

**ANETOL-DITIOLETION ALKALMAZÁSA
GYÓGYSZER ÁLTAL KIVÁLTOTT ÍN-TOXICITÁS
MEGELŐZÉSÉNÉL ÉS KEZELÉSÉNÉL**

K i v o n a t

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

A találmány tárgya anetol-ditioletion alkalmazása olyan gyógyszer előállítására, amely egy induktor gyógyszer által kiváltott ín-toxicitás megelőzésére vagy kezelésére szolgál.

Fellemlő ábrák: nincs

6/1
C.

**ANETOL-DITIOLETION ALKALMAZÁSA GYÓGYSZER
ÁLTAL KIVÁLTOTT ÍN-TOXICITÁS MEGELŐZÉSÉNÉL
ÉS KEZELÉSÉNÉL**

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

- 5 A találmány az anetol-ditioletion (vagy anetol-trition) egy új alkalmazására vonatkozik.

A találmány tárgya közelebbről anetol-ditioletion alkalmazása gyógyszer által kiváltott ín-toxicitás megelőzésénél és kezelésénél.

- 10 A kinolonok és különösen a második generációs kinolonok, a fluorkinolonok, olyan szintetikus antibiotikumok, amelyek különösen nagy hatékonyságuk miatt széleskörűen elterjedtek.

- Ezeket a vegyületeket viszonylag jól tolerálják. A 90-es évek óta azonban felismerték ezeknek az egyik mellékhatását. Az
- 15 ín megbetegedéseiről van szó, beleértve az íngyulladásokat és az ínszakadásokat is, amelyek a legtöbb esetben az Achilles ínt érintik, de előfordulhatnak a kvadricipitális ínban vagy a vállban a váll feletti ínban is. A munkaképtelenség időtartama az egyszerű íngyulladások esetében átlagosan 62
- 20 nap, a szakadásoknál 98 nap.

- Ismertek egyéb molekulák, amelyeknek hasonló hatásuk van, ilyenek például a sztatinok. Bizonyos ínbetegségek és ínszakadások esetében már javasolták a szimvasztatint (Zocor® vagy Lodales®), de a közelmúltban kereskedelmi forgalomba
- 25 került új generációs sztatinokat is.

Az ín toxicitás említett jelensége mindezideig nem nagyon ismert, és a gyógyítására nem léteznek eszközök vagy termé-

kek.

Az ínt alkotó sejt a tenocita, az ínban ezek a sejtek oszlopokba szerveződnek a kollagén rostok között.

A jelen találmány szerzői tenocita sejt kísérletben vizsgálták a
5 fluorkinolonok citotoxikus hatását. Azt tapasztaltuk ebben a kísérletben, hogy az anetol-ditioletion (Sulfarlem®), amelyet az említett xenobiotikumokkal történő érintkeztetés előtt előkezelésképpen vizsgáltunk, meglepő és különleges módon védelmet nyújt az ín-toxicitással szemben, tehát a molekula érdeklődésre tarthat számot bizonyos gyógyszerek, például a
10 kinolonok vagy a sztatinok által kiváltott íntocixitás megelőzésénél és kezelésénél.

Az anetol-ditioletion tehát gyógyszerként alkalmazható önmagában vagy az antibiotikummal vagy a sztatinnal együtt a
15 xenobiotikumok, például a kinolonok vagy a sztatinok által kiváltott ín-toxicitás megelőzése céljából.

A találmány tárgya tehát az anetol-ditioletion alkalmazása olyan gyógyszer előállítására, amely a gyógyszerek, például a kinolonok vagy sztatinok által kiváltott ín-toxicitás megelőzése
20 sére vagy kezelésére használható, és amely az anetol-ditioletiont önmagában vagy egy induktor gyógyszerrel keverék vagy kombináció formájában tartalmazza.

Az anetol-ditioletion 10-200 mg-ot tartalmazó formában alkalmazható, és napi 10-200 mg-os dózisban adagolható.

25 A találmány magában foglalja a gyógyszerek, például kinolonok vagy sztatinok által kiváltott ín-toxicitás kezelésére vagy megelőzésére szolgáló eljárást, amely abból áll, hogy a betegnek az anetol-ditioletiont tartalmazó gyógyszert adagoljuk, amelyben adott esetben induktor gyógyszer is van.

30 Az alábbiakban ismertetjük az anetol-ditioletion védő hatását

igazoló kísérletek eredményeit.

Az elvégzett vizsgálat egy MIFALC (Microtitration Fluorimetric Assay on Living Cells) II típusú vizsgálat, vagyis olyan, amelyben valamennyi lépést, beleértve a detektálást/kimutatást is, élő sejteken végzünk. A vizsgálatához hideg fényű fluorimetriás detektálást alkalmazunk, azért, hogy az intracelluláris vizsgálatokhoz szükséges maximális érzékenységet és detektálási finomságot kapjunk. A vizsgálatokat immortalizált tenocita sejtvonalakon végezzük, amelyeket TENO-nak (Teno Cell Line) nevezünk.

- A tenyészetet az alábbiak szerint készítjük

A tenyészeteket 75 cm³-es flakonokban készítjük el a sejt multiplikációhoz, és lapos aljú 96-lyukú lemezekben a tenyészet számára. A tenocitákat kevés tripszinnel szuszpenzióba visszük, amikor a sejtek leválnak, a tripszin hatását a borjú magzatsérumot tartalmazó tenyésztőközeg hozzáadásával megakadályozzuk. Centrifugálás után a felülúszót teljes HAM F-12 közeggel felvesszük, majd a sejteket Malassez vagy Thoma hemocitóméterrel megszámláljuk. Ezután oldatot készítünk 27 500 sejt/ml koncentrációval teljes tenyésztő közegben, és a 96-lyukú mikrolemez 60 központi lyukába egyenként 200 µl-t helyezünk ebből. Ily módon lyukanként 5500 sejtünk van. A lemezeket 37 °C-on nedves levegő/CO₂ (95 % / 5 %) atmoszférban inkubáljuk. A vizsgálatot 48 óra elteltével végezzük, amikor a sejtek a hordozóhoz tapadnak.

A vizsgálatot az alábbiak szerint végezzük

Különböző fluorkinolonokat (vagy sztatinokat) 0,1 µmól és 1 mmól közötti koncentrációban olyan oldószerrel készített oldat formájában alkalmazunk, amely oldószer ártalmatlanságát előzetesen igazoltuk. A molekulák ín-toxicitását különböző vizsgálati módszerekkel vizsgáljuk: előkezelés nélkül vagy

anetol-ditioleionnal (20 μmol dózissal) végzett előkezeléssel, a xenobiotikumokkal való érintkezés előtt 72 órával; a sejteket ekkor a mikrolemezen közvetlenül az anetol-ditioleion oldattal alkotott szuszpenzió formában tenyésztjük.

- 5 A vizsgálat napján, miután megfigyeljük a sejtek egybefolyását és mikroszkópikus állapotát, a tenyésztő közeget a lemezek megfordításával eltávolítjuk, és minden lyukba 200 μmol 20 μmol os dihidro-diklórfluoreszcein-diacetát ($\text{H}_2\text{DCF-DA}$) oldatot töltünk. Ez fluorogén szonda, amely a sejtekbe behatol, és a citoszolukban lokalizálódik. Ezt a terméket rutinszerűen alkalmazzák a sejt által előállított szabad gyökök értékelésére.

A lemezeket ezután 20 percre 37 °C-os szárítószekrénybe helyezzük.

- 15 A szonda eltávolítása után, amelyet a lemezek megfordításával végzünk, a lyukakba beletöltjük a különböző xenobiotikum oldatokat, majd a lemezeket szárítószekrénybe helyezzük. Ezután a lemezeket egy 535 nm-es emissziós szűrővel és 485 nm-es gerjesztő szűrővel ellátott fluoriméterbe helyezzük.

- 20 A fluoreszcencia egységeket 40 perc elteltével olvassuk le.

- Az eredményeket az 1-4. ábrán mutatjuk be.

Az eredményeket az összehasonlító mintához viszonyított fluoreszcencia százalékban fejezzük ki.

Szabadalmi igénypontok

1. Anetol-ditiolecion alkalmazása olyan gyógyszer előállításá-
ra, amely egy induktor gyógyszer által kiváltott ín-toxicitás
5 megelőzésére vagy kezelésére szolgál.
2. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás olyan gyógyszer előál-
lítására, amely 10-200 mg anetol-ditioleciont tartalmaz.

10 + 2 lap van

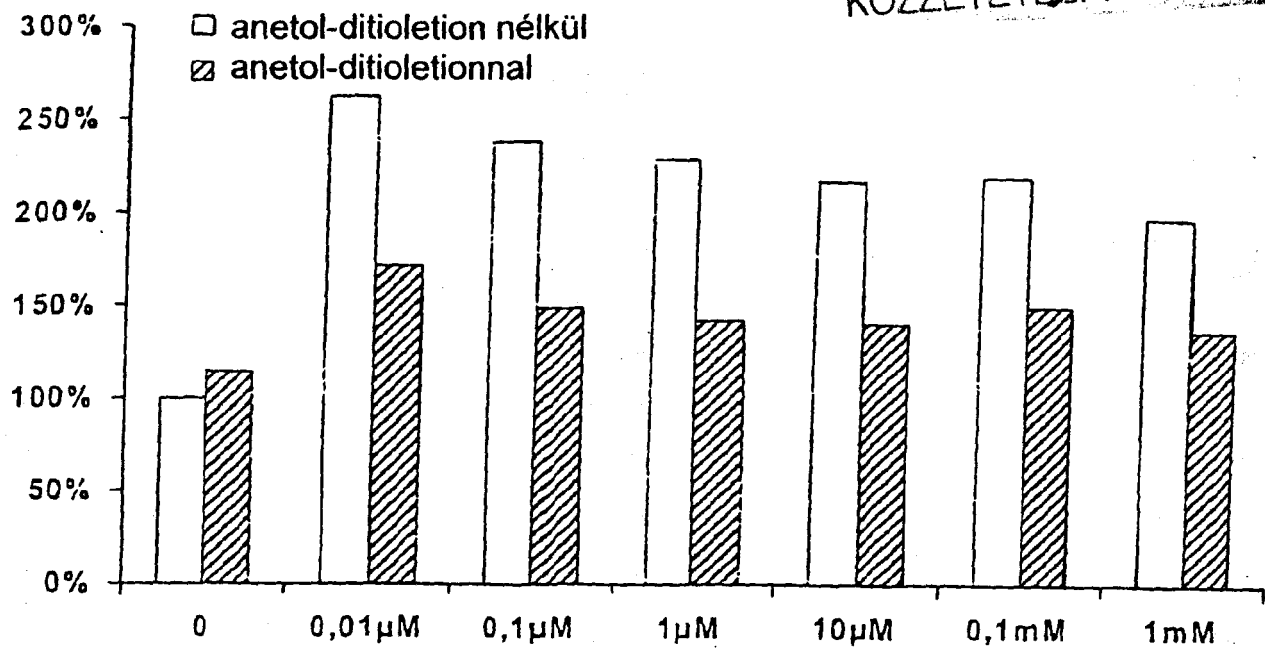
U.
C.

A bejelentő helyett
a meghatalmazott

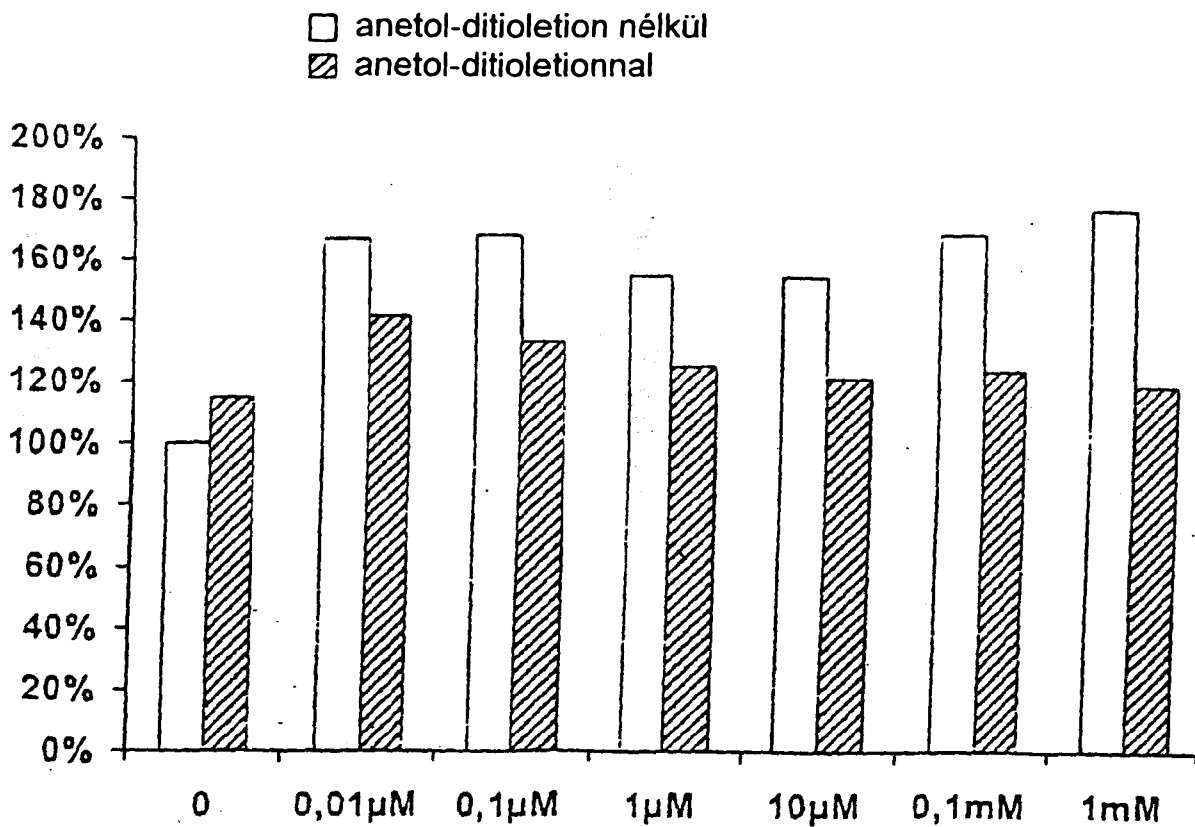
DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.

15


Baranyi Éva
szabadalmi ügyvivő



1. ábra: Pefloxacinnal végzett vizsgálat

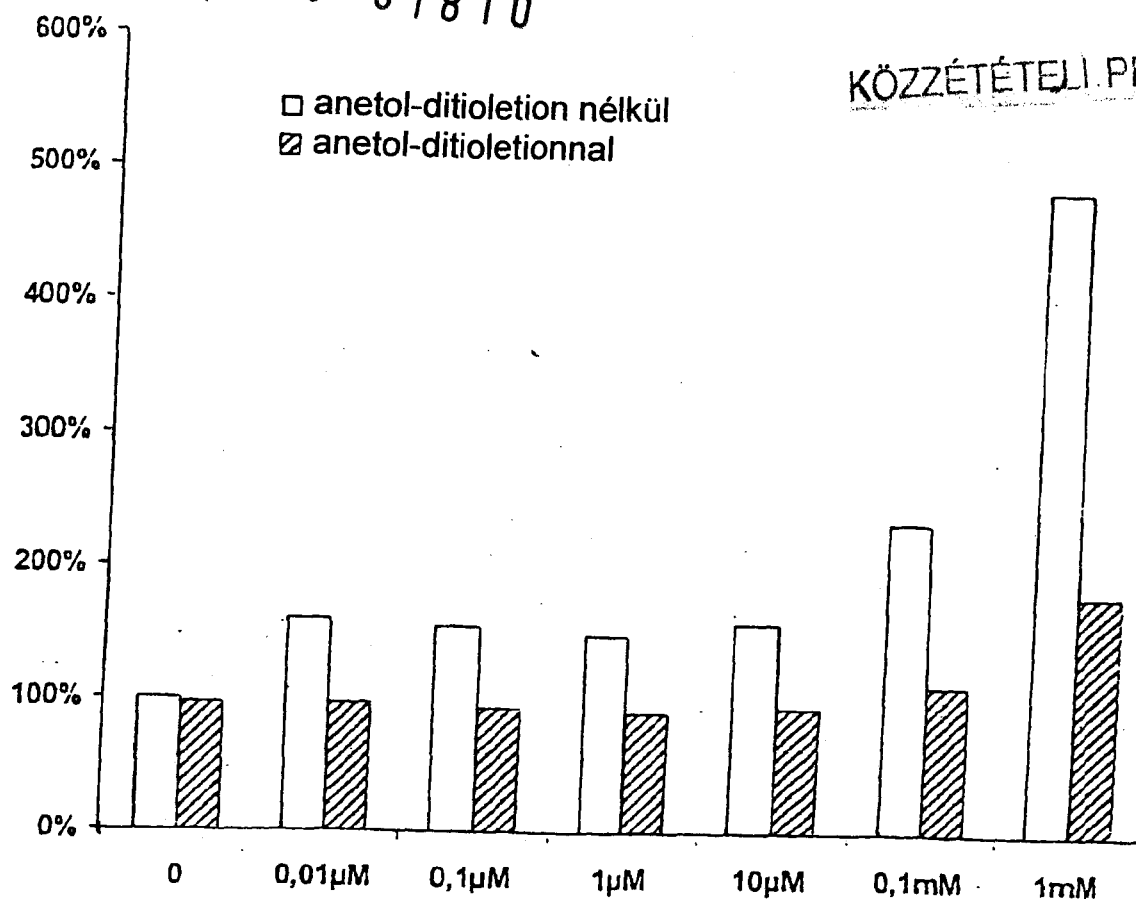


2. ábra: Norfloxacinnal végzett vizsgálat

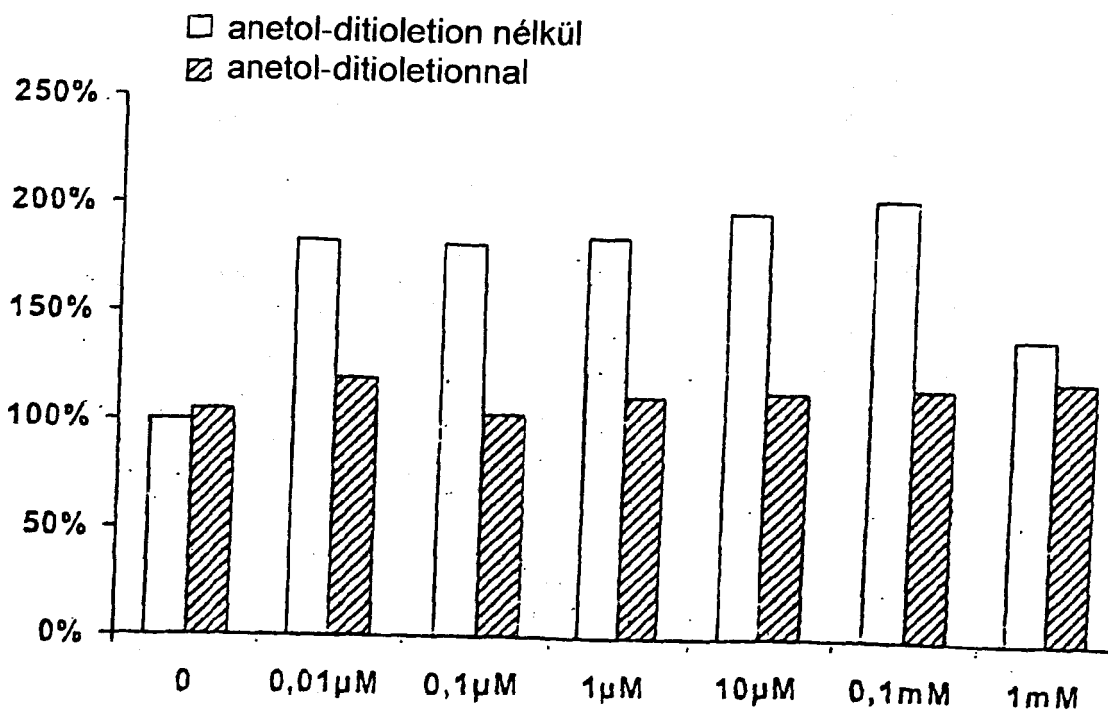
P03 01810

2/2

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



3. ábra: Ciprofloxacinnal végzett vizsgálat



4. ábra: Ofloxacinnal végzett vizsgálat