrstva mohou být připevněny k absorpčnímu jádru nebo navzájem souvislou vrstvou lepidla, vzorkovou vrstvou lepidla nebo řadou jednotlivých linek, spirál nebo bodů lepidla. Vhodná lepidla jsou vyráběna H.B. Fuller Company v St. Paul v Minnesotě pod označením HL-1258 nebo H-2031. Spojovací prostředky nejlépe vytvoří síť vláken lepidla popsaná v patentu USA 4 573 986 podaném Minetolou et al. 4. 3. 1986, jenž je zde zahrnut odkazem. Příkladem způsobu spojení je síť vláken tvořená několika adhezivními čarami stočenými do spirály, který je popsán v patentu USA 3 911 173 podaným Sprague, Jr. 7. 10. 1975, patentu USA 4 785 996 podaným Zwieker et al. 22. 11. 1978 a patentu USA 4 482 666 podaným Werenicz 27. 6. 1989. Každý z těchto patentů je zde zahrnut odkazem. Jako spojovací prostředky mohou být použity také tepelné spoje, tlakové spoje, ultrazvukové

spoje, dynamické mechanické spoje nebo jiné vhodné spojovací prostředky nebo jejich kombinace známé v oboru.

Navrhovaným absorpčním prostředkem na jedno použití je plenka, jenž obsahuje aspoň v jedné části inhibitor enzymu a ještě lépe pokud její povrch dotýkající se uživatele je ošetřen dermatologickou složkou s obsahem inhibitoru enzymu. Zde použitý výraz "plenka" znamená absorpční prostředek, který je zpravidla používán dětmi a inkontinentními osobami a který se nosí kolem dolní části trupu. Jinými slovy výraz "plenka" zahrnuje dětské plenky, tréninkové kalhotky, inkontinenční prostředky pro dospělé apod.

Na obrázku 1 je náčrt plenky 50, která je zobrazena v roztaženém stavu (tj. není stažena elastickými částmi) a bez některých částí tak, aby byla dobře vidět její konstrukce a je otočena svým vnějším povrchem směrem k pozorovateli. Plenka 50 z obrázku 1 je obvykle složena z propustné vrchní vrstvy 520, nepropustné spodní vrstvy 530 spojené s vrchní vrstvou 520, absorpčního jádra 540, které má povrch přivrácený k oděvu 542, povrch přivrácený k tělu 544, boční okraj 546, pásové okraje 548 a ouška 549. Plenka 50 obvykle dále obsahuje elastické stehenní manžety 550 a různě tvarovanou elastickou pásovou část 560 a zpravidla různě tvarované upínací prostředky 570.

Plenka 50 znázorněná na obrázku 1 má vnější povrch 52, vnitřní povrch 54, který odpovídá povrchu přivrácenému k tělu, jenž je protilehlý vnějšímu povrchu 52, první pásovou oblast 56, druhou pásovou oblast 58 a obvod 51, který je určen vnějšími okraji plenky 50, kde jsou podélné okraje označeny 55 a koncové okraje 57. (V

oboru se obvykle používá dělení plenky na dvě pásové oblasti a oblast rozkroku, která je umístěna mezi nimi, ale v této aplikaci je pro zjednodušení použito pouze dělení plenky 50 na pásové oblasti obsahující původní oblast rozkroku). Povrch přivrácený k tělu 54 plenky 50 je tou částí plenky 50, která přiléhá k tělu uživatele během nošení. Povrch přivrácený k tělu 54 je zpravidla tvořen aspoň částí vrchní vrstvy 520 a dalšími částmi, které mohou být připojeny k vrchní vrstvě 520, jako např. stehenní manžety 550, stejně tak jako oblastmi, které nepatří k vrchní vrstvě, ale které se dotýkají uživatele, jako např. pásová část 560, boční části apod. Vnější povrch 52 zahrnuje část plenky 50, která je odvrácená od těla uživatele (tj. vnější povrch 52 je zpravidla tvořen aspoň částí spodní vrstvy 530 a dalšími částmi, které k ní mohou být připojeny). První pásová oblast 56 a druhá pásová oblast 58 se rozprostírají mezi koncovými okraji 57 obvodu 51 a příčnou středovou čarou 53 plenky 50. Na obrázku 1 je také znázorněna podélná středová čára 59.

Obrázek 1 představuje navrhované provedení plenky 50 v kterém mají vrchní vrstva 520 a spodní vrstva 530 délku a šířku větší než jsou rozměry absorpčního jádra 540. Elastické stehenní manžety 550 a spodní vrstva 530 přesahují okraje absorpčního jádra 540, čímž vytváří obvod 51 plenky 50.

Plenky uvedeného vynálezu mohou být vyrobeny v řadě známých provedení, v kterých jsou absorpční jádra přizpůsobena navrhovanému vynálezu. Příklady provedení jsou obecně popsány v patentu USA 3 860 003 (Buell) podaném 14. 1. 1975, patentu USA 5 151 092 (Buell et al.) 29. 9. 1992 a patentu USA 5 221 274 (Buell et al.) 22. 1. 1993. Všechny tyto patenty jsou zde zahrnuty odkazem. Další

provedení plenky, kterému může být navrhovaný vynález snadno přizpůsoben, je popsáno v patentu USA 5 554 145 podaném Roe et al., jehož popis je zde zahrnut odkazem.

Vrchní vrstva 520, která je obzvláště vhodná pro použití v plence 50, je mykaná a tepelně spojená způsobem běžným v oboru. Přijatelná vrchní vrstva je složena z dlouhých polypropylenových vláken, které mají denier asi 2,2. Zde použitý výraz "dlouhá vlákna" představuje ta vlákna, která mají délku aspoň 15,9 mm. Hmotnost vrchní vrstvy by měla být od asi 14 do asi 25 gramů na metr čtvereční. Vhodná vrchní vrstva je vyráběna firmou Veratec, Inc., Division of International Paper Company, Mass. pod označením P-8.

Vrchní vrstva 520 plenky 50 se obvykle vyrábí z hydrofilní látky, která usnadní rychlý průchod tekutiny (např. moče) skrz vrchní vrstvu. Pokud je vrchní vrstva vyrobena z hydrofobní látky, musí být aspoň části vrchní vrstvy upraveny tak, aby byly hydrofilní a umožnily tekutinám rychlý průchod skrz vrchní vrstvu. To sníží pravděpodobnost, že tělní výměšky odtečou z vrchní vrstvy, místo toho, aby byly nasáty z vrchní vrstvy absorpčním jádrem. Vrchní vrstva se může stát hydrofilní po impregnaci surfaktantem. Mezi vhodné způsoby impregnace surfaktantem patří nastříkání surfaktantu na vrchní látku a ponoření látky do surfaktantu. Podrobnější popis takové úpravy a hydrofility je uveden v patentu USA 4 988 344 a 4 988 345, které byly oba podány Reising et al. 29. 1. 1991, jenž jsou zde zahrnuty odkazem.

Vrchní vrstva může být také ve formě filmu s otvory, které se dává přednost v dámských hygienických absorpčních prostředcích.

Filmy s otvory jsou vhodné, protože jsou propustné pro tělní tekutiny, ale nesají a mají menší tendenci k zpětnému toku tekutiny s následným namočením kůže. To znamená, že povrch filmu, který se dotýká těla zůstává suchý, čímž snižuje znečištění těla a vytváří lepší pocit uživatele. Vhodné filmy jsou popsány v patentu USA 3 929 135 (Thompson) podaném 30. 12. 1975, patentu USA 4 324 246 (Mullane et al.) podaném 13. 4. 1982, patentu USA 4 342 314 (Radel et al.) 3. 8. 1982, patentu USA 4 463 045 (Ahr et al.) podaném 31. 7. 1984 a patentu USA 5 006 394 (Baird) podaném 9. 4. 1991. Každý z těchto patentů je zde zahrnut odkazem. Doporučené filmy s mikrootvory pro vrchní vrstvy jsou popsány v patentu USA 4 609 518 (Curro et al.) podaném 2. 9. 1986 a patentu USA 4 629 643 (Curro et al.) podaném 16. 12. 1986, jenž jsou zde zahrnuty odkazem. Navrhovaná vrchní vrstva pro použití v dámských hygienických prostředcích je film popsáný v jednom nebo ve více výše zmíněných patentech a uváděný na trh The Procter & Gamble Company of Cincinnati, Ohio pod označením "DRI-WEAWE®".

Povrch filmu přiléhající k tělu může být hydrofilní, což umožní tělním tekutinám prostupovat skrz vrchní vrstvu rychleji, než kdyby hydrofilní nebyl, čímž se snižuje pravděpodobnost, že tekutina odteče z vrchní vrstvy místo toho, aby byla absorbována. V navrhovaném provedení je surfaktant začleněn do polymerní látky filmu vrchní vrstvy tak, jak je popsáno v U.S. Statutory Invention Registration No. H1670 (Aziz et al.) vydaném 1. 7. 1997, jenž je zde zahrnuta odkazem. V dalších provedeních (nezobrazeny) navrhovaného vynálezu může být absorpční prostředek vybaven doplňky zlepšujícími kontakt mezi vrchní vrstvou a kůží uživatele. V

jednom provedení je absorpční prostředek vybaven elastickými částmi, jenž je popsáno v patentu USA 4 892 536 (DesMarais et al.) 9. 1. 1990, v patentu USA 4 990 147 (Freeland) 5. 2. 1991 a patentu USA 07 993 198 (Freeland et al.) 18. 12. 1992, které zdvihají vrchní vrstvu, čímž zlepšují kontakt s perianální oblastí uživatele. V jiném provedení, které je popsáno v patentu USA 5 171 236 (Drier et al.) podaném 15. 12. 1992, je plenka opatřena řadou spojů, který zdvihají vrchní vrstvu. V ještě jiném provedení, které je popsáno v U.S. Statutory Invention Registration H1687, podané na jméno Roe et al 7. 10. 1997, je absorpční prostředek opatřen hýžďovou ochrannou částí, která vyzdvihuje vrchní vrstvu do hýžďové rýhy uživatele.

V navrhovaném provedení plenky, které je zde popsáno, má spodní vrstva 530 tvar přesýpacích hodin a přesahuje absorpční jádro nejméně o 1,3 cm až 6,4 cm po celém obvodu plenky.

Absorpční jádro 540 může mít jakoukoliv velikost nebo tvar, který je slučitelný s plenkou 50. Jedno navrhované provedení plenky 50 má asymetrické absorpční jádro 540 tvaru T s oušky v první pásové oblasti, ale zpravidla pravoúhlý tvar v druhé pásové oblasti. Příklady absorpčních látek, které se dají použít pro vytvoření absorpčních jader prostředků jsou popsány např. v patentu USA 4 610 678 (Weisman et al.) podaném 9. 9. 1986, patentu USA 4 673 402 (Weisman et al.) podaném 16. 6. 1987, patentu USA 4 888 231 (Angstadt) 19. 12. 1989 a patentu USA 4 834 735 (Alemany et al.) podaný 30. 5. 1989. Absorpční jádro může dále obsahovat systém dvojího absorpčního jádra složený z absorpčního/distribučního jádra z chemicky ztužených vláken, které je umístěno nad absorpční

retenční jádro, tento systém je podrobněji popsán v patentu USA 5 234 423 (Alemany et al.) podaném 10. 8. 1993 a patentu USA 5 147 345 (Young, LaVon a Taylor) podaném 15. 9. 1992. Všechny tyto patenty jsou zde zahrnuty odkazem.

V navrhovaném provedení obsahuje plenka 50 dále elastické stehenní manžety 550 pro zajištění lepšího držení tekutin a tělních výměšků, elastickou pásovou část 560 zaručující lepší přilnutí a držení a upínací prostředky 570, které vytváří boční spojení, které udržuje první pásovou oblast 56 a druhou pásovou oblast 58 tak, aby se překrývaly, čímž vzniká po obvodu plenky boční tah, který udržuje plenku na uživateli. Plenka 50 může také obsahovat, v pásové oblasti 56 a 58, elastické pásové pruhy (nezobrazeny) a/nebo elastické boční úseky (také nezobrazeny), které zajistí větší komfort a přilnutí a také účinnější použití plenky 50.

Elastické stehenní manžety 550 mohou mít řadu různých provedení, včetně těch popsanych v patentu USA 3 860 003, patentu USA 4 909 803 (Aziz et al.) podaný 20. 3. 1990, patentu USA 4 695 278 (Lawson) podaný 22. 9. 1987 a patentu USA 4 795 454 (Dragoo) podaný 3. 1. 1989, jejichž popisy jsou zde zahrnuty odkazem. Absorpční prostředky, které mají elastické manžety ošetřené složkou, která by zde mohla být užitečná, jsou popsány v přihláškách vynálezů USA 08/766 386 a 08/840 039 postoupené 3. 12. 1996 a 24. 4. 1997, jenž jsou zde zahrnuty odkazem.

Elastický pásový prvek je složený z elastického pásového pruhu (nezobrazen), který může být vytvořen v řadě rozdílných provedení, včetně těch popsanych v patentu USA 4 515 595 (Kievit et al.)

podaném 7. 5. 1985, patentu USA 5 026 364 (Robertson) podaném 25. 6. 1991 a výše zmíněném patentu USA 5 151 092 (Buell et al.) podaném 29. 9. 1992, jejichž popisy jsou zde zahrnuty odkazem.

Elastické boční úseky mohou být vytvořeny v řadě různých provedení. Příklady plenek s elastickými bočními úseky umístěnými do oušek plenky jsou uvedeny v patentu USA 4 857 067 (Wood et al.) podaném 15. 8. 1989, patentu USA 4 383 781 (Sciaraffa et al.) podaném 3. 3. 1983, patentu USA 4 938 753 (Van Gompel et al.) podaném 3. 7. 1990 a patentu USA 5 151 092 (Buell et al.) podaném 29. 9. 1992, jenž jsou zde zahrnuty odkazem.

Příklady upínacích prostředků 570 jsou popsány v patentu USA 4 846 815 (Scripps) 11. 7. 1989, patentu USA 4 894 060 (Nestegard) podaném 16. 1. 1990, patentu USA 4 946 527 (Battrell) podaném 7. 8. 1990, patentu USA 3 848 594 (Buell) podaném 19. 11. 1974, patentu USA 4 662 875 (Hirotzu et al.) podaném 5. 5. 1987 a patentu USA 5 151 092 (Buell et al.) podaném 29. 9. 1992, jejich popisy jsou zde zahrnuty odkazem.

Plenka 50 se zpravidla aplikuje tak, že se jedna z pásových oblastí plenky, nejlépe druhá pásová oblast 58, přiloží na záda uživatele a zbytek plenky se protáhne mezi nohama uživatele tak, že se druhá pásová oblast, nejlépe pásová oblast 56, přiloží vpředu. Potom jsou použity upínací prostředky k zajištění plenky po bocích.

Je samozřejmé, že pro využití enzymového inhibitoru a/nebo přenosového systému pro přesun inhibitoru na kůži uživatele během

nošení prostředku může být použit jakýkoliv typ absorpčního prostředku. Výše uvedený popis má tedy pouze ilustrační účel.

Navrhovaný vynález může také využívat tréninkové kalhotky jako absorpční prostředek obsahující inhibitor enzymu. Zde použitý výraz "tréninkové kalhotky" se vztahuje na oděv na jedno použití, který má pevné strany a otvory pro nohy a je přizpůsobený pro děti nebo dospělé. Tréninkové kalhotky se oblékají tak, že uživatel prostrčí nohy do otvorů pro nohy a kalhotky se natáhnou k dolní části trupu uživatele. Vhodné tréninkové kalhotky jsou popsány v patentu USA 5 246 433 (Hasse et al.) podaném 21. 9. 1993, patentu USA 5 569 234 (Buell et al.) podaném 29. 10. 1996, patentu USA 4 940 464 (Van Gompel et al.) podaném 10. 7. 1990 a patentu USA 5 092 861 (Nomura et al.) podaném 3. 3. 1992, jejichž popisy jsou zde zahrnuty odkazem.

Dalšími absorpčními prostředky na jedno použití, které je možno použít v navrhovaném vynálezu, jsou inkontinenční prostředky. Výraz "inkontinenční prostředek" je použit pro podložky, spodní prádlo, vložky pro absorpční prostředky, postelové vložky a podobně, nezávisle na tom, zda jsou používány dospělými nebo jinými inkontinentními osobami. Vhodné prostředky pro inkontinenci jsou popsány v U.S. 4 253 461 (Strickland et al.) podaném 3. 3. 1981, U.S. 4 597 760 a 4 597 761 (Buell), výše zmíněný U.S. 4 704 115, U.S. 4 909 802 (Ahr et al.), U.S. 4 964 860 (Gipson et al.) podaný 23. 10. 1990 a v U.S. 5 304 161 (Noel et al.) podaném 19. 4. 1994. Popisy těchto patentů jsou zde zahrnuty odkazem.

Dalšími absorpčními prostředky na jedno použití, které je možno použít v navrhovaném vynálezu, jsou dámské hygienické prostředky, jako např. menstruační vložka. Vhodné dámské hygienické prostředky jsou popsány v patentu USA 4 556 146 (Swanson et al.) podaném 3. 12. 1985, patentu USA 4 589 876 (Van Tilberg) podaném 27. 4. 1993, patentu USA 4 687 478 (Van Tilburg) podaném 18. 8. 1997, patentu USA 4 950 264 (Osborn) podaném 21. 8. 1990, patentu USA 5 009 653 (Osborn) podaném 23. 4. 1991, patentu USA 5 267 992 (Van Tilburg) podaném 7. 12. 1993, patentu USA 5 389 094 (Lavash et al.) podaném 14. 2. 1995, v patentu USA 5 413 568 (Roach et al.) podaném 9. 5. 1995, patentu USA 5 460 623 (Emenaker et al.) podaném 24. 10. 1995, patentu USA 5 489 283 (Van Tilburg) podaném 6. 2. 1996, patentu USA 5 569 231 (Emenaker et al.) podaném 29. 10. 1996 a patentu USA 5 620 430 (Bamber) podaném 15. 4. 1997. Popisy těchto patentů jsou zde zahrnuty odkazem.

IV. Testování inhibice enzymu

Standardní testy enzymové aktivity *in vitro* a inhibice enzymové aktivity jsou dobře známy. Činidla k provádění těchto testů jsou běžně komerčně dostupná. Obecně je jednoduchý systém složený ze substrátu specifického pro enzym, který po hydrolýze enzymem vytváří barevný produkt. Aktivita enzymu se měří spektrofotometricky jako stupeň vývoje barevného produktu (tj. úroveň barevné změny) za určený časový úsek. Inhibice enzymové aktivity se projeví jako měřitelné snížení úrovně barevné změny za stejný časový úsek za přítomnosti inhibitoru. Následují příklady způsobů, které mohou být využity při určování inhibiční aktivity

inhibitorů enzymů u a) čištěných enzymů známých ze stolice a b) enzymové aktivity samotné stolice. Tyto způsoby však nejsou jediné, a proto mohou být k testování aktivity proti široké řadě enzymů ve stolici použity jiné způsoby, jiné substráty, jiné inhibitory a podobně.

Pro každý z následujících vzorových testů čištěných proteáz, testů proteáz ze stolice, testů čištěných lipáz, testů lipáz ze stolice, testů čištěných ureáz, testů ureáz ze stolice, testů čištěných amyláz a testů amyláz ze stolice, může být stanoveno IC_{50} pro každý testovaný inhibitor podle následující rovnice:

$IC_{50} = [I]/[(v/v_i)-1]$, kde $[I]$ je koncentrace testovaného inhibitoru, v je úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru a v_i je úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru.

v a v_i jsou měřeny jako změny absorbance (optická denzita, OD) v dané vlnové délce/čas (např. minuty).

A. Testování čištěných proteáz

1. Čištěný Trypsin

Pro testování účinnosti inhibitorů proteáz proti čištěnému trypsinu se vloží do mikrokvyety 0,05 ml předpokládaného inhibitoru a 0,125 ml 32 nM trypsinu (např. Sigma, St. Louis, MO, kat. číslo T6424) v trypsinovém pufru (50 mM TRIS, 20 mM $CaCl_2$, pH 8,2). Kyveta se nechá inkubovat při 25°C asi 10 minut. K této směsi se do kyvety přidá 0,025 ml substrátu (4 mM Cbz-arginin-p-nitroanilid, např. Sigma, St. Louis, MO, kat. číslo C4893) v

trypsinovém pufru, promíchá se a po 10 minutách se měří absorbance při 25°C v 405 nm. Úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru (v_i) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Stejný postup se opakuje bez přidání domnělého inhibitoru. Úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru (v) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Hodnoty v_i a v a koncentrace inhibitoru jsou použity pro vypočítání IC_{50} podle výše uvedené rovnice.

2. Čištěný chymotrypsin

Pro testování účinnosti inhibitorů proteáz proti čištěnému chymotrypsinu se vloží do mikrokvyety 0,05 ml předpokládaného inhibitoru a 0,125 ml 16 nM chymotrypsinu (např. Sigma, St. Louis, MO, kat. číslo C8946) v chymotrypsinovém pufru (50 mM TRIS, 10 mM $CaCl_2$, pH 7,6). Kyveta se nechá inkubovat při 25°C asi 10 minut. K této směsi se do kyvety přidá 0,025 ml substrátu (0,6 mM N-sukc-ala-ala-pro-phe-p-nitroanilid, např. Sigma, kat. číslo S7388) v chymotrypsinovém pufru, promíchá se a po 10 minutách se měří absorbance při 25°C v 405 nm. Úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru (v_i) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Stejný postup se opakuje bez přidání domnělého inhibitoru. Úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru (v) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Hodnoty v_i a v a koncentrace inhibitoru jsou použity pro vypočítání IC_{50} podle výše uvedené rovnice.

3. Čištěná leucinová aminopeptidáza

Pro testování účinnosti inhibitorů proteáz proti čištěné leucinové aminopeptidáze (LAP) se vloží do mikrokvyety 0,05 ml předpokládaného inhibitoru a 0,125 ml 0,06 U/ml LAP (např. Sigma, St. Louis, MO, kat. číslo L5006) v LAP pufru (50 mM fosfát sodný, pH 7,2). Kyveta se nechá inkubovat při 25°C asi 10 minut. K této směsi se do kyvety přidá 0,025 ml substrátu (2,4 mM L-leucin-p-nitroanilin, např. Sigma, St. Louis, MO, kat. číslo L9125) v LAP pufru, promíchá se a po 10 minutách se měří absorbance při 25°C v 405 nm. Úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru (v_i) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Stejný postup se opakuje bez přidání domnělého inhibitoru. Úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru (v) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Hodnoty v_i a v a koncentrace inhibitoru jsou použity pro vypočítání IC_{50} podle výše uvedené rovnice.

B. Testování specifických proteáz ze stolice

Následuje obecný popis způsobu získání vzorku stolice, který je vhodný pro použití při testování proteáz stolice. Avšak každý kdo má zkušenosti v oboru, bude schopný získat příslušné vzorky stolice pro použití v jakémkoliv z testů specifických proteáz (tj. lipáza, ureáza a amyláza) ze stolice.

Pro účely vytvoření pozitivních kontrol, které zajistí, že soubor vzorků stolice vykazuje enzymatickou aktivitu požadovanou pro zhodnocení aktivity inhibitorů proteáz, se provede následující postup pro každý z testů proteáz stolice. Shromážděná dětská stolice (nejméně pět různých vzorků) je odebrána tak, aby byla bez příměsi moče a kontaminace a je smíchána s vodou v hmotnostním poměru

(w/w) např. 1:50. Tato směs je potom řádně promíchána tak, aby bylo možné homogenizací nebo sonikací získat homogenní suspenzi. Suspenze stolice je použita jako zdroj proteázové aktivity tak, jak je to popsáno níže, a bude mít úroveň přeměny substrátu za nepřítomnosti inhibitoru v rozmezí od 0,005 OD₄₀₅ za minutu do 0,020 OD₄₀₅ za minutu. (Pro zajištění dokonalé linearity by neměla konečná absorbance překročit 1,5 OD₄₀₅ jednotek). Pokud je aktivita dětské stolice mimo toto rozmezí, potom není možné přesně určit hodnoty IC₅₀ u domnělých inhibitorů proteáz. Avšak rozmezí enzymové aktivity může být upraveno zvýšením nebo snížením dilučního faktoru u každého enzymu. Pokud to není možné, tak by měla být pro získání vzorků zvolena jiná skupina.

1. Aktivita trypsinu ve stolici

Pro testování účinnosti inhibitorů proteáz proti trypsinu ve stolici se vloží do kyvety inhibitor a trypsinový pufr (50 mM TRIS, 20 mM CaCl₂, pH 8,2) tak, aby konečný objem byl 0,8 ml. K této směsi se do kyvety přidá 0,1 ml substrátu (3 mM Cbz-arginin-p-nitroanilid). Kyveta se otáčením promíchá a inkubuje se při 25°C 5 minut. Do kyvety se přidá asi 0,1 ml suspenze ze stolice, vše se promíchá a za 5 minut se měří při 25°C absorbance v 405 nm minus absorbance při 490 nm. (Absorbance při 490 nm je opravný faktor pro absorbanci pozadí, která je způsobena částicemi stolice, tj. "interference"). Úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru (v_i) je sklon křivky rozdílů absorbance (tj. absorbance při 405 nm minus absorbance při 490 nm) vzhledem k času. Stejný postup se opakuje bez přidání domnělého inhibitoru. Úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru (v) je sklon křivky rozdílů absorbance

vzhledem k času. Hodnoty v_i a v a koncentrace inhibitoru $[I]$ jsou použity pro vypočítání IC_{50} podle výše uvedené rovnice.

2. Aktivita chymotrypsinu ve stolici

Pro testování účinnosti inhibitorů proteáz proti chymotrypsinu ve stolici se vloží do kyvety inhibitor a chymotrypsinový pufr (50 mM TRIS, 10 mM $CaCl_2$, pH 7,6) tak, aby konečný objem byl 0,92 ml. K této směsi se do kyvety přidá 0,04 ml substrátu (1,25 mM N-sukc-ala-ala-pro-phe-p-nitroanilid). Kyveta se otáčením promíchá a inkubuje se při 25°C 5 minut. Do kyvety se přidá asi 0,04 ml suspenze ze stolice, vše se promíchá a za 5 minut se měří při 25°C absorbance v 405 nm mínus absorbance při 490 nm. Úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru (v_i) je sklon křivky rozdílu absorbance (tj. absorbance při 405 nm mínus absorbance při 490 nm) vzhledem k času. Stejný postup se opakuje bez přidání domnělého inhibitoru. Úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru (v) je sklon křivky rozdílu absorbance vzhledem k času. Hodnoty v_i a v a koncentrace inhibitoru $[I]$ jsou použity pro vypočítání IC_{50} podle výše uvedené rovnice.

3. Aktivita LAP ve stolici

Pro testování účinnosti inhibitorů proteáz proti LAP ve stolici se vloží do kyvety inhibitor a LAP pufr (50 mM fosfát sodný, pH 7,2) tak, aby konečný objem byl 0,95 ml. K této směsi se do kyvety přidá 0,03 ml substrátu (6 mM L-leucin-p-nitroanilid). Kyveta se otáčením promíchá a inkubuje se při 25°C 5 minut. Do kyvety se přidá asi 0,02 ml suspenze stolice, vše se promíchá a za 5 minut se měří při

25°C absorbance v 405 nm mínus absorbance při 490 nm. Úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru (v_i) je sklon křivky rozdílu absorbance (tj. absorbance při 405 nm mínus absorbance při 490 nm) vzhledem k času. Stejný postup se opakuje bez přidání domnělého inhibitoru. Úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru (v) je sklon křivky rozdílu absorbance vzhledem k času. Hodnoty v_i a v a koncentrace inhibitoru $[I]$ jsou použity pro vypočítání IC_{50} podle výše uvedené rovnice.

Pomocí testů čištěných proteáz a proteáz ze stolice, které byly popsány výše, byla zjišťována inhibiční proteázová aktivita vybraných inhibitorů proteáz použitých v absorpčních prostředcích tohoto vynálezu a výsledky testování jsou zobrazeny v tabulce 1.

Tabuka 1

	IC ₅₀ (μM)					
	Čištěné proteázy			Specifické proteázy stolice		
	Trypsin	Chymotrypsin	LAP*	Trypsin	Chymotrypsin	LAP*
Inhibitor						
inhibitor trypsinu ze sóji	0,25	0,026	>10	<0,01	0,06	>20
aprotinin	0.168	1	>20	0.01	0.22	>20
hexamidin diisothionát	2.5	>1000	256	2.3	>1000	130
p-amino-benzamidín	13.8	>500	>500	20	>500	>500
leupeptin	0.14	>500	>500	0.11	>500	>500
pepstatin A	324	4.9	>500	>500	300	>500
chymostatin	>500	<0.12	>500	>500	0.02	>500
TLCK	78,3	>500	>500	200	>500	>500
kyselina glycyrrhizová	45	>500	>500	>300	>300	>300
EDTA	>125 000	>125 000	>1250 00	100	100	>3000
4-(2-aminoethyl)-benzensulfonyl-fluorid hydrochlorid	45,7	190	>500	---	---	---

*LAP = leucinová aminopeptidáza

**TLCK = L-1-chlor-3-(4-tosylamido)-7-amino-2-heptanon-HCl

***EDTA = ethylendiamintetraoctová kyselina

Tabulka 1 ukazuje, že každá z uvedených sloučenin inhibuje nejméně jednu proteázu testovanou způsobem čištěných proteáz a/nebo proteáz stolice.

D. Testování čištěné lipázy

Pro testování účinnosti inhibitorů lipáz se přidá do mikrokvyvety 0,05 ml domnělého inhibitoru a 0,125 ml 160 nM pankreatické lipázy (např. Sigma, St. Louis, MO, kat. číslo L0382) v 50 mM TRIS pufru obsahujícím 1 mM CaCl_2 o pH 8,0. Kyveta se inkubuje při 25°C 10 minut. Do kyvety se přidá asi 0,025 ml substrátu (1,25 mM p-nitrofenol kaprylát, např. Sigma, St. Louis, MO, kat. číslo N0752) a směs se nechá inkubovat dalších 5 minut. Po 10 minutách se měří absorbance v 405 nm při 25°C. Úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru (v_i) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Stejný postup se opakuje bez přidání domnělého inhibitoru. Úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru (v) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Hodnoty v_i a v a koncentrace inhibitoru $[I]$ jsou použity pro vypočítání IC_{50} podle výše uvedené rovnice.

E. Testování lipázy ze stolice

Pro testování účinnosti inhibitorů lipáz proti lipázám ze stolice se přidá do kyvety inhibitor a lipázový pufr (50 mM TRIS pufr obsahující 1mM CaCl_2 o pH 8,0) tak, aby konečný objem byl 0,8 ml. K této směsi se do kyvety přidá 0,1 ml substrátu (1,25 mM p-nitrofenol kaprylát). Kyveta se promíchá obracením a nechá se

inkubovat při 25°C 5 minut. Potom se do kyvety přidá 0,1 ml suspenze ze stolice, vše se promíchá a po 5 minutách se měří při 25°C absorbance při 405 nm minus absorbance při 490 nm. (Absorbance při 490 nm je opravný faktor pro absorbanci pozadí, která je způsobena částicemi stolice, tj. "interference"). Úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru (v_i) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Stejný postup se opakuje bez přidání domnělého inhibitoru. Úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru (v) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Hodnoty v_i a v a koncentrace inhibitoru $[I]$ jsou použity pro vypočítání IC_{50} podle výše uvedené rovnice.

F Testování aktivity čištěné ureázy.

Pro testování aktivity inhibitorů ureáz se přidá do mikrokvyvety 0,05 ml domnělého inhibitoru a 0,125 ml 0,08 U/ml ureázy Jack Bean (katalog Sigmy U2125) v 45 mM pufru fosfátu sodného o pH 6,8. Kyveta se nechá inkubovat při 25°C asi 10 minut. K této směsi se přidá 0,025 ml substrátu (300 mM urea, např. Sigma U0631) a směs se nechá inkubovat dalších 5 minut. A ihned se měří uvolňování čpavku pomocí komerční sady pro zjišťování čpavku (Sigma Diagnostics, St. Louis, MO, postup 171).

G. Testování aktivity ureázy

Pro testování účinnosti inhibitorů ureáz proti ureázám ze stolice se přidá do kyvety inhibitor a ureázový pufr (45 mM fosfát sodný, pH 6,8) tak, aby konečný objem byl 0,8 ml. K této směsi se do kyvety přidá 0,1 ml substrátu (375 mM urea). Kyveta se promíchá

obracením a nechá se inkubovat při 25°C asi 5 minut. K této směsi se přidá 0,1 ml suspenze stolice, směs se promíchá a nechá se inkubovat dalších 5 minut. Potom se ihned měří uvolňování čpavku pomocí komerční sady pro zjišťování čpavku (Sigma Diagnostics, postup 171).

H. Testování aktivity čištěné amylázy

Aktivita amylázy se zjišťuje pomocí postupu 577 Sigma Diagnostics. Pro testování účinnosti inhibitorů amyláz se do kyvety přidá 0,010 ml domnělého inhibitoru a 0,010 ml lidské slinné α -amylázy (Sigma č. A0521, 100 až 2000 U/l, měřeno Sigma Diagnostics postup 577) ve vodě. Kyveta se inkubuje při 37°C 10 minut. K této směsi se přidá 1,00 ml amylázového substrátu a směs nechá inkubovat další 2 minuty. Po 2 minutách se při 37°C změří absorbance při 405 nm. Úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru (v_i) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Stejný postup se opakuje bez přidání domnělého inhibitoru. Úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru (v) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Hodnoty v_i a v a koncentrace inhibitoru $[I]$ jsou použity pro vypočítání IC_{50} podle výše uvedené rovnice.

I. Testování aktivity amylázy ze stolice

Aktivita amylázy se určí pomocí postupu 577 Sigma Diagnostics. Pro testování účinnosti inhibitorů amylázy proti amylázám ze stolice se do kyvety přidá 0,010 ml domnělého inhibitoru a 0,010 ml suspenze stolice (100 až 2000 U/l, měřeno Sigma Diagnostics,

postup 577). Kyveta se nechá inkubovat při 37°C 10 minut. K této směsi se přidá 1,00 ml amylázového substrátu, směs se promíchá a nechá se inkubovat další 2 minuty. Po 2 minutách se při 37°C měří absorbance při 405 nm minus absorbance při 490 nm. Úroveň štěpení substrátu za přítomnosti inhibitoru (v_i) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Stejný postup se opakuje bez přidání domnělého inhibitoru. Úroveň štěpení substrátu za nepřítomnosti inhibitoru (v) je sklon křivky absorbance při 405 nm vzhledem k času. Hodnoty v_i a v a koncentrace inhibitoru $[I]$ jsou použity pro vypočítání IC_{50} podle výše uvedené rovnice.

V. Dermatologická složka

Dermatologické složky vhodné pro použití v absorpčních prostředcích tohoto vynálezu jsou popsány v patentu USA 08/926 532 a 08/926 533, obě podané 10. 9. 1997, patentu USA 5 607 760 podaném 4. 3. 1997, patentu USA 5 609 587 podaném 11. 3. 1997, patentu USA 5 635 191 podaném 3. 6. 1997 a patentu USA 5 643 588 podaném 1. 7. 1997, jejichž popisy jsou zde zahrnuty odkazem. Dermatologická složka se, jak bylo uvedeno, přenáší na kůži uživatele upraveného prostředku během běžnému kontaktu, pohybu uživatele a/nebo působením tělního tepla. To znamená, že přenos dermatologické složky obsahující inhibitor enzymu začíná po aplikaci prostředku na uživatele a pokračuje po dobu nošení. Díky tomu je tedy inhibitor enzymu zpravidla přítomný na kůži uživatele před atakem tělních výměšků.

Jako doplněk své funkce, kterou je zajištění minimální inhibiční koncentrace inhibitoru enzymu na kůži uživatele, může

dermatologická složka také obsahovat přísady, které například snižují lpění stolice na kůži, vytvářejí bariéru kůže/stolice (např. pokryjí kůži, čímž zabrání přilnutí stolice), ale přitom zůstávají poměrně nepropustné, ale prodyšné, nebo mají jiný prospěšný vliv na kůži (např. zvláčňují pokožku, zlepšují nebo udržují kvalitu pokožky) apod. Dermatologická složka může mít řadu forem, jako např. emulze, roztok, krém, mast, balzám, suspenze, gel apod.

Přenos účinné koncentrace inhibitoru enzymu z absorpčního prostředku na kůži a účinné množství dermatologické složky aplikované nebo přenesené na povrchy prostředku dotýkající se uživatele závisí především na použité dermatologické složce. Množství složky by mělo být přinejmenším na části povrchu dotýkajícího se uživatele od $0,0078 \text{ mg/cm}^2$ do 12 mg/cm^2 , lépe však od $0,16 \text{ mg/cm}^2$ do 6 mg/cm^2 a nejlépe od $0,6 \text{ mg/cm}^2$ do 4 mg/cm^2 . Avšak tato rozmezí jsou pouze názorná a zkušený odborník ví, že charakter složky určuje množství, které musí být aplikováno k přenesení dostatečné koncentrace inhibitoru enzymu a že požadované množství je zjistitelné běžným experimentem.

Množství dermatologické složky aplikované na absorpční prostředek je důležitým faktorem navrhovaného vynálezu, ale důležitější je množství složky přenesené na kůži uživatele během používání jednoho nebo více takto upravených prostředků. Přestože množství dermatologické složky obsahující inhibitor enzymu přenesené na kůži závisí do určitého rozsahu na charakteru použité složky a účinnosti inhibitoru enzymu, mohou být přenesena poměrně malá množství, která stále dostačují k vytvoření minimální inhibiční

koncentrace inhibitoru enzymu na kůži. Toto platí obzvláště pro navrhované složky, které jsou popsány v příkladu 1.

Vzhledem k hladině dermatologické složky, která je přenesena na uživatele během nošení jednoho upraveného absorpčního prostředku po dobu 3 hodin (typická doba nošení) a především pro navrhované dermatologické složky popsané v příkladu 1, se navrhuje, aby bylo přeneseno na kůži během tří hodin doby nošení nejméně $0,0016 \text{ mg/cm}^2$, lépe však nejméně $0,0078 \text{ mg/cm}^2$ a nejlépe nejméně $0,016 \text{ mg/cm}^2$ dermatologické složky. Obvyklé přenesené množství dermatologické složky jedním upraveným prostředkem během tří hodin nošení se pohybuje od $0,0016 \text{ mg/cm}^2$ do $0,78 \text{ mg/cm}^2$, lépe však od $0,0078 \text{ mg/cm}^2$ do $0,47 \text{ mg/cm}^2$ a nejlépe od $0,016 \text{ mg/cm}^2$ do $0,31 \text{ mg/cm}^2$.

Pro dlouhodobé použití upravených prostředků (výměna se obvykle provádí každé 3 až 4 hodiny během dne a také před nočním spánkem), jako např. po dobu 24 hodin, se dává přednost složkám, které se přenesou na kůži uživatele během 24 hodin v množství nejméně $0,0047 \text{ mg/cm}^2$, lépe však nejméně $0,016 \text{ mg/cm}^2$ a nejlépe nejméně $0,047 \text{ mg/cm}^2$. Množství složky přenesené během 24 hodin je obvykle od $0,0047 \text{ mg/cm}^2$ do $2,79 \text{ mg/cm}^2$, častěji však od $0,016 \text{ mg/cm}^2$ do 10 mg/cm^2 a nejčastěji od $0,047 \text{ mg/cm}^2$ do $0,93 \text{ mg/cm}^2$. Postup pro určení množství dermatologické složky přenesené na kůži během nošení upraveného prostředku je popsán níže.

Je zřejmé, že z četných látek vhodných pro dermatologické složky obsahující inhibitor enzymu přenášející se na kůži podle vynálezu, byly logicky vybrány ty látky, které se považují za

bezpečná a účinná dermatologická činidla. Tyto látky patří do I. kategorie tak, jak je definována U.S. Food and Drug Administration (FDA), (21 C.F.R. § 347), která nyní zahrnuje: alantoin, gel hydroxidu hlinitého, kalamín, kakaové máslo, dimeticon, rybí tuk (v kombinaci), glycerín, kaolín, vazelína, lanolín, minerální olej, žraločí olej, bílá vazelína, talek, škrob, octan zinečnatý, uhličitan zinečnatý, oxid zinečnatý apod. Další vhodné látky patří do III. kategorie definované U.S. Food and Drug Administration (FDA), která nyní zahrnuje: deriváty živých kvasinek, aldioxa, octan hlinitý, mikroporézní celulózu, cholekalciferol, koloidní ovesnou mouku, hydrochlorid cysteinu, dexpanthenol, peruánský balzámový olej, hydrolyzáty proteinů, racemovaný methionin, bikarbonát sodný, vitamína A apod.

Řada dermatologických složek uvedených v FDA se nyní běžně používá v komerčně dostupných dermatologických výrobcích, jako např. A a D Ointment®, Vaseline®, Petroleum Jelly, Desitin® Diaper Rash Ointment a Daily Care® ointment, Gold Bond® Medicated Baby Powder, Aquaphor® Healing Ointment, Baby Magic® Baby Lotion, Johnson's Ultra Sensitive® Baby Cream. Do kteréhokoliv z těchto komerčních výrobků může být vpravena účinná koncentrace inhibitoru enzymu a aplikována na absorpční prostředek, čímž se vytvoří upravený prostředek podle navrhovaného vynálezu.

Dále bude popsáno, že dermatologickými složkami vhodnými pro přenos inhibitorů enzymů na kůži uživatele jsou nejlépe, nikoliv nezbytně, složky s takovým profilem tání, který jim umožňuje zůstat při pokojové teplotě nehybně na povrchu dotýkajícím se

uživatele, při tělní teplotě snadno přestupovat na uživatele a přitom při skladování za extrémních podmínek nezkapalnit. V tomto ohledu jsou složky aspoň částečně přenositelné na kůži vlivem kontaktu, pohybu uživatele a/nebo tělesného tepla. Protože je složka na povrchu prostředku dotýkajícím se uživatele zpravidla znehybněna, tak stačí poměrně nízké hladiny složky ke vzniku žádoucích účinků na kůži. Dále může být nezbytné použít pro upravené prostředky navrhovaného vynálezu speciální obalové materiály.

V navrhovaném provedení jsou dermatologické složky emulze vody v oleji, kde enzymový inhibitor je ve vodní fázi. Avšak samotná dermatologická složka může být při 20°C, tj. při teplotě okolí, tuhá nebo častěji polotuhá. Výraz "polotuhá" znamená, že složka má reologické vlastnosti typické pro pseudotvárné nebo tvárné kapaliny. Pokud nedochází ke tření mohou mít složky vzhled polotuhé látky, ale při zvýšení tření mohou zkapalnit. To je způsobeno tím, že složka obsahuje primárně jak pevné tak i kapalné části. Viskozita dermatologické složky obsahující inhibitor enzymu by měla být při nulovém tření od $1,0 \times 10^4$ do $1,0 \times 10^6$ g/cm.s, lépe však od $5,0 \times 10^4$ do $5,0 \times 10^6$ g/cm.s. Výrazem "viskozita při nulovém tření" se míní viskozita měřená za velmi nízké úrovně tření (např. $1,0 \text{ s}^{-1}$) pomocí vhodné viskozimetru (např. model CSL 100 od TA Instruments of New Castle, DE). Odborník ví, že mohou být použity i jiné složky než ty o vysokém bodu tání (viz níže), které budou mít srovnatelnou viskozitu, jenž může být změřena extrapolací křivky viskozity vzhledem k úrovni tření pro takovou složku k nulové úrovni tření při teplotě asi 20°C. Navrhované složky jsou při pokojové teplotě aspoň polotuhé, aby se zamezilo přechodu složky do absorpčního prostředku před jeho použitím. Navíc mají

složky konečný bod tání (100% zkapalnění) nad možnými "nepříznivými" skladovacími podmínkami, který může být vyšší než 45°C (např. sklad v Arizoně, kamión na Floridě atd.). Příklady složek, které mají tyto znaky jsou podrobně popsány v patentu USA 5 643 588, v patentu USA 5 607 760, v patentu USA 5 609 587 a v patentu USA 5 635 191. Navrhované složky mají následující profily tání:

<u>Vlastnost</u>	<u>Navrhované rozmezí</u>	<u>Nejvhodnější rozmezí</u>
% kapaliny při pokojové teplotě (20°C)	2-50	3-25
% kapaliny při tělní teplotě (37°C)	25-95	30-90
konečný bod tání (°C)	≥38	≥45

Navrhované složky obsahující inhibitor enzymu nemají při teplotě zevního prostředí sklon téci a přecházet ve větším rozsahu do nežádoucích oblastí prostředku na který byly aplikovány. To znamená, že k dosažení očekávaného terapeutického a ochranného efektu je zapotřebí menšího množství dermatologické složky.

Aby se zabránilo přesunu složek uvnitř prostředku na nežádoucí místa, musí být zajištěna nehybnost složek tím, že bude jejich viskozita co nejvyšší. Bohužel v některých případech může vyšší viskozita snižovat přenos složky na kůži uživatele. A proto musí být dosažena taková rovnováha, která umožní jak udržet složku na povrchu prostředku, tak i její přenos na kůži uživatele. Vhodné viskozity těchto složek jsou v rozmezí od 0,05 do 5 g/cm.s, lépe však od 0,05 do 3 g/cm.s a nejlépe od 0,05 do 1 g/cm.s, měřeno při

60°C pomocí rotačního viskozimetru (vhodným viskozimetrem je model 4357 od Lab Line Instruments, Inc. of Melrose Park, IL). Viskozimetr pracuje na 60 rpm s použitím hřídele č. 2.

Kromě dermatologických složek upravených tak, aby měly terapeutický a/nebo ochranný efekt na kůži a pozitivnímu efektu inhibitorů enzymů jsou dalšími aktivními látkami těchto složek jedna nebo více ochranných látek nebo změkčovadel. Zde použitý výraz "změkčovadlo" je vyhrazen pro látku, která chrání proti vlhkosti a podráždění, změkčuje, uklidňuje, zvláčňuje, potahuje, promazává, zvlhčuje, chrání a/nebo čistí kůži. (Bude zřejmé, že řada látek zmíněných výše patří mezi změkčovadla.) V navrhovaném provedení jsou tato změkčovadla tvárná nebo kapalná při teplotě okolního prostředí, tj. 20°C.

Příklady vhodných změkčovadel pro použití v tomto vynálezu jsou, mimo jiné, změkčovadla získaná z ropy, sacharózové estery mastných kyselin, polyethylenglykol a jeho deriváty, zvlhčující látky, estery mastných kyselin, alkylethoxyláty, ethoxylátové estery mastných kyselin, mastný alkohol, polysiloxan, propylenglykol a jeho deriváty, glycerín a jeho deriváty, včetně glyceridových, acetoglyceridových a etoxylátových glyceridů mastných kyselin C₁₂-C₂₈, triethylenglykol a jeho deriváty, vorvaní tuk a nebo jiné vosky, mastné kyseliny, mastné estery alkoholu, především ty které mají 12 až 28 atomů uhlíku ve svém řetězci, jako kyselina stearová, propoxylované mastné alkoholy, další mastné estery polyhydroxyalkoholů, lanolin a jeho deriváty, kaolín a jeho deriváty, jakékoliv dermatologické činidlo zmíněné výše nebo směsi těchto změkčovadel. Mezi vhodná změkčovadla získaná z ropy patří ty

uhlovodíky nebo jejich směsi, které mají délku řetězce od 16 do 32 uhlíků. Mezi ropné uhlovodíky s touto délkou řetězců patří minerální olej a vazelína. Výrazem "minerální olej" se obvykle označuje méně viskózní směs uhlovodíků, která má od 16 do 20 uhlíků. Výrazem "vazelína" se obvykle označuje viskóznější směs uhlovodíků s 16 až 32 uhlíky. Vazelína a minerální olej jsou preferovaná změkčovadla pro použití v dermatologické složce tohoto vynálezu.

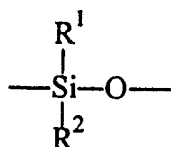
Mezi vhodná změkčovadla typu esterů mastných kyselin patří ty odvozené od mastných kyselin C_{12} - C_{28} , lépe však nasycených mastných kyselin C_{16} - C_{22} a alkoholů s krátkým řetězcem (C_1 - C_8 , lépe však C_1 - C_3). Vhodnými příklady takových esterů jsou methylpalmitát, methylstearát, isopropyllaurát, isopropylmyristát, isopropylpalmitát, ethylhexylpalmitát a jejich směsi. Vhodná změkčovadla typu esterů mastných kyselin mohou být také získána z esterů mastných alkoholů o dlouhém řetězci (C_{12} - C_{28} , lépe však C_{12} - C_{16}) a mastných kyselin s kratším řetězcem, např. kyselina mléčná, jako jsou lauryllaktát a cetylaktát.

Vhodnými změkčovadly alkylethoxylátového typu jsou ethoxyláty mastných alkoholů C_{12} - C_{22} , které mají průměrný stupeň ethoxylace od 2 do 30. Tato změkčovadla jsou vybírána ze skupiny obsahující laurylové, cetylové a stearylové ethoxyláty nebo jejich směsi, které mají průměrný stupeň ethoxylace od 2 do 23. Názornými příklady takových alkylethoxylátů jsou laureth-3 (laurylethoxylát s průměrným stupněm ethoxylace 3), laureth-23 (s průměrným stupněm ethoxylace 23), ceteth-10 (cetylalkoholethoxylát s průměrným stupněm ethoxylace 10) a steareth-10 (stearylalkoholethoxylát s průměrným stupněm ethoxylace 10). Tato

alkylethoxylátová změkčovadla jsou zpravidla použita v kombinaci se změkčovadly získanými z ropy, jako je např. vazelína, ve váhovém poměru alkylethoxylátového změkčovadla k změkčovadlu získanému z ropy od 1:1 do 1:5, lépe však od 1:2 do 1:4.

Vhodnými změkčovadly typu mastného alkoholu jsou mastné alkoholy C_{12} - C_{22} , lépe však mastné alkoholy C_{16} - C_{18} . Názornými příklady jsou cetylalkohol, stearylalkohol a jejich směsi. Tato změkčovadla se zpravidla používají v kombinaci se změkčovadly získanými z ropy, jako např. vazelínou, ve váhovém poměru změkčovadla typu mastného alkoholu k změkčovadlu získanému z ropy od 1:1 do 1:5, lépe však od 1:1 do 1:2.

Dalšími vhodnými typy změkčovadel jsou polysiloxanové sloučeniny. Obecně jsou pro použití v tomto vynálezu vhodné ty polysiloxanové látky, jejichž monomerová siloxanová jednotka má následující strukturu:



kde R^1 a R^2 může být, nezávisle pro každou monomerovou jednotku, vodík nebo alkyl, aryl, alkenyl, alkaryl, arakyl, cykloalkyl, halogenový uhlovodík nebo jiný zbytek. Všechny tyto zbytky mohou být vzájemně nahrazeny. Zbytky R^1 a R^2 každé jednotlivé monomerové jednotky mohou být odlišné od příslušných skupin sousední jednotky. Navíc polysiloxan může mít strukturu lineárního řetězce, rozvětveného řetězce nebo cyklickou strukturu. Zbytky R^1 a

R^2 mohou být nezávisle i jiné skupiny, jako např. siloxany, polysiloxany, silany a polysilany. Zbytky R^1 a R^2 mohou obsahovat jakoukoliv z řady organických skupin včetně alkoholu, karboxylové kyseliny, fenylu a aminových skupin.

Příklady alkylových zbytků jsou methyl, ethyl, propyl, butyl, pentyl, hexyl, oktyl, decyl, oktadecyl apod. Příklady alkenylových zbytků jsou vinyl, allyl apod. Příklady arylových zbytků jsou fenyl, difenyl, naftyl apod. Příklady alkarylových zbytků jsou toyl, xylyl, ethylfenyl apod. Příklady aralkylových zbytků jsou benzyl, alfa-fenylethyl, beta-fenylethyl, alfa-fenylbutyl apod. Příklady cykloalkylových zbytků jsou cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl apod. Příklady halogenových uhlovodíkových zbytků jsou chloromethyl, bromoethyl, tetrafluoroethyl, fluoroethyl, trifluoroethyl, trifluorotoyl, hexafluoroxyl apod.

Viskozita vhodných polysiloxanů se může velmi lišit, stejně tak jako viskozita siloxanů obecně, a proto mohou být siloxany tekoucí nebo mohou být upraveny tak, aby se staly tekoucí. To znamená, že se jejich viskozita pohybuje od 5 centistoke (měřeno při 37°C pomocí skleněného viskozimetru) do 20 000 000 centistoke, ale není omezena pouze na tyto hodnoty. Polysiloxany by měly mít viskozitu při 37°C v rozmezí od 5 do 5 000 centistoke, lépe od 5 do 2 000 centistoke, nejlépe však od 100 do 1 000 centistoke. Polysiloxany o vysoké viskozitě, které nejsou tekoucí, mohou být účinně naneseny na absorpční prostředek tím, že se například vytvoří emulze polysiloxanu v surfaktantu nebo se vytvoří roztok siloxanu pomocí rozpouštědla, jako např. hexanu, který je zmíněn pouze jako příklad.

Jednotlivé způsoby nanášení polysiloxanových změkčovadel na absorpční prostředky budou dále zmíněny podrobněji.

Polysiloxanové sloučeniny navržené pro použití v tomto vynálezu jsou popsány v patentu USA 5 059 282. Mezi nejvhodnější polysiloxanové sloučeniny patří polymethylsiloxanové sloučeniny s fenylovou skupinou (např. Dow Corning 556 Cosmetic-Grade Fluid: polymethylfenylsiloxan) a nebo demethicony s cetylovou nebo stearylovou skupinou, jako např. polysiloxanové tekutiny Dow 2502 a Dow 2503. Kromě těchto substitucí fenylovou nebo alkylovou skupinou, může být provedena také účinná substituce aminovou, karboxylovou, hydroxylovou, etherovou, polyetherovou, aldehydovou, ketonovou, amidovou, esterovou a thiolovou skupinou. Z této řady účinných substituentů se dává přednost skupinám fenolovým, aminovým, alkylovým, karboxylovým a hydroxylovým, ale nejvhodnější jsou skupiny fenolové.

Vhodnými změkčovadly typu mastných esterů jsou polyolpolyestery, které jsou popsány v patentu USA 5 609 587. Příklady polyolů jsou, mimo jiné, polyhydriky sloučeniny, jako např. pentaerytritol, cukry, jako např. rafinosa, maltodextrosa, galaktosa, sacharosa, glukosa, laktosa, mannanosa a erytrosa, a cukerné alkoholy, jako např. erytritol, xylitol, malitol, mannitol a sorbitol. Z takových polyolů jsou vytvářeny estery mastných kyselin a/nebo jiných organických zbytků, které mají od 2 do 30 uhlíků. Přestože není nezbytné, aby byly všechny hydroxylové skupiny polyolu esterifikovány, mají navrhovaná polyolpolyesterová změkčovadla téměř všechny (např. nejméně 85 %) hydroxylové skupiny esterifikovány. Velmi vhodné jsou sacharóзовые polyolpolyestery, jako např. sacharóзовый polykotonát, sacharóзовый polysoját a

sacharózový polybehenát. Také směsi těchto polyolpolyesterů jsou vhodnými změkčovadly pro navrhovaný vynález.

Vhodnými hydratačními složkami jsou glycerín, propylenglykol, sorbitol, trihydroxystearin apod.

Množství změkčovadla, které může být obsaženo v dermatologické složce závisí na řadě faktorů, např. na typu příslušného změkčovadla, požadovaném účinku na kůži, dalších komponentách složky apod. Složka obsahuje změkčovadla od 0 do 100 % hmotnosti. Navrhované rozmezí je však od 10 do 95 %, lépe však od 20 do 80 % a nejlépe od 40 do 75 % hmotnosti.

Další prospěšnou komponentou dermatologické složky obsahující inhibitor enzymu může být látka, která je schopná znehybnit složku (včetně inhibitoru enzymu, navrženého změkčovadla a/nebo jiné ochranné látky) v požadované oblasti uvnitř nebo na upraveném prostředku. Protože některé z navrhovaných komponent složky jsou při 20°C tvárné nebo kapalné, budou mít sklon téci nebo migrovat i při vystavení pouze mírnému tření. Pokud jsou naneseny na povrch dotýkající se uživatele nebo jinou oblast absorpčního prostředku v rozpuštěném nebo tekutém stavu, tak obvykle v dané oblasti nezůstanou, protože mají sklon k přesunu a přetečení do nežádoucí oblasti prostředku.

Pokud se některá z komponent dermatologické složky přesune do nitra prostředku, může to mít nežádoucí vliv na absorbanci jádra prostředku díky hydrofobním vlastnostem, např. změkčovadel nebo jiných komponent použitých v dermatologické složce prostředku

navrhovaného vynálezu. To také znamená, že k dosažení požadovaného účinku musí být na prostředek naneseno větší množství dermatologické složky. Zvýšení obsahu dermatologické složky nezvyšuje pouze náklady, ale i zesiluje nežádoucí účinek na absorbanci jádra prostředku a nežádoucí přenos složky během zpracování upraveného prostředku.

Znehybňující činidlo působí proti sklonu komponent dermatologické složky přesunovat se nebo odtékat tím, že je zadržuje na povrchu nebo v oblasti prostředku na kterou byly naneseny. To je částečně způsobeno tím, že znehybňující činidlo zvyšuje bod tání a/nebo viskozitu složky nad hodnoty pohyblivých komponent.

Je výhodné "uzamknout" znehybňující činidlo na povrchu dotýkajícím se uživatele nebo v oblasti prostředku na kterou je naneseno. Toho může být dosaženo při použití znehybňujících činidel, které se po aplikaci na prostředek rychle zpevní. Dále může být pro urychlení krystalizace činidla použito zevní chlazení prostředku pomocí ventilátorů, větráků apod.

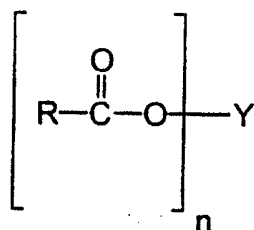
Znehybňující činidlo by mělo mít takový profil tání, aby byla složka při teplotě okolí tuhá nebo polotuhá. Navrhovaná znehybňující činidla by tedy měla mít bod tání nejméně 35°C. Při této teplotě nebude mít znehybňující činidlo sklon se přesunovat nebo téci. Navrhovaná znehybňující činidla mají body tání nejméně 40°C. Zpravidla má znehybňující činidlo bod tání v rozmezí od 50°C do 150°C.

Znehybňující činidla mohou být vybrány z celé řady látek, pokud inhibiční vlastnosti dermatologické složky mají pozitivní účinek na kůži zde popsany. Je zjištěno, že některá změkčovadla nebo třídy změkčovadel mají takové vlastnosti tání, že jsou vhodná jako znehybňující činidla. Takové látky mohou splňovat funkce změkčovadla i znehybňujícího činidla. Navrhované znehybňující činidlo bude patřit do skupiny obsahující mastné alkoholy $C_{14}-C_{22}$, mastné kyseliny $C_{12}-C_{22}$, ethoxyláty mastných alkoholů $C_{12}-C_{22}$ a jejich směsi, které mají průměrný stupeň ethoxylace od 2 do 30. Mezi navrhovaná znehybňující činidla patří mastné alkoholy $C_{16}-C_{18}$, nejlépe krystalické látky s vysokým bodem tání zvolené ze skupiny obsahující cetylalkohol, stearylalkohol, behenylalkohol a jejich směsi. (Lineární struktura těchto látek může urychlit tuhnutí na upraveném absorpčním prostředku.) Dává se přednost směsím cetylalkoholu a stearylalkoholu. Dalšími navrhovanými znehybňujícími činidly jsou mastné kyseliny $C_{16}-C_{18}$, nejlépe ze skupiny obsahující kyselinu palmitovou, kyselinu stearovou a jejich směsi. Dává se přednost směsím kyseliny palmitové a stearové. Mezi další navrhovaná znehybňující činidla patří ethoxyláty mastných alkoholů $C_{16}-C_{18}$ s průměrným stupněm ethoxylace od 5 do 20. Mastné alkoholy a mastné kyseliny by měly být lineární. Je důležité, že tato navrhovaná znehybňující činidla, jako např. mastné alkoholy $C_{16}-C_{18}$ zvyšují úroveň krystalizace složky, čímž působí urychlení krystalizace na povrchu substrátu.

Dalšími typy znehybňujících činidel, které zde mohou být použity jsou polyhydroxyestery mastných kyselin, polyhydroxyamidy mastných kyselin a jejich směsi. Navrhované estery a amidy mají tři nebo více volných hydroxylových skupin na polyhydroxylové

skupině a mají zpravidla neiontový charakter. Vzhledem k možné kožní přecitlivělosti uživatelů prostředků na které byla složka nanesena, měli by být tyto estery a amidy poměrně jemné a nedráždivé vůči pokožce.

Polyhydroxyestery mastných kyselin vhodné pro použití v navrhovaném vynálezu mají tento vzorec:



kde R je uhlovodíková skupina C₅-C₃₁, zpravidla lineární řetězec C₇-C₁₉ alkylu nebo alkenylu, lépe však lineární řetězec C₉-C₁₇ alkylu nebo alkenylu, nejlépe však lineární řetězec C₁₁-C₁₇ alkylu nebo alkenylu nebo jejich směsi. Y je polyhydroxylová uhlovodíková skupina s uhlovodíkovým řetězcem, který má nejméně 2 volné hydroxyly přímo spojené s řetězcem a n je nejméně 1. Vhodné Y skupiny mohou být odvozeny do polyolů, jako např. glycerolu, pentaerytritolu, cukrů, jako např. rafinosy, maltodextrosy, galaktosy, sacharosy, glukosy, xylosy, fruktosy, maltosy, laktosy, mannosy a erytrosy, cukerných alkoholů, jako např. erytritolu, xylitolu, malitolu, mannitolu a sorbitolu a anhydridů cukerných alkoholů, jako např. sorbitanu.

Jedna třída vhodných polyhydroxyesterů mastných kyselin zahrnuje některé estery sorbitanu, zejména sorbitanové estery nasycených mastných kyselin C₁₆-C₂₂. Tyto sorbitanové estery obvykle obsahují, vzhledem ke způsobu, kterým jsou vyráběny,

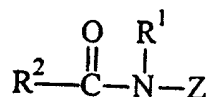
směsi mono-, di-, tri-, atd. esterů. Náznými příklady vhodných sorbitanových esterů jsou sorbitanové palmitáty (např. SPAN 40), sorbitanové stearáty (např. SPAN 60) a sorbitanové behenáty, které zahrnují jednu nebo více mono-, di- a tri- esterových variant těchto sorbitanových esterů, např. sorbitan mono-, di- a tri- palmitát, sorbitan mono-, di- a tri- stearát, sorbitan mono-, di- a tri- behenát, stejně tak jako směsi sorbitanových mono-, di- a tri- esterů mastných kyselin. Mohou být použity také směsi různých sorbitanových esterů, jako např. sorbitan palmitáty se sorbitan stearáty. Obzvláště vhodnými estery sorbitanu jsou sorbitan stearáty, zpravidla jako směsi mono-, di- a tri- esterů (plus nějaké tetraestery), jako např. SPAN 60 a sorbitan stearáty prodávané pod označením GLYCOMUL-S firmy Lonza, Inc. Ačkoliv tyto sorbitanové estery zpravidla obsahují směsi mono-, di- a tri- esterů, plus nějaké tetraestery, obvykle v těchto směsích převažují mono- a di- estery.

Další třída vhodných polyhydroxyesterů mastných kyselin obsahuje některé monoestery glycerylu, zejména glycerylové monoestery nasycených mastných kyselin C_{16} - C_{22} , jako např. glycerylmonostearát, glycerylmonopalmitát a glycerylmonobehenát. Směsi monoesterů glycerylu obsahují, stejně tak jako estery sorbitanu, obvykle nějaké di- a triestery. Avšak aby tyto směsi byly použitelné v tomto vynálezu, měli by obsahovat především monoestery glycerylu.

Další třída vhodných polyhydroxyesterů mastných kyselin obsahuje sacharosové estery mastných kyselin, zejména sacharosové estery mastných kyselin C_{12} - C_{22} . Obzvláště vhodné jsou monoestery

a diestery sacharosy a také sacharosové mono- a distearáty a sacharosové mono- a dilauráty.

Polyhydroxyamidy mastných kyselin vhodné pro použití v tomto vynálezu mají tento vzorec:



kde R^1 je H, C_1 - C_4 uhlovodík, 2-hydroxyethyl, 2-hydroxypropyl, methoxyethyl, methoxypropyl nebo jejich směsi, zejména C_1 - C_4 alkyl, methoxyethyl nebo methoxypropyl, lépe však C_1 nebo C_2 alkyl nebo methoxypropyl, nejlépe C_1 alkyl (tj. methyl) nebo methoxypropyl a R^2 je uhlovodíková skupina C_5 - C_{31} , zpravidla lineární řetězec C_7 - C_{19} alkylu nebo alkenylu, lépe však lineární řetězec C_9 - C_{17} alkylu nebo alkenylu, nejlépe lineární řetězec C_{11} - C_{17} alkylu nebo alkenylu nebo jejich směsi a Z je polyhydroxylový uhlovodík, jenž má lineární řetězec s nejméně 3 hydroxylovými skupinami přímo spojenými s řetězcem. Viz patent USA 5 174 927, který popisuje tyto polyhydroxyamidy mastných kyselin a jejich přípravu.

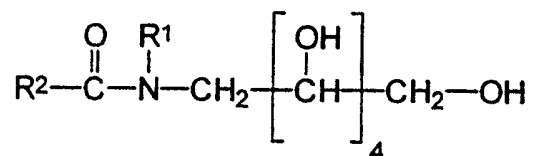
Skupina Z je odvozena z redukčního cukru v reakci redukční aminace, nejlépe glycitylu. Vhodnými redukčními cukry jsou glukosa, fruktosa, maltosa, laktosa, galaktosa, mannosy a xylosy. Kromě těchto cukrů mohou být použity také kukuřičný sirup s vysokým obsahem dextrosy, kukuřičný sirup s vysokým obsahem fruktosy a kukuřičný sirup s vysokým obsahem maltosy. Z těchto

kukuřičných sirupů může být vytvořena směs cukerných komponent pro Z skupinu.

Skupina Z je zvolena z množiny obsahující $-\text{CH}_2-(\text{CHOH})_n-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2(\text{CH}_2\text{OH})-[(\text{CHOH})_{n-1}]-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{OH}-\text{CH}_2-(\text{CHOH})_2(\text{CHOR}^3)-(\text{CHOH})-\text{CH}_2\text{OH}$, kde n je celé číslo do 3 do 5 a R^3 je H nebo cyklický nebo alifatický monosacharid. Obzvláště vhodné jsou glycityly, kde n je 4, zejména $-\text{CH}_2-(\text{CHOH})_4-\text{CH}_2\text{OH}$.

Ve výše uvedeném vzorci může být R^1 například N-methyl, N-ethyl, N-propyl, N-isopropyl, N-butyl, N-2-hydroxyethyl, N-methoxypropyl nebo N-2-hydroxypropyl. R^2 může být zvoleno tak, například, aby vznikly kokamidy, stearamidy, oleamidy, lauramidy, myristamidy, kaprikamidy, palmitamidy, tallowamidy apod. Skupina Z může být 1-deoxyglucityl, 2-deoxyfruktityl, 1-deoxymaltityl, 1-deoxylaktityl, 1-deoxygalaktityl, 1-deoxymanityl, 1-deoxymalto-triotityl apod.

Nejvhodnější polyhydroxyamidy mastných kyselin mají tento obecný vzorec:



kde R^1 je methyl nebo methoxypropyl, R^2 je $\text{C}_{11}-\text{C}_{17}$ alkylová nebo alkenylová skupina s lineárním řetězcem. Patří sem N-lauryl-N-methyl glukamid, N-lauryl-N-methoxypropyl glukamid, N-kokoyl-N-methyl glukamid, N-kokoyl-N-methoxypropyl glukamid, N-palmityl-

N-methoxypropyl glukamid, N-tallowyl-N-methyl glukamid nebo N-tallowyl-N-methoxypropyl glukamid.

Jak bylo dříve uvedeno potřebují některá znehybňující činidla emulgátor pro rozpuštění ve změkčovadle. To se vztahuje především na některé glukamidy, jako např. N-alkyl-N-methoxypropyl glukamidy s hodnotou HLB nejméně 7. Vhodnými emulgátory jsou zpravidla ty, které mají hodnotu HLB menší než 7. V tomto ohledu bylo zjištěno, že estery sorbitanu, jako např. stearát sorbitanu, které mají hodnotu HLB 4,9 a nižší jsou vhodné pro rozpouštění glukamidových znehybňujících činidel ve vazelíně. Dalšími vhodnými emulgátory jsou steareth-2 (polyethylenglykolové ethery stearylalkoholu, které jsou vytvořeny podle vzorce $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$, kde průměrná hodnota n je 2, sorbitan tristearát, isosorbid laurát a glycerylmonostearát. Emulgátor může být obsažen v takovém množství, které umožní rozpuštění znehybňujícího činidla ve změkčovadle a vytvoření homogenní směsi. Například směs asi 1:1 N-kokoyl-N-methyl glukamidu a vazelíny, která se běžně nerozpustí do jednofázové směsi, se po přidání 20% Stearethu-2 a sorbitanu tristearátu jako emulgátoru rozpustí do jednofázové směsi.

Další typy přísad, které mohou být použity jako znehybňující činidla, buď samotná nebo v kombinaci s výše zmíněnými znehybňujícími činidly, jsou vosky, jako např. vosk z karnaubové palmy, zemní vosk, včelí vosk, kandelila, parafín, ceresin, esparto, ouricuri, rezovosk, izoparafín a další známé těžené a minerální vosky. Vysoký bod tání těchto látek umožňuje znehybnit složku na žádaném povrchu nebo oblasti prostředku. Dobrými znehybňujícími

činidly jsou také mikrokrytalické vosky. Mikrokrytalické vosky pomáhají "uzamknout" nízkomolekulární uhlovodíky uvnitř dermatologické složky. Vhodný je vosk parafínový. Příkladem alternativního znehybňujícího činidla je parafínový vosk, jako např. Parrafin S.P. 434 od Strahl and Pitsch Inc.

Množství znehybňujícího činidla, které bude obsaženo ve složce závisí na řadě faktorů, včetně obsahu účinných látek (např. změkčovadel), typu příslušného znehybňujícího činidla, pokud je použito, dalších komponentách složky, na tom zda je potřebný emulgátor k rozpuštění znehybňujícího činidla v dalších komponentách a jiných podobných faktorech. Pokud je znehybňující činidlo použito, potom je zpravidla jeho obsah ve složce 5 až 90%. Lépe je pokud je obsah znehybňujícího činidla ve složce od 5 do 50%, nejlépe od 10 do 40%.

Je žádoucí, aby aspoň část vrchní vrstvy prostředku byla vyrobena z hydrofilní látky, jenž by usnadnila přenos tekutin (např. moče). Dále je také žádoucí, aby dermatologická složka byla dostatečně smáčivá a umožnila rychlý přenos tekutin skrz vrchní vrstvu. Mohou být použity také hydrofobní dermatologické složky, ale pouze do té míry, aby nedošlo k porušení potřebných vlastností vrchní vrstvy. (Jednou z možností je například nanesení složky pouze na část vrchní vrstvy.) To sníží pravděpodobnost, že tělní výměšky odtečou z takto upravené vrchní vrstvy dříve, než mohou být absorbovány skrz vrchní vrstvu do absorpčního jádra.

Pokud se požaduje hydrofilní složka, může být nutné přidat pro zlepšení smáčivosti hydrofilní surfaktant (nebo směs hydrofilních

surfaktantů), a to v závislosti na příslušných komponentách použitých ve složce. Ať některá znehybňující činidla, jako např. N-kokoyl-N-methoxypropyl glukamid mají hodnoty HLB nad 7 a jsou dostatečně smáčivé i bez přidání hydrofilního surfaktantu. Jiná znehybňující činidla, jako např. mastné alkoholy C_{16} - C_{18} s hodnotami HLB pod 7 mohou ke zlepšení smáčivosti vyžadovat přidání hydrofilního surfaktantu. Podobně musí být hydrofilní surfaktant přidán i k hydrofobnímu změkčovačce, jako např. vazelině, pokud se vyžaduje, aby byla složka hydrofilní. Samozřejmě, že nemá význam se zabývat smáčivostí, pokud povrchem dotýkajícím se uživatele není vrchní vrstva prostředku nebo pokud jsou požadované vlastnosti vrchní vrstvy zajištěny jiným způsobem (např. částečným nanesením).

Vhodné hydrofilní surfaktanty by měly mísitelné s ostatními komponentami dermatologické složky tak, aby vytvářeli směsi. Kvůli možné precitlivělosti kůže uživatelů absorpčních prostředků s nanesenou dermatologickou složkou, by měly být tyto surfaktanty poměrně jemné a nedráždivé. Tyto hydrofilní surfaktanty by měly být neiontové, aby nedráždily kůži, ale také, aby se zamezilo nežádoucím účinkům na další části upraveného prostředku. Např. snížení pevnosti v tahu, kvality adhezivních spojů apod.

Vhodné neiontové surfaktanty by měly být po nanesení složky na prostředek nepohyblivé a jejich hodnoty HLB by měly být v rozmezí od 4 do 20, lépe však od 7 do 20. Aby byly nepohyblivé, mají tyto neiontové surfaktanty bod tání zpravidla vyšší než jsou teploty, kterým jsou absorpční prostředky vystaveny během skladování, přepravy, prodeje a použití, např. nejméně 30°C . V tomto ohledu

mají neiontové surfaktanty body tání zpravidla podobné jako dříve popsaná znehybňující činidla.

Vhodnými neiontovými surfaktanty pro použití ve složkách nanesených na prostředek, aspoň v oblasti výtoku, jsou alkylglykosidy, alkylglykosidové ethery popsané v patentu USA 4 011 389, alkylpolyethoxylové estery, jako např. Pegosperse 1000MS od Lonza, Inc., Fair Lawn, New Jersey, ethoxylové sorbitan mono-, di- a/nebo tri- estery mastných kyselin C_{12} - C_{18} s průměrným stupněm ethoxylace od 2 do 20, nejlépe od 2 do 10, jako např. TWEEN 60 (sorbitanové estery stearové kyseliny s průměrným stupněm ethoxylace 4) a produkty kondenzace alifatických alkoholů s 1 až 54 moly ethylenoxidu. Alkylový řetězec alifatického alkoholu má zpravidla lineární konfiguraci a obsahuje od 8 do 22 atomů uhlíku. Obzvlášť vhodné jsou produkty kondenzace alkoholů s alkylovou skupinou obsahující od 11 do 22 atomu uhlíku s 2 až 30 moly ethylenoxidu na mol alkoholu. Příklady takových ethoxylovaných alkoholů jsou produkty kondenzace myristylalkoholu se 7 moly ethylenoxidu na mol alkoholu, produkty kondenzace kokosového alkoholu (směs mastných alkoholů s alkylovými řetězci o délce 10 až 14 atomů uhlíku) s 6 moly ethylenoxidu. Řada vhodných ethoxylových alkoholů je komerčně dostupná, včetně Tergitolu 15-S-9 (produkt kondenzace lineárních alkoholů C_{11} - C_{15} s 9 moly ethylenoxidu) prodáváný Union Carbide Corporation, KYRO EOB (produkt kondenzace lineárních alkoholů C_{13} - C_{15} s 9 moly ethylenoxidu) od The Procter & Gamble Co., surfaktanty NEODOL od Shell Chemical Co., především NEODOL 25-12 (produkt kondenzace lineárních alkoholů C_{12} - C_{15} s 12 moly ethylenoxidu) a NEODOL 23-6.5T (produkt kondenzace lineárních alkoholů C_{12} - C_{13}

s 6,5 moly ethylenoxidu, který byl destilován pro odstranění nečistot) a obzvláště surfaktanty PLURAFAC do BASF Corp., zejména PLURAFAC A-38 (produkt kondenzace lineárního alkoholu C_{18} s 27 moly ethylenoxidu). (Některé hydrofilní surfaktanty, především ethoxylované alkoholy, jako např. NEODOL 25-12, mohou působit jako alkylethoxylátová změkčovadla). Dalšími vhodnými příklady ethoxyalkoholových surfaktantů jsou surfaktanty Brij a jejich směsi, především Brij 72 (tj. Steareth-2) a Brij 76 (tj. Steareth-10). Dále mohou být jako hydrofilní surfaktanty použity také směsi ethoxylovaného cetylalkoholu a stearylalkoholu s průměrným stupněm ethoxylace od 10 do 20.

Dalším surfaktantem vhodným pro použití ve složce je Aerosol OT, dioctylester sodné sulfosukcinylové kyseliny prodávány American Cyanamid Company.

Jiným vhodným surfaktantem jsou kopolymery silikonu, jako např. General Electric SF 1188 (kopolymer polydimethylsiloxanu a polyoxyalkylenového etheru) a General Electric SF 1228 (silikonový kopolymer polyetheru). Tyto silikonové surfaktanty mohou být použity v kombinaci s dalšími typy hydrofilních surfaktantů zmíněnými výše, jako např. ethoxylovanými alkoholy. Bylo zjištěno, že tyto silikonové surfaktanty jsou účinné již při koncentraci 0,1 %, lépe však do 0,25 do 1,0 % hmotnosti složky.

Pokud je zapotřebí použít hydrofilní složku, je množství hydrofilního surfaktantu, nutné ke zvýšení smáčivosti složky na požadovanou úroveň, závislé částečně na hodnotě HLB a množství znehybňujícího činidla, pokud je použito, hodnotě HLB použitého

surfaktantu a dalších podobných faktorech. Ke zvýšení smáčivosti může složka obsahovat od 0,1 do 50 % hydrofilního surfaktantu. Pro zvýšení smáčivosti však složka obvykle obsahuje od 1 do 25 %, lépe však od 10 do 20 % hydrofilního surfaktantu.

Složka může obsahovat další komponenty běžně přítomné v emulzích, mastích, roztocích, suspenzích atd., tohoto typu. Mezi tyto komponenty patří voda, modifikátory viskozity, parfémy, desinfekční antibakteriální látky, antivirové látky, vitamíny, farmaceutické látky, látky vytvářející povlak, deodoranty, zakalující látky, astrigencia, rozpouštědla, konzervační látky apod. Dále mohou být pro prodloužení expirace složky přidány stabilizátory, jako např. deriváty celulózy, proteiny a lecitin. Všechny tyto látky jsou v oboru dobře známé jako přísady a mohou být v příslušných množstvích použity v těchto složkách.

Pokud je použita dermatologická složka s vodním základem, je nutné použít konzervační prostředek. Vhodnými konzervačními prostředky jsou propylparaben, methylparaben, benzylalkohol, benzylkonium, tribazický kalciumfosfát, BHT nebo kyseliny, jako např. kyselina citronová, vinná, maleová, mléčná, malová, benzoová, salicylová apod. Mezi vhodná činidla zvyšující viskozitu patří některé látky popsané jako účinná znehybňující činidla. Dalšími vhodnými činidly zvyšujícími viskozitu jsou, např. alkylgalaktomanan, oxid křemičitý, mastek, křemičitan hořečnatý, sorbitol, koloidní silikondioxid, křemičitan hořečnatohlinitý, stearát zinečnatý, alkohol z vlněného vosku, sorbiton, seskvioleát, cetylhydroxyethylcelulóza a další upravené celulózy. Vhodnými rozpouštědly jsou propylenglykol, glycerín, cyklomethikon,

polyethylenglykoly, hexalenglykol, diol a rozpouštědla s více hydroxyskupinami. Vhodnými vitamíny jsou A, D₃, E, B₅ a E acetát.

VI. Nanesení složky na prostředek

Absorpční prostředek musí být upraven tak, aby se dermatologická složka s obsahem inhibitoru enzymu, během nošení, aspoň částečně přenesla z upraveného prostředku na kůži uživatele. A proto se dermatologická složka nanáší buď přímo na jeden nebo více povrchů dotýkajících se uživatele nebo se nanáší na jiných místech nebo jiným způsobem tak, aby byla snadno dostupná pro přenos z jednoho nebo více povrchů, které se dotýkají uživatele během nošení, a to nezávisle na něm. (Například látky uložené pod povrchem, který se dotýká uživatele, opouzdřené složky atd.) Je samozřejmé, že pro zefektivnění přenosu složky do oblastí nejvíce zatížených, je nutné nanést složku na části vrchní vrstvy a manžety, které jsou v kontaktu s hýžděmi, genitálem, oblastí třísel a oblastí anální. Navíc může být složka nanesena na jiné oblasti prostředku, aby došlo k přenosu na boky, břicho, záda, pas, stehna atd. Mezi vhodné způsoby patří nastřikování, potiskování (např. flexografické potiskování), potahování (např. štěrbínové potahování, otiskové potahování), protlačování nebo kombinace těchto aplikačních způsobů, např. nastřikování dermatologické složky na rotujícím povrchu, jako např. lisovacím válečku, který potom přenáší složku do požadované části prostředku. Dermatologická složka s obsahem inhibitoru enzymu může být nanesena jako tuhá látka pomocí některého z řady postupů, např. protlačování.

Pokud má složka hydrofobní charakter, může se při nanášení na vrchní vrstvu prostředku stát, že vrstva nebude v oblasti, která odpovídá výtokové oblasti prostředku zcela nasycena složkou. Pokud je vrchní vrstva nasycena složkou ve výtokové oblasti, potom je velké riziko, že složka bude blokovat otvory vrchní vrstvy, čímž se sníží schopnost vrchní vrstvy přenášet tekutiny do níže uloženého absorpčního jádra. Nasycení vrchní vrstvy je také nežádoucí pro dosažení léčebného a/nebo ochranného efektu. Podobně nemusí být žádoucí ani nasycení dalších komponent prostředku. Vhodnými způsoby aplikace jsou ty způsoby, při kterých dojde k nanesení složky především na vnější povrch vrchní vrstvy prostředku.

Minimální množství složky obsahující inhibitor enzymu, která je nanesena na povrch prostředku dotýkající se uživatele dle vynálezu, odpovídá množství dostatečnému pro zajištění léčebného, ochranného a/nebo stav kůže zlepšujícího efektu. Množství nanesené složky závisí na různých faktorech, včetně látky upravovaného prostředku, relativní části povrchu dotýkajícího se uživatele, jenž není pokryt složkou, složení složky apod. Obecně řečeno, pokud jsou použity poměrně hydrofobní složky a jsou naneseny na celou vrchní vrstvu, potom je množství nanesené složky v rozmezí od $0,016 \text{ mg/cm}^2$ do $2,33 \text{ mg/cm}^2$, lépe však od $0,16 \text{ mg/cm}^2$ do $1,55 \text{ mg/cm}^2$. Je zřejmé, že větší množství dermatologické složky může být naneseno na další části prostředku, kde není poškozena distribuce tekutin (např. manžety, pásová část, boční díly atd.). Dále je zřejmé, že poměrně hydrofilní složky mohou být na vrchní vrstvu naneseny ve větším množství, aniž by došlo k výraznějšímu postižení distribučních vlastností. Naopak větší množství hydrofilní složky může být nežádoucí, pokud je naneseno na části (např. manžeta, pas)

jiné než je vrchní vrstva, kde by mohlo dojít k nasávání výměšků ke hranám a následnému úniku tekutin.

Protože je složka na povrchu zcela znehybněna stačí pouze její malé množství k tomu, aby došlo k přenosu účinného množství inhibitoru enzymu. Domníváme se, že tato malá množství stačí k dosažení žádaného účinku na kůži, protože je složka během nošení trvale, samovolně uvolňována. To znamená, že možnost použít poměrně nízké hladiny dermatologické složky, způsobuje, že je vrchní vrstva prostředku schopna udržet své přenosové vlastnosti v oblasti výtoku tekutin.

Složka může být nanesena na povrch dotýkající se uživatele nejednotně. Výrazem "nejednotně" se míní, že množství, umístění, vzor rozložení atd., složky, může být na povrchu dotýkajícím se uživatele odlišné a může se lišit i v dalších oblastech prostředku. Například pro udržení distribučních vlastností vrchní vrstvy může být nezbytné nanést složku nejednotně, obzvláště pokud má tato hydrofobní charakter. Z toho důvodu musí mít některé části upraveného povrchu prostředku (a jeho oblasti), větší nebo menší množství složky, včetně částí na které složka není nanesena. V jednom takovém provedení, kde je složka poměrně hydrofobní, má povrch vrchní vrstvy oblasti, na které složka nebyla nanesena, a to především v oblasti vrchní vrstvy, která odpovídá oblasti rozkroku. Oblast rozkroku prostředku, tak jak je zde použita, je obdélník, definovaný níže, který je vystředěn podélně i příčně podle bodu rozkroku. "Bod rozkroku" je určen při oblečení prostředku stojícím uživatelem a natažením vlákna kolem nohou ve tvaru osmičky. Bod prostředku, který odpovídá průniku vláken se považuje za bod

rozkroku. (Je zřejmé, že bod rozkroku je určen umístěním absorpčního prostředku na uživatele určeným způsobem a stanovením místa, kde se zkřížená vlákna dotknou prostředku). U inkontinenčních prostředků (např. plenky, inkontinenční prostředky pro dospělé) odpovídá délka oblasti rozkroku 40 % celkové délky absorpčního prostředku (tj. v rozměru y). U menstruačních vložek odpovídá délka oblasti rozkroku 80 % celkové délky absorpčního prostředku. Šířka oblasti rozkroku je stejná jako šířka nejširší části absorpčního jádra měřená v bodě rozkroku. (Části "absorpčního jádra" jsou látky, které se účastní absorpce, přenosu, distribuce a/nebo uložení tělních tekutin. Výraz absorpční jádro nezahrnuje vrchní vrstvu nebo spodní vrstvu absorpčního prostředku.) Příkladem může být inkontinenční prostředek o délce 50 cm a šířce jádra v oblasti bodu rozkroku 10 cm, oblast rozkroku je pravoúhlá, vystředěná na bod rozkroku a její délka je 20 cm a šířka 10 cm.

Je překvapivé, že při nejednotném nanesení složky na vrchní vrstvu nebo její části (např. mikroskopické nebo makroskopické oblasti, kde není nanesena žádná složka), je přenášena složka na uživatele dokonce i v oblastech kůže, které odpovídají neupraveným okrskům vrchní vrstvy nebo jejích částí. Množství a rovnoměrnost složky přenesené na kůži závisí na řadě vlivů, včetně, např. způsobu nanesení dermatologické složky, kontaktu kůže uživatele a upravené oblasti, tření, které vzniká během nošení mezi kůží uživatele a upravenou oblastí, teplem vytvořeném uživatelem, které zesiluje přenos složky, vlastnostech složky, látkách, které vytváří složku apod.

Při nejednotném nanášení složky může být použita řada vzorů, včetně, např. nanesení malých kapek (např. nastříkáním), drobných teček (např. gravírovaným tiskem), podélných nebo příčných proužků (vytvořené dotekovým šterbinovým potažením), spirál, které se posunují příčně nebo podélně atd., vzorového tisku atd. V těchto provedeních, kde vrchní vrstva obsahuje oddělené, neupravené okrsky, může rozsah otevřené části oblasti vrchní vrstvy, která odpovídá oblasti rozkroku, značně kolísat. ("Rozsah otevřené části" vrchní vrstvy se určí (i) změřením povrchu vrchní vrstvy, který patří do oblasti rozkroku, (ii) změřením celkového povrchu neupravené oblasti v této části vrchní vrstvy a (iii) vydělení výsledku měření z (ii) výsledkem měření z (i). Zde použitý výraz "neupravený" znamená, že oblast vrchní vrstvy obsahuje méně než $0,0016 \text{ mg/cm}^2$ složky. V tomto ohledu může být rozsah otevřené části od 1 % do 99 %, od 5 % do 95 %, od 10 % do 90 %, od 15 % do 85 %, od 20 % do 80 %, od 25 % do 75 %, od 30 % do 70 % nebo od 35 % do 65 %. Rozsah otevřené části nezbytný k dosažení požadovaných účinků složky a požadovaných distribučních vlastností vrchní vrstvy, je do značné míry určován vlastnostmi složky (především jejím složením a poměrem hydrofobních a hydrofilních vlastností). Zkušený odborník ocení, že žádaný rozsah otevřené části je možné snadno určit jednoduchým experimentem.

Složky, které jsou poměrně hydrofobní a nemají být nanесeny na oblasti vrchní vrstvy, se nejdříve nanášejí na vrchní vrstvu prostředku v množství od $0,0078 \text{ mg/cm}^2$ do $5,43 \text{ mg/cm}^2$, lépe však od $0,16 \text{ mg/cm}^2$ do $3,88 \text{ mg/cm}^2$ a nejlépe od $0,62 \text{ mg/cm}^2$ do $3,1 \text{ mg/cm}^2$. Je zřejmé, že složky, které jsou poměrně hydrofilní, mohou být nanášeny ve větším množství, aniž by byly výrazně postiženy

distribuční vlastnosti vrchní vrstvy. Samozřejmě také prostředky s poměrně vysokým procentem otevřených oblastí v rozkroku, mohou mít nanесena větší množství složky, aniž by byly výrazně postiženy distribuční vlastnosti vrchní vrstvy.

V jednom navrhovaném provedení je vrchní vrstva potažena podélnými proužky složky. Tyto podélné proužky (nebo spirály) jsou od sebe odděleny podélnými proužky, kde je složky nanесeno málo nebo žádná. V těchto provedeních má zpravidla každý proužek složky šířku od 3 mm do 20 mm, lépe však od 3 mm do 13 mm a šířka proužků neobsahujících složku je obvykle od 3 mm do 26 mm, lépe však od 4 mm do 13 mm. Tato rozmezí jsou použitelná pro běžné dětské plenky. U větších výrobků, jako např. inkontinenčních prostředků pro dospělé, mohou být tato rozmezí větší.

Dermatologická složka může také být v nejednotném vzoru nanесena na další části prostředku. V těchto případech může být otevřená oblast vypočítána z obdélníku určeného obvodem dermatologické složky.

Složka může být nanесena na prostředek kdykoliv během skládání. Složka může být například nanесena na hotový absorpční výrobek před jeho zabalením. Složka může být také nanесena na danou část (např. vrchní vrstva, manžety, bočnice, pas atd.) na místě výměny nebo dodavatelem látky, předtím než je spojena s dalšími částmi do hotového absorpčního prostředku. Složka může být také nanесena na další oblasti prostředku tak, že bude možný její přechod během nošení na jeden nebo více povrchů dotýkajících se uživatele.

Složka se zpravidla nanáší na prostředek ve svém rozehrátém stavu, protože její teplota tání je podstatně vyšší než teplota okolí. Složka je obvykle před nanášením na prostředek ohřána na teplotu v rozmezí od 35°C do 150°C, lépe však od 40°C do 100°C. Inhibitor enzymu může být ke složce přidán před nebo po jejím ohřátí. Pokud je přidán před ohřátím, musí být teplota zvolena tak, aby nedošlo k jeho denaturaci. Eventuelně může být inhibitor enzymu přidán k předehráté složce, u které již došlo k částečnému ochlazení na teplotu, která nepoškodí inhibitor enzymu, ale je dostatečná k nanesení složky na prostředek. Tekutá složka se po svém nanesení na prostředek nechá ochladit a ztuhnout. Postup nanášení složky je obvykle upraven tak, že chlazení je aktivní.

Při nanášení složky na prostředek se dává přednost štěrbínové potahování, nastříkávání, gravírovanému potahování a protlačování. Jedním z těchto způsobů je štěrbínové potahování vrchní vrstvy složeného hotového prostředku.

VII. Způsoby testování

A. Přenos dermatologické složky a inhibitoru enzymu na kůži uživatele

Přehled

Tento postup využívá odstranitelný kožní analog, který se umístí na kůži uživatele na určitý časový úsek. Kožní analog se potom odstraní a pomocí běžných analytických postupů se stanoví množství dermatologické složky nebo množství inhibitoru proteázy v extraktu z analogu získaném pomocí rozpouštědla. Tento postup je popsán

pro použití u dětských plenek obsahujících dermatologickou složku s inhibitorem enzymu. Zkušený odborník dokáže stanovit příslušné změny u jiných dermatologických složek, inhibitorů proteáz, absorpčních prostředků nebo typů uživatelů.

Testování jedinci

Podle následujících znaků by měly být vybrány dvě přibližně stejné skupiny dětí mužského a ženského pohlaví. Mělo by být vybráno dostatečné množství dětí, aby bylo zajištěno, že při každé zkoušce bude neméně 15 jedinců, kteří dokončí všechny její části.

Podmínky začlenění

- a. Zdravé dítě.
- b. Pečující osoba ochotná během trvání testu nepoužívat v oblasti plenky roztoky, krémy, zásypy nebo jiné dermatologické přípravky.
- c. Děti, které nosí plenky po celý den.
- d. Pečující osoba ochotná vykoupat dítě den před testem ne dříve než je dokončen.
- e. Pečující osoba ochotná upustit od plavání dítěte od večera před testem až do jeho dokončení.

Podmínky vyčlenění

- a. Dítě bylo během posledních čtyř dnů nemocné.
- b. Průjem (řidká stolice) během čtyř dnů před testem.
- c. Léky, které mohou zvýšit střevní vyprazdňování (např. orálně užívaná antibiotika, antimykotika, kortikosteroidy).
- d. Poškozená kůže v místě testování nebo kolem něho (např. popálení, aktivní kožní léze apod.).

e. Známé alergie nebo podráždění z lepících nebo dermatologických složek.

Látky

Přenos in vivo

Kožní analog: dermatologická páska – TEGADERM Tape 1622W dostupná od 3M Health Cares, St. Paul, MN

Zásobník vzorku: sklenice s uzávěrem od VWR Scientific, West Chester, PA pod označením 15900-242

Prášek na uvolnění pásky: Baby powder (obsahující pouze mastek a vonnou kompozici) do Johnson & Johnson, New Brunswick, NJ

Chirurgické rukavice: od Best Manufacturing Co., Menlo GA, pod označením 6005PFM

Extrakce a rozbor dermatologické složky

Rozpouštědlo: dichlormethan od Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, 27056-3

Stearylalkohol: Aldrich 25876-8

1-hexadekanol: Aldrich 25874-1

Lahvička na přípravu: 10 ml

Plynový chromatograf: vhodný je ionizační detektor od Hewlett Packard model 5890

Kolona: kapilární kolona Chrompack CP Sil-5 CB, 2 metry x 0,25 mm z křemičitého skla s filmem o tloušťce 0,12 μm (bez náhrad)

Přístrojové údaje systému: musí umožňovat opakované určení oblastí s nejvyššími hodnotami

Extrakce a rozbor typického inhibitoru (např. hexamidinu) enzymu (např. proteázy)

Rozpouštědlo: dichlormethan od Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, 27056-3

Lahvička na přípravu: 10 ml

Kolona: Hewlett Packard Zorbax SB-CN s úzkým vývrtem 5 μm , 2,1 x 150 mm s Waters Bondapack CN 10 μm , ochranná kolona 3,9 x 20 mm

Přístrojové údaje systému: musí umožňovat opakované určení oblastí s nejvyššími hodnotami

Způsob

Přenos in vivo

A. Potvrzení od pečující osoby, že dítě bylo během posledních 24 hodin vykoupáno a že na oblast krytou plenkou nebyly od té doby naneseny žádné roztoky, zásypy atd.

B. Natažení chirurgických rukavic, umístění dítěte na stůl a odstranění jeho plenek.

C. Otočení dítěte na bříško.

D. Odstranění krycí folie z pásky TEGADERM a jemné poprášení přilnavého povrchu s J&J Baby Powder (vše se provádí v chirurgických rukavicích, aby se zabránilo znečištění pásky). Nanesení dostatečného množství prášku v celém rozsahu pásky vyjma okrajů. (Tento krok se provádí proto, aby se zabránilo příliš agresivnímu přilnutí pásky ke kůži dítěte).

E. Obrázky 2a a 2b znázorňují umístění pásky TEGADERM, zde označené jako páska 700. Páska 700 se přiloží na pravou hýždi dítěte. Páska 700 se přiloží na nejvyšší místo hýždě dítěte v blízkosti gluteální rýhy. Pro měření přenosu ve dvou časových úsecích nebo pro měření účinku další plenky, může být přiložena druhá páska 700. Pokud je použita druhá páska 700, potom je přiložena na levou hýždi stejným způsobem.

F. Výměna plenek se provádí podle následujícího protokolu: přenosový čas 3 hodiny – 1 plenka, přenosový čas 6 hodin – 2 plenky (výměna po 3 hodinách), přenosový čas 24 hodin *ad lib* pečující osoby. U přenosového času 24 hodin je nutné postupovat podle následujících dodatečných pokynů:

1. Pro čištění plenkové oblasti během testu používat pouze vodu a žínku. Nepoužívat dětské utěrky. Nedotýkat se oblasti kolem pásek rukami nebo čistícím nástrojem.

2. Během trvání testu nepoužívat dermatologické přípravky (roztoky, masti, krémy, mýdla atd.).

3. Nekoupat dítě během testu.

4. Používat pouze testované plenky.

5. Zaznamenat čas vyměšování a omýt dítě vodou a žínkou.

G. Zaznamenat čas přiložení každé testované plenky.

H. Zavolat dítě před uplynutím určeného přenosového času.

I. Odstranit testovanou plenku. Pokud u dítěte došlo k vyprázdnění střev, měla by se páska 700 odstranit a vyhodit (dítě dokončilo test a údaje nebudou zahrnuty v rozboru). Pokus se dítě vymočilo, je páska 700 přijatelná pro rozbor, který je uvedený níže.

J. Pracovník provádějící test odstraní pásku 700, tím že uchopí její okraj pomocí pinzety a jemně ji odlepí od kůže. Vše v chirurgických rukavicích.

K. Připravit si sklenici a pečlivě označit vzorek pro pozdější identifikaci.

L. Po dokončení testu uložte všechny vzorky do sklenic pro rozbor popsany níže.

1. Extrakce a rozbor testovaných vzorků dermatologické složky

Tento způsob je určený pro testování navrhované dermatologické složky, složky z tabulky 4. Zkušený odborník ví, jaké úpravy jsou nezbytné pro extrakci a rozbor jiných dermatologických složek. Obecně: 1) jedna z hlavních částí dermatologické složky se extrahuje z kožního analogu pomocí příslušného rozpouštědla, 2) k určení množství hlavní části v extraktu je použit plynový chromatograf nebo jiná vhodná kvantitativní analytická technika, 3) množství dermatologické složky se vypočítá z jednotky plochy na množství hlavní části v extraktu a plochy pásy.

Vnitřní standard/rozpouštědlo

Připravte si vnitřní standard/rozpouštědlo přesným navážením 100 ± 2 mg 1-hexadekanolu do malé kádinky. Rozpusťte 1-hexadekanol v dichlormethanu a přelejte je do odměrného válce. Vypláchněte kádinku 3x dichlormethanem a obsah vždy přelijte do odměrného válce. Doplňte objem válce a dobře ho promíchejte. Tento roztok bude použit pro vytvoření vnitřního standardu a extrahování dermatologické složky z pásek. Nádoba s rozpouštědlem by měla být těsně uzavřena, aby se zamezilo jeho odpařování.

Kalibrace standardu

Připravte kalibrační standard o známé koncentraci přesným navážením ($\pm 0,1$ mg) 10 ± 1 mg stearylalkoholu do 100 ml odměrného válce. Zaznamenejte hmotnost použitého stearylalkoholu. Přidejte do válce vnitřní standard/rozpouštědlo a míchejte dokud se nerozpustí. Doplňte objem a znovu promíchejte. Nádoba s rozpouštědlem by měla být těsně uzavřena, aby se zamezilo jeho odpařování. Tento roztok bude použit při určování vzájemné

odpovědi stearylalkoholu a 1-hexadekanolového vnitřního standardu při kalibraci přístroje.

Příprava a kalibrace plynového chromatografu

Nainstalujte kolonu a zkontrolujte průtok plynu kolonou při 100°C a vstřikovací otvor a detektor při provozních teplotách. Průtokový chromatograf bude pracovat za následujících podmínek:

- Nosný plyn: vodík (může být použito také helium),
průtoková rychlost 1,5 ml/min.
- Vstřikovací otvor: 325°C, rychlost průtoku 30 ml/min, čištění
příčky 2 ml/min, vložka ze skleněné vaty,
mikrotěsnění Merlin.
- Vstřikovaný objem: 2 µl rozděleně.
- FID detektor: 350°C, nastavený plyn proudí podle pokynů
výrobce. Obvyklý průtok plynu je 400 ml/min
pro vzduch, 30 ml/min pro vodík a 30 ml/min
pro přídavný plyn.
- Termostat kolony: 100°C s přírůstkem 15°C/min do 325°C, trvá
10 minut.

Ujistěte se, že všechna spojení jsou těsná a nepodcházejí. Zapalte detektor a nechte ho stabilizovat. Ponechte kolonu při 325°C 30 minut. Vyčistěte stříkačku dichlormethanem. Stříkačka by také měla být několikrát propláchnuta po každé injekci. Proveďte několik slepých kol s dichlormethanem, dokud nedostanete dobrou základní linku bez nepatřičných vrcholů. Pokud se objeví nepatřičné vrcholy nebo není dobrá základní linka, pokuste se odstranit závalu.

Nastavte přístroj podle kalibračního standardu dříve připraveného. Při stanovování správného pořadí úkonů postupujte podle doporučení výrobce. Výpočty by měly být provedeny podobným způsobem jako je ten popsáný níže.

Postup rozboru vzorku

- 1) Odstraňte víčko skleničky se vzorkem a přidejte 10 ml roztoku extrakčního rozpouštědla/vnitřního standardu pomocí dávkovače. Zavřete víčkem a zatočte obsahem tak, aby páska 700 nebyla přichycena na stěnách skleničky a byla zcela ponořena v rozpouštědle. Zopakujte se všemi vzorky.
- 2) Ponechte vzorky 16 hodin (obvykle přes noc).
- 3) Promíchejte obsah skleničky. Pomocí pipety přeneste všechn extrakt vzorku do označené ampulky. Zavřete ampulku víčkem. Uzavřete skleničku a ponechte jí dokud není rozbor ukončen. Opakujte se všemi vzorky.
- 4) Vložte ampulky v náhodném pořadí do testovacího automatu a začněte rozbor v podmínkách popsáných výše. První ampulka by měla být slepá kontrola s dichloromethanem. Pro ověření správnosti měření by mělo být zařazeno několik "kontrolních" standardů (asi každý 20. vzorek).
- 5) Po skončení měření zkontrolujte každý chromatogram pro potvrzení správnosti rozboru. Pokud se vyskytne problém, pokuste se ho určit a odstranit. Pokud je potřeba, znovu analyzujte vzorky.

Výpočty

Počet mikrogramů stearylalkoholu v extraktu každého vzorku se vypočítá na základě poměrné odpovědi vrcholu stearylalkoholu k vrcholu vnitřního standardu 1-hexadekanolu. Poměr plochy vrcholů

se vynásobí relativním reakčním činitelem (určeným při kalibraci přístroje) a mikrogramy vnitřního standardu v extraktu tak, abychom získali celkový počet μg stearylalkoholu ve vzorku.

Kalibrace přístroje

Určení relativního reakčního činitele přístroje pro stearylalkohol a vnitřního standardu, které jsou odvozeny z plochy vrcholů stearylalkoholu a 1-hexadekanolu v chromatogramu kalibračního standardu.

$$\text{Reakční činitel } (R_c) = \frac{\text{plocha}_{\text{vst}}}{\text{hmotnost}_{\text{vst}}} \times \frac{\text{hmotnost}_{\text{sa}}}{\text{plocha}_{\text{sa}}} \times 10$$

kde $\text{plocha}_{\text{vst}}$ = plocha vrcholu pro vnitřní standard.

$\text{plocha}_{\text{sa}}$ = plocha vrcholu pro stearylalkohol.

$\text{hmotnost}_{\text{vst}}$ = mikrogramy vnitřního standardu použité pro přípravu vnitřního standardu/extrakčního rozpouštědla.

$\text{hmotnost}_{\text{sa}}$ = mikrogramy stearylalkoholu použité pro přípravu kalibračního standardu

Výpočty vzorku

Počet mikrogramů stearylalkoholu v každém vzorku se vypočítá z plochy vrcholu na chromatogramu vzorku dle následující rovnice:

$$\text{Počet } \mu\text{g SA} = \frac{\text{plocha}_{\text{sa}}}{\text{plocha}_{\text{vst}}} \times R_f \times \frac{\text{hmotnost}_{\text{vst}}}{100}$$

kde $\text{plocha}_{\text{vst}} = \text{plocha vrcholu vnitřního standardu.}$
 $\text{plocha}_{\text{sa}} = \text{plocha vrcholu stearylalkoholu.}$
 $\text{hmotnost}_{\text{vst}} = \text{mikrogramy vnitřního standardu použité}$
 pro přípravu vnitřního standardu/extrakčního rozpouštědla.

Vypočtete přenesené množství dermatologické složky v mg/cm^2
 kde:

$$\text{Přenesená složka} = \frac{0,001 \times \mu\text{g stearylalkoholu}}{(\text{koncentrace SA ve složce}) \times (\text{plocha pásy})}$$

Ve způsobu popsaném výše je koncentrace stearylalkoholu ve složce 41 % a rozměry pásy jsou 4,4 cm x 4,4 cm.

$$\text{Přenesená složka} = (0,001 \times \mu\text{g stearylalkoholu ve složce}) / (0,41 \times 4,4 \text{ cm} \times 4,4 \text{ cm}) = 0,000126 \times \mu\text{g stearylalkoholu (mg/cm}^2\text{)}$$

2. Extrakce a rozbor inhibitoru proteázy v testovaném vzorku

Tento způsob je upravený pro použití s dermatologickou složkou obsahující inhibitor proteázy z tabulky 1. Zkušený odborník ví jaké úpravy je nutné provést pro extrakci a rozbor jiných inhibitorů proteáz. Obecně: 1) inhibitor proteázy je uvolněn z kožního analogu působením příslušného rozpouštědla, 2) potom je pro určení hladiny inhibitoru v extraktu použita HPLC nebo jiná kvantitativní analytická technika, 3) množství inhibitoru proteázy se vypočítá jako jednotka plochy na množství inhibitoru v extraktu a plochu pásy.

Příprava standardů

Pro přípravu 10 $\mu\text{g/ml}$ standardního roztoku hexamidinu, odvažte 0,10 gramu +/- 0,02 gramu hexamidindiisothionátu a rozpust'ete jej v

mobilní fázi (10 % krystalické kyseliny octové a 17,5 % methanolu) HPLC roztoku. Připravte další standardy hexamidinu ze standardního roztoku 10 µg/ml, viz tabulka 2, a doplňte objem do 100 ml roztokem mobilní fáze HPLC.

Tabulka 2
Příprava standardů*

standard	roztok standardu hexamidinu (ml)	konečný objem (ml)	nominální koncentrace (µg/ml)
1	5,0	100	0,5
2	10,0	100	1,0
3	25,0	100	2,5
4	50,0	100	5,0

Příprava vzorku

1. Vložte testovaný přenosový pásek do 40 ml skleněné lahvičky.
2. Přilijte 10 ml dichlormethanu a lahvičku pevně zavřete.
3. Nechte lahvičku 30 minut třepat.
4. Vyjměte lahvičku z třepačky, sejměte víčko lahvičky a přilijte 10 ml mobilní fáze HPLC roztoku. Zavřete lahvičku a dejte ji znovu třepat.
5. Vzorek nechte třepat 30 minut, aby se ve vodní fázi rozpustil hexamidin.
6. Nejméně 30 minut nechte vzorek usadit a vrstvy separovat.

7. Po oddělení vzorku, odeberte stříkačkou vodní (horní) vrstvu a přefiltrujte ji přes 0,45 µm filtr.

Rozbor vzorku

Proveďte chromatografii standardů a vzorků podle podmínek popsaných v tabulce 3.

Tabulka 3
Chromatografické podmínky

Průtok mobilní fáze:	0,25 ml/min
Mobilní fáze:	10 % krystalická kyselina octová, 17,5 % methanol
Vstřikovaný objem:	10 ml
Vlnová délka UV detektoru:	254 nm
Senzitivita UV detektoru:	1,000 AUFS
Filtr UV detektoru:	2,0 s
Doba:	10,0 min

Výpočty

1. Koncentrace standardu (mg/ml):

$$S_i(\text{mg/ml}) = W(\text{mg})/100 \cdot (V_1/100) \quad (1)$$

W = hmotnost hexamidinu pro zásobní roztok standardu

V₁ = objem zásobního roztoku hexamidinu použitého pro přípravu standardu (tabulka I)

2. Kalibrační křivka

A. Vytvořte tabulku mg/ml hexamidinu v každém standardu (S_i) a odpovědi (plocha vrcholů nebo výška vrcholů), R_i , pro každý z roztoků.

B. Vytvořte kalibrační křivku podle rovnice (2).

$$R_i = mS_i + b \quad (2)$$

3. Testované vzorky

A. Vypočtete množství hexamidinu (H_1) v extraktech vzorků pomocí změřené odpovědi R a kalibrační rovnice:

$$H_1 = (R-b)/m \quad (3)$$

B. Vypočtete množství hexamidinu (H) ve vzorcích v mg podle rovnice 4.

$$H = H_1 * 10 \quad (4)$$

C. Vydělte množství hexamidinu (H) plochou pásky k určení koncentrace hexamidinu na jednotku plochy kožního analogu.

VIII. Příklady provedení vynálezu

Následují jednotlivé příklady (a) nanášení dermatologické složky na vrchní vrstvu plenky a (b) způsobů navrhovaného vynálezu, které využívají prostředky obsahující tyto vrchní vrstvy. Obdobný přístup může být použit při úpravě dalších částí takového prostředku.

Příklad 1

Příprava a testování absorpčního prostředku s vrchní vrstvou obsahující dermatologickou složku a inhibitor enzymu

A. Příprava dermatologických složek

Složka 1

Dermatologická složka je vytvořena smícháním následujících komponent: 99 dílů rozehráté (tj. kapalné) základní kompozice obsahující 85 dílů kotonátu SEFA (polykotonát sacharózy od Procter & Gamble Co., Cincinnati, OH) a 15 dílů behenátu SEFA (polybehenát sacharózy od Procter & Gamble Co., Cincinnati, OH) s 1 dílem kyseliny acetohydroxamové (Sigma Chemicals, St. Louis, MO).

Složka 2

Dermatologická složka je vytvořena smícháním následujících komponent: 99 dílů rozehráté (tj. kapalné) základní kompozice obsahující 58 dílů vazelíny (od Witco Corp., Greenwich, CT jako White Protopet), 41 dílů stearylalkoholu (od Procter & Gamble Co., Cincinnati, OH jako CO1897) a 1 dílu extraktu aloe (od Madis Botanicals, Inc., S. Hackensack, NJ jako Veragel Lipoid v Kaydolu) s 1 dílem kyseliny tranexamové (Sigma Chemicals).

Složka 3

Dermatologická složka je připravena stejným způsobem jako složka 2, s tím, že místo kyseliny tranexamové je použit triacetin.

Složka 4

Dermatologická složka je vytvořena smícháním následujících komponent: 9 dílů rozehráté (tj. kapalné) základní kompozice obsahující 58 dílů vazelíny (od Witco Corp., Greenwich, CT jako White Protopet), 41 dílů stearylalkoholu (od Procter & Gamble Co., Cincinnati, OH jako CO1897) a 1 dílu extraktu aloe (od Madis Botanicals, Inc., S. Hackensack, NJ jako Veragel Lipoid v Kaydolu) s 1 dílem ohřáté (tj. 60°C) inhibitorové složky obsahující 9 částí Tween 60 (ICI Surfactants) a 1 díl hexamidindiisothionátu (od Laboratories Serobilogiques, Pulnoy, France jako Elestab HP100).

B. Příprava prostředku kontaktním šterbinovým potahováním

Složka z tabulky 1 se umístí do ohřívací nádrže s pracovní teplotou 77°C. Potom se složka nanese kontaktním aplikátorem (např. Meltex EP45) na vrchní vrstvu prostředku v proužkách, které běží podélně. Přesně se nanáší 5 proužků, z nichž každý má šířku 0,54 cm. (tj. v příčném rozměru prostředku) a délku 25,4 cm a nanesené množství je 1,19 mg/cm². Vzdálenost mezi proužky je 0,67 cm.

Příklad 2

Způsob zlepšení stavu kůže

Dospělý člověk s inkontinencí, který váží 82,5 kg, používá absorpční prostředky a trpí mírným erytémem, nosí inkontinenční prostředek pro dospělé podobný plence z příkladu 1, a to nejméně po dobu 5 dnů. Prostředek je vyměňován způsobem běžným pro uživatele (obvykle každé 4 až 5 hodin během dne a před spaním).

Během této doby nedochází k žádným zásahům uživatele (např. nanášení dermatologických přípravků). Ke konci těchto 5 dnů se pozoruje zmenšení nebo vymizení erytému.

Příklad 3

Způsob zlepšení stavu kůže

Dítě, které váží 16 kg a trpí plenkovou vyrážkou a erytémem, nosí nejméně 5 dnů na noc plenky z příkladu 1 (tj. během dne používá neupravený prostředek). Plenky vyměňuje pečující osoba běžným způsobem. Během této doby nedochází k žádným zásahům pečující osoby (např. nanášení dermatologických přípravků). Ke konci těchto 5 dnů se pozoruje zmenšení nebo vymizení vyrážky a erytému.

Příklad 4

Způsob udržení stavu kůže

Dítě, které váží 12,5 kg a nemá plenkovou vyrážku ani erytém, je vyšetřováno pro otitis media a je mu předepsána léčba systémovými antibiotiky. Na základě zkušeností s konvenčními (neupravenými) plenkami pečující osoba předpokládá, že se u dítěte rozvine erytém a/nebo plenková vyrážka v důsledku řidší stolice. Plenky, které jsou popsány v příkladu 1, jsou nepřetržitě nošeny v průběhu užívání antibiotik. Během této doby nedochází k žádným zásahům uživatele (např. nanášení dermatologických přípravků). Během podávání antibiotik se nepozoruje u dítěte žádný erytém ani plenková vyrážka.

Popisy všech patentů, patentových přihlášek (a všechny patenty, které se týkají dané problematiky, stejně jako příslušné publikované přihlášky zahraničních patentů) a publikace zmíněné v tomto popisu, jsou zde zahrnuty odkazem. Avšak nepřipouštíme, že by některý z dokumentů zde uvedených popisoval navrhovaný vynález.

Přestože byla jednotlivá provedení navrhovaného vynálezu znázorněna a popsána, je znalci oboru zřejmé, že různé další změny a modifikace mohou být provedeny, aniž by byl překročen rozsah vynálezu. Naším úmyslem je tedy pokrýt v přiložených nárocích všechny takové změny a modifikace, které jsou v rozsahu tohoto vynálezu.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Absorpční prostředek, jehož část obsahuje dermatologickou složku s inhibitorem enzymu, **vyznačující se tím**, že dermatologická složka s obsahem inhibitoru enzymu se aspoň částečně přenáší z prostředku na kůži uživatele prostředku během běžného kontaktu, pohybu uživatele a/nebo působením tělního tepla.
2. Prostředek podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že inhibitor enzymu je vybrán z inhibitoru proteázy, inhibitoru lipázy, inaktivátoru žlučových solí, inhibitoru elastázy, inhibitoru ureázy, inhibitoru amylázy nebo jejich směsi.
3. Prostředek podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že dermatologická složka je při 20°C tuhá nebo polotuhá.
4. Prostředek podle nároku 1, 2 nebo 3, **vyznačující se tím**, že dermatologická složka obsahuje 5 % až 95 % změkčovadla, které je při 20°C tvárné nebo kapalné a dále pokud možno obsahuje 5 % až 95 % činidla schopného znehybnit změkčovadlo v prostředku a jenž má bod tání nejméně 35°C.
5. Prostředek podle nároků 1-4, **vyznačující se tím**, že částí prostředku je povrch dotýkající se uživatele, nejlépe vrchní vrstva.
6. Prostředek podle nároků 1-4, **vyznačující se tím**, že dermatologická složka obsahující inhibitor enzymu se nanáší na vrchní vrstvu tak, že jedna nebo více oblastí vrchní vrstvy je neupravena dermatologickou složkou a dermatologická složka s

inhibitorem enzymu se pokud možno nanáší na vrchní vrstvu ve formě proužků, které jsou odděleny řadou proužků bez dermatologické složky.

7. Prostředek podle nároků 1-6, **vyznačující se tím**, že dermatologická složka obsahuje od 0,001 % do 50 % inhibitoru enzymu, nejlépe od 0,1 % do 10 %.
8. Prostředek podle nároků 1-7, **vyznačující se tím**, že IC_{50} inhibitoru enzymu není větší než 500 μM .
9. Prostředek podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že dermatologická složka dále obsahuje sloučeninu vybranou ze skupiny obsahující změkčovadla ropného původu, změkčovadla typu esterů mastných kyselin, změkčovadla typu alkylethoxylátu, ethoxylátová změkčovadla typu esterů mastných kyselin, změkčovadla typu mastných alkoholů, změkčovadla typu polysiloxanu, sacharosové estery mastných kyselin, polyethylenglykol a jeho deriváty, sorbitol a jeho deriváty, trihydroxystearin a jeho deriváty, hydratační látky, demetikon, vazelínu, propylenglykol a jeho deriváty, glycerín a jeho deriváty, triethylenglykol a jeho deriváty, vorvaní tuk a jiné vosky, mastné kyseliny, ethery mastných alkoholů, propoxylované mastné alkoholy, mastné estery polyhydroxyalkoholů, lanolin a jeho deriváty, kaolin a jeho deriváty, lanolin, minerální olej, olej z žraločích jater, bílou vazelínu, mastek, škrob, octan zinečnatý, zinečnatý ester kyseliny uhličitě, oxid zinečnatý, deriváty živých kvasinek, aldioxa, octan hlinitý, mikroporézní celulóza, cholekalciferol, koloidní ovesná mouka, hydrochlorid cysteinu, dexpanthanol, peruánský balzámový

olej, hydrolyzáty proteinů, methionin, bikarbonát sodný, octany vitamínů A, D₃, E, B₅ a E a jejich směsi.

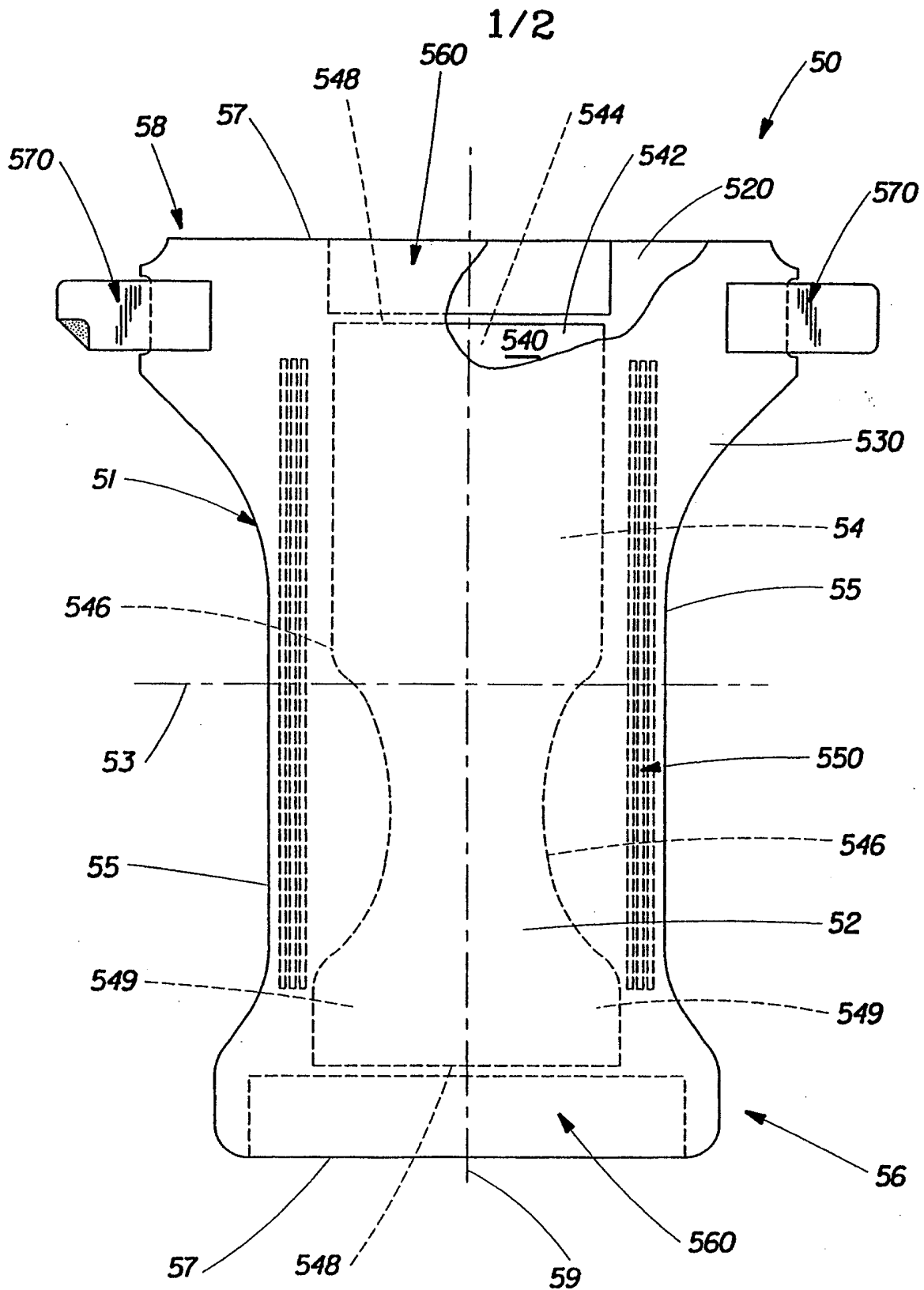
10. Prostředek podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že během nošení upraveného prostředku se na kůži uživatele přenese nejméně 0,0016 mg/cm², lépe však nejméně 0,0078 mg/cm² a nejlépe od 0,0016 mg/cm² do 0,78 mg/cm² dermatologické složky.
11. Absorpční prostředek, jehož nejméně část obsahuje dermatologickou složku, která je tuhá nebo polotuhá při 20°C a obsahuje (i) 0,001 % až 50 % inhibitoru enzymu, (ii) 5 % až 95 % změkčovadla, které je tvárné nebo kapalné při 20°C a (iii) 5 % až 95 % činidla schopného znehybnit změkčovadlo v prostředku, **vyznačující se tím**, že znehybňující činidlo má bod tání nejméně 35°C.
12. Prostředek podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že inhibitor enzymu je vybrán ze skupiny obsahující: inhibitor trypsinu ze sóji a další inhibitory trypsinu rostlinného původu, ovomukoidy, chymostatin, aprotinin, leupeptin a jeho analoga, bestatin a jeho analoga, antipain, antitrombin III, hirudin, cystatin, α₂-makroglobulin, α₁-antitrypsin, pepstatin a jeho analoga, TLCK, TPCK, kyselinu tranexamovou a její soli, glycyrrhizovou kyselinu a její soli, stearylglcyrrretinát, 18-β-glycyrrhizovou kyselinu a její soli, koloidní extrakty ovsa, elhibin, 4-(2-aminoethyl)-benzensulfonylfluorid HCl, kvercetin, kyselinu fytolovou a její soli, kyselinu ethylendiamintetraoctovou (EDTA) a její soli, hexamidin a jeho soli, pentamidin a jeho soli, benzamidin a jeho soli a deriváty, p-aminobenzidín a jeho soli a deriváty, guanidinbenzoovou kyselinu

a její soli a deriváty, včetně polymerových derivátů, alkylhydroxamové kyseliny a příslušné soli a deriváty, fosforamidát a jeho deriváty, ve vodě rozpustné soli kovů, zinečnaté soli nasycených a nenasycených monokarboxylových kyselin, glyceroltriestery mastných kyselin, jako např. triacetin, kopolymery propylenoxidu a ethylenoxidu, chlorhexidin, cholestyramin, akarbosa, voglibosa, miglitol, emiglitát, kamiglibosa, pradimicin Q, salbostatin, tendamistat, trestatiny, inhibitory rostlinného původu, především z pšenice, rýže, kukuřice, ječmene a jiných obilných zrn, fazolí a mořských řas, tetrahydrolipstatin, lipstatin, valilakton, esterastin, ebelakton A a B, 1,6-di(O-(karbamoyl)cyklohexanon-oxim)hexan a jejich směsi.

13. Způsob pro snížení enzymatické aktivity enzymů stolice na části kůže uživatele absorpčního prostředku obsahující tyto kroky (i) vytvoření absorpčního prostředku, jehož nejméně část obsahuje dermatologickou složku s inhibitorem enzymu a (ii) přenesení části dermatologické složky na kůži uživatele během nošení prostředku.

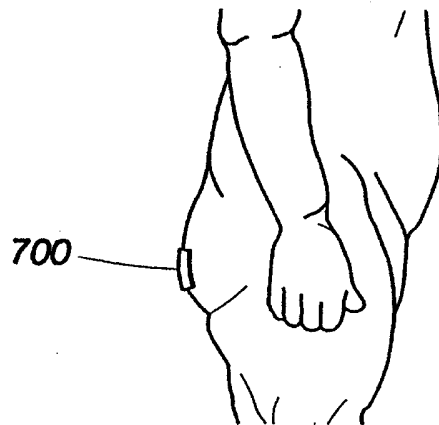
04.12.00

2000-1301

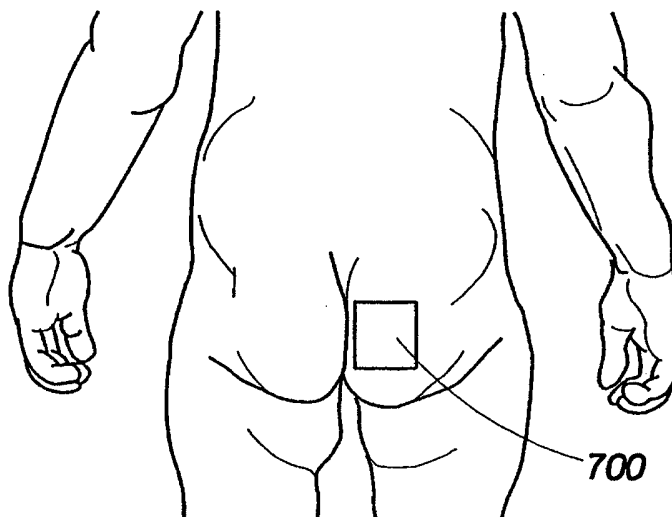


Obr. 1

2/2



Obr. 2A



Obr. 2B