

P 04 01053

01053

A2

OXIBENZAMID-SZÁRMAZÉKOK MINT Xa FAKTOR INHIBITOROK,
ELJÁRÁS AZ ELŐÁLLÍTÁSUKRA ÉS EZEKET TARTALMAZÓ
GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK

K i v o n a t

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

- 5 Az (I) általános képletű vegyületek - a képletben
- R^0 jelentése fenilcsoport vagy piridilcsoport, amelyek vagy szubsztituátlanok, vagy R^2 csoporttal vannak egymástól függetlenül mono-, di- vagy triszubsztituálva;
- Q jelentése közvetlen kötés;
- 10 Q' jelentése -O-;
- X jelentése 1-3 szénatomos alkiléncsoport;
- W jelentése fenil-, piridil- vagy pirimidinilcsoport, ahol W vagy szubsztituátlan, vagy R^1 csoporttal van egymástól függetlenül mono-, di- vagy triszubsztituálva, azzal a megkötéssel, hogy Q' és U egymáshoz képest orto-helyzettől eltérő helyzetben van;
- 15 U és G jelentése egymástól függetlenül, azonosan vagy eltérően $-(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_m-C(O)-NR^{10}-(CH_2)_n-$, $-(CH_2)-SO_2-(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_m-C(O)-(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_m-SO_2-NR^{10}-(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_m-NR^{10}-SO_2-(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_m-NR^{10}-SO_2-NR^{10}-(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_m-CH(OH)-(CH_2)_n-$, $-(CH_2)-S-(CH_2)_n-$, vagy $-(CH_2)_m-O-C(O)-NR^{10}-(CH_2)_n-$; vagy
- 20 G jelentése közvetlen kötés;
- V jelentése közvetlen kötés vagy adott esetben szubsztituált 1-6 szénatomos alkiléncsoport, 3-7 tagú ciklusos csoport, 6-14 szénatomos arilcsoport, vagy heteroarilcsoport, és
- M jelentése hidrogénatom, $-C(O)-NR^4R^5$, vagy adott esetben szubsztituált 1-8 szénatomos alkilcsoport, 6-14 szénatomos arilcsoport, 6-14 szénatomos heteroarilcsoport, 3-7 tagú ciklusos csoport, 3-7 tagú heterociklusos csoport, $-NH-CH(NA^1)(NA^2)$ vagy $-CH(NA^1)(NA^2)$ -
- 25

értékes farmakológiai tulajdonságokkal rendelkeznek. Erős antitrombotikus hatást mutatnak és például kardiovaszkuláris rendellenességek, így például tromboembó-

liás betegségek és resztenózisok kezelésére és profilaxisára alkalmazhatók. A fenti vegyületek a véralvadási enzimek Xa faktorának (FXa) és/vagy VIIa faktorának (FVIIa) reverzibilis inhibitorai, és általánosságban olyan állapotok esetén alkalmazhatók, amelyekben a Xa faktor és/vagy VIIa faktor nem-kívánatos aktivitása játszik szerepet, vagy olyan állapotok kezelésére vagy megelőzésére, amelyekben a Xa faktor és/vagy VIIa faktor gátlására van szükség. A találmány tárgyát képezik továbbá az (I) általános képletű vegyületek előállítására alkalmas eljárások, a fenti vegyületek alkalmazása, különösen gyógyászati készítmények hatóanyagaként, valamint a fenti vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítmények.

TK

10

feltüntető címa : (I) als. képlet

15

20

25 98933-9449 SI

100305-7500-GI

P04 01853

A2

Gyógyászati készítmény, ami egy adenozin A1/A2 agonistát és
nátrium-hidrogén csere inhibitor tartalmaz

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

A jelen találmány tárgya gyógyászati készítmény, ami
tartalmaz egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendel-
kező vegyületet és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibitor
aktivitással rendelkező vegyületet, és váratlanul hatékony
kardioprotekciós aktivitása van egy ilyen aktivitásra szo-
ruló betegben. A jelen találmány tárgya továbbá eljárás
kardioprotekció biztosítására egy betegben, ami abból áll,
10 hogy egy adenozin A1/A2 agonista és nátrium-hidrogén cseré-
lő inhibitor aktivitással rendelkező vegyületből hatékony
mennyiséget adunk be.

A jelen találmány tárgya gyógyászati készítmény, ami
adenozin A1/A2 agonista és nátrium-hidrogén cserélő inhibi-
tor aktivitással rendelkező vegyületet, vagy annak gyógyá-
szatilag elfogadható sóját tartalmazza, valamint egy nátri-
um-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező ve-
gyületet, vagy annak gyógyászatilag elfogadható sóját tar-
talmazza. A jelen találmány tárgya továbbá eljárás kardio-
protekció biztosítására egy betegben, ami abból áll, hogy
20 egy adenozin A1/A2 agonista és nátrium-hidrogén cserélő
inhibitor aktivitással rendelkező vegyületből hatékony
mennyiséget adunk be.

Az előzőekben, valamint az alább következő teljes leí-
rásban az alábbi szakkifejezések jelentése a következő:

A „beteg” szakkifejezés jelentése lehet ember és más
emlős is.

A „hatékony mennyiség” szakkifejezés jelentése olyan
mennyiség a jelen találmány szerinti készítményből, ami ha-
30 tékonyan biztosítja a kívánt terápiás hatást.

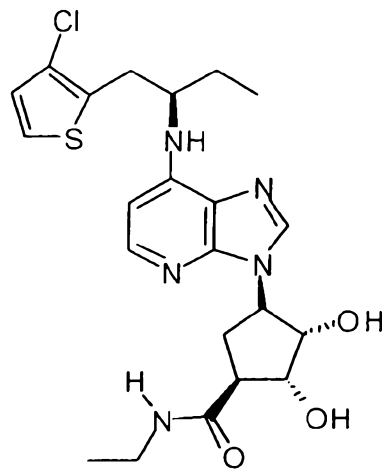
A „kardioprotekció” szakkifejezés jelentése a
miokardium károsodásával szembeni védelem, vagy annak meg-

előzése, például iszkémiás roham, reperfúzió előtt, alatt vagy után, vagy szívműtét előtt, alatt vagy után.

Az „adenozin A1/A2 agonista”, vagy „adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyület” szakkifejezés
5 jelentése olyan vegyület, ami agonista aktivitással rendelkezik mind az A1, mind az A2 adenosin receptorokkal szemben, ilyen például az AMP 579.

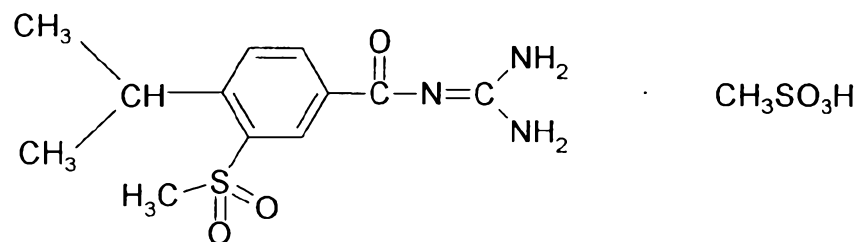
A „nátrium-hidrogén cserélő inhibitor vegyület”, vagy „NHE inhibitor” szakkifejezés jelentése egy nátrium-hidrogén cserélő inhibitor rendszer, egy pH-szabályozó celluláris iontranszport rendszer. A nátrium-hidrogén cserélő inhibitor vegyületek közé tartozik például a cariporide (Aventis), az eniporide (Merck KGAA), a zoniporide (Pfizer), a BMS-284640 (Bristol-Meyers Squibb), a BIIB-
10 513(Boehringer Ingelheim), a BIIB-722CI (Boehringer Ingelheim), az EMD-85131 (Merck KGAA), a KB-R9032 (Kanebo), az MS-31-038 (Mitsui), az SL-59.1227 (Sanofi), az SM20550 (Sumitomo), az SMP-300 (Fukushima Medical College), a T-559 (Takeda) és a TY-12533 (Toa Eiyo).

20 Az „AMP 579” vegyület szerkezetét a (I) képlet írja le, azaz [1S-[1 β , 2 β , 3 β , 4 β (S*)]]-4-7-[[3-klór-2-tienil)metil]propil]amino]-3H-imidazo[4,5-b]piridin-3-il]-N-etil-2,3-dihidroxiciklopentánkarboxamid.



(I)

A "Cariporide" vegyület szerkezetét a (II) képlet írja le, azaz 4-izopropil-3-metilszulfonilbenzoil-guanidin metánszulfonát.



(II)

Az AMP 579-ről, egy új adenosin A_1/A_2 receptor agonistáról kimutatták, hogy kardioprotektív hatása van, ha reperfúzióánál alkalmazzák. A nátrium-hidrogén cserélő inhibitorral végzett előkezelésről, vagy az iszkémiás előkondicionálásról (PC) kimutatták, hogy korlátozza az infarktus méretét. Ebben a tanulmányban azt vizsgáltuk, hogy az AMP 579 reperfúzióánál kifejtett hatását hozzá lehet-e adni a cariporide vagy a PC hatásához. Feltárt mellkasú nyúlshíveket vetettünk alá 45 perces regionális iszkémiának, majd háromórás reperfúziónak. A kontroll csoportban az infarktus mérete $55,8 \pm 3,9$ %. A PC az ötperces iszkémia + tízperces reperfúzió esetében szignifikánsan csökkentette az infarktus méretét, $26,0 \pm 6,7\%$ -ra. Az AMP 579-et bolus

injekcióban adjuk be (30 $\mu\text{g/kg}$), majd 70 percig 3 $\mu\text{g/kg/perces}$ infúzióval, ami közvetlenül a reperfúzió előtt kezdődik. Az AMP 579 önmagában is szignifikánsan csökkenti az infarktus méretét ($32,1 \pm 1,8\%$). Az AMP 579 és a PC kombinációja még jobban korlátozza az infarktus méretét ($5,5 \pm 2,7\%$), akár a PC, akár az AMP 579 önmagában való alkalmazásához hasonlítva. A vizsgálatok egy második sorozatában a szíveket 60 perces regionális iszkémiának vetjük alá, majd háromórás reperfúzió következik. A kontroll csoportban az infarktus mérete $66,0 \pm 4,9\%$. Ha a cariporide-ből az iszkémia fellépése előtt 5 perccel 0,5 mg/kg bolus injekciót adunk be, akkor ez szignifikánsan korlátozza az infarktus méretét ($41,5 \pm 7,7\%$). Ha a cariporide-ot AMP 579-cel kombináljuk, akkor az infarktus mérete tovább csökken, jelentősen kis méretre ($14,2 \pm 4,5\%$). Bár megvan a trend arra, hogy az AMP 579 önmagában is véd ($45,3 \pm 5,4\%$), ez nem szignifikáns, jelezve, hogy az iszkémiás sérülésnek van olyan korlátja, ami ellen az AMP 579 nem véd. Ha azonban közvetlenül a reperfúzió előtt az AMP 579-et cariporide bolus injekcióval kombináljuk, ez szignifikánsan korlátozza az infarktus méretét ($31,3 \pm 7,0\%$). Ezek az eredmények azt mutatják, hogy az AMP 579 hatása a reperfúziónál szinergizálhat a cariporide vagy a PC által biztosított védő hatással.

Az új adenosin A_1/A_2 receptor agonista, az AMP 579 számos állatfajban képes megvédeni a szívet az iszkémiás/reperfúziós sérüléstől, ha közvetlenül a reperfúzió előtt adjuk be [Smits GJ, McVey M, Cox BF, Perrone MH, Clark KL: Cardioprotective effects of the novel adenosine A_1/A_2 receptor agonist AMP 579 in a porcine model of myocardial infarction. J. Pharmacol. Exp. Ther. 286, 611-618 (1998) (a továbbiakban „Smits”); McVey MJ, Smits GJ, Cox BF, Kitzen

JM, Clark KL, Perrone MH: Cardiovascular pharmacology of the adenosine A_1/A_2 receptor agonist AMP 579: coronary hemodynamic and cardioprotective effects in the canine myocardium. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 33, 703-710 (1999) (a
5 továbbiakban: „McVey”); Budde JM, Velez DA, Zhao Z-Q, Clark KL, Morris CD, Muraki S, Guyton RA, Vinten-Johansen J: Comparative study of AMP 579 and adenosine in inhibition of neutrophil-mediated vascular and myocardial injury during 24 h of reperfusion, *Cardiovasc. Res.* 47, 294-405 (2000) (a
10 továbbiakban „Budd”); és Xu Z, Yang X-M, Cohen MV, Neumann T, Heusch G, Downey JM: Limitation of infarct size in rabbit hearts by the novel adenosine receptor agonist AMP 579 administered at reperfusion. *J. Mol. Cell Cardiol.* 32, 2339-2347 (2000) (a továbbiakban „Xu”)]. Az AMP 579 által
15 biztosított védelem reperfúziónál a szívizom-összehúzódás csökkenésének tulajdonítható [Xu Z, Downey JM, Cohen MV: AMP 579 reduces contracture and limits infarction in rabbit heart by activating adenosine A_2 receptors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* (2001), in press (a továbbiakban: „XuII”)], va-
20 lamint a reperfúzió során a szabad gyökök keletkezése csökkentésének [Xu Z, Cogen MV, Downey JM, Vanden Hoek TL, Yao Z: Attenuation of oxidant stress during reoxygenation by AMP 579 in cardiomyocytes. *Am. J. Physiol.* (2000) (leadva) (a továbbiakban „XuIII”)]. Mivel az AMP 579-et a szív meg-
25 védésére közvetlenül a reperfúzió előtt lehet beadni, ezért ésszerű arra gondolni, hogy az AMP 579 védelem mechanizmusa alapjaiban tér el azoktól a beavatkozásoktól, amiket meg kell tenni, azaz például a cariporide-os előkezeléstől vagy iszkémiás előkondicionálástól.

30 A cariporide-ról, ami az 1-es altípusú nátrium-hidrogén cserélő (NHE-1) szelektív inhibitora, szintén kimutatták, hogy számos különböző kísérleti modellben megvédi a szívet az iszkémiás/reperfúziós sérüléstől [Miura T, Ogawa

T, Suzuki K, Goto M, Shimamoto K: Infarct size limitation by a new $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange inhibitor Hoe 642: difference from preconditioning in the role of protein kinase C. *J. Am. Coll. Cardiol.* 29, 693-701 (1997) (a továbbiakban „Miura”);

5 Scholz W, Albus U, Counillon L, Gögelein H, Lang H-J, Linz W, Weichert A, Schölkens BA: Protective effects of HOE642, a selective sodium-hydrogen exchange subtype 1 inhibitor, on cardiac ischaemia and reperfusion. *Cardiovasc. Res.* 29, 260-268 (1995) (a továbbiakban „Scholz”); Klein HH, Bohle

10 RM, Pich S, Lindert-Heimberg S, Wollenweber J, Schade-Brittinger C, Nebendahl K: Time-dependent protection by $\text{Na}^+\text{/H}^+$ exchange inhibition in a regionally ischemic, reperfuse porcine heart preparation with low residual blood flow. *J. Mol. Cell Cardiol.* 30, 795-801 (1998) (a további-

15 akban „Klein”); Ito Y, Imai S, Ui G, Nakano M, Imai K, Kamiyama H, Naganuma F, Matsui K, Ohashi N, Nagai R: A $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange inhibitor (SM-20550) protects from microvascular deterioration and myocardial injury after reperfusion. *Eur. J. Pharmacol.* 374, 355-366 (1999) (a to-

20 vábbiakban „Ito”)]. A cariporide úgy védi meg a szívet, hogy gátolja az intracelluláris nátrium növekedését, és az ezt követő intracelluláris kalcium túlterhelést a miokardiális iszkémiás reperfúzió körülményei között, bár az még nem világos, hogy a cariporide a védelmet az iszké-

25 mia vagy a reperfúzió során nyújtja-e, a legtöbb vizsgálatból az derül ki, hogy akkor biztosítja a legjobb védelmet, ha előkezelésként alkalmazzák [Gumina RJ, Buerger E, Eickmeier C, Moore J, Daemmgen J, Gross GJ: Inhibition of the $\text{Na}^+\text{/H}^+$ exchanger confers greater cardioprotection

30 against 90 minutes of myocardial ischemia the ischemic preconditioning in dogs. *Circulation* 100, 2519-2526 (1999) (a továbbiakban „Gumino”), Klein HH, Pich S, Bohle RM, Wollenweber J, Nebendahl K: Myocardial protection by $\text{Na}^+\text{-H}^+$

exchange inhibition in ischemic, reperfused porcine hearts. Circulation 92, 912-917 (1995) (a továbbiakban „Klein II”); Rohmann S, Weygandt H, Minck K-O: Preischemic as well as postischemic application of a Na^+/H^+ exchange inhibitor
 5 reduces infarct size in pigs. Cardiovasc. Res. 30, 945-951 (1995) (a továbbiakban „Rohmann”)].

Az iszkémiás prekondicionálás (PC) egy olyan folyamat, aminek során a szívmot rövid iszkémiának és reperfúciónak vetik alá, és ez jelentősen csökkenti a későbbi, hosszú
 10 ideig tartó iszkémia által indukált szövetpusztulást [Murry CE, Jennings RB, Reimer KA: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation 74, 1124-1136 (1986)]. A PC-t olyan anyagok indukálják, amik az iszkémia rövid időtartama alatt szabadul-
 15 nak fel, beleértve az adenozint [Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AWH, Olsson RA, Downey JM: Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A_1 adenosine receptors in rabbit heart. Circulation 84, 350-356 (1991) (a továbbiakban „Liu”)], a bradikinint [Goto
 20 M, Liu Y, Yang X-M, Ardell JL, Cohen MV, Downey JM: Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. Circ. Res. 77, 611-621 (1995) (a továbbiakban „Goto”)], és az opioidok [Schultz JEJ, Rose E, Yao Z, Gross GJ: Evidence for involvement of opioid receptors in
 25 ischemic preconditioning in rat hearts. Am. J. Physiol. 268, H2157-H2161 (1995)], amikről azt gondolják, hogy a protein kináz C-t (PKC) aktiválják a fenntartott iszkémia során [Ytrehus K, Liu Y, Downey JM: Preconditioning protects ischemic rabbit heart by protein kinase C
 30 activation. Am. J. Physiol. 266, H1145-H1152 (1994) (a továbbiakban „Ytrehus”); Weinbrenner C, Liu G-S, Cohen MV, Downey JM: Phosphorylation of tyrosine 182 of p38 mitogen-activated protein kinase correlates with the protection of

preconditioning in the rabbit heart. J. Mol. Cell Cardiol. 29, 2383-2391 (1997)]. A PKC után eseményeket még nem derítették ki alaposan. Definíció szerint a védelemhez PC-t kell adni előkezelésként.

5 A védelem mechanizmusa valószínűleg eltér az előzőkben említett három beavatkozás során (AMP 579, cariporide és PC). Ha így van, akkor lehetséges, hogy a gyógyszerek kombinálásával szinergisztikus hatásokat kapunk. Tehát a jelen találmány célja annak vizsgálata, hogy az AMP 579 hatása a
10 reperfúziónál szinergisztikus-e a cariporide vagy a PC által indukált védelemmel.

Néhány, a jelen találmány szerinti készítményekben levő vegyület, aminek A_1/A_2 agonista hatása, vagy nátrium-hidrogén cserélő inhibitor hatása van, bázikus, és az ilyen
15 vegyületek jól használhatók a szabad bázis formájában, vagy gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sóik formájában.

A savak közé, amikkel a savaddíciós sókat lehet előállítani, előnyösen azok tartoznak, amik, ha a szabad bázissal kombináljuk őket, gyógyászatilag elfogadható sókat
20 adnak, azaz olyan sókat, amiknek az anionjai nem-toxikusak a betegre nézve a sók gyógyszerészeti dózisában, oly módon, hogy a szabad bázis előnyös hatásait nem rontják le az anionoknak tulajdonítható káros mellékhatások. A jelen találmány oltalmi körébe olyan gyógyászatilag elfogadható sók
25 tartoznak, amik ásványi savakból és szerves savakból származnak, ide tartoznak például hidrogénhalogenidek, azaz például a hidrokloridok és hidrobromidok, szulfátok, foszfátok, nitrátok, szulfamátok, acetátok, citrátok, laktátok, tartarátok, malonátok, oxalátok, szalicilátok, propionátok,
30 szukcinátok, fumarátok, maleátok, metilén-bisz-b-hidroxinaftoátok, gentizátok, izetionátok, di-p-toluiltartarátok, metánszulfonátok, etánszulfonátok, benzolszulfonátok, p-toluolszulfonátok, ciklohexilszulfamátok és kinátok.

Anyagok és módszerek

Ezt a vizsgálatot a *The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (National Academy Press, Washington, DC) (1996) útmutatásai szerint hajtottuk végre.

5 Műtétek

Akármilyen nemű fehér New Zealand nyulakat (2,0-2,5 kg-osak) 30 mg/kg intravénás pentobarbitallal anesztetizálunk, trachetomiával intubáljuk majd 100% oxigénnel lélegeztetjük egy pozitív nyomású respirátorral (MD Industries, 10 Mobile, AL). A légzési sebességet és a légzési térfogatot úgy állítjuk be, hogy az arteriális vérgázokat a fiziológias tartományban tartsuk. A testhőmérsékletet 38-39 °C-on tartjuk. Katétert vezetünk be a bal karotid artériába, a vérnyomás ellenőrzésére. Egy másik katétert vezetünk be a 15 jobb nyaki vénába a gyógyszer infúzióhoz. Baloldali thoracotomiát végzünk a negyedik bordaközi térben, és a perikardiumot megnyitjuk a szív hozzáférhetőségének biztosítására. Egy 2-0 selyem öltést, egy görbe, keskenyedő tűn, viszünk át a miokardiumon, a bal koronária artéria prominens ága körül. Az öltés végeit egy kis, lágy vinilcső 20 dabon visszük át, egy hurkot képezve. Az iszkémiát úgy indukáljuk, hogy meghúzzuk a hurkot, majd rögzítjük, a csövet egy kis hemosztáttal rögzítve. Az iszkémiát a cianózis megjelenésével igazoljuk. A reperfúziót úgy érjük el, hogy 25 meglazítjuk a hurkot, és a látható hiperémiával igazoljuk a ventrikuláris felszínen.

Háromórás reperfúzió után a nyúlak túlادagoltuk a pentobarbitált, és a szívet gyorsan eltávolítottuk a mellkasból, egy Langendorff berendezésre tettük, majd sóoldattal perfundáltattuk, a vér eltávolítása céljából. Ezután 30 a koronária artériát reokkludáltattuk, és 1 ml 0,25% fluoreszcens polimer mikrogömböt (2-9 μm átmérőjű, Duke Scientific Corp., Palo Alto, CA) infundáltattunk, hogy el-

határoljuk a kockázati zónát, mint olyan szövet-területet, amiben nincs fluoreszcencia. A szívet lemértük, lefagyasztottuk, majd 2,5 mm vastag metszeteket vágtunk belőle. A metszeteket 1%-os trifeniltetrazólium kloridban (TTC) inkubáltuk nátriumfoszfát pufferben, 37 °C-on, 20 percig. A metszeteket 10%-os formalinba áztattuk, hogy fokozzuk a kontrasztot, a festett (életképes) és a nem-festett (nekrotikus) szövet közötti különbséget, majd egymástól pontosan 2 mm-re levő üveglapok közé préseltük. A kockázatnak kitett szívizmot a lemezeket ultraibolya fénnel besugározva azonosítottuk. Az infarktusos és kockázati zónákat egy átlátszó acetát lemezen követtük nyomon, majd planimetriával mennyiségileg meghatároztuk, amely mérést a kísérleti felállítást nem ismerő dolgozó végzett. A területeket térfogatokká alakítottuk át, oly módon, hogy a területeket a metszet vastagságával szoroztuk. Az infarktus méretét a kockázati zóna százalékában fejeztük ki.

Kísérleti protokollok

45 perces iszkémia modell

Hét nyúlcsoporthoz vetünk alá egy 45 perces regionális iszkémiának, amit háromórás reperfúzió követ (1. ábra). A PC-t ötperces regionális iszkémiával indukáljuk, amit tízperces reperfúzió követ, az iszkémia elszenvedése előtt. Mindegyik AMP 579-et kapott csoport 30 µg/kg intravénás bolus injekciót kapott, amit 3 µg/kg/perces infúzió követett 70 percig. A PC + AMP (L) csoportban a szívek PC-t kaptak, majd AMP 579-cel kezeltük 70 perces reperfúzióval. Az AMP 579-et önmagában reperfúzióval adjuk 70 percig, az AMP (L) csoportban. Az AMP (E&L) csoportban a szíveket 120 percig AMP 579-cel kezeljük, az iszkémia előtt 5 perccel kezdve. A cariporide intravénás bolus injekcióját vagy 5 perccel az iszkémia előtt (Cariporide (E)), vagy 5 perccel

a reperfúzió előtt (Cariporide (L)) adjuk be.

60 perces iszkémia modell

A cariporiddal végzett előkezelés olyan hatékony volt, hogy minden további védelem valószínűleg kimutathatatlan egy 45-perces iszkémiában. Ezért 60 perces iszkémiás periódust választottunk ezekhez a vizsgálatokhoz. Amint az a 2. ábrán látható, öt nyúlcsoporton végeztünk 60 perces regionális iszkémiát, majd háromórás reperfúziót. A kontroll csoport nem kapott kezelést. Mindegyik AMP 579-et kapott csoport 30 $\mu\text{g/kg}$ intravénás bolus injekciót kapott, amit 3 $\mu\text{g/kg/perces}$ infúzió követett 70 percig. A cariporide (E) csoportban a szív 0,5 mg/kg cariporide bolus injekciót kapott az iszkémia előtt. A cariporide (E) + AMP (L) csoportban, a cariporide előkezelés mellett a szív AMP 579-et is kapott a reperfúzió megkezdésekor. A cariporide (L) + AMP (L) csoportban a szívet 0,5 mg bolus cariporide-dal és AMP 579-cel kezeltük, a reperfúzió megkezdésekor. Az AMP (L) csoport csak AMP 579-et adtunk be a reperfúzió megkezdésekor.

20 Vegyszerek

Az AMP 579-et és a cariporide-t az Aventis Pharma-tól vettük, és kis térfogatú dimetilszulfoxidban (DMSO) oldjuk, aminek nincs független hatása az infarktusra.

Statisztika

Minden adatot átlag $\pm$ S.E.M. formájában fejezünk ki. Egyutas ANOVA-t, a Scheffé post hoc teszttel kombinálva, használunk, hogy vizsgáljuk az alapvonal hemodinamika és az infarktus mérete különbségeit a csoportok között. ANOVA-t használunk replikációval, hogy vizsgáljuk a hemodinamika változásait a kísérletben, minden egyes csoportban. A 0,5-nél kisebb p értéket tekintjük szignifikánsnak.

Eredmények

45 perces iszkémia modell

Ebben a modellben azt vizsgáltuk, hogy az AMP 579 védő hatása hozzáadható-e a PC védő hatásához. A 3. ábrából ki-
derül, hogy egy PC ciklus szignifikánsan csökkenti az in-
farktus méretét, a kontroll állatok kockázati zónája $55,8 \pm 3,9\%$ -áról a kockázati zóna $26,0 \pm 6,7\%$ -ára. Ha a reperfú-
zió kezdetekor csak AMP 579-es kezelést végzünk, akkor ez
is szignifikánsan csökkenti az infarktus méretét a kocká-
zati zóna $32,1 \pm 1,8\%$ -ára. A PC és az AMP 579 kombinált
használata reperfúziónál tovább csökkenti az infarktus mé-
retét, a kockázati zóna $5,5 \pm 2,7\%$ -ára, ami szignifikánsan
kisebb, mint amit akár a PC-vel, akár az AMP 579-cel önma-
gában lehetett megfigyelni. Ezenkívül megbecsüljük a
cariporide hatását az infarktus méretére a 45-perces iszké-
mia modellben. A cariporide hatását is megbecsüljük az in-
farktus méretére, a 45-perces iszkémia modellben. A
cariporide-os előkezelés erősen csökkenti az infarktus mé-
retét, a kockázati zóna $8,5 \pm 3,7\%$ -ára, ami szintén kisebb,
mint amit a kontroll szívekben lehet látni. Ha azonban a
cariporide-ot közvetlenül a reperfúzió előtt adjuk be, ak-
kor nem képes megvédeni a szívet (a kockázati zóna $53,4 \pm 3,5\%$ -ára kiterjedő infarktus). Az alapvonali szívritmus és
az átlagos artériás nyomás nem tér el az öt csoportban (1.
táblázat). Ezért nincs szignifikáns különbség a csoportok
között a testsúlyban, a szívsúlyban és a kockázati zóna mé-
retében (1. táblázat).

60 perces modell

Mivel a cariporide önmagában ilyen erős védelmet nyújtott a 45 perces modellben, ezért a 60 perces iszkémiát vá-
lasztottuk ki a cariporide plusz AMP 579 protokollokhoz. Az
alapvonali szívritmus és az átlagos artériás nyomás nem tér
el az öt csoportban (3. táblázat). Ezért nincs szignifikáns

különbség a csoportok között a testsúlyban, a szívsúlyban és a kockázati zóna méretében (4. táblázat). A kontroll szívekben az infarktus mérete a kockázati zóna $66,0 \pm 4,9\%$ -a (4. táblázat). A cariporide-dal végzett korai kezelés szignifikánsan csökkenti az infarktus méretét, a kockázati zóna $41,5 \pm 7,7\%$ -ára. Ha a cariporide korai beadását kombináljuk az AMP 579 reperfúzióval, akkor az infarktus mérete tovább csökken a kockázati zóna $14,2 \pm 4,5\%$ -ára, jelezve, hogy szinergikus hatás van a cariporide és az AMP 579 között a szívinfarktus esetében. Ha az AMP 579-et önmagában adjuk be a reperfúzióval együtt, akkor ez az infarktus mérete csökkenésének trendjét mutatja (a kockázati zóna $45,3 \pm 5,4\%$ -a), de a statisztikai elemzésből kiderült, hogy a kontrollhoz viszonyítva a különbség nem szignifikáns. Érdekes módon, ha az AMP 579-et és a cariporide-ot pont közvetlenül a reperfúzió előtt kombináljuk, akkor a kombináció szignifikánsan korlátozza az infarktus méretét (a kockázati zóna $31,3 \pm 7,0\%$ -a), ami megint azt sugallja, hogy van valamilyen szinergisztikus hatás a cariporide és az AMP 579 között, még akkor is, amikor mindkettőt a reperfúziónál adjuk be.

Tárgyalás

Ennek a vizsgálatnak a legfontosabb eredménye, hogy az AMP 579 által biztosított védelem a reperfúziónál hozzáadható a cariporide védő hatásához, az iszkémia előtt adva, ami mélyreható védelmet biztosít. Egy másik szinergisztikus hatás figyelhető meg, ha az AMP 579-et az iszkémiás prekondicionálással kombináljuk. Ezek a megfigyelések azt sugallják, hogy az AMP 579 hatásának mechanizmusa eltér a cariporide vagy a PC mechanizmusától. Emellett úgy tűnik, hogy ezeknek a gyógyszereknek a kombinációja jelentős védelmet biztosít a szívinfarktus ellen klinikai körülmények

között, és különösen jól használható a szívműtétekben.

Az AMP 579-ről demonstrálták, hogy megvédi a szívet az iszkémiás és reperfúziós sérüléssel szemben, ha a reperfúziónál adják be (Smits; McVey; Budde; Xu), ami magában foglalja, hogy az AMP 579 képes megakadályozni a reperfúziós sérülést. Ezekben a vizsgálatokban a sziveket 30 perces iszkémiának tesszük ki, és az AMP 579-et vagy a háromórás reperfúzió előtt 10 perccel, vagy annak megkezdésekor adjuk be. Ebben a vizsgálatban az AMP önmagában védő hatást nyújt a 45 perces modellben, de a védelem nem demonstrálható a 60 perces modellben, ami azt sugallja, hogy az iszkémiás sérülésnek van egy felső határa, amivel szemben az AMP nem nyújt védelmet. Bár az AMP 579 által biztosított védő hatás világosan kevésbé hatékony, mint a cariporide előkezelése, azért megjegyzésre méltó, hogy a kombinált hatás drasztikus szinergisztikus hatást jelez.

A jelen tanulmány 45 perces iszkémia modelljében a cariporide késői beadása önmagában (a reperfúziónál) egyáltalán nem kardioprotektív (4. ábra). Ez igazolja mások megfigyelését, hogy nekik sem sikerült védelmet biztosítani, ha a cariporide-ot a reperfúziónál adták be (Klein II; Klein HH, Pich S, Bohle RM, Lindert-Heimberg S, Nebendahl K: Na^+/H^+ exchange inhibitor cariporide attenuates cell injury predominantly during ischemia and not at onset of reperfusion in porcine hearts with low residual blood flow. *Circulation* 102, 1977-1982 (2000) (a továbbiakban „Klein III”)). Érdekes módon, ha a cariporide és az AMP 579 kombinációját a reperfúziónál adjuk be, az infarktus méretének csökkenése figyelhető meg, a kontrollhoz viszonyítva. Bár a védelem sokkal kisebb volt, mint ami akkor volt megfigyelhető, amikor a cariporide-ot adtuk előkezelésként, ez azt sugallja, hogy van kis hatása a reperfúziónál. Az azonban nem világos, hogy a védelmet egy „megkönnyítő” mecha-

nizmussal kapjuk, vagy valamilyen additív hatással.

Bár az AMP 579 és a cariporide szinergisztikus hatásának a pontos oka nem ismert, arra gondolunk, hogy két meglehetősen eltérő mechanizmus, amivel a két gyógyszer hat, eredményezhet szinergisztikus hatást. Úgy tűnik, hogy a reperfúziónál az AMP 579 védelem az adenosin A_2 receptor stimulálásán keresztül játszódik le [McVey; Xu II; Nakamura M, Zhao Z-Q, Clark KL, Velez DV, Guyton RA, Vinten-Johansen J: A novel adenosine analog, AMP579, inhibits neutrophil activation, adherence and neutrophil-mediated injury to coronary vascular endothelium. Eur. J. Pharmacol. 397, 197-205 (2000) (a továbbiakban "Nakamura")]. Legfrissebb adataink is azt sugallják, hogy az AMP 579 a szívet a reperfúziós sérüléstől a miokardiális összehúzódás gyengítésén keresztül védi meg (Xu II), és elnyomja a szabad gyökök reperfúziónál megfigyelhető kiszabadulását (Xu III). Nakamura és munkatársai (Nakamura) azt javasolták, hogy a neutrofil aktiválás szerepet játszik az AMP 579 aktiválásában. Mi azonban azt találtuk, hogy az AMP 579 ugyanilyen védő hatást biztosít a pufferrel perfundált nyúl szívben, amik neutrofil-mentesek (Xu). Tehát az AMP 579 által biztosított védelem pontos mechanizmusa továbbra is talányos maradt. A cariporide egy szelektív NHE-1-inhibítor (Scholz). Az iszkémia során a protonok akkumulálódása aktiválja az Na^+/H^+ cserélőt, és ezt követően az Na^+/H^+ cserélő ezeket Na^+ -ra cseréli. Az Na^+ akkumulálódása az iszkémia során zavarja a térfogat-kontrollt, és a reperfúziónál a Na^+ ki tud cserélni a Ca^{++} -szal, ami citoszólos kalcium túlterhelést eredményez. A reperfúziónál, amikor a pH normalizált, az NHE-1-nek részlegesen aktívnak kell lennie. Bár az NHE-1 gátlásról széles körben elismerik, hogy kardioprotektív [Gumina; Klein III; Rupprecht HJ, Dahl JV, Terres W, Seyfahrt KM, Richardt G, Schultheib HP, Buerke M, Sheehan FH, Drexler H:

Cardioprotective effects of the Na^+/H^+ exchange inhibitor cariporide in patients with acute anterior myocardial infarction undergoing direct PTCA. *Circulation* 101 2902-2908 (2000); Stromer H, de Groot M, Horn M, Faul C, Leupold A, Morgan JP, Scholz W, Neubauer S: Na^+/H^+ exchange inhibition with HOE642 improves postischemic recovery due to attenuation of Ca^{2+} overload and prolonged acidosis on reperfusion. *Circulation* 101, 2749-2755 (2000)], az még nem világos, hogy a védelem kifejeződik-e az iszkémia során is [Miura; Klein; Klein II], vagy a reperfúziónál [Rohmann; Linz W, Albus U, Crause P, Jung W, Weichert A, Scholkens BA, Scholz W: Dose-dependent reduction of myocardial infarct mass in rabbits by the NHE-1 inhibitor cariporide (HOE 642). *Clin. Exp. Hypertens.* 20, 733-749 (1998)]. Egy friss közleményben Klein és munkatársai azt állítják, hogy a cariporide által biztosított miokardiális védelmet főleg azzal lehet elérni, hogy az NHE-1 az iszkémia során gátlódik, és nem a reperfúzió során (Klein III). Ezzel a publikációval összhangban kiderítettük, hogy a cariporide kezelés a reperfúziónál nem tudja megvédeni a szívet az iszkémia/reperfúziós sérüléstől a 45 perces modellben. Ezért tehát ésszerű az a feltételezés, hogy különböző mechanizmusok játszanak szerepet az AMP 579 és a cariporide hatásában. Valószínűleg a két gyógyszer különböző mechanizmusai képezik az alapját a szinergisztikus hatásnak.

A jelen találmány 45 perces iszkémia modelljében az AMP 579 védő hatása hozzáadódik a PC hatásához. A PC-t olyan anyagok indítják be, amik a rövid iszkémiás periódus alatt szabadulnak fel, beleértve az adenozint, a bradykinint és az opioidok (Liu; Goto), amikről azt gondolják, hogy azt követően aktiválják a protein kináz C-t (PKC), egy hosszú ideig tartó iszkémia alatt (Ytrehus). Néhány specifikus antagonistával megbízhatóan ki-

derítették, hogy az A_1 és az A_3 receptorok képesek iniciálni az iszkémiás prekondicionálást, de az A_2 receptorok nem [Thornton JD, Liu GS, Olsson RA, Downey JM: Intravenous pretreatment with A_1 -selective adenosine analogues protects the heart against infarction. *Circulation* 85, 659-665 (1992); Liu GS, Richards SC, Olsson RA, Mullane K, Walsh RS, Downey JM: Evidence that the adenosine A_3 receptor may mediate the protection afforded by preconditioning in the isolated rabbit heart. *Cardiovasc. Res.* 28, 1057-1061 (1994)]. Reperfúziónál adva az AMP 579 megvédi a szívet az iszkémiás/reperfúziós sérüléstől, az A_2 receptorok aktiválásával, de nem az A_1 receptorok aktiválásával (Xu; Nakamura), ami azt mutatja, hogy különbség van az AMP 579 és a PC mechanizmusa között. Ezért tehát nem meglepő, hogy az AMP 579 a reperfúziónál additív lehet a PC által biztosított védelemmel.

Ha iszkémia előtt adjuk be, akkor arra gondoltunk, hogy az AMP 579 befolyásolhatja a védelmet, oly módon, hogy stimulálja az adenosin A_1 receptorokat és meghívja a PC mechanizmusát (McVey). Ha ez az eset, akkor az AMP 579 iszkémia előtt kezdődő beadásától, ami a reperfúzió után 70 percig tart, az várható, hogy a védelemnek azt a szintjét biztosítja, ami összehasonlítható a PC plusz AMP 579 által biztosított védelemmel. Mi azonban nem tudtuk megfigyelni ezt a „várt” hatást a 45 perces iszkémiás modellünkben (4. ábra). Az lehetséges, hogy az AMP 579-et nem adtuk elég nagy koncentrációban ahhoz, hogy adekvát A_1 receptor stimulálást kapjunk, ami prekondicionálja a szívet.

Összefoglalva, demonstráltuk, hogy az új adenosin A_1/A_2 receptor agonista, az AMP 579 carporide-dal vagy iszkémia prekondicionálással kombinálva erősen csökkenti a miokardiális szívinfarktus méretét nyitott mellkasú nyúl szívekben. A három különböző beavatkozás mögött álló három

különböző mechanizmus hozzájárulhat az additív hatásokhoz. Emellett, ezek a felismerések egy erősen hatékony eszközt biztosíthatnak a szív megvédésére a szívműtétek során, ahol az előkezelés egy lehetőség.

5 Az alábbiakban röviden ismertetjük a mellékelt ábrákat.

1. ábra: Kísérleti protokoll a 45 perces iszkémia modellhez.

2. ábra: Kísérleti protokoll a 60 perces iszkémia modellhez.

3. ábra: A PC és az AMP 579 hatásai a szívinfarktus méretére, a kockázati zóna százalékában kifejezve. Az infarktus méretét trifeniltetrazólium (TTC) festéssel mértük meg. Az üres körök reprezentálják az egyes kísérleteket, míg a tele körök a csoport-átlagokat jelentik, S.E.M.-mel.
15 * $p < 0,05$ vs. kontroll; # $p < 0,05$ vs. PC és AMP (L).

4. ábra: A carporide és az AMP 579 hatásai a szívinfarktus méretére, a kockázati zóna százalékában kifejezve, a 60 perces iszkémia modellben. Az infarktus méretét trifeniltetrazólium (TTC) festéssel mértük meg. Az üres körök reprezentálják az egyes kísérleteket, míg a tele körök a csoport-átlagokat jelentik, S.E.M.-mel. A rövidítéseket lásd az 1. táblázatnál. * $p < 0,05$ vs. kontroll; # $p < 0,05$ vs. Carporide (E).

1. táblázat

A 45 perces iszkémia modell hemodinamikus adatai

	Alapvonal	Iszkémia	Rep 30'	Rep 90'	Rep 180'
Pulzus (szívverés/perc)					
Kontroll	260±10	265±13	253±10	247±14	248±15
PC	278±10	280±10	273±9	275±10	270±11
PC + AMP (L)	276±9	269±8	240±12	233±5	246±10
AMP (L)	267±6	265±6	230±7	247±13	247±8
AMP (E&L)	288±8	247±11	238±12	233±10	257±11
Cariporide (E)	290±9	275±9	273±8	267±8	260±7
Cariporide (L)	277±10	263±11	258±9	257±8	248±6
MAP (mmHg)					
Kontroll	96,3±4,5	81,4±5,0	79,1± 4,9	78,6± 4,8	78,0± 3,1
PC	100±3,9	88,1±2,5	88,1± 2,7	86,9± 3,4	80,0± 2,5
PC + AMP (L)	101±3,9	87,9±3,0	70,5± 7,7	73,3± 7,2	82,2± 7,9
AMP (L)	92,8±5,6	72,2±2,6	58,9± 4,6	67,8± 6,2	67,3± 4,9
AMP (E&L)	93,9±4,6	65,8± 4,9	62,8± 4,3	67,2± 3,8	77,2± 4,9
Cariporide (E)	95,6± 3,7	84,2± 5,7	83,9± 4,3	83,4± 4,6	78,2± 5,3
Cariporide (L)	93,9± 2,7	75,5± 4,1	73,6± 3,2	77,5± 2,3	71,9± 4,5

Átlag ± S.E.M.

Rövidítések: PC = iszkémiás prekondicionálás; PC + AMP (L) = iszkémiás prekondicionálás + AMP 579 beadás 70 percre, a reperfúzióval kezdve; AMP (L) = AMP 579 beadás 70 percre, a reperfúzióval kezdve; AMP (E&L) = AMP 579 beadás megkezdése az iszkémia előtt 5 perccel kezdve, 120 percre; Cariporide (E) = cariporide bolus injekció 5 perccel az iszkémia előtt kezdve; Cariporide (L) = cariporide bolus injekció 5 perccel a reperfúzió előtt kezdve; HR = pulzusszám; MAP = átlagos artériás nyomás.

2. táblázat

Infarktus-méret adatok a 45 perces iszkémia modellben

	n	Testsúly (kg)	Szív-súly (g)	Kockázati zóna (cm ³)	Infarktus mé- ret (cm ³)
Kontroll	6	2,3±0,1	7,2±0,3	0,97±0,04	0,54±0,06
PC	6	2,3±0,1	7,4±0,1	1,02±0,24	0,32±0,14*
PC + AMP (L)	7	2,1±0,0	6,9±0,3	1,13±0,08	0,07±0,04*#
AMP (L)	6	2,1±0,0	7,1±0,1	1,15±0,11	0,37±0,03*
AMP (E&L)	6	2,2±0,1	7,4±0,1	1,17±0,12	0,26±0,05*
	6	2,3±0,1	7,2±0,2	1,35±0,15	0,13±0,07*
Cariporide (L)	6	2,1±0,0	6,9±0,2	1,13±0,14	0,60±0,08

Átlag ± S.E.M.

* p < 0,05 vs kontroll; # p < 0,05 vs. PC és AMP

5 Rövidítések: lásd a 2. és 3. táblázatot.

3. táblázat

A 60 perces iszkémia modell hemodinamikus adatai

	Alapvonal	Iszkémia	Rep 30'	Rep 90'	Rep 180'
Pulzus (szívverés/perc)					
Kontroll	275±6	273±9	260±9	263±9	258±8
Cariporide (E)	286±8	267±26	274±11	272±7	263±11
Cariporide (E) + AMP (L)	277±12	269±12	238±12	239±13	246±15
Cariporide (L) + AMP (L)	272±11	260±12	235±9	240±10	243±10
AMP (L)	289±12	274±11	235±10	253±12	268±10
MAP (mmHg)					
Kontroll	94,3±2,3	83,5±3,7	78,2± 4,1	77,7± 4,3	75,3± 4,6
Cariporide (E)	94,2±1,5	86,7±2,1	82,8± 2,2	79,7± 2,2	79,0± 3,3
Cariporide (E) + AMP (L)	93,8±2,1	82,6±2,2	68,6± 5,1	73,0± 2,7	74,8± 3,0
Cariporide (L) + AMP (L)	93,9±2,3	80,0±3,5	63,9± 4,8	67,8± 2,5	72,8± 3,8
AMP (L)	102,1±2,5	93,4±2,9	73,3± 2,8	83,6± 4,0	85,0± 2,9

Átlag ±S.E.M.

- 5 Rövidítések: Cariporide (E) = bolus cariporide injekció, 5 perccel az iszkémia előtt; Cariporide (E) + AMP (L) = bolus cariporide injekció, 5 perccel az iszkémia előtt, majd AMP 579 beadás 70 percre, a reperfúzióval kezdve; Cariporide (L) + AMP (L) = bolus cariporide injekció, 5 perccel az AMP 579 beadása után, AMP 579 beadás, a reperfúzióval kezdve; AMP (L); AMP 579 beadás 70 percre, a reperfúzióval kezdve; HR = pulzusszám; MAP = átlagos artériás nyomás.
- 10

4. táblázat

Infarktus-méret adatok a 60 perces iszkémia modellben

	n	Testsúly (kg)	Szívsúly (g)	Kockázati zóna (cm ³)	Infarktus mé- ret (cm ³)
Kontroll	10	2,3±0,0	7,9±0,2	1,14±0,13	0,77±0,11
Cariporide (E)	6	2,4±0,0	7,6±0,3	1,17±0,11	0,47±0,08*
Cariporide (E) + AMP	7	2,3±0,0	7,4±0,1	1,03±0,11	0,15±0,05*#
Cariporide (L) + AMP	6	2,4±0,0	7,5±0,2	1,09±0,08	0,36±0,09*
AMP	8	2,3±0,0	7,5±0,2	1,25±0,12	0,59±0,09

Átlag ± S.E.M.

* p < 0,05 vs kontroll; # p < 0,05 vs. Cariporide (E) és

5 Cariporide (L) + AMP

Rövidítések: lásd 1. táblázat; n = a nyulak száma az egyes csoportokban.

A jelen találmány egyik megvalósítási módja egy
10 adenzin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyület és
egy nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendel-
kező vegyület gyógyászatiag hatásos mennyiségének alkalma-
zása egy olyan gyógyszer előállításában, ami kardioprotek-
ciót biztosít ilyen kezelésre szoruló betegnek.

15 A jelen találmány egy előnyben részesített megvalósí-
tási módja egy olyan gyógyászati készítmény, ami tartalmaz
egy gyógyászatiag elfogadható hordozót, és egy adenzin
A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyület és egy ná-
trium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező ve-
20 gyület gyógyászatiag hatásos mennyiségét, amiben az
adenzin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyület az
AMP 579 vagy annak gyógyászatiag elfogadható sója.

A jelen találmány egy másik, előnyben részesített meg-

valósítási módja egy olyan gyógyászati készítmény, ami tartalmaz egy gyógyászatilag elfogadható hordozót, és egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyület és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyület gyógyászatilag hatásos mennyiségét, és amiben a nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyület a cariporide, az eniporide, a zoniporide, a BMS-284640, a BIIB-513 BIIB-722CI az EMD-85131, a KB-R9032, az MS-31-038, az SL-59.1227, az SM20550, az SMP-300, a T-559 és a TY-12533.

A jelen találmány egy másik, még inkább előnyben részesített megvalósítási módja egy olyan gyógyászati készítmény, ami tartalmaz egy gyógyászatilag elfogadható hordozót, és egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyület és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyület gyógyászatilag hatásos mennyiségét, és amiben a nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyület a cariporide.

A jelen találmány egy speciális megvalósítási módja egy gyógyászati készítmény, ami tartalmaz gyógyászatilag elfogadható hordozót, AMP 579-et vagy annak gyógyászatilag elfogadható sóját és cariporide-ot.

A jelen találmány egy másik, előnyben részesített megvalósítási módja eljárás a reperfúziós sérülés elleni védelemre egy ilyen kezelésre szoruló betegben, ami abból áll, hogy az említett betegnek gyógyászatilag hatásos mennyiséget adunk be egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületből és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyületből.

A jelen találmány egy másik, előnyben részesített megvalósítási módja eljárás az iszkémia elleni védelemre egy ilyen kezelésre szoruló betegben, ami abból áll, hogy az említett betegnek gyógyászatilag hatásos mennyiséget adunk

be egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületből és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületből.

A jelen találmány egy másik, előnyben részesített megvalósítási módja eljárás kardioprotekcióra szívműtét előtt, alatt vagy után, egy ilyen kezelésre szoruló betegben, ami abból áll, hogy az említett betegnek gyógyászati-
lag hatásos mennyiséget adunk be egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületből és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületből.

A jelen találmány egy másik, előnyben részesített megvalósítási módja eljárás kardioprotekcióra egy ilyen kezelésre szoruló betegben, iszkémiás roham előtt, alatt vagy
után, ami abból áll, hogy az említett betegnek gyógyászati-
lag hatásos mennyiséget adunk be egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületből és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületből.

A jelen találmány szerinti kardioprotekciós eljárásban az adenozin A1/A2 agonista vegyületet és a nátrium-hidrogén cserélő inhibítor vegyületet különböző módokon adhatjuk be, azaz például kombinációs terápiában, adott esetben orvosi eljárásokat alkalmazva. Például az adenozin A1/A2 agonista vegyületet és a nátrium-hidrogén cserélő inhibítor vegyület
egy betegnek be lehet adni egyidőben, vagy különböző időpontokban, azzal a feltétellel, hogy úgy adjuk be őket, hogy bizonyos időtartam alatt mindkét vegyületből gyógyászati-
lag hatásos mennyiség van jelen a betegben, aminek
eredménye a jelen találmány szerinti terápiás hatás.

A jelen találmány tárgya továbbá egy kit, amivel kardioprotekciót lehet biztosítani egy betegben, amely kit több különböző konténert tartalmaz, amely szóban forgó kon-

ténerek közül legalább az egyik egy adenosin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületet tartalmaz, és legalább egy másik szóban forgó konténer egy nátrium-hidrogén cserélő inhibítor vegyületet tartalmaz, és a szóban forgó konténerek adott esetben tartalmazznak egy gyógyászati hordozót, amely kit hatékonyan használható a jelen találmány szerinti kombinációs terápiákban. A kitnek egy további megvalósítási módja az lehet, amikor a szóban forgó konténerek közül legalább az egyik konténer tartalmazza az adenosin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületet, anélkül hogy a nátrium-hidrogén cserélő inhibítor vegyület jelen lenne, és a szóban forgó konténerek közül legalább egy másik a nátrium-hidrogén cserélő inhibítor vegyületet tartalmazza, anélkül hogy az adenosin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyület jelen lenne.

A gyakorlatban az adenosin A1/A2 agonista vegyületet és a nátrium-hidrogén cserélő inhibítor vegyületet be lehet adni parenterálisan, topikálisan, rektálisan, transzdermálisan, intrapulmonárisan vagy orálisan, de előnyösen parenterálisan és/vagy orálisan adjuk be.

A jelen találmány szerint használt vegyületeket tartalmazó, megfelelő készítményeket hagyományos módszerekkel lehet előállítani. Például a jelen találmány szerint használt vegyületeket egy megfelelő hordozóban oldani vagy szuszpendálni lehet.

A jelen találmány szerint használt vegyületeket olyan formában kell alkalmazni, amik lehetővé teszik a legmegfelelőbb úton történő beadásukat, és a jelen találmány tárgya továbbá egy gyógyászati készítmény, ami a jelen találmány szerinti vegyületet tartalmazza, és ami alkalmas emberi vagy állatgyógyászati gyógyszerként. Ezeket a készítményeket a szokásos módszerekkel lehet előállítani, egy vagy több gyógyászatilag elfogadható hordozót alkalmazva,

ami adjuvászokat vagy töltőanyagokat tartalmaznak. Az adjuvászok tartalmaznak többek között higítószereket, steril vizes és nem toxikus szerves oldószereket. A készítmények kisserelési formája lehet tabletta, pirula, kapszula, szögletes tabletta, pasztilla, kemény cukorka, granulátum, por, 5 vizes oldat vagy szuszpenzió, injekciózható oldat, elixír vagy szirup, por, oldat vagy por intrapulmonáris beadáshoz, és tartalmazhat egy vagy több olyan ágenst, amit a következő csoportból választunk ki: édesítőszer, 10 illatosítószer, szinező anyagok, vagy stabilizálószer, azzal a céllal, hogy gyógyászatilag elfogadható készítményeket kapjunk.

A hordozót, és a hordozóban a jelen találmány szerint használt vegyület mennyiségét általában a vegyületek oldhatósági és kémiai tulajdonságai alapján határozzuk meg, a 15 beadás módját és feltételeket a gyógyászati gyakorlatban határozva meg. Például a tabletták előállításához töltőanyagokat, azaz például steril vizet, Ringer oldatot, laktózt, nátrium-citrátot, izotóniás sóoldatokat 20 (mononátrium vagy dinátrium foszfát, nátrium-, kálium-, kalcium- vagy magnézium-klorid, vagy ezeknek a sóknak a keveréke), CaCO_3 és dezintegráló ágens, azaz például keményítő, algin-savak és bizonyos komplex szilikátok, sikosító anyagokkal, azaz például magnézium-sztearáttal, nátrium-dodecyl-szulfáttal és talkummal kombinálva. Egy kapszula előállításához előnyös a laktóz és nagy molekulásúlyú polietilén-glikolok használata. Ha vizes szuszpenziókat használunk, akkor ezek emulgeáló szereket vagy ágenset tartalmazhatnak, amik megkönnyítik a szuszpendálást. A higítószer, 25 azaz például a szacharóz, etanol, polietilén-glikol, propilén-glikol, glicerín és kloroform, vagy ezek keveréke is használható.

A parenterális beadáshoz a jelen találmány szerint

használt vegyületek emulziói, szuszpenziói vagy oldatai használhatók, amikhez használhatunk növényi olajokat, azaz például szezámolajat, földimogyoró olajat vagy olivaolajat, vagy vizes-szerves oldatokat, azaz például vizet vagy
5 propilénglikolt, injekciózható szerves észtereket, azaz például etiloleátot, valamint gyógyászatilag elfogadható sók steril vizes oldatait. A jelen találmány szerint használt vegyületek sóinak oldatai különösen jól használhatók intramuszkuláris, intravénás, intraarteriális vagy szubku-
10 tán injekciózáshoz, vagy infúziós technikákhoz. A vizes oldatokat, amik tartalmazzák a sók oldatait is tiszta desztillált vízben, használhatjuk intravénás beadáshoz, azzal a feltétellel, hogy pH-jukat megfelelően beállítjuk, azaz megfelelően pufferelve vannak és izotóniássá vannak téve
15 megfelelő mennyiségű glükózzal vagy nátrium-kloriddal, és hővel, besugárzással vagy mikroszűréssel sterilizelve vannak.

A jelen találmány szerinti adenosin A₁/A₂ agonista aktivitással rendelkező vegyületet és a nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületet olyan módon is formulázhatjuk, ami ellenáll annak hogy konvekcióval és/vagy diffúzióval gyorsan kiürüljön az (artériás vagy vé-
20 nés) érfalból, ezzel megnövelve a készítmény tartózkodási idejét a hatás kívánt helyén. A jelen találmány szerinti, jól használható depók lehetnek egy kopolimer mátrixban, azaz például etilén-vinilacetátban, vagy polivinil-alkoholban, amit egy Silastic héj vesz körül. Egy másik változat szerint az adenosin A₁/A₂ agonista aktivitással rendelkező vegyületet és a nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületet lokálisan is beadhatjuk,
25 az adventitiába beültetett szilikon polimerből.

Egy alternatív megközelítési mód arra, hogy minimalizáljuk az adenosin A₁/A₂ agonista aktivitással rendelkező vegyület és a nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivi-

tással rendelkező vegyület kimosódását a perkután, transzvaszkuláris bejuttatás során, nem diffundáló, drog-eluáló mikrorészecskék alkalmazása. A mikrorészecskék lehetnek különböző szintetikus polimerek, azaz például polilaktid, vagy természetes anyagok, beleértve a fehérjéket vagy poliszacharidokat. Az ilyen mikrorészecskék lehetővé teszik a változók stratégiai manipulálását, beleértve a gyógyszer teljes dózisát és felszabadulásának kinetikáját. A mikrorészecskék hatékonyan injekciózhatók az arteriális vagy vénás falba egy porózus ballon katéteren vagy egy tágító fölötti ballonnal keresztül, és legalább két hétig megmaradnak a vaszkuláris falban és a periadventitialis szövetben. A terápiás ágensek lokális, intravaszkuláris helyspecifikus bejuttatását a szakirodalomban tárgyalják [Reissen és mtsai: J. Am. Coll. Cardiol. 23, 1234-1244 (1994), amely publikációnak a teljes tartalmát a továbbiakban referenciaként kezeljük).

Az adenosin A₁/A₂ agonista aktivitással rendelkező vegyület és a nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyület közege is lehet egy hidrogél, amit bármilyen biokompatibilis vagy nem-toxikus (homo vagy hetero) polimerből állítunk elő, azaz például hidrofil poliakrilsav polimerből, ami gyógyszert elnyelő szivacsként hathat. Ezeket a polimereket például a WO 93/08845 számú szabadalmi leírásban ismertették, amely publikációnak a teljes tartalmát a továbbiakban referenciaként kezeljük. Ezek közül számos, de leginkább az etilén és/vagy propilénoxid kereskedelmi forgalomban hozzáférhető.

Emellett, az adenosin A₁/A₂ agonista aktivitással rendelkező vegyületet és a nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyületet beadhatjuk közvetlenül a véredény falába, angioplasztikus ballonnal, amit hidrofil film borít (például egy hidrogél), vagy bármilyen más

katéterrel, ami a vegyülethez infúziós kamrát tartalmaz, amit így azután pontosan lehet alkalmazni a kezelendő területre.

A jelen találmány szerint használt adenosin A1/A2 agonista vegyület és a nátrium-hidrogén cserélő inhibitor vegyület százalékat változtathatjuk. A vegyületeknek egy olyan részt kell képezniük, amikkel megfelelő dózist lehet kapni. Nyilvánvalóan számos egységdózis forma adható be. A használt dózist a gyakorló orvos határozza meg, és ennek nagysága függ a kívánt terápiás hatástól, a beadás módjától és a kezelés hosszától, valamint a beteg állapotától. A dózist minden egyes esetben a kezelendő betegre jellemző faktorok alapján kell meghatározni, ilyen például az életkor, a testsúly, az általános egészségi állapot, és más jellemzők, amik befolyásolhatják a gyógyászati termék hatékonyságát.

Felnőttekben az adenosin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyület dózisa általában körülbelül 0,00001 - 0,5, előnyösen körülbelül 0,0001 - 0,05 mg/ testsúlykg per nap inhalálással, körülbelül 0,0001 - 1, előnyösen 0,001 - 0,5 mg/testsúlykg per nap orális beadással, és körülbelül 0,00001 - 0,1, előnyösen 0,0001 - 0,01 mg/testsúlykg per nap intravénás beadással. A nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyület dózisa általában körülbelül 0,0001 - 5, előnyösen körülbelül 0,001 - 0,5 mg/testsúlykg per nap inhalálással, körülbelül 0,001 - 10, előnyösen 0,01-5 mg/testsúlykg per nap orális beadással, és körülbelül 0,0001 - 1, előnyösen 0,001 - 0,1 mg/testsúlykg per nap intravénás beadással.

Az adenosin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületet és a nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyületet beadhatjuk olyan dózisokban, amik minden egyes vegyület esetében gyógyászatilag hatá-

sosak, vagy szub-klinikai dózisokban, azaz a gyógyászatilag hatásosnál kisebb mennyiségben, vagy ezek kombinációjában, azzal a feltétellel, hogy a kombinált dózisok gyógyászati-lag hatásosak.

5 A jelen találmány szerint használt adenozin A1/A2 ago-
nista aktivitással rendelkező vegyületet és a nátrium-hid-
rogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületet
a kívánt terápiás hatás eléréséhez szükséges gyakorisággal
adhatjuk be. A jelen találmány szerinti módszer
10 végrehajtásához szükséges dózistartomány az, ami biztosítja
a maximális terápiás választ, amíg a javulást el nem érjük,
és utána azt a minimális hatékony szintet, ami enyhülést
okoz. Néhány beteg gyorsan reagál egy magasabb vagy
alacsonyabb dózusra, és sokkal alacsonyabb fenntartó dó-
15 zisok lehetnek megfelelőek a számára. A jelen találmányban
mind a rövid-, mind a hosszú ideig tartó kezeléseket meg-
fontoljuk. A kezelések megfontolt gyakorisága körülbelül 1
- 4 dózis per nap, az egyes betegek fiziológiás igényeinek
megfelelően, észben tartva természetesen, hogy minden spe-
20 cifikus esetben a megfelelő dózisok kiválasztása során
figyelembe kell venni a beteg testsúlyát, általános egész-
ségi állapotát, életkorát és más faktorokat, amik befolyá-
solhatják a gyógyszerre adott választ. A folyamatos paren-
terális infúziót is megfontoltuk, ami ahhoz kell, hogy
25 fenntartsuk a terápiásan hatásos vérszintet az adenozin
A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületből és a
nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező
vegyületből.

30 A jelen találmány szerinti vegyületek használhatók a
resztenózis kezelésében az angioplasztia során, akármilyen
eszközt, azaz például ballont, levételt vagy lézeres tech-
nikát használva, azzal a céllal, hogy védelmet biztosítsunk
a reperfúziós sérülés ellen, vagy csökkentjük azt.

A jelen találmány szerinti vegyületeket használhatjuk a resztenózis kezelésében, azzal a céllal, hogy védelmet biztosítsunk a reperfúziós sérülés ellen, vagy csökkentjük azt, bármilyen antikoagulánssal, vérlemezke elleni szerrel, 5 antitrombotikummal vagy profibrinolitikus ágenssel kombinálva. A betegeket gyakran egyszerre kezelik az ezekbe az osztályokba tartozó ágensekkel az intervenciós eljárások előtt, alatt és után, vagy azért, hogy biztonságosan végre lehessen hajtani az intervenciós eljárást, vagy azért, hogy 10 megakadályozzuk a vérrögképződés káros hatásait. Az anti-koaguláns, vérlemezke elleni vagy profibrinolitikus hatásukról ismert ágensek osztályainak néhány példája a trombin inhibítorok vagy VIIa faktor inhibítorok bármilyen kisserelési formája. Az anti-koaguláns, vérlemezke elleni 15 vagy profibrinolitikus hatásukról ismert ágensek osztályainak néhány példája az aszpirin, a direkt trombin inhibítorok, a direkt Xa faktor inhibítorok vagy a VIIa faktor inhibítorok bármilyen kisserelési formája.

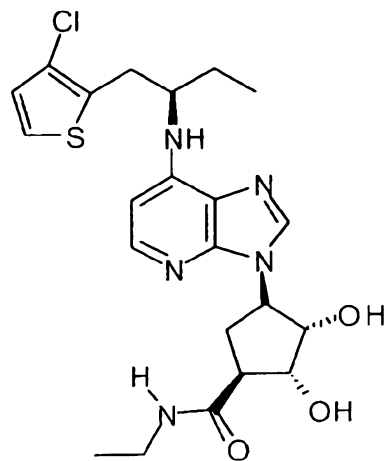
A jelen találmány bármilyen specifikus formában 20 megvalósítható, anélkül hogy eltérnének szellemétől vagy lényeges jellemzőitől.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Gyógyászati készítmény, ami tartalmaz egy gyógyászati-
latilag elfogadható hordozót és egy adenosin A1/A2 agonis-
ta aktivitással rendelkező vegyület, valamint egy nátrium-
5 hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyület
gyógyászati-
latilag hatásos mennyiségét tartalmazza.

2. Az 1. igénypont szerinti gyógyászati készítmény,
amiben az adenosin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező
vegyület a (I) képletű vegyület

10



(I)

vagy annak gyógyászati-
latilag elfogadható sója.

3. Az 1. igénypont szerinti gyógyászati készítmény,
15 amiben a nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással
rendelkező vegyületet a következők közül választjuk ki:
cariporide, eniporide, zoniporide, BMS-284640, BIIB-513,
BIIB-722CI, EMD-85131, KB-R9032, MS-31-038, SL-59.1227,
SM20550, SMP-300, T-559 és TY-12533.

20 4. Az 1. igénypont szerinti gyógyászati készítmény,
amiben a nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással
rendelkező vegyület a cariporide.

5. Az 1. igénypont szerinti gyógyászati készítmény,
ami tartalmaz egy gyógyászati-
latilag elfogadható hordozót, és

terápiásan hatásos mennyiséget az AMP 579-ből és a cariporide-ből.

6. Eljárás kardioprotekció biztosítására egy ilyen kezelésre szoruló betegben, azzal jellemezve, hogy a szóban forgó betegnek hatékony mennyiséget adunk be egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületből és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületből.

7. Eljárás reperfúziós sérülés elleni védelem biztosítására egy ilyen kezelésre szoruló betegben, azzal jellemezve, hogy a szóban forgó betegnek hatékony mennyiséget adunk be egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületből és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületből.

8. Eljárás iszkémiás sérülés elleni védelem biztosítására egy ilyen kezelésre szoruló betegben, azzal jellemezve, hogy a szóban forgó betegnek hatékony mennyiséget adunk be egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületből és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületből.

9. Eljárás kardioprotekció biztosítására szívműtét előtt, alatt vagy után, egy ilyen kezelésre szoruló betegben, azzal jellemezve, hogy a szóban forgó betegnek hatékony mennyiséget adunk be egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületből és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületből.

10. Eljárás kardioprotekció biztosítására iszkémiás roham előtt, alatt vagy után, egy ilyen kezelésre szoruló betegben, azzal jellemezve, hogy a szóban forgó betegnek hatékony mennyiséget adunk be egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületből és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibítor aktivitással rendelkező vegyületből.

11. Egy adenozin A1/A2 agonista aktivitással rendel-

kező vegyület és egy nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyület gyógyászati lag hatásos mennyiségének használata egy gyógyszer előállításában, amivel egy ilyen kezelésre szoruló betegben kardioprotekciót lehet
5 biztosítani.

12. Kit, amivel egy ilyen kezelésre szoruló betegben kardioprotekciót lehet biztosítani, a szóban forgó kit több különböző konténert tartalmaz, és a konténerek közül legalább egy egyik tartalmaz egy adenosin A1/A2 agonista akti-
10 vitással rendelkező vegyületet, és legalább egy másik konténer tartalmaz nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyületet, és a szóban forgó vegyületek adott esetben tartalmazznak egy gyógyászati hordozót.

13. A 12. igénypont szerinti kit, amiben a szóban
15 forgó konténerek közül legalább az egyik konténer tartalmazza az adenosin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületet, anélkül hogy a nátrium-hidrogén cserélő inhibitor vegyület jelen lenne, és a szóban forgó konténerek közül legalább egy másik a nátrium-hidrogén cserélő inhibitor
20 vegyületet tartalmazzza, anélkül hogy az adenosin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyület jelen lenne.

14. Gyógyászati készítmény, ami tartalmaz egy gyógyászati lag elfogadható hordozót és gyógyászati lag hatásos, vagy ennél kisebb mennyiségben egy adenosin A1/A2 agonista
25 aktivitással rendelkező vegyületet, és gyógyászati lag hatásos, vagy ennél kisebb mennyiségben egy nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyületet tartalmaz, azzal a feltétellel, hogy a készítmény gyógyászati lag hatásos.

30 15. Gyógyászati készítmény, ami tartalmaz egy gyógyászati lag elfogadható hordozót és gyógyászati lag hatásos mennyiségben tartalmaz egy adenosin A1/A2 agonista aktivitással rendelkező vegyületet, vagy annak gyógyászati lag el-

fogadható sóját, valamint egy nátrium-hidrogén cserélő inhibitor aktivitással rendelkező vegyületet, vagy annak gyógyászatiilag elfogadható sóját.

A meghatalmazott:

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
Dr. Gárdonyi Zoltánné
szabadalmi ügyvivő

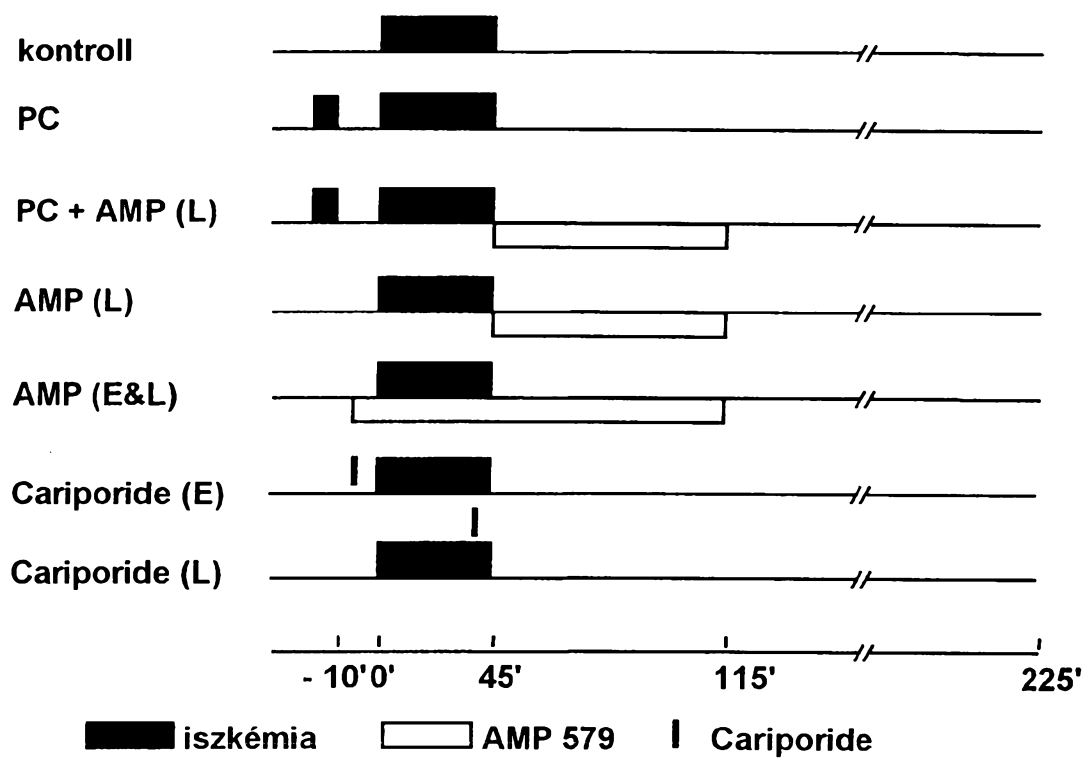


4 oldal rajzzal

2011.10.05.

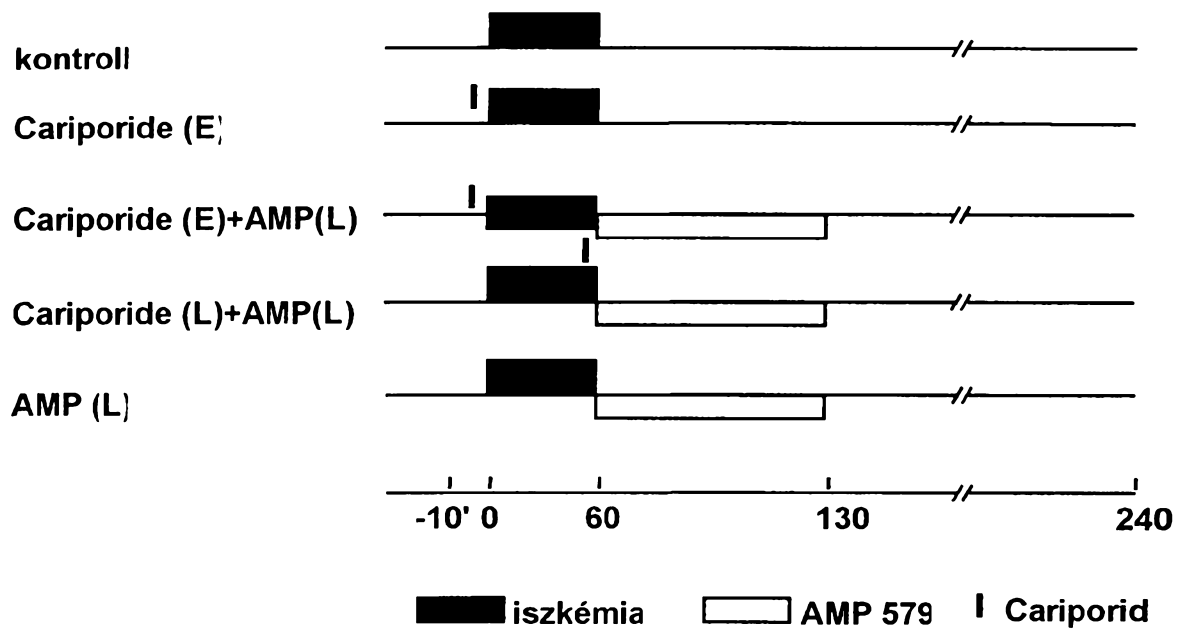
PK

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



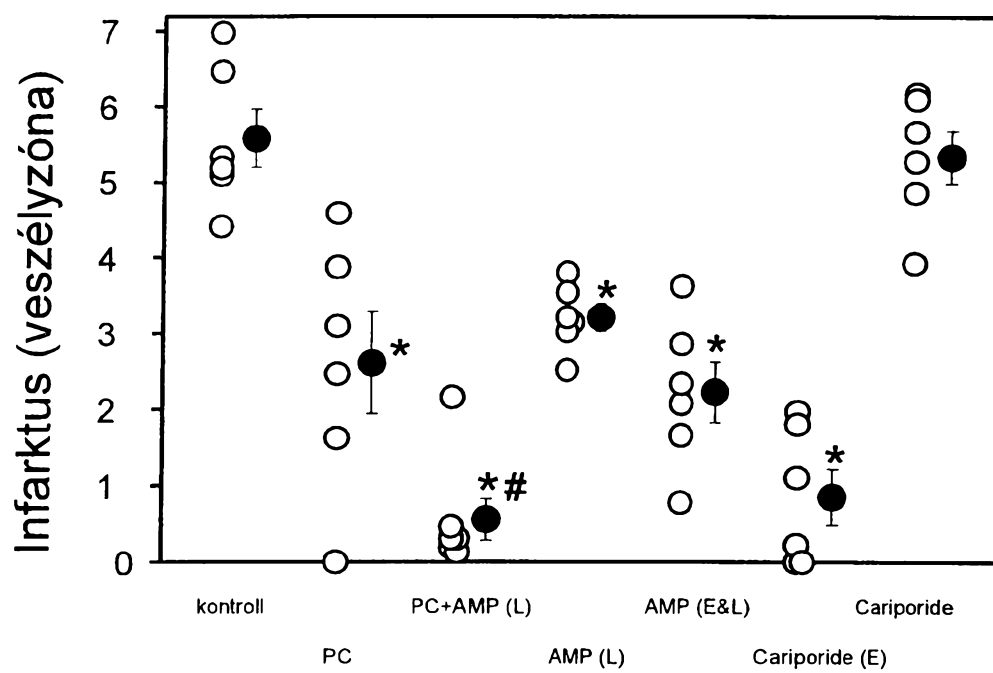
1. ábra

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



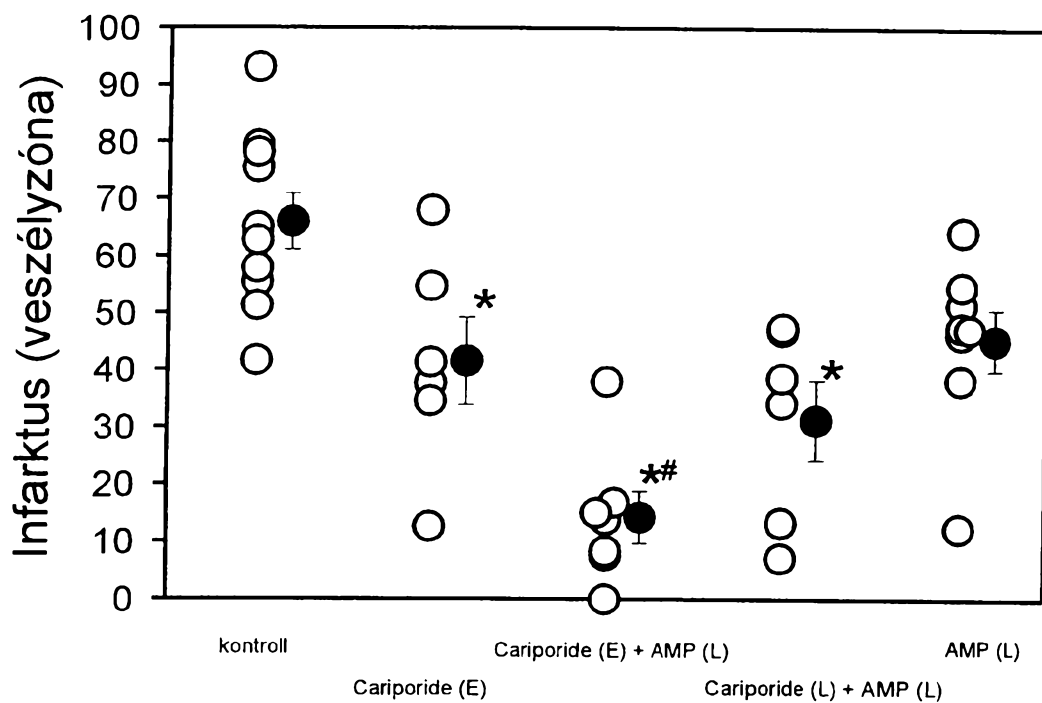
2. ábra

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



3. ábra

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



4. ábra