

A fankinon (4,7-fenantrolin-5,6-dion ($C_{12}H_6N_2O_2$))

alkalmazása az Alzheimer-kór kezelésében^{re}

alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására és ezt
tartalmazó készítmény

K I V O N A T

A jelen találmány tárgya a fankinon alkalmazása az Alzheimer-kór kezelésére, illetve megelőzésére alkalmas gyógyszerkészítmény előállítására. A találmány tárgya továbbá egy gyógyszerészeti készítmény, amely fankinont, és egy, az antioxidánsokból, acetilkolin fokozókból, fém-nyomelemekből, prosztetikus csoportokból és/vagy kliokinolból álló más vegyületet, vagy vegyületek keverékét tartalmazza, feltéve, hogy amennyiben kliokinolt is tartalmaz, legalább egy másik vegyületet is kell alkalmazni a fenti csoportból.

~~A találmány vonatkozik az Alzheimer-kórban szenvedő, vagy feltételezetten Alzheimer-kóros személyek kezelési eljárására is, ideértve az Alzheimer-kór kezeléshez, illetve megelőzéshez szükséges fankinon adagolását is.~~

Jellemző képlet nincs.

Dr. István Kóka

P00 4331

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

14.3.77

A2

Képviselő:

Danubia

Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.

B u d a p e s t

A fankinon (4,7-fenantrolin-5,6-dion ($C_{12}H_6N_2O_2$))

alkalmazása az Alzheimer-kór kezelésében *alkalmas*
gyógyszerkészítmények előállítására és ezt tartalmazó
kombinált gyógyszerkészítmény

A jelen találmány egy ismert vegyületnek az Alzheimer-kór kezelésére és megelőzésére alkalmas gyógyszerkészítmény előállítására való alkalmazására vonatkozik. A találmány tárgyát képzí továbbá a fent említett kezelésre vagy megelőzésre alkalmas gyógyszerészeti készítmény. A találmány az Alzheimer-kór kezelésére, vagy megelőzésére vonatkozó eljárásokra is irányul.

Az Alzheimer-kór, amely az egyetlen oka a felnőtteknél tapasztalható dementiának az ipari társadalmakban, egy degeneratív agyi rendellenesség, amely klinikailag a folyamatos memóriacsökkenéssel, zavartsággal, dementiával, végső stádiumban pedig halállal jellemezhető. Szövettanilag, az Alzheimer-kórt két sérülés megléte jellemzi a neocortexben, különösen az agyvelőkampóban: a páros spirális idegvégződés-

Aktaszámunk: 91531-3086/MOI

seknek neurofibrilláris összecsavarodása a idegsejtekben és az időskori plakk (fehérje kicsapódás) jelenléte a sejtközzötti állományban. Az időskori plakk képződése összefüggésben áll a betegség tüneteinek megjelenésével, ideértve az amnéziát is. Az időskori plakk képződését követően neurofibrilláris csomók jelennek meg az idegtestekben. Az időskori plakk megjelenése összefügg az amnézia, valamint a dementia egyéb tüneteinek súlyosbodásával.

Az időskori plakk fő összetevőit az amiloid-lerakódások jelentik. A szürkehályog gyakran egyszerre jelentkezik az Alzheimer-kórral. Előbbi a szemeken jelenik meg és amiloid-maradványok okozzák. Ezért az Alzheimer-kórban szenvedő betegeknek, jelen leírásban és igénypontokban meghatározott kezelése egyaránt alkalmazható lehet a szürkehályog kezelésére is. A jelen leírásban és igénypontokban használt Alzheimer-kór kifejezés ezért magában foglalja a szürkehályogot is.

Az amiloid-maradványok fő összetevője egy polipeptid, amelyet e helyen amiloid bétának nevezünk (A β). Normális esetben az A β a gerincvelői folyadékban levő oldható összetevő, koncentrációja körülbelül 3-5 nM. Az A β 39-43, érett formájában tipikusan 40 aminosavból áll, mint fehérjebontási kötéshasadási termék, amely egy sejtfelületi, amiloid prekursor protein (APP) nevű fehérjéből képződik (Kang et al. 1987, Nature 325: 733-736).

Több tanulmány kimutatta, hogy az A β in vitro körülmények között mérgező hatású, ha közvetlenül idegsejt-tenyészethez adják (Yankner 15 BA, Duffy LK, Kirschner DA, Science 1990,

250 (4978): 279-282; Koh JY, Yang LL, Cotman CW, Brain Res 1990, 533 (2): 315-320; and Pike CJ, Burdick D, Walencewicz AJ, Glabe CG, Cotman CW, J. Neurosci 1993, 13(4):1676-1687).

Az A β neurotoxikus hatású részlete a peptidszekvencián belül a 25. és a 35. aminosav maradékok között helyezkedik el (A β (25-35)). Az A β (25-35) ugyanolyan erős sejtméregnek bizonyul, mint az A β (1-40) teljes hosszában (Yankner BA, Duffy LK, Kirschner DA, Science 1990, 250 (4978): 279-282). Az A β normális funkciója jelenleg még nem ismert, de lehetséges, hogy szerepe a sejthártyán keresztül kation-szelektív csatornák létrehozása (Kawahara M. et al., 1997, Biophysical Journal 73/1, 67-75).

A szintetikus A β kicsapódását előidézhetik különböző, a környezetből jövő hatások, az alacsony pH, a magas sókoncentráció és fémek jelenléte, például cink, réz, vagy higany (Bush, A.I. et al., 1995, Science 268: 1921-1923). Kimutatták, hogy 1 : 1 -es mólarányú cink-A β elegyben az A β molekulák specifikusan, telíthető erős kémiai kötést létesítenek a cinkkel (cink-A β) (K_D = 107 nm) (Bush, A.I. et al., 1994, J. Biol. Chem. 269: 12052-12158). Ez a kötés jön létre a cink fiziológiás koncentrációja esetén (Bush, A.I. et al., 1994, Science 265: 1464-1467).

Alappal feltételezhető, hogy az amiloid-maradványok eltávolítása a betegek szervezetéből enyhíti az Alzheimer-kór tüneteit. Ezért az Alzheimer-kór gyógyítására alkalmas módszerek keresése során több kísérletet tettek arra, hogy ilyen gyógyszert állítsanak elő.

A WO 93/10459. számú nemzetközi közzétételi iratban leírnak egy módszert az Alzheimer-kór kezelésére, cinkmegkötő szer adagolásával. Előnyös vegyületekként a fitolsavat (1, 2, 3, 4, 5, 6-ciklohexán-hexafoszforsav), a deferrioximint, a nátrium-citrátot, az EDTA-t, a 1,2-dietil-3-hidroxipiridin-4-ont, és a 1-hidroxietil-3-hidroxil-2-metilpiridin-4-ont említik.

A DE 39 32 338-as számú német szabadalmi bejelentés szerint egy olyan alumínium kelát, mint például a 8-hidroxikinolin, alkalmas az Alzheimer-kór kezelésére.

Az 5 373 021-es számú USA szabadalmi leírás a diszulfiram ($C_{10}H_{20}N_2S_4$) és annak sói, valamint analógjai alkalmazását írja le. E szabadalmi leírás szerint a fenti vegyületek alkalmasak lehetnek az Alzheimer-kór által okozott idegrendszeri károsodás csökkentésére.

A WO 98/06403 számú nemzetközi közzétételi irat az 5-klór-8-hidroxil-7-jód-kinolinnak (C_9H_5ClINO , a továbbiakban kliokinol) az Alzheimer-kór kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmény gyártásához való felhasználását írja le.

Az eddig ismert, az Alzheimer-kór kezelésére alkalmas vegyületeknek számos hátrányos tulajdonsága van, ami megakadályozta széleskörű felhasználásukat. A legtöbb vegyület nem képes áthatolni a vér-agy-gáton, ezért nem tudja elérni azokat a területeket, ahol az amiloid lerakódott. A diszulfiramnak, amely képes áthatolni a vér-agy-gáton, megvan az a hátrányos tulajdonsága, hogy etil-alkohol együttes fogyasztása esetén heves ellenreakciókat vált ki, mint fejfájás, émelygés, hányás, verejtékezés, szomjúság, gyengeség,

illetve alacsony vérnyomás. A kliokinolnak, amely szintén képes áthatolni a vér-agy-gáton, az a hátránya, hogy mellékhatásként szubakut myelo-optico-neuropátiát (SMON-kórt) okoz.

A fankinont (4,7-fenantrolin-5,6-dion) eddig különböző rendellenességek kezelése során alkalmazták, például amőbás dysenteria esetében. A fankinont a Ciba-Geigy ENTOBEX név alatt forgalmazta. A kliokinollal ellentétben a fankinonnál normál dózisú adagolás mellett nem találtak kedvezőtlen mellékhatást.

A múltban az amőbás dysenteria kezelésére kliokinolt és fankinont egyaránt tartalmazó gyógyszerkészítményt hozott a Ciba-Geigy forgalomba Mexafor néven. E készítmény forgalmazását azonban leállították, amikor a kliokinol SMON-kórt okozó hatását észlelték.

A találmány leírása

A jelen találmány tárgya egy ismert vegyület új alkalmazása az Alzheimer-kór kezelésében, vagy megelőzésében. A találmány másik tárgya biztosítani az Alzheimer-kór hatékonyabb kezelését. További tárgy a kezelés, vagy megelőzés káros mellékhatásainak kiküszöbölése.

A jelen találmány tárgya a fankinon alkalmazása az Alzheimer-kór kezelésére, illetve megelőzésére alkalmas gyógyszerkészítmény előállítására.

A fankinon az Alzheimer-kór kezeléséhez, illetve megelőzéséhez szükséges bármely mennyiségben adagolható. A fankinont lehetőség szerint 5-250 mg közötti mennyiségben

kell alkalmazni naponta, a leginkább kedvezményezett a 10-50 mg közötti mennyiség, napi egy-három alkalomra.

A találmány egyik megvalósítási formája szerint egy vegyületet, vagy vegyületek keverékét, mégpedig antioxidánsokat, acetilkolin fokozókat, fém-nyomelemeket, prosztetikus csoportokat és/vagy kliokinolt adagolnak a fankinon adagolását megelőzően, azzal együtt, vagy azt követően.

A találmány gyógyszerészeti készítményre is vonatkozik, amely fankinont, és egy, az antioxidánsokból, acetilkolin fokozókból, fém-nyomelemekből, prosztetikus csoportokból és/vagy kliokinolból álló más vegyületet, vagy vegyületek keverékét tartalmazza, feltéve, hogy amennyiben kliokinolt is tartalmaz, legalább egy másik vegyületet is kell alkalmazni a fenti csoportból.

Antioxidánsként előnyösen C vitamint, E vitamint, Q10 vitamint illetőleg ezek keverékét alkalmaznak. Acetilkolin fokozóként előnyösen a $\mu 1$ agonisták, vagy antikolin-észteráz inhibitorok alkalmazhatók. Megfelelő acetilkolin-észteráz inhibitorok a takrin (márkanév: Cognex), és a donepezil (márkanév: Aricept). Előnyös prosztetikus csoport a B_{12} vitamin.

A találmány egyik előnyös megjelenési formájában a fankinont és a kliokinolt használjuk az Alzheimer-kór kezelésére, illetve megelőzésére alkalmas gyógyszerkészítmény gyártásához. Előnyösen fankinont, kliokinolt és B_{12} vitamint használunk a készítmény előállítására.

A készítmény orális, parenterális és intradermális adagolásra egyaránt kiszerezhető. Sőt, a gyógyszerészeti ki-

szerelés megvalósítható egyetlen gyógyszerkészítmény formájában, illetve két vagy több különálló gyógyszerészeti entitás formájában, egymás utáni, vagy egyidejű adagolásra.

A találmány vonatkozik az Alzheimer-kórban szenvedő, vagy feltételezetten Alzheimer-kóros személyek kezelési eljárására is, ideértve az Alzheimer-kór kezeléshez, illetve megelőzéshez szükséges fankinon adagolását is.

Az ábrák rövid leírása

Az 1. ábra a fankinonnak, PC12 sejtekben az A β (25-35)-re gyakorolt dózis-válasz hatását írja le.

A 2. ábra a fankinonnak a PC12 sejtekben az A β (25-35) által indukált toxicitására gyakorolt hatását írja le.

A 3. ábra a fankinonnak, illetve a kliokinolnak a Zn²⁺-indukált A β -aggregációra gyakorolt hatását írja le.

A 4. ábra a kliokinolnak és a fankinonnak a Cu²⁺-indukált A β -aggregációra gyakorolt hatását írja le.

Az 5. ábra három oldat NMR spektrumát írja le. Az „a” oldat B₁₂ vitamint (hidroxi-kobaltamin) tartalmazott, 2,6 mM koncentrációban. A „b” oldat 2,6 mM-os B₁₂ vitamin, és 10 mM-os kliokinol-glükuronid elegyét tartalmazta (mólarány: kb. 1 : 4). A „c” oldat 10 mM-os kliokinol-glükuronidot tartalmazott.

A 6. ábra az 5. ábrának a rezonancia pozíciók könnyebb összehasonlítása érdekében kiszélesített jobb felét mutatja be.

A 7. ábra az 5. ábrának a rezonancia pozíciók könnyebb összehasonlítása érdekében kiszélesített bal felét mutatja be.

A találmány részletes leírása

A piacon érzékelhető az igény olyan gyógyszer bevezetése iránt, amely hatékonynak bizonyul az Alzheimer-kór gyógykezelésében, illetve megelőzésében. Jelen szabadalom egy ismert gyógyszert, a fankinont ismerteti e célra.

A példák tanúsága szerint a PC12 sejtekben jelenlevő A β (25-35) kifejezett hatással rendelkezik a sejtek redox-aktivitására. A 2. példában használt módszerrel az 1 μ M A β (25-35)-tel kezelt sejtek redox-aktivitása a normál értékhez képest 60 %-kal csökkent (lásd 2. ábra, üres pontok). Amennyiben azonban az A β (25-35)-tel kezelt sejteket 1 μ g/ml, vagy ennél nagyobb koncentrációjú fankinonnal kezelték, a redox aktivitás helyreállt. Ez azt jelenti, hogy a fankinon, amennyiben emlősökön (illetve emberen) alkalmazták, enyhíti az A β jelenlétével fellépő ellenreakciókat.

Bár nem cél a jelen találmányt egy specifikus reakció mechanizmusra korlátozni, pillanatnyilag feltételezhető, hogy a fankinon antioxidáns hatása az, amely a A β -nak a sejtek redox-aktivitására gyakorolt hatását megakadályozza.

A fankinon antioxidáns hatása növelhető további antioxidánsok, mint C-vitamin, E vitamin, Q10 vitamin, illetve ezek kombinációjának hozzáadásával.

Az időskori plakk jelenléte a sejtközzötti állományban megakadályozhatja, illetve gátolhatja az ingerület-átvitelt a

cholinergikus idegrendszerben. Az idegrendszer működése a közvetítő acetilkolinról függ. Éppen ezért, azok a vegyületek, amelyek növelik az acetilkolin mennyiségét, például azok a vegyületek, amelyek az acetilkolin normális, az acetilkolin-észteráz általi hidrolízisét akadályozzák, az úgynevezett antikolinészteráz inhibitorok, a fankinonnal együttesen alkalmazva növelik a kezelés hatékonyságát. Előnyös antikolinészterázok a taktrin és a donepezil.

Egy, a példákban hivatkozott tanulmányban kimutatták, hogy a fankinon képes csökkenteni az A β (10-40)-nek, a Cu²⁺, illetve a Zn²⁺ hatására kiváltott aggregációját.

A következő, feltételezett reakciómechanizmus leírásának nem célja, hogy a találmány pusztán az említett mechanizmusra szorítkozzék. Jelen pillanatban a bejelentő feltételezi, hogy a fankinon és a A β kompetitíven kelátot képez a cinkkel, a rézzel, illetve egyéb nehézfémekkel. A fankinon képes áthatolni a vér-agy-gáton. Amikor a fankinon megkötött egy nehézfém iont a sejtközüti állományban, a komplex a véráramba kerül és kiürül a szervezetből. Mivel az A β aggregátum, vagy só és a nehézfém ion egyensúlyban van a szabad A β -val, illetve a szabad nehézfém ionokkal, a fankinon folytathatja a szabad nehézfém ionok megkötését és a véráramba szállítását, addig, amíg az aggregált A β - tehát az amiloid - jelen van a szervezetben. A szabad A β nem tud áthatolni a vér-agy-gáton passzív diffúzióval, ehelyett a sejtközüti állományban jelenlévő fehérjebontó enzimek segítségével lebontódik. Ennek megfelelően a szabad A β , illetve annak károsító része ezen a helyen károsítja az ideg-

sejteket mindaddig, míg le nem bomlik nem toxikus méretre. Ezalatt fankinon megakadályozza, illetve lelassítja az A β potenciálisan citotoxikus hatását, azáltal, hogy megakadályozza a redox aktivitásnak a A β által egyébként okozott csökkenését.

Az aggregáció csökkenése a fankinon hatására a Cu²⁺ esetében 50-60 %, a Zn²⁺-nál pedig 10 %. Kimutatták továbbá, hogy a cliokinol az ezzel ellentétes hatást váltja ki. A cliokinol több, mint 60 %-kal csökkenti az A β (1-40)-nek a Zn²⁺ által kiváltott aggregációját, a Cu²⁺ hatására történő aggregáció esetében ez az érték közelítőleg 30 %. Más szavakkal, a fankinon leginkább a Cu²⁺-indukált A β (1-40) aggregációt csökkenti, míg a cliokinol ugyanezt a hatást a Zn²⁺-indukált aggregátumok esetében fejti ki.

Mivel mind a Cu²⁺, mind a Zn²⁺ természetszerűleg jelen van az Alzheimer-kórban szenvedő, vagy feltételezetten Alzheimer-kóros beteg szervezetében, kívánatos csökkenteni, vagy újra oldhatóvá tenni mindkét ion hatására létrejövő aggregátumokat. Ezért előnyös lehet a cliokinolnak a fankinont megelőző, azzal együttes, illetve azt követő alkalmazása.

A cliokinol alkalmazása mindazonáltal problematikus, mivel az SMON-kórt okozó mellékhatással bír. Korábbi tanulmányok (lásd: WO 98/06403) felhívják a figyelmet a cliokinolnak a B₁₂ vitaminra gyakorolt lehetséges hatására.

Ismert, hogy a cliokinolt a vese választja ki, glükuronid, vagy szulfát származékok formájában (Kotaki H., et al.: Enterohepatic circulation of clioquinol in the rat, J.

Pharmacobiodyn. 1984 June; 7(6): 420-5 and Jurima M. et al.: Metabolism of ^{14}C -iodochlorhydroxyquinoline in the dog and the rat, *J. Pharmacobiodyn.* 1984 March; 7(3): 164-70), ilyen például a metil(5-klór-7-jód-kinolil-2', 3', 4'-trisz-O-acetil-glükopiranozid)uronát. A következőkben e vegyületet röviden kliokinol-glükuronid néven említjük. A hidrofób anyagok, mint a kliokinol méregtelenítése a szervezetben mindenekelőtt a májban történik. Ezért a kliokinol kitisztulása a szervezetből feltételezhetően a következőképpen zajlik: a kliokinol kliokinol-glükuroniddá alakul a májban. Képződését követően a vízdékes kliokinol-glükuronid kiválasztása az epébe történik. Az epe a tápcsatornába jut, ahonnan a kliokinol-glükuronid legnagyobb része a széklettel távozik a szervezetből. A kliokinol-glükuronid bizonyos hányada viaszszívódik a tápcsatornából a vérbe. A kliokinol-glükuronidot a vesék választják ki újból a vérből és kerül ezáltal a vizeletbe.

Egereket kliokinollal kezelve, ezt követően pedig radioizotóppal jelzett B_{12} vitamint adagolva (^{57}Co -cianokobaltamin) a WO 98/06403-as számú nemzetközi közzételti irat megállapítja, hogy a B_{12} vitamin koncentrációja a kliokinollal kezelt egerek esetében az agyban és a májban a normális értéken marad, ezzel szemben a radioizotóppal jelzett B_{12} koncentrációja az ilyen egerek veséjében a normális szint alá csökkent. Ez az eredmény arra utal, hogy a B_{12} vitamin lebontása függ a kliokinoltól. Ezenfelül e fenti eredmény arra utal, hogy a vesék tekinthetők azoknak a célszerveknek, ahol a kliokinol-függő lebontás történik.

Annak érdekében, hogy megvizsgáljuk a kliokinol-glükuronid és a B₁₂ vitamin közötti lehetséges kölcsönhatásokat, egy kísérletet végeztünk, amelyben a kliokinol-glükuronidot és a B₁₂ vitamint vizes közegben elegyítettük. Az elegyet ¹H NMR-rel vizsgáltuk. A 5-7. ábrák alapján ¹H NMR spektrum megmutatja, hogy a B₁₂ vitamin egyes rezonanciavonalai (a benzimidazol csoporthoz rendelhető) eltolódtak és hasonló tapasztalható a kliokinol-glükuronid két rezonanciavonala (a kinolin csoporthoz rendelhető) esetében is. Feltételezzük, hogy hasonló eredmények lennének várhatóak szabad kliokinol alkalmazása esetében is, a kliokinol azonban nem oldható az NMR vizsgálatához szükséges vizes közegben.

Az eredmények arra utalnak, hogy hidrofób kölcsönhatás zajlik a kliokinol-glükuronid és a B₁₂ vitamin között, feltehetően a B₁₂ vitamin benzimidazol része, illetve a kliokinol kinolin részlete reagál.

Kiválasztását követően a B₁₂ vitamin normális esetben aktívan reszorbeálódik a veseplazmából. Ily módon a szervezet nagy részét visszanyeri annak a B₁₂ vitaminnak, amelyet egyébként a vizelettel kiürítene. Újabb vizsgálatok kimutatták, hogy a B₁₂ vitamin reszorpciója a megalin nevű membrán protein közreműködésével történik (Moestrup S.K, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 1996; 93(16): 8612-7). A megalinról kimutatták, hogy erős affinitást mutat a B₁₂ vitamin és a transzkobaltamin nevű transzport protein által képzett komplex megkötésére.

Az itt közzétett új megállapítások szerint, tudniillik, hogy a B₁₂ vitamin kötést létesít a kliokinol-glükuroniddal, feltételezhető, hogy a B₁₂ nem kötődik a megalin proteinhoz, és/vagy a transzkobaltaminhoz, amennyiben a kliokinol-glükuroniddal már kémiai kötést alakított ki. Ezáltal nem valósul meg a B₁₂ reszorpciója, és ha a kliokinol alkalmazását követően bizonyos idő elteltével a szervezet normális étkezés útján nem jut elegendő mennyiségű új vitaminhoz, vitaminhiány lép fel.

Az ember esetében a B₁₂ vitamin egyedüli forrása az étkezés, mivel nem képes szintetizálni azt. Ennek megfelelően a hússzegény étrend, és/vagy a mikroorganizmusok nyilvánvalóan B₁₂ vitaminhiányt okoznak. A túl alacsony B₁₂ vitamintartalmú étrenddel rendelkező személyek esetében a kliokinol alkalmazása csak súlyosbítja a helyzetet, mivel a kliokinolnak a megalinnal való kompetitív kötés létesítése megakadályozza a B₁₂ vitamin reszorpcióját. A tények, hogy a SMON-kór Japán jellegzetessége, illetve a hogy a japán konyha elsősorban zöldségfélékből, illetve gabonafélékből, különösen rizsből áll, (Kromhout D, et al : "Food consumption pattern in the 1960s in seven countries", Am. J. Clin. Nutr. 49: 889-894, 1989) magyarázatot nyújthatnak arra, hogy miért tipikus a SMON-kór Japán területén.

Annak érdekében, hogy kiküszöbölhetőek legyenek a fankinon, és/vagy a kliokinol alkalmazásából eredő mellékhatások, előnyös a fém nyomelemek és/vagy prosztetikus csoportok együttes adagolása. Lehetséges prosztetikus csoport a B₁₂ vitamin (cianokobaltamin).

Példaszerűen, de nem kimerítő jelleggel a jelen találmányban közzétett készítmények, az alkalmazás és a módszerek a következőknek javallottak: 1) azon betegeknek, akik esetében az Alzheimer-kórt megállapították, a betegség bármely stádiumában, 2) azoknak, akiknél a betegség korai, illetve előjelszerű tüneteit észlelték az Alzheimer-kór megelőzése érdekében, 3) a kezdeti tünetek késleltetése érdekében, illetve akiknél az Alzheimer-kór tüneteinek kifejlődése, súlyosbodása tapasztalható. A találmányban leírt módszerek és készítmények hasznosíthatók többek között az Alzheimer-kór kezelésére, az Alzheimer-kór jeleinek és tüneteinek enyhítésekor, az Alzheimer-kór patológiai, illetve laboratóriumi észlelésű jeleinek javítására, az Alzheimer-kór kifejlődésének késleltetésére, a betegség rohamszerű lefolyásának megakadályozására, az Alzheimer-kór bekövetkezésének megakadályozására, illetve az Alzheimer-kór, vagy a Parkinson-kór rohamainak megakadályozására.

A kezelés tárgya, illetve alanya emlős, ezen belül előnyösen az ember, aki mind méhmagzat, mind gyermek, mind pedig felnőtt lehet.

Az A β reszolubilizációjához in vivo szükséges fankinon optimális mértékét a háziorvos határozhatja meg, rutin vizsgálatok elvégzésével. E vizsgálatokra példaként említhető a vízoldékony A β mérése a gerincvelői folyadékban (WO 93/10459, 1993. május 27. Melbourne-i Egyetem). Viszonylag alacsony dózissal (napi 10-25 mg) kezdve, az orvos követni tudja a feloldott A β mennyiségét a beteg gerincvelői folyadékában. Ha nem növekszik a feloldódott A β mennyisége a

fankinon alkalmazásának hatására, az a cink-A β aggregátumok reszolubilizációját jelenti, a dózis tehát növelhető mindaddig, amíg ilyen növekedés be nem következik. A követés egy másik példája a betegség klinikai jeleinek és tüneteinek megfigyelése, klinikai, viselkedéstani és pszichometriai vizsgálatok és mérések alkalmazásával.

A humán alkalmazást megelőzően a gyógykészítmény hatásosságát bizonyítani kell állatokon. Az Alzheimer-kór vizsgálatára bármely, a tudomány által ismert állatkísérleti modell alkalmas.

A jelen találmány szerinti gyógyszerészeti készítmények előnyösen tartalmazznak egy vagy több gyógyszerészetileg megfelelő hordozót (mátrixanyag), és az aktív összetevő(ke)t. A hordozóknak alkalmasnak kell lenniük egyrészt abban az értelemben, hogy az egyéb összetevőkkel kompatibilisek, másrészt nem lehetnek károsak a gyógykezelt személy egészségére. Előnyösen a készítmény tisztított fankinont és egyéb hatóanyagokat tartalmaz.

Értékelendő, ha a fankinon és a kezeléshez, vagy megelőzéshez szükséges egyéb hatóanyagok változtathatók az adagolás módja, a kezelendő rendellenesség, az állapot, az életkor, a betegen előzetesen végrehajtott kezelések, a gyógyszerkészítmény formázása és az egyéb körülményeknek megfelelően. Az Alzheimer-kórban szenvedő beteg kezelése során adagolandó fankinon mennyisége hatékony, ha az A β -aggregátumok oldékonysága megnövekszik a gerincvelői folyadékban.

A készítményben levő, gyógyászatilag hatékony fankinon hatóanyag mennyisége általában 5-250 mg, előnyösen 10-50 mg. A készítményben jelenlevő egyéb vegyületnek vagy vegyületek elegyének: antioxidánsok, μ l agonisták, antikolinészteráz inhibitorok, fém-nyomelemek, prosztetikus csoportok és/vagy kliokinol mennyisége 5 μ g-tól 250 mg-ig, előnyösen 0,5-1 mg-ig terjedhet. Ha kliokinol és B₁₂ vitamin is szerepel a készítményben, akkor a kliokinol előnyösen az Alzheimer-kór kezelése és megelőzése kapcsán fejti ki hatását, míg a B₁₂ vitamin előnyösen a kliokinol alkalmazásának káros mellékhatását gátolja. A kliokinol és a B₁₂ vitamin előnyös mennyisége a kliokinolnál 5-250 mg, a leginkább megfelelő a 10-50 mg, a B₁₂ vitamin esetén 5 μ g-2 mg, illetve 0,5 mg-1 mg.

Az egyes esetekben alkalmazott fankinon és az adott esetben egyébként hozzáadott hatóanyagok, mint a kliokinol és a B₁₂ vitamin mennyiségét az ellenőrzést végző háziorvos határozhatja meg. Ha a gyógyszerkészítmény a fankinonon kívül más hatóanyagokat is tartalmaz, azok lehetnek egyben kisserelt készítményben, az egyidejű adagolás érdekében, de eltérő készítményekben is a lényegében egyidejű, ám elkülönült, illetőleg az egymás utáni adagolás céljából.

A gyógyszerkészítmény kisserelhető parenterális (ezen belül intramuszkuláris és intravénás), orális, végbélen keresztüli (rektális) és intradermális adagoláshoz, bár az orális adagolás előnyös. Ennek megfelelően a gyógyszerkészítmény kisserelhető tablettaként, pirulaként, szirupként, kapszulaként, végbélkúpként, a transzdermális alkalmazásnak

megfelelő formában, porként, utóbbi különösen megfelelő liofilizált por formájában, amelyet intravénás adagolás esetén megfelelően visszaalakítanak.

A hordozó kifejezés a gyógykezelés során alkalmazott oldószerre, hatásjavító, illetve segédanyagra, kötőanyagra, vagy vivőközegre vonatkozik. A gyógyszerkészítményben hordozóként a következők szerepelhetnek: kötőanyag, például mikrokristályos cellulóz, polivinilpirrolidon (polividon, vagy povidon), tragakant mézga, zselatin, keményítő, laktóz, vagy laktóz monohidrát; szétesést elősegítő szer, mint az alginsav, kukoricakeményítő, és az ezeknek megfelelők; síkosítóanyag, illetve felületaktív anyag, mint a magnézium-sztearát, vagy a nátrium-lauril-szulfát; csúszást elősegítő anyag, például kolloid állapotú szilícium-dioxid; édesítőszer, mint a szaharóz, vagy a szaharin; és/vagy ízesítő anyag, mint a borsmenta, metil-szalicilát, vagy narancs ízesítés.

A gyógyszerkészítmény orális alkalmazásának megfelelő ki-szereléseket, így a tablettákat, illetve pirulákat komprimálással, vagy pasztillakészítéssel lehet nyerni, szükség szerint kiegészítve egy-két járulékos komponenssel. A komprimált tabletták az összetevők elegyítésével, ennek az elegynek pedig a kívánt tablettaméret készítésére alkalmas berendezésben történő préselésével készíthetők. A vegyítést megelőzően a fankinon összekeverhető a kötőanyaggal, a síkosítóval, és egy inert oldószerrel és/vagy lazítóanyaggal, továbbá az egyéb jelenlévő összetevők elegyíthetők az

oldószerrel, a síkosító szerrel, és/vagy a felületaktív anyaggal.

Egy előnyös megvalósítási forma szerint az ömleszthető fankinon port a kötőanyaggal, például a mikrokristályos cellulózzal, valamint egy felületaktív anyaggal, mint a nátrium-lauril-szulfáttal addig keverjük, amíg homogén elegyet nem kapunk. Ezután állandó keverés mellett egy másik kötőanyagot, például polividont adagolunk az elegyhez. Miután a rendszer egyenletes eloszlású elegyet képez, állandó keverés mellett B₁₂ vitamint adunk hozzá. Ezt követően a masszát granuláló gépszitán préseljük keresztül és ekszikátorban szárítjuk, mielőtt tablettává préseljük a megfelelő berendezés segítségével.

A második előnyös megvalósítási mód szerint a fankinonport a felületaktív anyaggal és/vagy egy emulgeáló szerrel, például Sapaminnal® (N-(4'-sztearilaminofenil)-trimetilammónium-metilkénsav) és laktóz monohidráttal addig keverjük, amíg homogén eloszlású rendszerhez jutunk. A második készítményt, amely lazítóanyagot, például kukoricakeményítőt tartalmaz, a fankinon keverékhez állandó keverés mellett kell adagolni. Utóbbi preparátum hideg vízben szuszpendált kukoricakeményítőhöz forró víz hozzáadásával nyerhető. A végső keveréket a fent leírt módon kell granulálni és szárítani, kukoricakeményítővel, valamint magnézium-sztearáttal keverni, végül a megfelelő berendezésben tablettává komprimálni.

A tablettá rendelkezhet bevonattal, illetve lehet bevonat nélküli. A bevonat nélküli tablettá metszéssel látható el.

A bevonat lehet cukor, sellak, film, vagy egyéb intestinosolvens (bélben oldódó) bevonóanyag.

A parenterális alkalmazású gyógyszerkészítmények közé a steril oldatok, illetve a hatóanyagok szuszpenziója tartozik. Hordozóként vizes, vagy olajos fázis használható. Ilyen gyógyszerészeti hordozók lehetnek steril folyadékok, mint a víz és a különböző olajok, akár ásványi, vagy állati eredetű, akár növényi, illetve szintetikus olajról van szó, például mogyoróolaj, szójaolaj, ásványi olaj, szezámolaj, illetve a mindezekhez hasonlóak. A parenterális adagolás másik esete olyan, a fankinont és esetleg más hatóanyagot is tartalmazó liofilizált por használata, amelyeket egy gyógyszerészetileg alkalmasnak minősülő hordozóban eloszlatnak (például karboximetil-cellulóz és lauril-szulfát vizes oldata).

Amennyiben a gyógyszerkészítmény kapszula kiszerelésű, az tartalmazhat folyékony hordozót, így például kakaóvaját.

Megfelelő gyógyszerészeti kötőanyagok a következők: keményítő, glükóz, laktóz szaharóz, zselatin, maláta, rizs, liszt, kalcium-karbonát, szilikagél, nátrium-sztearát, glicerin-monosztearát, talkum, nátrium-klorid, szárított tejszín, glicerin, propilén, glikol, víz, etanol, illetve az ezekhez hasonlóak. E készítmények megjelenési formája lehet oldat, szuszpenzió, emulzió, tablettá, pirula, kapszula, por, időben elnyújtott hatóanyag felszabadítású formulák és az ehhez hasonlóak. A készítmény kiszerelhető végbélkúpként hagyományos kötőanyagokkal és hordozókkal, ilyenek például a trigliceridek.

Egy megint más megoldás szerint a gyógyszerkészítmény eljuttatható szabályozott hatóanyag felszabadítású rendszer segítségével is. Az egyik megoldás szerint pumpa alkalmazható (lásd Langer, *supra*; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88: 507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321: 574 (1989)). Másik megvalósítási lehetőség a polimerek alkalmazása (Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23: 61 (1983); see also Levy et al., Science 228: 190 (1985); During et al., Ann. neurol. 25: 351 (1989); Howard et al., J. Neurosurg. 71: 105 (1989)). Egy harmadik megoldás szerint a szabályozott hatóanyag felszabadítású rendszer a terápiás célterülethez közel -a központi idegrendszerben - helyezik el, töredékére csökkentve ezáltal az egész szervezetre egyébként alkalmazandó dózis mennyiségét (lásd, e.g., Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, *supra*, vol. 2, pp. 115-138 (1984)).

További szabályozott hatóanyag felszabadítású rendszerekről tesz említést Langer cikkében (Science 249: 1527-1533 (1990)).

A jelen találmányban leírt gyógyszerkészítmény egyik megvalósítási formájában a fankinon és más hatóanyagok mint elkülönült gyógyszerészeti egységek jelennek meg. Például az egyik egység a fankinont és a kliokinolt tartalmazza, a

másik pedig a B₁₂ vitamint. A két szer egyidejűleg, vagy egymást követően is adagolható. Például a fankinont és kliokinolt tartalmazó szer alkalmazását követheti a B₁₂ vitamin beadása egy napon, egy héten, vagy egy hónapon belül. Ha a két egységet egymást követően (szekvenciálisan) alkalmazzuk, fankinont és kliokinolt tartalmazó szer egy-három hétig adható, amelyet előnyösen egy-négy hetes kiürítési szakasz követ, utóbbi alatt pedig a B₁₂ vitamint tartalmazó készítmény alkalmazható, a hatóanyagokat tartalmazó pedig nem. A kiürítési szakasz után a kezelés megismételhető.

A találmány gyógyszerészeti készletre, vagy kitre is vonatkozik, amelyben egy vagy több tárolóegység, a jelen találmány szerinti gyógyszerkészítménynek egy vagy több komponensét tartalmazza. A tárolókhoz adott esetben csatolható gyógyszerek, vagy a biológiai termékek gyártására, használatára, vagy a forgalmazására vonatkozó szabályozásra jogosult hatóságok által megállapított formájú tájékoztató, amely a készítmény gyártásának, használatának, humán terápiás forgalmazásának a hatósági engedélyezését tartalmazza.

A találmány egyéb tulajdonságai és előnyei a következő példák során nyernek megvilágítást, amely példák a kísérő rajzokkal összhangban a találmánnyal kapcsolatos alapvető elveket illusztrálják.

1. Példa

A fankinonnak az A β (25-35)-re gyakorolt dózis-válasz hatása a PC12 sejtekben.

A A β (25-35)-t, amelyet a Bachem (CH), illetve a Sigma (USA) szállított, a felhasználás előtt két órával 7,4-es pH-ra, foszfát pufferrel beállított sóoldatban oldjuk fel. Az A β neurotoxicitásaért az az aminosav csoport felelős, amely a 25-35 aminosav között helyezkedik el (A β (25-35)), ez a decapeptid a idegsejteket ugyanolyan mértékben pusztítja, mint a teljes hosszúságú vegyület (A β (1-40)) (Yankner, Duffy LK, Kirschner DA: Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloid β protein: reversal by tachykinin neuropeptides. Science 1990;250(4978):279-282).

A patkány PC12 phaeochromocytoma sejtjeit az 1 % penicillin-szteptomomicint, 5 % borjú-magzat szérumot és 10 % ló szérumot tartalmazó DMEM-ben (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 5 % szén-dioxid atmoszférájú párásított inkubátorban tenyésztjük.

A PC12 sejteket 96 üregű mikrotitráló tálcákra helyezük el 100 μ l megfelelő közegben. 24 óra elteltével a A β (25-35) peptid megjelölt koncentrációját önállóan, vagy a fankinon jelzett mennyiségével együtt adjuk a rendszerhez. Az inkubáció további 24 óráig folytatódik. Az inkubációt követően az MTT redukciót mérjük a kereskedelmi forgalomban is ismeretes próbát alkalmazva, a gyártó (Boehringer Mannheim) utasításainak megfelelően. A mérési eredményeket

úgy értelmezzük, hogy az önálló hordozóanyagot 100 %-nak definiáljuk.

Az MTT az intracelluláris és plazma membrán reduktázok egy szubsztrátja, amelyet a sejtek redox aktivitása csökkenésének mérésére elterjedten alkalmaznak. A sejtek redox aktivitásának csökkenése az A β -indukált sejtpusztulás korai jelének tekinthető (Shearman MS, Ragan CI, Iversen LL: Inhibition of PC12 cell redox activity is a specific, early indicator of the mechanism of (3amyloid-mediated cell death, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994;91(4):1470-1474).

A fankinonnak a A β (25-35) által kiváltott PC12 sejtpusztulást befolyásoló hatásának vizsgálata céljából a PC12 sejteket 0-10 μ M koncentrációjú A β (25-35) peptid hatásának tesszük ki. A fankinon hiányában (tehát amikor csak vivőanyagot adtak a rendszerhez) az A β (25-35) az MTT redukciójának dóziszfüggő gátlását okozta (1. ábra: sötét pontok). Az A β (25-35) 0,01 μ M koncentrációja már jelentős csökkenést eredményezett és a 0,1 μ M-os, vagy ezt meghaladó koncentrációjú A β (25-35) hozzáadásakor az MTT redukciója a maximális, 50 % körüli mértékűre csökkent.

10 μ g/ml koncentrációjú fankinon jelenlétében az A β (25-35) toxikus hatása lényegében megszűnt (1. ábra: üres pontok). Még az A β 1 μ M koncentrációja esetében is a fankinon teljességgel megakadályozta, hogy az toxikus hatást fejtsen ki. Csak a mért legmagasabb, 10 μ mol-os koncentrációjú A β fejtett ki kisebb gátlást az MTT redukciójában. Ez a gátlás azonban mérsékelt (körülbelül 10 %-os) maradt a fankinon hiányában mért 50 %-hoz viszonyítva.

2. példa

A fankinon hatása a PC12 sejtekben tapasztalható A β (25-35)-indukált toxicitásra.

Ebben a tanulmányban az 1. példában használt eszközök és anyagok szerepelnek, azzal az eltéréssel, hogy a PC12 sejteket rögzített, 1 μ M, koncentrációjú A β hatásának tesszük ki, míg a fankinon koncentrációja 0-10 1 μ g/ml között változik. A fankinon hiányában az A β (25-35) közelítőleg 40 %-os gátlást eredményezett az MTT redukciójában (2. ábra: üres pontok). Ez a gátlás megmaradt, amíg a fankinon koncentrációja a 0,1 μ g/ml-t el nem érte. A fankinonnak, a 0,1 μ g/ml-t meghaladó, növekvő koncentrációjú jelenléte drasztikus csökkenést eredményezett a A β (25-35) toxikus hatásában. A fankinon 1 μ g/ml-es, vagy azt meghaladó koncentrációjának eredményeképpen az A β (25-35) toxikus hatása teljesen megszűnt.

3. példa

A fankinonnak és a kliokinolnak a Zn²⁺ és Cu²⁺-indukált A β aggregációra gyakorolt hatása.

Az A β (25-35)-ből (szállította: Bachem (CH)) minden kísérlet előtt 5 mg/ml-es törzsoldatot frissen készítünk úgy, hogy a liofilizált peptidet 0,01 M HCl-ben feloldjuk, majd a rendszert 1 : 1 arányban 0,01 M NaOH-dal hígítjuk, annak érdekében, hogy a semleges kémhatást biztosítsuk. Az A β (1-40) alikvotot 7,4-es pH-ra beállított foszfát pufferezett oldatban 100 μ M-osra hígítjuk, majd 30 μ l összmenyiséget szobahőmérsékleten 24 óráig inkubálunk. A koinku-

bációs kísérletek biztosítása érdekében a megjelölt koncentrációban fémionokat, és/vagy a tesztvegyületek alikvot-jait adjuk a rendszerhez. A tesztvegyületeket egy 10 µg/ml-es végső koncentrációhoz adjuk.

Az amiloid képződést mennyiségileg tioflavin T fluorimetriás méréssel elemezzük. A tioflavin T specifikusan az amiloidhoz kötődik, ami eltolódást okoz annak emissziós spektrumában és ennek megfelelően a fluoreszcenciás jel a képződött amiloiddal arányos. Az inkubáció után az Aβ (1-40) peptideket 6,0-os pH-jú foszfor pufferoldathoz és 3 µM-os tioflavin T-hez adjuk, 1 ml mennyiségben. A fluoreszcenciát 454 nm-es gerjesztésnél és 482 nm-es emissziónál Fluoroscanner II fluoriméterrel követjük (Molecular Devices UK). A fluoreszcencia időbeli változását követjük és miután a bomlás elért egy platót (körülbelül 5 perc), három értéket átlagolunk, előzőleg a 3 µM-os tioflavin T háttér fluoreszcenciáját kivonva. A koinkubációs kísérletekhez a tesztvegyület fluoreszcenciáját külön határozzuk meg. A kísérletek három párhuzamos mintával folynak. A tipikus kísérlethez a középértékek +/- a standard deviáció (az eltérések négyzetes közepe) a 3. és a 4. ábrán látható.

A fankinon és a kliokinol az Aβ (1-40) peptideknek amiloid szerkezetekké történő aggregációját megakadályozó képességét vizsgáljuk meg. A kliokinol az Alzheimer-kór kezelése területén ismert vegyület (lásd a WO 98/06403 számú nemzetközi közzétételi irat), és a jelen kísérletben eredetileg összehasonlítási célokból vizsgáljuk.

A vizsgálat tárgya az volt, hogy a két vegyület gyakorol-e hatást a fémion-katalizált A β aggregációra, különös tekintettel a Zn²⁺ és a Cu²⁺-katalizált aggregációk eseteire. A kísérletek eredményeit a 3. és a 4. ábrák szemléltetik.

A 3. és a 4. ábrák alapján megállapítható, hogy a Cu²⁺ és a Zn²⁺ a spontán aggregációhoz viszonyítva kisebb mértékben fokozza az A β amiloid szerkezetekké történő aggregálódását. A fankinon és a kliokinol 10 μ g/ml-es koncentrációban való jelenlétük esetén a fémion-indukált A β aggregáció jelentősen csökkent.

A vizsgált, 10 μ g/ml-es koncentrációjú fankinon a Cu²⁺-indukált aggregációt 50-60 %-ban, míg a Zn²⁺-indukált aggregációt csak mérsékelten, 10 %-ban gátolja. Váratlanul, a kliokinol az ellentétes tendenciát mutatta ezek tekintetében. A kliokinol a Zn²⁺-indukált A β (1-40) aggregációt több, mint 60 %-kal csökkentette, míg a Cu²⁺-katalizált aggregációt közelítőleg 30 %-kal. Ezért az a gyógyszerkészítmény, amely a fankinont és a kliokinolt együttesen tartalmazza, feltehetően szélesebb körben hasznosítható, mint az, amely csak az összetevők valamelyikét.

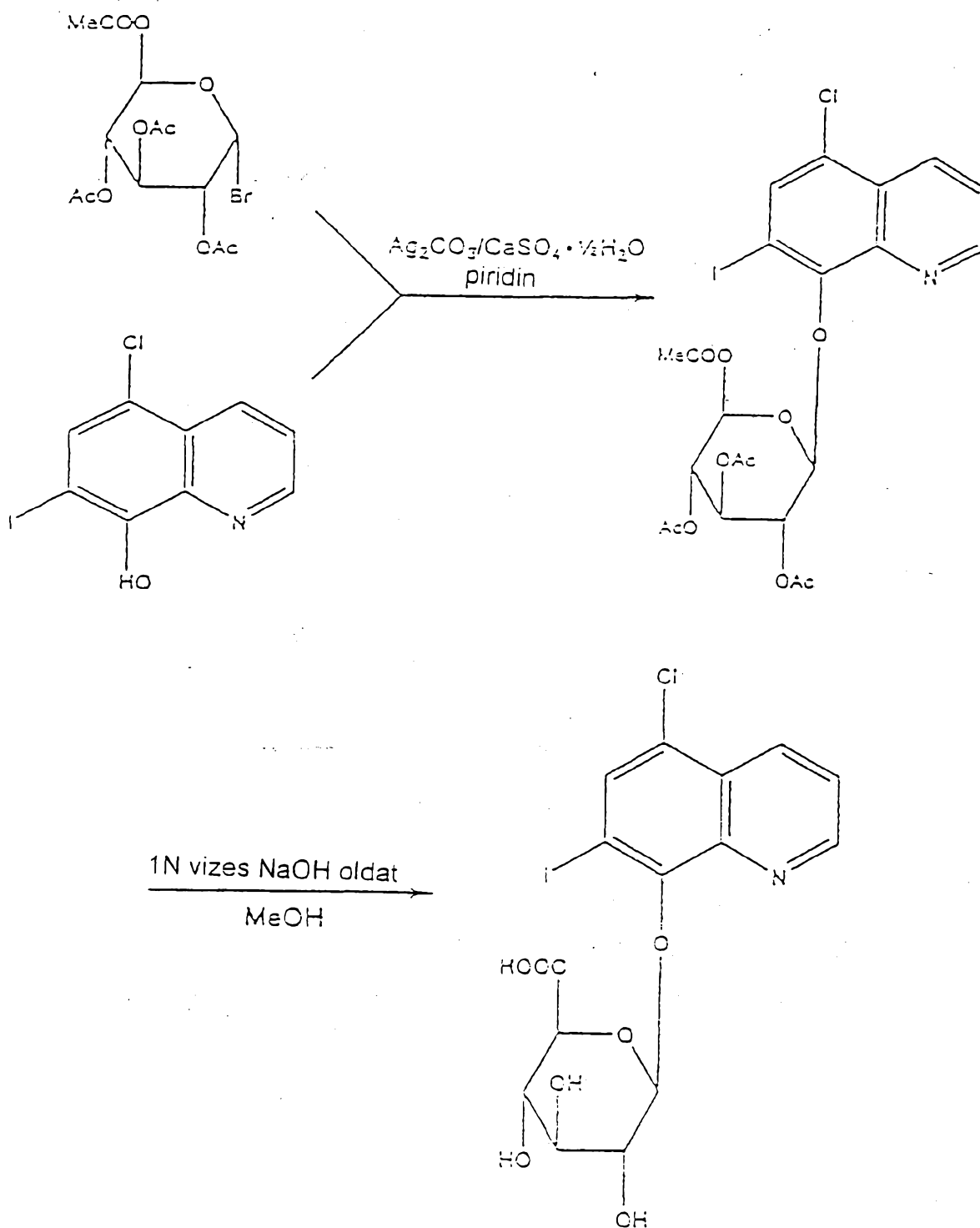
4. példa

E példában a kliokinol bomlástermékének szintézise válsul meg.

Ismert, hogy a kliokinolt a vesék választják ki, a kliokinol glükuronid származék formájában (Kotaki H., et al.: "Enterohepatic circulation of clioquinol in the rat",

J. Pharmacobiodyn. 1984 June; 7(6): 420-5 and Jurima M. et al.: "Metabolism of ^{14}C -iodochlorhydroxyquinoline in the dog and the rat", J. Pharmacobiodyn. 1984 March; 7(3): 164-70). A kliokinolnak a megfelelő glükuroniddá történő átalakulása feltehetőleg a májban történik. A kliokinol-glükuronid a májban történő képződését követően az a vesékbe szállítódik, ahonnan kiválasztása a vizelettel valósul meg.

A metil(5-klór-7-jód-kinolil-2',3',4'-trisz-O-acetil-glükopiranozid)uronát szerkezetű kliokinol-glükuronid szintézise a következő reakcióegyenlet szerint megy végbe:



50 mg (0,164 mM) kliokinol, 65 mg (0,164 mM) metil-1-bróm-1-dezoxi-2, 3, 4-trisz-O-acetil-D-glükopiranozid-uronát, 35 mg $\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ és 1,5 ml piridin elegyét szobahőmérsékleten keverjük 20 percig. 35 mg, újonnan készített Ag_2CO_3 -ot adunk a reakcióelegyhez és a szuszpendált oldatot, szobahőmérsékleten, sötétben, 20 órán át keverjük. A létrejövő reakcióterméket 1 N vizes NaOH segítségével deacetilezzük.

A reakcióelegyet 10 ml CH_2Cl_2 -mal hígítjuk, szűrjük és az oldószert vákuummal távolítjuk el. A fenti termék tisztítását flash kromatográfia segítségével végezzük (TLC: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99/1, eluálószer: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99,5/0,5).

Az NMR adatok a következők: (400MHz, CDCl_3) 2,04 (s, 3H, Ac), 2,09 (s, 3H, Ac), 2,13 (s, 3H, Ac), 3,68 (s, 3H, Me), 3,99 (d, 1H, 5'-H), 5,40-5,52 (m, 3H, 2',-3',-4'-H), 6,29 (d, 1H, 1'-H), 7,56 (m, 1H, 3H), 7,99 (s, 1H, 6-H), 8,52 (d, 1H, 4-H), 8,93 (s, 1H, 2-H).

A fenti vegyületet a következőkben kliokinol-glükuronidnak nevezzük.

5. példa

A B_{12} vitamin és a 4. példa szerinti eljárással nyert kliokinol-glükuronid közötti reakciót NMR spektroszkópiával vizsgáljuk.

Mivel a kliokinol-glükuronid vízzel oldékony, a kísérletet 6,5-es pH-jú pufferezett vizes közegben végezzük. Három különböző oldatot készítünk és ^1H NMR spektrumukat 20 °C-on DRX 400 MHz-es spektrofotométerrel rögzítjük. Az a) oldat 2,6

mM koncentrációjú szabad B₁₂ vitamint (hidroxikobaltamin) tartalmaz. A b) oldat 2,6 mM koncentrációjú B₁₂ vitamint és 10 mM kliokinol-glükuronidot (mólarány: körülbelül 1 : 4) tartalmaz. A c) jelű oldat 10 mM kliokinol-glükuronidot tartalmaz.

A három oldatnak az 5. ábrán bemutatott spektruma az aro-
más tartományban jelentkezik (5,5-9,8 ppm). A különbségek
meglehetősen kicsik, de a 6. és a 7. ábrán nyilvánvalóan
látszik a kiszélesedés. A 6. ábrán látható, hogy B₁₂ vitamin
egyes rezonanciavonalai eltolódtak (a benzimidazol csoport-
nak megfelelők), és ugyanez észlelhető a kliokinol-
glükuronid két rezonanciavonala esetében (a kinolin cso-
portnak megfelelően) (7. ábra).

Az eredmények alapján feltehető, hogy a kliokinol-
glükuronid és B₁₂ vitamin közötti reakció hidrofób természe-
tű, amely a B₁₂ vitamin benzimidazol csoportja és a klioki-
nol-glükuronid kinolin csoportja között játszódik le.

A B₁₂ vitaminnak a kliokinol-glükuroniddal való hidrofób
kötésével magyarázzuk azt a jelenséget, hogy a B₁₂ vitamin a
kliokinol-glükuroniddal együtt kiválasztódik a szervezet-
ből, megakadályozva ezzel a B₁₂ vitamin reszorpcióját, amely
végül B₁₂ vitamin hiányhoz vezet. Ezért a B₁₂ vitamin hiány -
legalábbis bizonyos - fokig tekinthető a SMON-kór alapjául
szolgáló okának. Következésképpen amikor kliokinol alkalma-
zására kerül sor, meg kell róla győződni, hogy a gyógyke-
zelt személy B₁₂ vitamin állománya elegendő a B₁₂ vitamin hi-
ány elkerüléséhez. Utóbbi a kliokinol és a B₁₂ vitamin
együttes alkalmazásával megvalósítható.

6. példa

Fankinon tartalmú gyógyszerkészítmény előállítása

Az előállításkor 250 g fankinont 200 g Sapaminnal® (N-(4'-szteatil-amino-fenil)-trimetilammónium-metilkénsav) és 1025 g laktóz-monohidrátal 5 percig keverjük. 100 g kukoricakeményítőnek 100 g hideg vízzel készült elegyéhez egyszerre 300 g forró vizet adunk. A 40 °C-ra lehűtött keményítő szuszpenziót állandó keverés mellett hozzáadjuk a fankinont tartalmazó porkeverékhez. A keveréket 2,5 mm-es részméretű szitán granuláljuk és 18 órán át 40 °C-on szárítjuk. A száraz granulátumot 400 g kukorica keményítővel és 20 g magnézium-sztearáttal keverjük. A végső elegyből 8,0 mm átmérőjű, 200 mg tömegű tablettákat formázunk.

7. példa

fankinon, kliokinol és B₁₂ vitamin tartalmú gyógyszerkészítmény előállítása.

250 g fankinont és 250 g kliokinolt elegyítünk 200 g Sapaminnal® (N-(4'-sztearo-amino-fenil)-trimetilammónium-metilkénsav) és 1025 g laktóz-monohidrátal és 5 percig keverjük. 100 g kukoricakeményítőnek 100 g hideg vízzel készült elegyéhez egyszerre 300 g forró vizet adunk. A 40 °C-ra lehűtött keményítő szuszpenziót állandó keverés mellett hozzáadjuk a fankinont és a kliokinolt tartalmazó porkeverékhez. Ehhez 5 g B₁₂ vitamin vizes oldatát adjuk. A keveréket 2,5 mm-es részméretű szitán granuláljuk és 18 órán át 40 °C-on szárítjuk. A száraz granulátumot 400 g kukorica keményítővel és 20 g magnézium-sztearáttal keverjük. A végső

elegyből 8,0 mm átmérőjű, 200 mg tömegű tablettákat formázunk.

A jelen szabadalmi leírás több publikációra való hivatkozást tartalmaz, ezek teljes tartalma megtalálható a hivatkozott helyeken.

Szabadalmi igénypontok

1. Fankinon alkalmazása az Alzheimer-kór kezelésére vagy megelőzésére használandó gyógyszerkészítmény gyártására.

2. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás azzal jellemezve, hogy a fankinont napi 1-3 alkalommal, 5 mg és 250 mg, előnyösen 10-50 mg közötti mennyiségben adagoljuk.

3. Fankinon és antioxidánsok, acetilkolin fokozók, fémnyomelemek, prosztetikus csoportok és/vagy kliokinol alkalmazása az Alzheimer-kór kezelésére vagy megelőzésére használandó gyógyszerkészítmény gyártására.

4. A 3. igénypont szerinti alkalmazás, amelyben az antioxidáns C-vitamin, E vitamin, vagy Q10 vitamin.

5. A 3. vagy a 4. igénypont szerinti alkalmazás, amelyben az acetilkolin fokozó donepezil vagy takrin.

6. A 3., 4. vagy 5. igénypont szerinti alkalmazás, amelyben az acetilkolin fokozó B₁₂ vitamin.

7. A 3-6. igénypont szerinti alkalmazás azzal jellemezve, hogy fankinont és kliokinolt alkalmazunk a gyógyszerkészítmény gyártására.

8. A 3-7. igénypont szerinti alkalmazás azzal jellemezve, hogy fankinont, kliokinolt és B₁₂ vitamint alkalmazunk a gyógyszerkészítmény gyártására.

9. Az 1-8. igénypontok szerinti alkalmazás, amelyben a gyógyszerkészítményt orális, parenterális, vagy intradermális adagolásra alkalmas kiszerelésben készítjük.

10. Az 1-8. igénypontok bármelyike szerinti alkalmazás, amelyben a gyógyszerkészítmény, egyetlen készítményként van kisserelve.

1.A 3-8. igénypontok szerinti alkalmazás, amelyben a gyógyszerkészítmény két vagy több elkülönült gyógyszerészeti egység egymást követő, vagy lényegében egyidejű alkalmazásra megfelelő formában van kisserelve.

12. Gyógyszerkészítmény, amely (a) az Alzheimer-kór kezeléséhez, vagy megelőzéséhez hatékony mennyiségű fankinont és (b) antioxidánsokat, acetilkolin fokozókat, fém-nyomeleket, prosztetikus csoportokat és/vagy kliokinolt tartalmaz feltéve, hogy a kliokinol esetén legalább egy másik vegyületet is tartalmaz az említett csoportból.

1.A 12. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, amelyben az antioxidáns C-vitamin, E vitamin, Q10 vitamin, illetőleg ezek kombinációja.

14. A 12. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, amelyben az acetilkolin fokozó takrin, vagy donepezil.

15. A 12. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, amelyben a prosztetikus csoport B₁₂ vitamin.

16. Gyógyszerkészítmény, amely az Alzheimer-kór kezeléséhez, vagy megelőzéséhez hatásos mennyiségű (a) fankinont és (b) a kliokinol és a B₁₂ vitamin keverékét tartalmazza.

17. A 12. vagy a 16. igénypont bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény, amely gyógyszerészetileg elfogadható hordozót is tartalmaz.

18. A 12., a 16. vagy a 17. igénypont bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény, amelyben a fankinon mennyisége 5-250 mg, előnyösen 10-50 mg.

19. A 12. a 16. vagy a 17. igénypont bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény, amelyben a kliokinol mennyisége 5-250 mg, előnyösen 10-50 mg.

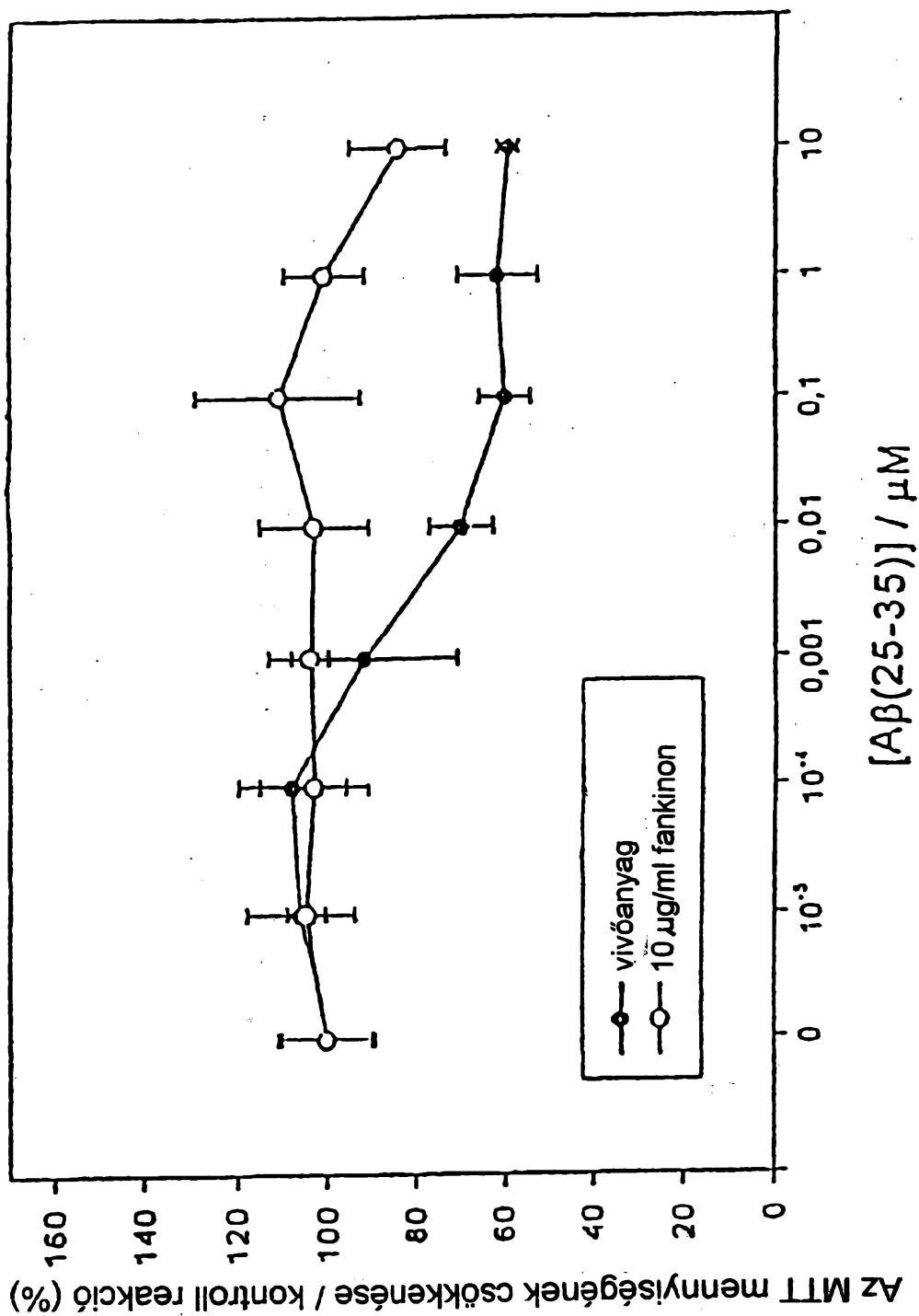
20. A 16. vagy a 17. igénypont bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény, amelyben a B₁₂ vitamin mennyisége 5 µg-2 mg, előnyösen 0,5-2 mg.

21. A 12., a 16. vagy a 17. igénypont bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény, amelyet parenterális, intradermális, vagy orális adagolásra alkalmas kisserelésben készítenek el.

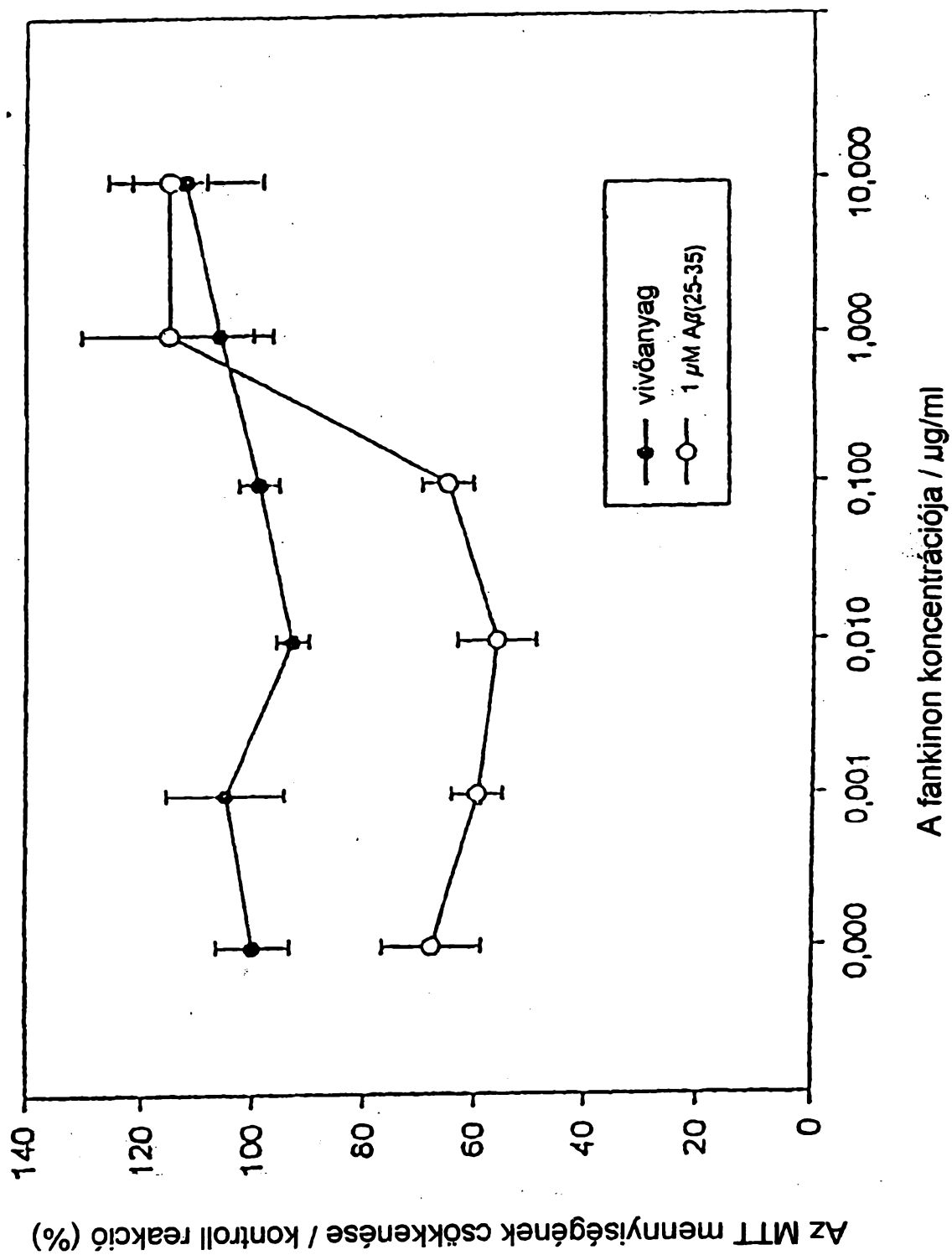
22. A 12., a 16. vagy a 17. igénypont bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény, amely tabletta kisserelésben készül.

23. A 12., a 16. vagy a 17. igénypont bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény, amely esetében a kliokinol és a B₁₂ vitamin külön gyógyszerészeti egység, a fankinon pedig a kliokinollal, illetőleg a B₁₂ vitaminnal egységes, vagy ezekről elkülönült kisserelésű.

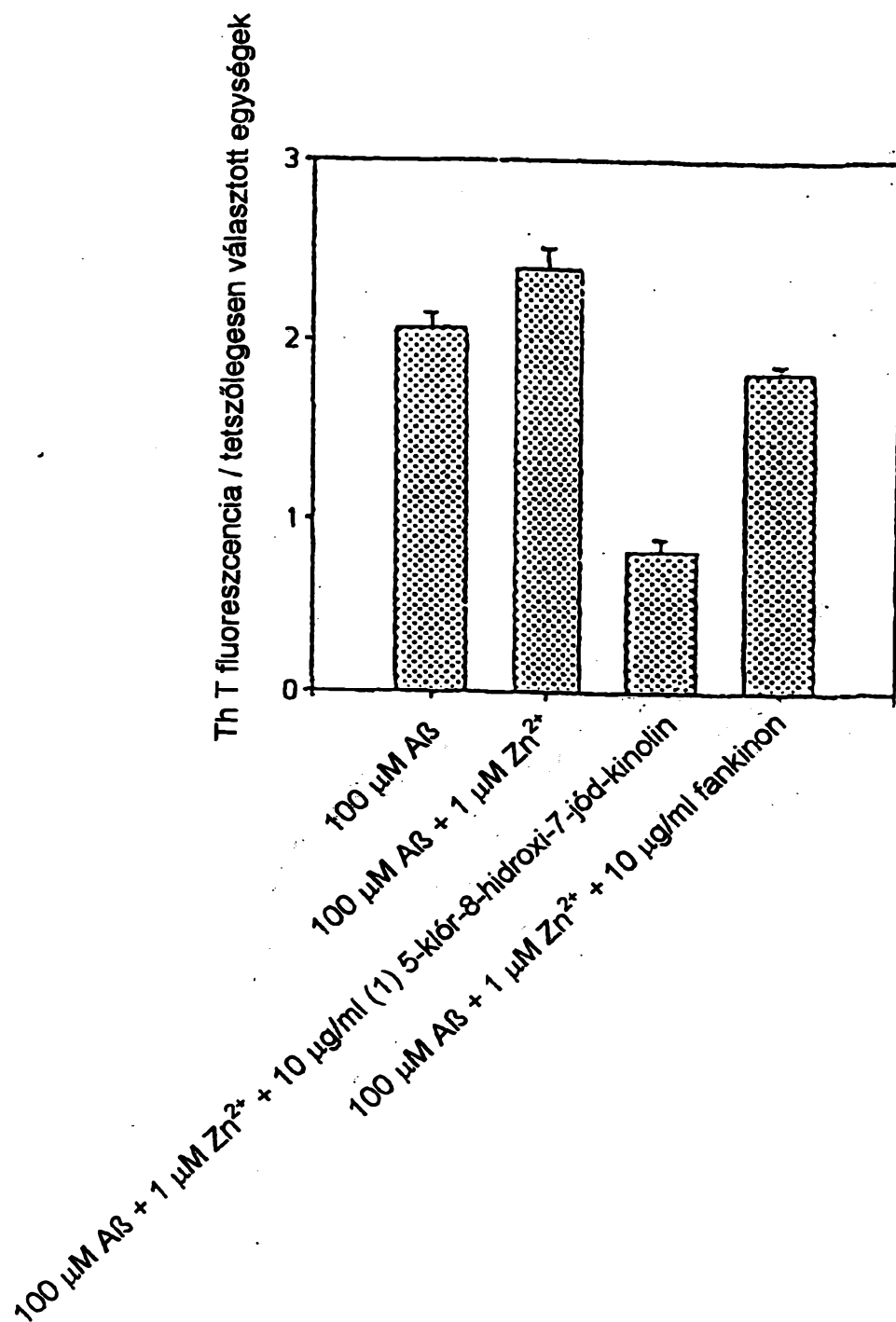
24. Egy, vagy több tárolóegységben elhelyezett, az Alzheimer-kór gyógykezeléséhez, illetve megelőzéséhez elégséges mennyiségű fankinont és kliokinolt, valamint a kliokinol káros mellékhatásainak kiküszöbölésére alkalmas mennyiségű B₁₂ vitamint tartalmazó kit.



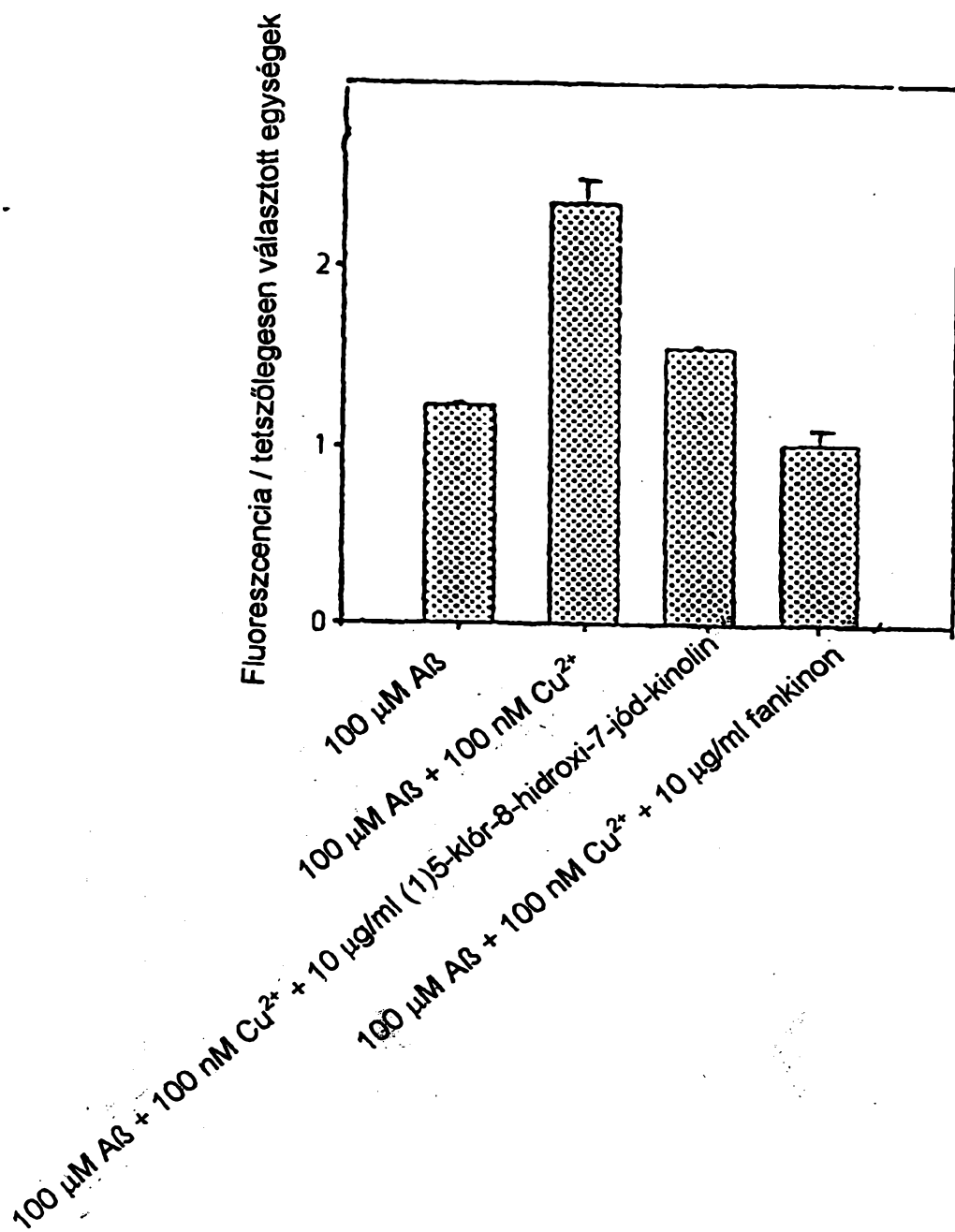
1. ábra



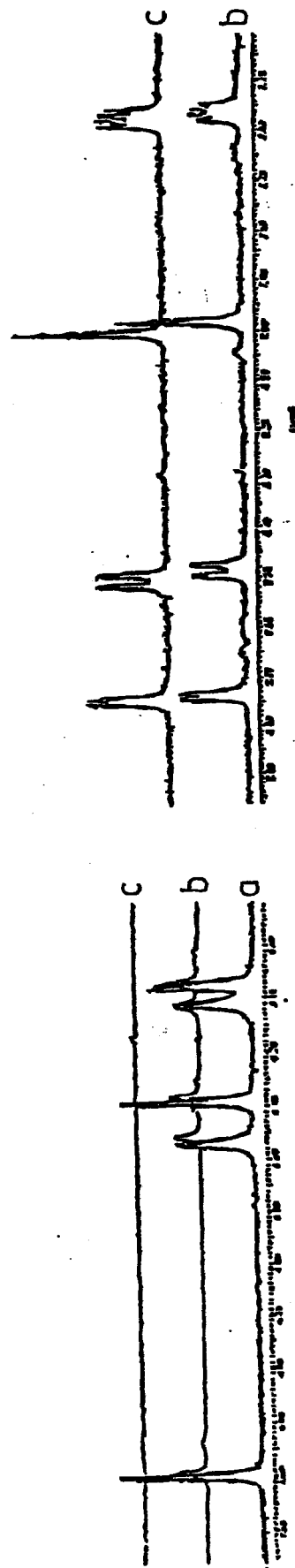
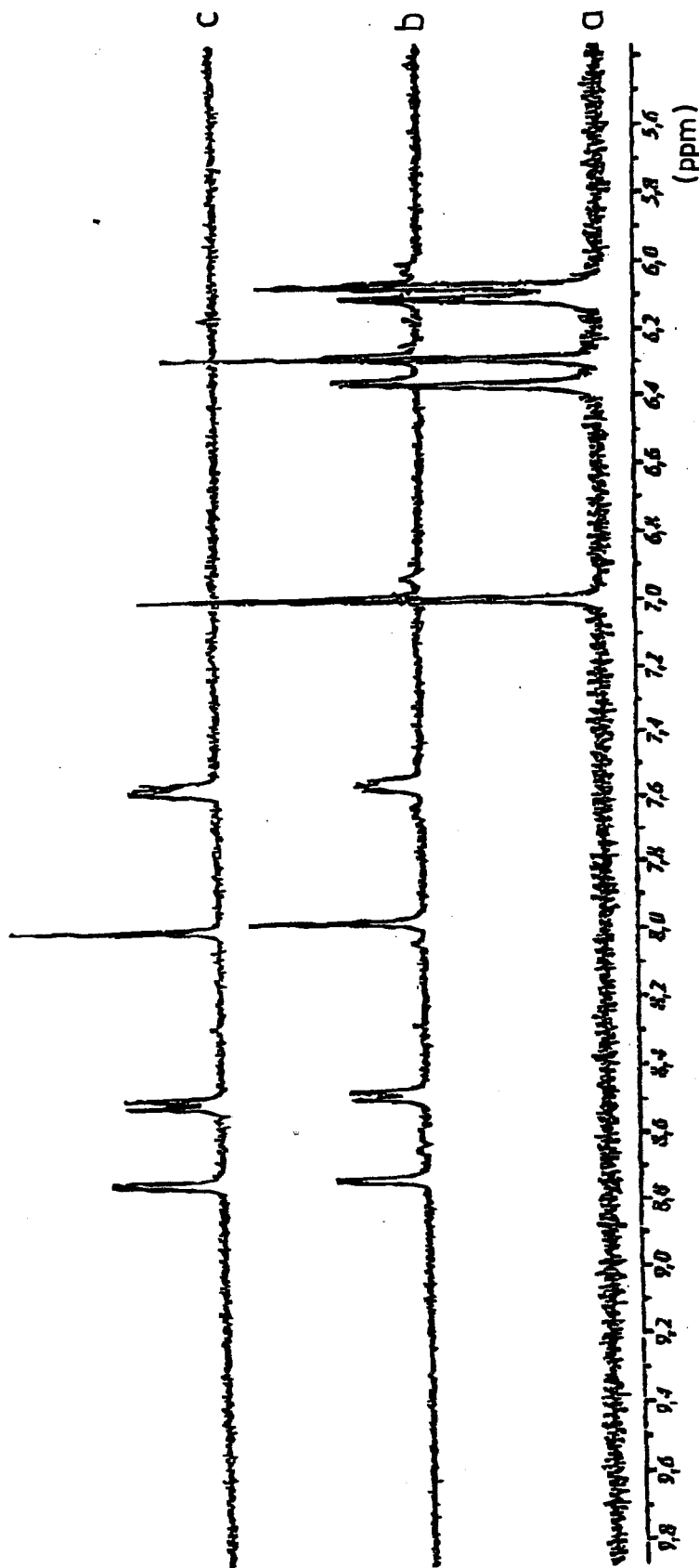
2. ábra



3. ábra



4. ábra



7. ábra

6. ábra