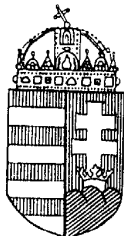


(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

203 039 B

(22) Bejelentés napja: 1988.04.08.

(21) 2813/88

(33) FR

(32) 1987.04.10.

(31) 87/05088

(86) PCT/FR88/00173

(87) WO 88/07856

(51) Int Cl⁵

A 61 K31/085

(41) (42) Közzététel napja: 1989.12.28.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma

a Szabadalmi Közlönyben: 1991.05.28. SZKV/1991.05.

(72) Feltaláló:

Marcel Georges, Párizs (FR)

(73) Szabadalmas:

Roussel Uclaf, Párizs (FR)

(54) ELJÁRÁS BUTIL-HIDROXI-ANIZOL-TARTALMÚ, RETROVÍRUS-BETEGSÉGEK ELLENI GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás butil-hidroxi-anizol-tartalmú, retrovírus-betegségek elleni gyógyszerkészítmények előállítására. A találmány szerinti gyógyszerkészítmények hatóanyaga meggátolja, hogy a retrovírus burka a sejtreceptorok membrán-

ján megtapadjon. A hatóanyag nagyon alacsony toxicitást mutat, így alkalmas retrovírusok által okozott betegségek, például AIDS megelőzésére és gyógyítására.

A leírás terjedelme: 4 oldal, ábra nélkül

HU 203 039 B

A találmány tárgya eljárás butil-hidroxi-anizol-tartalmú, retrovírus-betegségek elleni gyógyszerkészítmények előállítására.

A találmány szerinti eljárással előállított gyógyszerkészítmények az (I) jelű butil-hidroxi-anizolatot tartalmazzák, különösen a terc-butil-hidroxi-anizolatot, úgymint a (II) jelű 3-terc-butil-4-hidroxi-anizolt, a (III) jelű 2-terc-butil-4-hidroxi-anizolt vagy azok (IV) jelű keverékét, különböző tömegarányban, mely utóbbit gyakran B.H.A. jellel említik. A találmány szerinti eljárással előállított, (I) jelű vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények a retrovírusok által okozott betegségek, például az AIDS kezelésére alkalmazhatók, megelőző vagy gyógyító kezelés formájában.

Az (I) jelű vegyületek és ezek sói, például az alkálifémsói régóta ismert vegyületek. (l. 2 459 540. és 2 470 902. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírások). A (II) és (III) jelű vegyületek és ezek elegye, különösen a (IV) jelű, B.H.A. előnyös antioxidáns tulajdonságokkal rendelkezik, továbbá szénhidrogén okozta rákos megbetegedések kezelésére alkalmasak, emberre és állatra nézve alacsony toxicitás mellett (C.A. 77 97536). Ezekkel a vegyületekkel végzett kísérletek azt mutatták, hogy orális adagolásnál rézuszmajmok számára 500 mg/kg naponta egy hónapig, cynomolgus majmok esetén 400 mg/kg naponta három hónapig, sertések esetén 400 mg/kg naponta négy hónapig és vadászkutyák esetén 220 mg/kg naponta 6 hónapig semmi káros hatást nem mutatott. Ezért ezeket a vegyületeket, mint például a B.H.A-t széleskörben használják élelmiszerekben és takarmányokban étkezési zsíradékok és olajok és sok más élelmiszer konzerválására. Gyógyhatású vegyületek gyártásakor szintén alkalmazzák konzerválószerként.

A C.A. 85 87941. irodalmi cikk szerint a butil-hidroxi-anizolok a PM2 és 9⁶ baktérium-vírusokat inaktíválják. A találmány szerinti felismerés azonban az, hogy az előző vírusoktól eltérő felépítésű, azaz burokkal rendelkező retrovírusok hatásmechanizmusának első lépését, a tapadást gátolják ezek a vegyületek. Ez viszont nem lehetett kézenfekvő a fenti két vírus teljesen más szerkezetének és más módon történő hatásának ismeretéből.

Ismeretes ugyanis, hogy a retrovírusok, amelyekhez az AIDS-vírus (HIV vagy HTLV III vagy LAV) is tartozik, burokkal rendelkező vírusok. Jelenlegi ismereteink szerint úgy tűnik, hogy az AIDS-vírus a következő kétlépéses mechanizmus következtében patogén:

– az első lépésben a retrovírus burka a sejtek, mint a T4 limfociták membrán receptorán megtapad;

– a második lépésben a retrovírus bejut a sejtbe, és a reverz transzkriptáz eredményeképpen RNS-e átíródik DNS-sé, amely a fertőzött sejt genomjába integrálódik, amely ennek következtében alkalmasá válik a vírus sokszorozására.

Az AIDS-re vonatkozó terápiás kísérletek mindaddig a fent ismertetett mechanizmusnak, főleg a második lépésére vonatkoztak, ahol a reverz transzkriptáz vagy más, a nukleinsavak replikációjában, átírásában és transzlációjában résztvevő enzimek gátlását használták ki.

Az AIDS retrovírus feltételezett hatásmechanizmusának első lépését eddig még nem tanulmányozták részletesen.

Az AIDS profilaktikus és/vagy gyógyító terápiájának kidolgozása során a fenti mechanizmusnak az első lépését tanulmányoztuk, azaz a vírus burkának a sejtreceptoron történő megtapadását, ennek mechanizmusát, ennek biokémiai szubsztrátját és ennek módosítási lehetőségét.

A buroknak a fontosságát a megfelelő transzkripció egység (vagy gén, vagy „nyitott leolvasási keret” = orf) mérete igazolja. A HIV legalább hat orffel rendelkezik: a legterjedelmesebb (vagy „pol”) a reverz transzkriptázi kódolja, a következő legterjedelmesebb (vagy „env”) a prekursor glikoproteint (g Pr 160) kódolja, amely külső glikoproteinné (gp 120) és transzmembrán glikoproteinné (gp 41) hasad, ahol a prekursor glikoprotein szokatlan mérettel rendelkezik.

Úgy találtuk, hogy az (I) jelű vegyületek különleges és meglepő módon megszüntetik, csökkentik vagy módosítják az AIDS-vírus fertőzőképességét. Ez a hatás valószínűleg annak tulajdonítható, hogy a retrovírus burka megváltozik, és így ezek a vegyületek a fent ismertetett mechanizmus első lépésében hatnak.

Hasonló hatást feltételeznek a 2,6-di(terc-butil)-4-metil-fenollal vagy BHT-vel kapcsolatban, ez azonban munkahipotézis. A BHA-val és BHT-vel folytatott, különösen az utóbbival folytatott tanulmányok, amelyeket a nem-retrovírusok közé tartozó vírusokon folytattak, potenciális alkalmazhatóságra utaltak. Ezután a BHT-t csirkék Newcastle betegségének megelőzésére és a herpesz gyógyító kezelésére alkalmazták, az eredmények azonban csalódást okoztak (Snipes, Person, Keith, Cupp, Science (1975), 187, 64; Wanda, Cupp, Snipes és munkatársai, Antimicrobial Agents and Chemotherapy (1976), vol. 10, 96. old.; Burgh M. Science (1977); vol. 197, 1291–1292. old.; Frceman D.F., Wenerstrom G., Spruance S.L. Clin. Pharmacol. Therap. (1985), vol. 38, 56–59. old.).

A találmány tehát az (I) jelű vegyületek vírusellenes és/vagy fertőzésellenes vagy antiszeptikus szerként való felhasználására vonatkozik.

Az (I) jelű vegyületek, különösen a (II) jelű vegyületek vírusellenes aktivitását HIV-vírusokon igazoltuk, amelyek olyan sejttenyészet felülréséből származnak, amely sejtek folyamatosan termelik ezt a vírust. A kísérleteket a későbbiekben ismertetjük.

Az (I) jelű vegyületek vírusellenes és/vagy fertőzésellenes tulajdonságaik, valamint emberre nézve biztonságosságuk következtében gyógyszerkészítmények hatóanyagaként alkalmazhatók, például retrovírusok által okozott betegségek, különösen az AIDS megelőző és gyógyító kezelésére. Ezek a gyógyszerkészítmények, amelyek hatóanyagként az (I) jelű vegyületeket, mint például a (II) jelű vegyületet, vagy az (I) jelű vegyületek keverékét tartalmazzák, továbbá farmakológiailag elfogadható inert hordozóanyagokat tartalmaznak, szokásos módszerekkel állíthatók elő.

A szokásos farmakológiai formák közül, amelyek a legjobb profilaktikus kezelést biztosítják, megem-

lítendők például a krémek, kenőcsök, gélek, lemosószerek, porok, emulziók és aeroszolok. Ez utóbbiak közül különösen ajánlatosak a megfelelő eszközbe csomagolt genitális aeroszolok, orális aeroszolok és hüvelygélek. Ezekben a készítményekben előnyösen valamely viszkózus hordozóanyagot alkalmazunk, amely biztosítja, hogy a hatóanyag a fertőzés potenciális helyén megtapadjon.

Ilyen hordozóanyagok például:

(A) Növényi eredetű, semleges olajok, amelyek 8–12 szénatomos telített zsírsavak trigliceridjei, kalciumionokkal vagy azok nélkül;

(B) 0,1–0,2% cellulózészter tartalmazó 90–97%-os etanol, kalciumionokkal vagy azok nélkül.

A készítményekben az (I) jelű vegyületek dózisa az alkalmazás formájától függ. Előnyösen 0,01 és 1% közötti, különösen előnyösen 0,02% körüli. A hatóanyag napi dózisa a kezelendő személytől függ, clónyosan kb. 30 mg, amely például orális aeroszol esetén kb. 30 fecskendezésnek felel meg.

Tekintettel arra, hogy az (I) jelű vegyületek, mint a (II) és (IV) jelű vegyületek teljesen inaktíválják a HIV I vírus fertőzőképességét, továbbá biztonságosak és könnyen kezelhetők, amit a toxikológiai és farmakinetikus kísérletek igazolnak, az (I) jelű vegyületek, és különösen a (II) jelű vegyületek alkalmasak a HIV I vírusok és rokon vírusok által okozott fertőzések gyógyító kezelésére. A gyógyító kezelés alkalmazható egyszerű szeropozitív esetek esetén, ARC (AIDS-szel kapcsolatos komplex) tünetek esetén különösen a (II) jelű vegyületek alkalmazhatók orálisan vagy parenterálisan, különösen lassú intravénás úton.

A dózis az alkalmazás módjától, a kezelés körülményeitől és a kezelendő betegről függ. Így például 50 és 100 mg/kg/nap orális és 1 és 10 mg/kg/nap parenterális dózist alkalmazhatunk.

Az említett vegyületek, mint például a (II) jelű vegyületek alkalmazhatók önmagukban vagy keverve.

Az (I) jelű vegyületek kapcsán bemutatott, az AIDS-ért felelős vírusok fertőzőképességére ható tulajdonságok alkalmassá teszik ezeket a vegyületeket, különösen a (II) és (IV) jelű vegyületeket AIDS elleni vakcinák előállítására. Ilyen esetben az (I) jelű vegyületek olyan szerként hatnak, amelyek módosítják az AIDS retrovírus fertőzőképességét, miáltal nem semmisítik meg annak fizikai és antigén tulajdonságait. Ezen hatás eredményeképpen lehetőségessé válik, hogy a retrovírust attenuált fertőzőképességet, de megtartott antigenitást mutató formába hozzuk, így vakcina alapanyagként alkalmazható.

Hasonlóképpen, az (I) jelű vegyületek tulajdonságai, különösen fertőzésellenes és/vagy antiszeptikus tulajdonságai következtében ezek a vegyületek alkalmasak a fertőzésellenes és/vagy antiszeptikus termékek, valamint kompozíciók előállítására. Ezek a készítmények alkalmazhatók retrovírusok, mint például AIDS-vírus helyi leküzdésére. Ilyen kompozíciók humán alkalmazásra szánva, tekintettel ezek formájára és céljára nem tekintendők gyógyszerkészítményeknek. Ilyen formák például különösen a rágógumi, a jakkenőcs, szappan, testápoló, zuhanyozószel és szájöblítőszel. Ezek a ké-

szítmények a szokásos módszerekkel állíthatók elő.

Az (I) jelű vegyületek fertőzésellenes és/vagy antiszeptikus tulajdonságai következtében alkalmazhatók AIDS-vírusal fertőzött tárgyak vagy épületek és helyiségek kezelésére is. E célra alkalmazhatók például az aeroszolok, viaszok és bevonószerek. A találmány szerinti eljárást a következő példákkal szemléltetjük közelebbről a korlátozás szándéka nélkül.

1. Példa

3-Terc-butil-4-hidroxi-anizolból 0,5 mól/l-es koncentrációjú törzsoldatot készítettünk 95%-os etanollal, amelyet 10% szarvasmarha-embrió szérumot, 10% interleukin-II-t és humán antiinterferon szérumot tartalmazó RPMI 1640 tápközegen ellenőriztünk.

Megállapítottuk, hogy a vegyület 10^{-5} – 10^{-3} mól/l koncentrációban nem toxikus T-limfocitákra nézve közvetlenül vagy mosás után.

10^5 cpm/ml-nél nagyobb reverz transzkriptáz aktivitási titerrel rendelkező, HIV-vírust folyamatosan termelő sejtenyészet feljülűszojából származó HIV-vírusokat 37°C -on, 10^{-5} – 10^{-3} mól/l koncentrációjú (II) jelű vegyület jelenlétében 5, 10, 30 és 60 percig inkubáltunk, majd olyan normál donor T-limfocitáival hoztuk érintkezésbe, amelyet három napig PHA-P-vel stimuláltunk, majd IL-II-t és antihumán interferon szérumot tartalmazó tápközegben tenyésztettük. Ezeknek a tenyészeteknek a fertőzőképességét a vírustermék (reverz transzkriptáz aktivitás) alapján határoztuk meg a fertőzött T-sejtek tenyészetének feljülűszojából, minden sejtpasszázsából (három vagy négy naponként) egy hónapig.

A HIV-vírusok fertőzőképessége a kezeletlen kontrollban, illetve a 10^{-3} vagy 10^{-4} mól/l koncentrációjú (II) jelű vegyülettel kezelt tenyészetekben fennmarad, de 10^{-3} mól/l végső koncentrációnál eltűnik.

Ennél a koncentrációnál tehát 30 perc minimális inkubálási idő után, a fénytől elzárva és 37°C -on inkubálva a (II) vegyület teljesen inaktíválja az AIDS-vírus fertőzőképességét.

2,6-Di(terc-butil)-4-metil-fenollal (vagy BHT-vel) végzett összehasonlító kísérletek D+4-nél a következő eredményeket adták:

(II) jelű vegyület: 355

(BHT) 113624

(a számadatok a reverz transzkriptáz aktivitást jelentik, azaz a vírus termékét cpm/ml értékben kifejezve). Látható az is, hogy az AIDS-ellenes aktivitás a közvetlen rokon származékokban nincsen jelen.

2. Példa

Genitális aeroszol

A genitális aeroszol a (II) jelű vegyület 10^{-3} mól/l-es oldata az előzőekben ismertetett (A) vagy (B) típusú hordozóanyagban.

Ez a viszkózus oldat arra szolgál, hogy a könnyen fertőző genitális területeket befedje. Egy permetezés 5 ml oldatot jelent, amely 0,9 mg hatóanyaggal egyenértékű. Így napi 30 permetezéssel az elfogadható maximális orális dózist nem haladjuk meg.

3. Példa

Orális aeroszol

Az orális aeroszol a (II) jelű vegyület 10^{-3} mól/l koncentrációjú mentolos oldata (A) vagy (B) típusú hordozóanyagban.

Ez a viszkozus oldat arra szolgál, hogy a belső nyálkahártyát beborítsa. Egy permetezés szintén 5 ml-t jelent, amely 0,9 mg hatóanyaggal egyenértékű.

4. Példa

Vaginális gél aplikátorral

A vaginális gél a (II) jelű vegyület 10^{-3} mól/l koncentrációjú gélijéből áll, amely arra szolgál, hogy a vaginális nyálkahártyát befedje. Az egységdózis 5

ml, amely 0,9 mg hatóanyagnak felel meg.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

5

1. Eljárás hatóanyagként butil-hidroxi-anizolt tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az ismert módon előállított hatóanyagot a gyógyszerkészítésben szokásos hordozó- és/vagy vívóanyagokkal és adott esetben segédanyagokkal összekeverve retrovírus betegségek elleni gyógyszerkészítménnyé alakítunk.

10

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a hatóanyagokat AIDS vírus elleni gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.

15

Kiadja: Országos Találmányi Hivatal, Budapest
Felelős kiadó: dr. Szvoboda Gabriella

KÓDEX