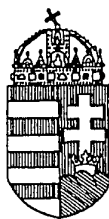


(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

206 261 B

(21) A bejelentés száma: 1710/89
(22) A bejelentés napja: 1989. 04. 10.
(30) Elsőbbségi adatok:
179 694 1988. 04. 11. US

(51) Int. Cl.⁵

A 61 K 31/185

(40) A közzététel napja: 1990. 07. 30.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1992. 10. 28. SZKV 92/10

(72) Feltalálók:

Ogletree, Martin L., Newton, Pennsylvania (US)
Schumacher, William A., Newton, Pennsylvania (US)
Grover, Gary J., Stockton, New Jersey (US)
dr. Friedhoff, Lawrence T., Philadelphia, Pennsylvania (US)

(73) Szabadalmaz:

E.R. Squibb and Sons Inc., Princeton,
New Jersey (US)

(54) **Eljárás hatóanyagként 7-oxa-biciklo[2,2,1]heptil-5-heptánsav-
származékot tartalmazó, a heparin protaminnal kiváltott semlegesítése
okozta pulmonáris hipertenzió kezelésére alkalmas
gyógyszerkészítmények előállítására**

(57) KIVONAT

A találmány hatóanyagként {1S-[1 β ,2 α (5Z), 3 α ,4 β]}-
7-{3.[[[[(1-oxo-heptil)-amino]-acetyl]-
amino]-metil]-7-oxa-biciklo[2,2,1]hept-2-il}-5-heptán-
savat vagy gyógyászatiilag elfogadható sóját tartalma-
zó gyógyszerkészítmények előállítására vonatkozik

oly módon, hogy az ismert eljárással előállított ható-
anyagot a heparin protaminnal kiváltott semlegesítése
okozta pulmonáris hipertenzió kezelésére alkalmas
gyógyszerkészítménnyé dolgozzák fel.

A találmány eljárás hatóanyagként {1S-[1β, 2α(5Z)-3α, 4β]-7-{3-[[[(1-oxo-heptil)-amino]-acetil]-amino]-metil]-7-oxa-biciklo[2,2,1]hept-2-il}-5-heptánsavat (SQ 30,741 jelű vegyület) vagy gyógyászati lag elfogadható sóját tartalmazó, a heparinnak protaminnal kiváltott semlegesítése hatására kialakuló pulmonáris hipertenzió kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

Az endotoxin hatására kialakult, korai pulmonáris hipertenzió megelőzése során a tromboxán A₂ receptor-antagonista szereket hatásosnak találták. (Schumacher W. A. és munkatársai, „Az SQ 29,548 és az SQ 28,688 jelű TxA₂ receptor-antagonisták hatása az endotoxemia hatására kialakult pulmonáris hipertenzióra, sertésben”; Pharmacology 34: 301–308, 1987.) A heparinnak protaminnal kiváltott semlegesítése hatására kialakult pulmonáris hipertenzió kezelésére való alkalmazhatóságról azonban nincs adat.

A protaminok olyan egyszerű, kis molekulatömegű fehérjék, amelyek nagy mennyiségben tartalmaznak alapvető aminosavakat. A protamin egy kationos típusú fehérje, melyet embereknek a heparin antikoaguláns aktivitásának megfordítására használnak fel. Az anionos heparinnal reakcióba lépve olyan komplexet alkot, melynek már nincs antikoaguláns hatása.

Az antikoaguláns kezelést igénylő sebészi beavatkozások befejezésekor szükségessé válik a véralvadási rendszer normális működésének a helyreállítása, a műtét utáni vérzési szövödmények minimálisra történő csökkentése érdekében. Amikor antikoaguláns szerként heparint használunk, gyakran adunk protamin infúziót, a heparin által kiváltott antikoaguláns aktivitás semlegesítése céljából. Ily módon tehát, a protamin heparin antagonistaként hat, és a heparin semlegesítésére használható a sebészi beavatkozások során.

Sajnálatos módon, egyes betegek esetében protamin-intolerancia észlelhető. A – valószínűleg a protamin és a heparin közötti interakcióból fakadó – káros mellékhatások közé sorolható az anafilaxiás sokk és a pulmonáris hipertenzió is. Ez utóbbi – sertésekben kísérletesen kiváltott – válaszreakció szignifikánsan enyhíthető volt azáltal, hogyha az állatnál aszpirin-előkezelést végeztek. Megfigyelték továbbá, hogy a pulmonáris hipertenziót a vér TxB₂ szintjének emelkedése kísérte (Degges, R. D. és munkatársai, „A heparin és a protamin interakciójának pulmonáris hipertenziót okozó hatása; bizonyíték a tüdőből történő tromboxán B₂ felszabadulásra”; Am. J. Surg. 154: 696–698, 1987). A „Physicians Desk Reference” (az Orvosok Kézikönyve”) 41. kiadása (1987, 1162–1163 o.) az alábbiakat javasolja: „Mivel a protamin-szulfát adagolását követően fatális – gyakran anafilaxiaszerű – reakciók léphetnek fel, a szert csak abban az esetben alkalmazzuk, ha a reszuszcitációs felszerelések és az anafilaxiás sokk kezeléséhez szükséges szerek könnyen hozzáférhetőek”.

A találmány szerinti eljárással előállított gyógyszerkészítmény alkalmas a heparinnak protamin által kiváltott semlegesítése okozta káros mellékhatások megelőzésére, csökkentésére, illetve megfordítására, emlős fajok esetében. A legfontosabb, protamin/heparin okozta

mellékhatás a pulmonáris hipertenzió, mely esetben az SQ 30,741 jelű vegyület hatékony mennyiségét szisztémásan, azaz perorálisan, parenterálisan, transzdermálisan, illetve inhalációs eljárással adagoljuk.

5 A találmány szerint előállított gyógyszerkészítmény hatóanyagát, az SQ 30,741 jelű vegyületet és előállítását a 4663 336 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás ismerteti, mint tromboxán A₂ receptor antagonistát. A találmány szerinti eljárásban az ismert módon előállított hatóanyagot alkalmazzuk.

10 A találmány szerinti eljárással előállított gyógyszerkészítményt adagolhatjuk szisztémásan – azaz szájon át (perorálisan), parenterálisan, illetve transzdermálisan (bőrön keresztül) –, különböző emlős állatfajoknak – például majmoknak, kutyáknak, macskáknak, patkányoknak –, valamint embereknek. Ily módon tehát, a tromboxán A₂ receptor-antagonista szer adagolható például perorálisan, intravénásan, tüdőartérián keresztül, intraarteriálisan, transzdermálisan, illetve inhaláció útján, biztosítva, hogy a dózis körülbelül 10 µg/kg és 10 mg/kg között, előnyösen pedig körülbelül 0,1 mg/kg és 5 mg/kg között legyen. A tromboxán-antagonistát adagolhatjuk: (1) a protamin adása előtt, (2) a protaminnal együtt, (3) heparinnal együtt, illetve (4) 15 néhány perccel a heparin beadását követően.

A tromboxán A₂ receptor-antagonista szer alkalmazható olyan, hagyományos adagolási formák alakjában, amilyen például a tabletták, a kapszula, az elixír, illetve az injekciós készítmények. A fenti adagolási formák a szükséges vivőanyagot, kötőanyagot, síkosítót, puffert, antibakteriális hatású szert, az oldószer térfogatát növelő szert (például mannitot), antioxidáns szert (aszorbinsavat vagy nátrium-biszulfitot) és más, hasonló anyagokat is tartalmaznak. Az előnyös készítmények a parenterális adagolási formák, de a perorális, transzdermális és az aeroszolos formák szintén kielégítő készítményeknek tekinthetők.

Az ilyen, szisztémás készítmények esetében körülbelül 0,5 és 2500 mg közötti, egyszeri vagy több részre osztott dózis – előnyösen körülbelül 5–2000 mg/1–4-szer naponta – adagolható a fentiekben ismertetett, szisztémás adagolási formák alakjában.

A tromboxán A₂ receptor-antagonista adagolható a protamin adásának teljes tartama során, illetve alkalmazható a protamin által kiváltott káros mellékhatások kezelésére olyan hosszú ideig, amíg az említett, káros feltételek meg nem fordíthatók.

Az 1., 2. és 3. ábra a tromboxán A₂ receptor-antagonista szernek a heparin protaminnal történt semlegesítése következtében fellépett, pulmonáris hipertenzióra gyakorolt hatását szemlélteti, altatott sertések esetében.

Az alábbiakban a találmányt annak néhány előnyös foganatosítási módja keretében ismertetjük részletebben példáink segítségével.

1. példa

A tromboxán A₂ receptor-antagonista injekciós oldatát – intravénás vagy intraarteriális adagolás céljára, a protamin hatásainak megelőzése és megfordítása érdekében – az alábbiak szerint állítjuk elő:

SQ 30,741	2500 mg	[1S-[1 β , 2 α (5Z), 3 α , 4 β]-7-
Metil-paraben	5 mg	[3-[[[(1-oxo-heptil)-amino]-
Propil-paraben	1 mg	acetil]-amino]-metil]-7-
Nátrium-klorid	25 g	oxa-biciklo[2,2,1]-hept-2-il]-
Injekciós célra felhasználható	5	5-heptánsav
víz (Aqua dest. pro. inj.) elegendő		(SQ 30,741)
mennyiségben	51	Kukoricakeményítő
A tromboxán A ₂ receptor-antagonistát, a tartósító-		Zselatin
szereket és a nátrium-kloridot 3 liter, injekciós célra		Avicel (mikrokristályos
felhasználható vízben feloldjuk, majd a térfogatot 5	10	cellulóz)
literre egészítjük ki. Az oldatot ezt követően steril		Magnézium-sztearát
szűrőn juttatjuk keresztül, majd aseptikus körülmé-		A tromboxán A ₂ receptor-antagonistát és a kukorica-
nyek között, előzetesen sterilizált üvegcsékbe töltjük		keményítőt zselatin vizes oldatával keverjük össze. Ezt
őket, majd az üvegeket – szintén előzetesen sterilizált		követően a keveréket megszárítjuk, és finom porrá
– gumidugók segítségével lezárjuk. Valamennyi am-	15	őröljük. Az Avicelt, majd a magnézium-sztearátot ösz-
pulla 75 mg aktív hatóanyagot tartalmaz, 150 ml ol-		szekeverjük a granulátummal. Ezt azután tablettákká
datban.		sajtoljuk oly módon, hogy 1000 – egyenként 400 mg
		aktív hatóanyagot tartalmazó – tablettát állítsunk elő.
2. példa		
A perorálisan adagolható, tromboxán A ₂ antagonis-	20	3. és 4. példa
ta-készítményt az alábbiakban ismertetjük.		Az alábbi aeroszolos (inhalációs) készítmények a
1000 darab – egyenként 400 mg tromboxán A ₂ re-		protamin hatásainak megelőzésére, illetve megfordítá-
ceptor-antagonistát tartalmazó – tablettát állíthatunk		sára alkalmazhatók, önmagukban vagy valamilyen in-
elő az alábbi összetevőkből:		halációs anesztetikummal együttesen adva.

25

	Mennyiség	Fajlagos mennyiség
	tömeg%	tömeg%
6. példa		
SQ 30,741	0,01–1	0,05
Etanol	5–50	25
Freon 11 vagy 114	50–95	74,95
Freon 12		
50–50 } keveréke		
7. példa		Tömeg%
SQ 30,741		0,01–1
Felületaktív anyag		
(oleinsav, oleil-alkohol-lecitin)	elegendő mennyiségben	
Víz	elegendő mennyiségben	
Freon 11 vagy 114	50–50	
Freon 12	100%-ig	
50–50 } keveréke		

5. példa

Az SQ 30,741 jelű tromboxán A₂ receptor-antagonista szernek a protamin-heparin interakció által kiváltott pulmonáris hipertenzióra gyakorolt hatását vizsgáltuk pentobarbitállal altatott sertéseken.

A hím és nőstény 24–25 kg tömegű, Yucatan típusú „minisertéseket” (Charles Rivers, Willmington, MA) nátrium-pento-barbitállal (~40 mg/kg, i.p.) elaltattuk, majd szükség szerint intravénásan adagoltuk tovább az altatószert. Az egyik vena jugularisba és arteria carotisba PE205-ös típusú kanült helyeztünk, majd az artériás katétert egy nyomásátalakító berendezéshez (transzduktor) csatlakoztattuk (Model P23D; Gould Inc., Oxnard, CA).

Ezt követően kanült helyeztünk a tracheába, és az állatot mesterségesen lélegeztettük, lélegeztető készülék segítségével (Model 613; Harvard Apparatus, Natick, MA).

A szív izolálását baloldali mellkasmegnyitás után végeztük, majd a szervet pericardium-burkában felfüggesztettük. Ezután egy EP435-ös vagy EP440-es típusú,

sú, elektromágneses áramlásmérő szondát (Carolina Medical Electronics, Inc., King, NC) csatlakoztattunk a tüdőartériához. Egy „SPC350 5-French” típusú katéteres nyomásátalakító berendezést (Millar Instruments Inc., Houston, TX) és egy – PE50-es katéterhez csatlakozó 22-es méretű injekciós hegyéből szerkesztett – infúziós kanült helyeztünk a tüdőartériába, az áramlásmérő szondától proximálisan. Egy további katéteres nyomásátalakító berendezést helyeztünk el a bal pitvar csücskében, ugyanarra a szintre, ahol a tüdőartériában lévő nyomásátalakító szerkezet elhelyezkedett. Az artériás vérnyomást (ABP), a tüdőartériában uralkodó vérnyomást (P_{pa}) (2. ábra), a bal pitvari nyomást (P_{la}) és a véráramlást a tüdőartériában (Q_{pa}) (3. ábra) folyamatosan regisztráltuk egy „Model 7” típusú berendezés segítségével (Grass Instrument Co, Quincy, MA). A pulmonáris vaszkuláris rezisztenciát (PVR) (1. ábra) a $P_{pa}-P_{la}/Q_{pa}$ arány alapján számítottuk ki.

30 perces időszakot biztosítottunk az egyensúly kialakulására, s ennek során vérgázanalízist végeztünk,

és a lélegeztetést oly módon változtattuk, hogy a PCO_2 értéke 30 és 35 Hgmm, a PO_2 értéke pedig 80 és 100 Hgmm között legyen. Sertés bélnyálkahártyából nyert heparint (300 U/kg, i.v.; H-3125, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) adtuk be, 15 perccel a protamin (3 mg/kg; Lymphomed, Rosemont, IL) alkalmazása előtt. A protamint a tüdőartériába adtuk be, 15 másodperc alatt. Az SQ 30,741-et (1 mg/kg), illetve a vivőanyagot (1,5 ml sóoldat) szintén közvetlenül a tüdőartériába adtuk, 2 perccel a protamin előtt. Az életani paramétereket közvetlenül a protamin beadása előtt („0” perces érték), valamint 2, 5, 10 és 20 perccel azt követően határoztuk meg.

Az adatok értékelése mikrokomputeres statisztikai program (Systat, Evanston, IL) segítségével történt.

A kezelések közötti összehasonlítás céljára csoportosító faktorokkal végzett, ismételt méréseket alkalmazó varianciaanalízist, a csoporton belüli összehasonlítás céljára pedig egyirányú ismételt méréseket alkalmaztunk. Valamennyi, a szövegben és az ábrákon található adatot $\pm$ SE átlagérték segítségével adtuk meg.

A tüdőartériában mért vérnyomás (P_{pa}), a tüdőartériában mért véráramlás (Q_{pa}) és a pulmonáris vaszkuláris rezisztencia kontroll-értékei nem különböztek az SQ 30,741-gyel, illetve a sóoldattal kezelt csoportok között. Protamin adását követően a P_{pa} és a PVR értékek szignifikáns emelkedést mutattak a sóval kezelt csoport esetében (2., illetve 1. ábra). A sóval kezelt állatok esetében megfigyelhető pulmonáris hipertenzió a 2. és 3. perc között érte el a maximális értéket, majd ezután gyors csökkenést mutatott. A PVR $808 \pm 183\%$ -os (p,05) emelkedését előidéző legfontosabb tényezőnek a (P_{pa}) $230 \pm 26\%$ -os (p,05) növekedése tekinthető, a P_{la} esetében semmiféle változás nem volt megfigyelhető ($-10 \pm 17\%$, NS). A Q_{pa} csökkenő tendenciát mutatott (3. ábra), ez azonban nem érte el a statisztikai szignifikancia határát ($-40 \pm 13\%$, $p = 0,11$), valószínűleg az alacsony állatszám miatt. Az SQ 30,741-gyel kezelt állatoknál sem a PVR ($14 \pm 11\%$, NS), sem a P_{pa} ($19 \pm 12\%$, NS), sem pedig a O_{pa} ($4 \pm 2\%$) értékek esetében sem észleltünk változásokat.

A heparin alkalmazását követő protamin adagoláshoz társuló pulmonáris hipertenziós válaszreakció jellegzetességei hasonlóak voltak azokhoz, amelyeket Fischer, W. P., Fewell, J. E., Hill, D. E., Barnes, R., W. és Read, R. C. ébren lévő sertések esetében megfigyelték: „A protamin-szulfát kardiovaszkuláris hatásai a

keringő heparin jelenlétének és típusának függvényei.” J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 89:63–70, 1985. A fenti szerzők megfigyelték, hogy a protamin önmagában adagolva nem váltja ki a fenti reakciót, továbbá azt is, hogy a sertés nyálkahártyából származó heparin erősebb válaszreakciót provokált, mint a szarvasmarha tüdőből nyert heparin. Kísérletünk során ugyanazokat a heparin- és protamindózisokat alkalmaztuk, mint Fischer és munkatársai, és pedig az adagolt protamin mennyisége 15%-kal haladta meg azt az értéket, mely a számítások szerint képes a heparin aktivitását teljesen megfordítani.

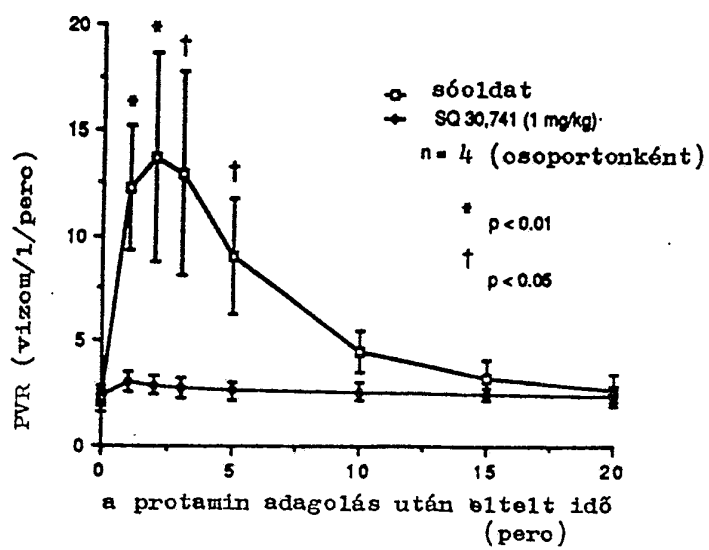
Az SQ 30,741-es jelű vegyület azon képessége, hogy megakadályozza a protamin-heparin interakció által kiváltott PVR emelkedést, arra utal, hogy e válaszreakcióban a TxA_2 receptorok stimulálása döntő szerepet játszik. Annak ellenére, hogy a vizsgált állatok száma alacsony volt, erősen szignifikáns (p,01) különbségek voltak észlelhetők az SQ 30,741-gyel és a sóval kezelt csoportok között. A P_{pa} – ugyanezen inger hatására történő – növekedésének szinte teljes (94%-os) gátlása aszpirin kezelés hatására is megfigyelhető volt (Degges és munkatársai, 1987). A ciklooxygenáz-inhibitorok irreverzibilis hatása azonban a legtöbb, protamint alkalmazó, posztoperatív klinikai eljárás során hátrányosnak bizonyulna.

Mindent egybevéve, a fenti adatok arra utalnak, hogy az SQ 30,741 hasznos szer lehet a heparin-okozta antikoaguláns hatás megfordítása céljából alkalmazott protamin akut toxicitásának csökkentése tekintetében.

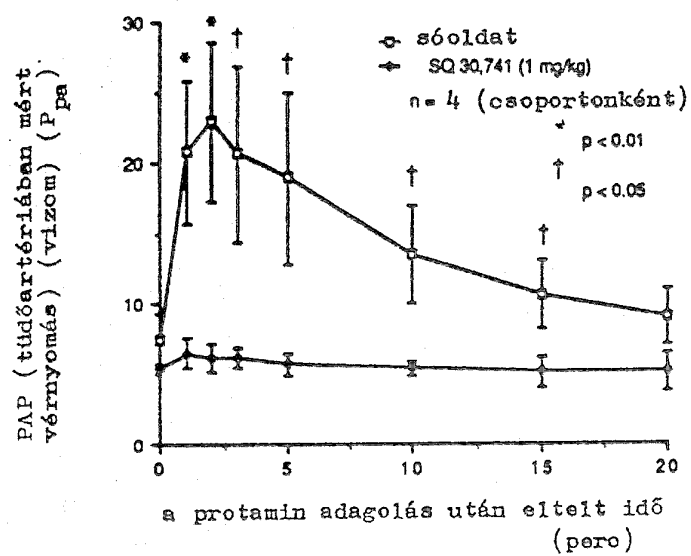
A fentiek értelmében úgy tűnik, hogy az SQ 30,741 jelű vegyület hatékonyan képes csökkenteni a klinikai kezelési eljárások során történő protamin adagoláshoz társuló, potenciális toxikus hatásokat.

SZABADALMI IGÉNYPONT

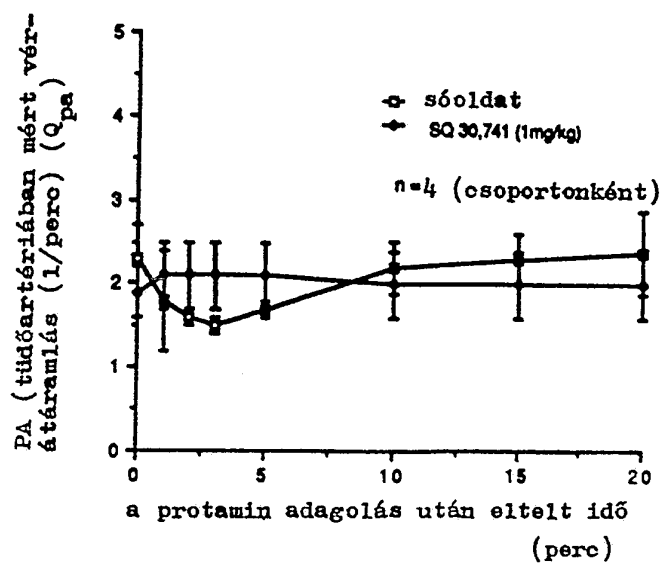
Eljárás hatóanyagként $\{1S-[1\beta, 2\alpha (5Z), 3\alpha 4\beta]\}-7-$
 $\{3-[[[(1-oxo-heptil)-amino]-acetyl]-amino]-metil\}-7-$
 $oxa-biciklo[2,2,1]hept-2-il\}-5-heptánsavat$ vagy gyógyszerként elfogadható sóját tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az ismert módon előállított hatóanyagot a gyógyszerkészítésben szokásos segédanyagokkal együtt a heparinnak protaminnal kiváltott semlegesítése hatására kialakuló pulmonáris hipertenzió kezelésére alkalmas gyógyszerkészítménnyé feldolgozzuk.



1. ábra



2.ábra



3. ábra