ČESKÁ REPUBLIKA

(19)

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU (12)

(22) 02.08.94

(32) 02.08.93

(31) 93/2229

(33) HU

(40) 15.02.95

(21) 1853-94

(13) A3

6(51) A 61 K 31/52

(71) Chinoin Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek Gyára Rt., Budapest, HU;

(72) Ender Ferenc dr., Budapest, HU;
Furész József dr., Budapest, HU;
Rosivall László dr., Budapest, HU;
Schweitzer Katalin dr., Budapest, HU;

(54) Farmaceutický přípravek pro zlepšení antioxidačního stupně tkáně a jeho použití

(57) Řešení se týká použití 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-1H-purin-2,6-dionu(pentoxyfylinu) a/nebo 1-(3',4'-diethoxybentyl)-6,7-diethoxy-3,4-dihydroixochinoliniumtheofylin-7-ace tátu nebo jeho monohydrátu k přípravě farmaceutického přípravku, hodícího se k zlepšení antioxidačního stavu tkáně. Tento stav hraje důležitou úlohu při komplikacích, ke kterým dochází v důsledku pathologického vývoje nebo uměle vyvolané anastomosy, zvláště pak jícnu a tlustého střeva, protože právě tyto orgány se vyznačují velmi chabým antioxidačním ochranným systémem. Řešení se dále týká přípravy výše uvedených farmaceutických přípravků. Výše uvedené složky podporují a urychlují hojivý postup anastomos zlepšením antioxidačního stavu tkáně a kromě toho podržují jejich dobrý inhibiční účinek proti anastomosovým srůstům.

1853-94
ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
PŘÍL.
DOŠLO
02 VII 94
č.j.
040582

Farmaceutický přípravek

Oblast techniky

Vynález se týká farmaceutického přípravku, obsahujícího jako aktivní složku 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)--1H-purin-2,6-dion a/nebo 1-(3´,4´-diethoxybenzyl)-6,7-diethoxy-3,4-dihydroisochinoliniumtheofylin-7-acetát nebo jeho monohydrát a způsobu odpovídající přípravy. Podle tohoto způsobu se 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-1H-purin-2,6-dion a/nebo 1-(3´,4´-diethoxybenzyl)-6,7-diethoxy-3,4-dihydroisochinolinumtheofylin-7-acetát nebo jeho odpovídající monohydrát připravují použitím známých postupů, a mísí se dohromady s plnivy, ředidly a jinými pomocnými přísadami, jak se běžně používají při výrobě léčiv a získaná směs se potom upravuje do formy farmaceutického přípravku, vhodného ke zlepšení antioxydačního stupně tkáně.

Dále pak se tento vynález týká použití 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-1H-purin-2,6-dionu a/nebo 1-(3´,4´-diethoxybenzyl)-6,7-diethoxy-3,4-dihydroisochinoliniumtheofylin-7-acetátu nebo jeho monohydrátu jako aktivních složek pro přípeavu farmaceutického přípravku, vhodného ke zlepšení antioxidačního stupně tkáně, jakož i způsobu zlepšení antioxidačního stupně tkáně, jenž záleží v podání therapeuticky účinného množství 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-1H-purin-2,6-dionu a/nebo 1-(3´,4´-diethoxybenzyl)-6,7-diethoxy-3,4-dihydroisochinoliniumtheofylin-7-acetátu nebo jeho odpovídajícího monohydrátu.

Dosavadní stav techniky

Příprava 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-1H-purin-2,6-dionu (TRENTAL^{R}, generický název pentoxifyllin)

1-(3´,4´-diethoxybentyl)-6,7-diethoxy-3,4-dihydroicochinolinium-theofylin-7-acetátu (Depogen) nebo jeho odpovídajícího monohydrátu je popsáno kromě jiných zdrojů v těchto patentových spisech: britský 1 079 267, německý 2 234 202, československý 164 343 jakož i maďarský 167 246, jakož i ve vyložené maďarské patentové přihlášce T/42 449.

Je známo, že jak pentoxifyllin tak i depogen zlepšují mikrocirkulaci krve (viz Angiology 36, 2226-2234, 1984), dále viz maďarský patentový spis 197 207.

Nedostačující anastomosa je jednou z nejvážnějších komplikací při chirurgických zákrocích v gastrointestinálním traktu, Navzdory moderní technice šití a použití antibiotik je tato komplikace velmi častá, značně prodlužuje dobu nutného ošetřování v nemocnici a zvyšuje stupeň úmrtnosti.

Komplikace, se kterými je možno nejčastěji se setkat při anastomosách se soustřeďují ne různé oblasti jícnu a levou část tlustého střeva. Příčiny toho jsou částečně anatomické, cirkulační i mikrobiologické, avšak navíc při těchto komplikacích lze přičíst významnou úlohu skutečnosti, že jak jícen, tak i tlusté střevo mají velmi chabý intioxidační ochranný system.

Bylo již prokázáno četnými experimentálními pozorováními, že počáteční fázi hojícího procesu střevní anastomosy lze charakterizovat jako počínající kollagenolyzu, tj. prudkým poklesem koncentrace kollagenu. Pevnost v tahu anastomosy klesá úměrně rozkladu kollagenu v prvých dnech po operaci a zcela definované zvýšení tlaku je zahájeno výstavbou nové kollagenové struktury jen až za 6-7 dní. V této době lze zaznamenat vznik četných poranění na úrovni anastomosy.

Navíc pak k lékařské technice hraje důležitou úlohu léčení anastomosy pomocí léků. V klinické praxi není znám postup za použití léku, který by se dal přímo využít k podpoře léčení anastomosy. Klinické zkušenosti říkají, že

při programované léčbě se možnost komplikací sníží, nikoli však dokonale odstraní uspořádáním hematologického stavu pacients, přísunem vhodných proteinů a elektrolytů nebo úpravou gastrointestinálního traktu pomocí antibiotik.

Další častou komplikací anastomosy a její léčby je tvorba a vznik srůstů. Zásadním problémem, jak zabránit vzniku srůstů je udržet integritu anastomosy v břišní dutině. Ačkoliv jsou známé dobré vlastnosti některých látek při znemožňování tvorby srůstů, pak jejich použití prudce zvyšuje stupeň insuficiencí anastomosy (viz Obstet.Gynecol., 75 (6), 1990).

Při pokusech Steinleitnera a spol. se předešlo srůstům v břišní dutině podáváním pentoxifyllinu. Dávka 25 mg/kg/12 hodin snížila srůsty vyvolané na modelu rozkladem tkáně a zabránila opětované tvorbě předem vzniklých a chirurgicky řešených srůstů. Tyto dobré výsledky byly vysvětleny účinkem pentoxifyllinu, modulujícího funkce leukocytů.

Na základě negativních účinků dříve známých inhibitorů srůstu se zřetelem na léčení anastomosy je použití pentoxifyllinu během perioperativní doby pravděpodobně kontraindikováno s přihlédnutím k případně nastávající insuficienci anastomosy.

Podstata vynálezu

Na rozdíl od uvedených skutečností bylo zjištěno, že podáváli se ve vhodné dávce pentoxifyllin nebo depogen či jeho monohydrát, lze urychlit hojivý postup anastomosy zlepšením antioxidačního stavu tkáně kromě dalších potenciálních možností a navíc zde zůstává dobrý efekt z hlediska inhibování srůstů.

Naše pokusy byly provedeny na samcích krys "Wistar" o hmotnosti tělíčka 200 až 250g v pentobarbitalové anestes (50 mg/kg, intraperitoneálně). Po středním břišním řezu za

nesterilních podmínek byla vyjmuta levá část tlustého střeva, rozříznuta po celé délce a byla zjištěna anastomosa částí prosté mukosní membrány z jednoho konce na druhý.

Před operací zvířata hladověla po dva dny, po operaci den, ale mohla pít kapaliny podle chuti. Kontrolní skupina dostala 0,1 ml/100 g fysiologického roztoku solanky za 24 nebo 12 hodin v tom kterém případě před chirurgickým zákrokem a současně prvá ošetřená skupina dostala intraperitoneálně 0,25 mg/100 g pentoxifyllinu a tato dávka byla opakována celkem čtyřikráte každých 12 hodin po operaci. Zvířátka druhé skupiny byla léčena současně podáváním 2 mg/100 g pentoxifyllinu i.p.

Antioxidační stav tkáně byl sledován a vyhodnocen takto:

1. Před vlastním zpracováním byly orgány vyjmuté ze zvířat zmrazeny a homogenizovány v objemově pětinásobku (ml) získané kapaliny vztažmo na vlhkou váhu (g).

Schopnost a rozsah změn vymizení aniontů superoxidů po provedeném zákroku (tzv. účinek SOD) byl stanoven předchozími pokusy. Vývoj lipidové peroxidace byl charakterizován jako tvorba látek, reaktivních na kyselinu thiobarbiturovou (TBARS).

Zmrazené vzorky byly zpracovány v různých časových odstupech. Po homogenizování bylo měření aktivity provedeno vždy v těchže intervalech.

Sled těchto zjištění:

1. Stanovení hmotnosti orgánu.
2. Stanovení množství regenerované kapaliny, homogenizování.
3. Odstředění (6000 otáček/min).
4. Stanovení výše uvedených hodnot TBARS za 6 hodin.
5. Měření účinku SOD na vzorku za 24 hodin.
6. Stanovení proteinů za 24 hodin.

Stanovení látek, reaktivních na kyselinu thiobarbiturovou (TBARS)

viz M.Uchiyama a M.Mihara: "Determination of Malondialdehyde Precursor in Tissues by Thiobarbituric Acid Test", Anal.Biochem. 86, 271-278 (1978).

Toto měření bylo prováděno za použití hemogenního vzorku (10%) s obsahem 1,2% chloridu draselného. Po okyselení, uchovávání s roztokem kyseliny thiobarbiturové po 45 minut a po přidání butanolu byla směs odstředěna. Stanovení v butanolové fázi při 535 nm.

Stanovení účinku SOD

viz P.Mishra a I.Fridovich: "The Role of Superoxide Anion in the Autooxidation of Epinephrine and a Simple Assay for Superoxide Dismutase", J.Biol.Chem. 247, 3170-3175 (1972), dále B.Matkovics a spol." Quantitative Determination of Peroxide Metabolism Enzymes SOD, Peroxide and Catalase in Laboratory Materials", Lab.Diagn. 91 (4) (1977).

Orgán byl homogenizován a pětinásobném objemu destilované vody ve vztahu na hmotnost vlhkého orgánu (v g), po odstředění byl homogenizovaný vzorek tkáně přidán za pH 9,8 do roztoku epinefrinu a bylo změřeno inhibování autooxidace epinefrin/adrenochrom.

V případě enzymového přípravku znamená inhibování z 50% enzymovou jednotku.

Protein byl stanoven podle O.H.Lowry-ho a spol., J. Biol.Chem. 193, 265-275 (1951).

Příklady provedení vynálezu

Bylo dosaženo těchto výsledků:

SOD-účinnost klesá v operované kontrolní skupině (0,68 U/mg proteinu), které byl podán fyziologický roztok

solanky ve srovnání s biologickou kontrolní skupinou (3,59 U/mg proteinu) v prvé hodině; na rozdíl od toho účinnost SOD v segmentu střev před anastomosou (8,03 U/mg proteinu) operované skupiny a ošetřené pentoxifyllinem převýšila účinnost SOD biologické kontrolní skupiny (3,59 U(mg proteinu).

Na segmentu střeva po anastomose použité skupiny endogenní mizící účinnost (4,81 U/mg proteinu) byla pětkrát vyšší než v případě kontrolní skupiny (0,95 U/mg proteinu), viz Obr.1.

Stupeň inhibování nad 10% byl zjištěn u 74% případů ve skupině, ošetřené pentoxifylkinem, 25% v biologické kontrolní skupině a 27% v operované kontrolní skupině.

Peroxidace lipidů (obsah TBARS) se snížila ve všech vzorcích po podání pentoxifyllinu. Tento pokles byl zvláště významný v intestinálním segmentu vyjmutém z anastomosy a v segemntu následujícím bezprostředně u místa anastomosy. Viz Obr.2.

Z výše uvedených údajů je jasně patrné, že použití pwntoxifyllinu má kladný vliv na antioxidační stav.

Jak je to známo z literatury, hojení chirurgických poranění je významně ovlivněno antioxidačním stavem tkáně. Takže hojení anastomosy bylo studováno, jak je to zde dále popisováno.

Schopnost hojení anastomosy byla charakterizována jako projev anastomosového tlaku (ABP) za měření 1., 2. a 5. dne na zvířatech po anestesy pentobarbitalem, viz K.A. Houston: "Fibrin Sealant in High-Risk Colonic Anastomoses", Arch-Surg. 123, 230-234 (1988).

Peritoneální reakční index (PRI) byl použit ke stanovení adheze nebo tkáňové reakce v tom kterém případě, viz "Vliv Captoprilu na vývoj experimentálně vyvolaných adhesí v břišní dutině", maďarsky v Magyar Sebészet 45, 57-60 (1992).

Bylo dosaženo těchto výsledků:

Vlivem i.p. podání 0,25 mg/100g pentoxifyllinu se hod-

nota ABP ošetřené skupiny (94 Hgmm) druhého dne podstatně zvýší ve srovnání s kontrolní skupinou (60 Hgmm). Pátého dne dosáhne hodnota ABP skupiny po podání pentoxifyllinu 180 Hgmm, což odpovídá 81% tlakové hodnoty (218 Hgmm) normálního tlustého střeva, zatím co tlak kontrolní skupiny (103 Hgmm) je stále podstatně nižší ve srovnání s tlakem ošetřené skupiny (180 Hgmm), viz Obr.3

V důsledku podání 2mg/100 g pentoxifyllinu je hodnota ABP ošetřené skupiny (102 Hgmm) prvého dne podstatně vyšší ve srovnání s kontrolní skupinou (66 Hgmm). Tento rozdíl lze změřit také i druhý den po zákroku, viz Obr.4.

Z výše uvedených experimentálních výsledků lze vyvodit, že příznivá změna antioxidačního účinku je doprovázena zkrácením doby, nutné k léčení chirurgických poranění.

Hodnota PRI propočtená na podkladě desítek případů se zřetelem na peritoneální zánětlivou reakci se podstatně zvýšila u kontrolní skupiny druhého dne (2,0) ve srovnání s prvým dnem (1,0). K tomuto zvýšení nedochází u léčené skupiny a proto zánětlivá reakce léčené skupiny (1,1) je podstatně nižší - jak to bylo nalezeno - než u kontrolní skupiny (2,0) druhého dne, viz Obr.5.

Souborně řečeno naše experimentální výsledky dokazují, že pentoxifyllin a depogen v tom kterém případě zkracují dobu léčení anastomosy a snižují vývoj srůstů zvýšení antioxidačního stupně tkáně.

Na obrázcích byly použity tyto zkratky (uvedeny jsou jejich významy):

ABP vznik anastomosového tlaku
PRI: peritoneální reakční index
TBARS látky reaktivní na thiobarbiturovou kyselinu
Operační kontrola : operační skupina bez ošetření
ošetřená skupina : operační skupina s podáním pentoxifyllinu
pseudo-operační skupina: střevní anastomosa nebyla zjištěna po otevření břišní stěny
biol.kontrola: biologicky kontrolovaná skupina bez zásahu
KO: kontrolní skupina s nedotčeným tlustým střevem

KE: kontrolní skupina, segment před anastomosou,
KA: kontrolní skupina, anastomosa
KU: kontrolní skupina, segment po anastomose
Tr.skupina: operační skupina s pentoxifyllinem
TO: operační skupina s nedotčeným tlustým střevem po podání pentoxifyllinu
TE: operační skupina po podání pentoxifyllinu, segment před anastomosou
TA: operační skupina po podání pentoxifyllinu, anastomosový segment
TU: operační skupina po podání pentoxifyllinu, segment po anastomose
BM: biologická skupina, játra
TM: operační skupina po podání pentoxifyllinu, játra

1853-94

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
PŘÍL.
DOŠLO 26. 9. 94
č.j. 054181

PV 1853/94

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Použití 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-1H-purin-2,6-dionu a/nebo 1-(3´,4´-diethoxybenzyl)-6,7-diethoxy-3,4-dihydroixochinolinium-theofylin-7-acetátu či jeho monohydrátu k přípravě farmaceutického přípravku, hodícího se ke zlepšení antioxidačního stupně tkáně.

2. Použití podle nároku 1, zahrnující přípravu farmaceutického přípravku ve formě injikovatelných přípravků, infůzí, kapslí, tablet, tablet s postupným uvolňováním, roztoků nebo sirupů.

3. Použití sloučenin podle nároku 1 k přípravě farmaceutických přípravků, hodících se ke zlepšení antioxidačního stupně tkáně s tím, že se používá therapeuticky účinné množství uvedených látek.

4. Použití sloučenin podle nároku 3 k přípravě farmaceutických přípravků s tím, že se přípravek upraví pro parenterální použití.

5. Způsob výroby farmaceutického přípravku s obsahem 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-1H-purin-2,6-dionu a/nebo 1-(3´,4´-diethoxybenzyl)-6,7-diethoxy-3,4-dihydroixochinolinium-theofylin-7-acetátu nebo jeho monohydrátu, vyznačující se tím, že se mísí 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-1H-purin-2,6-dion jako aktivní složka a/nebo 1-(3´,4´-

diethoxybenzyl)-6,7-diethoxy-3,4-dihydroisochinolinium-theofylin-7-acetát nebo jeho monohydrát, obě látky připravené způsoby známými, s plnivy, nosiči, ředidly a nebo dalšími obvyklými přísadami, jak se používají ve farmaceutickém průmyslu, načež se z této směsi vyrobí farmaceutický přípravek, hodící se k zlepšení antioxidačního stupně tkáně.

6. Způsob podle nároku 5, vyznačující se tím, že se aktivní složka upravuje do formy injikovatelného farmaceutického přípravku.

7. Farmaceutický přípravek vhodný k zlepšení antioxidačního stupně tkáně, vyznačující se obsahem 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-1H-purin-2,6-dionu a/nebo 1-(3',4'-diethoxybenzyl)-6,7-diethoxy-3,4-dihydroixochinolinium-theofylin-7-acetátu nebo jeho monohydrátu.

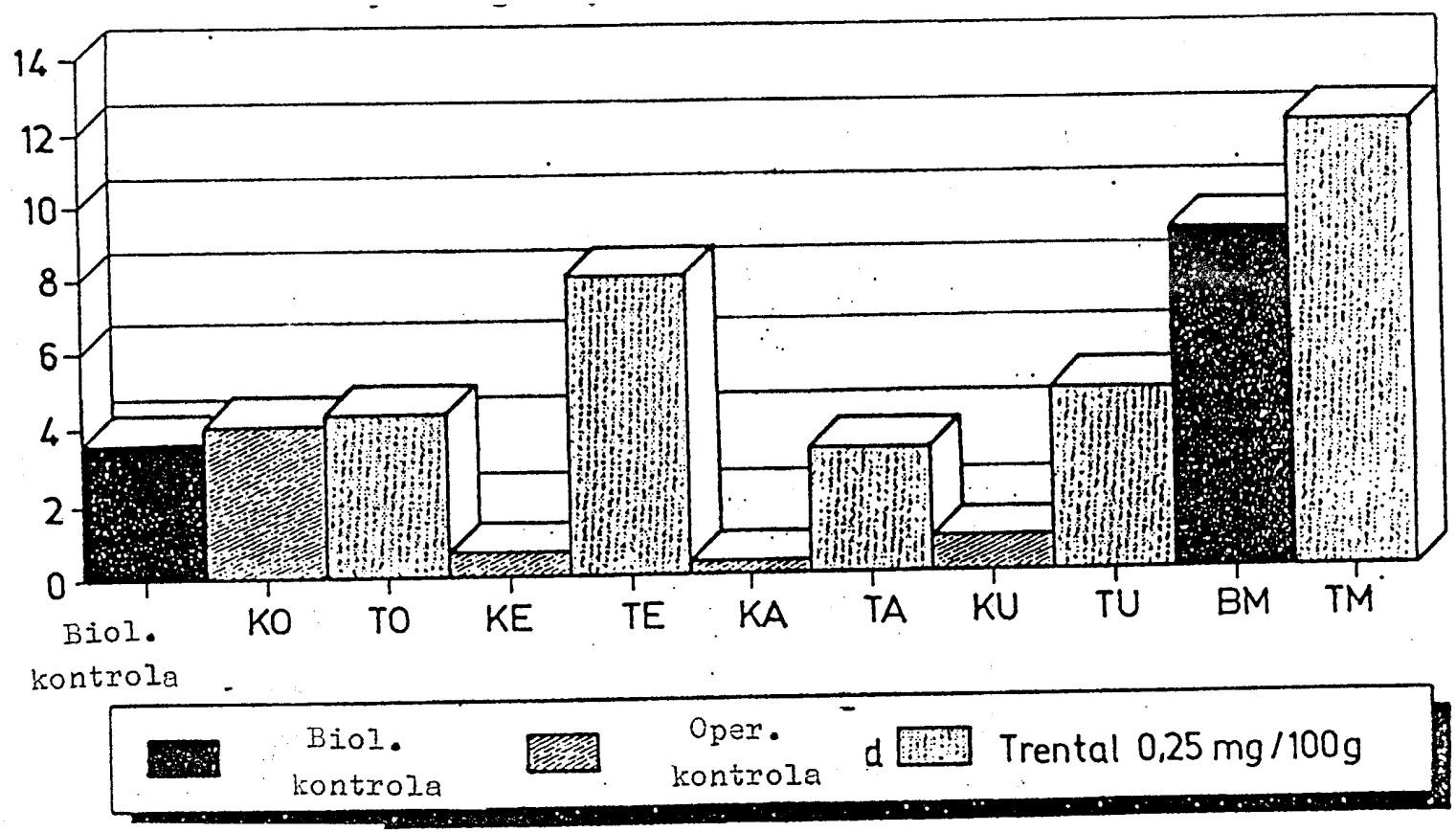
8. Farmaceutický přípravek podle nároku 7 ve formě injekčních infuzí, kapslí, tablet, tablet s pozvolným uvolňováním, roztoků či sirupů.

1873-94

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
PŘÍL.
DOŠLO 02. VIII 94
č.j. 0405 82

Vliv Trentalu na SOD-účinnost
v oblasti operace

Uvedeno v U/mg proteinu



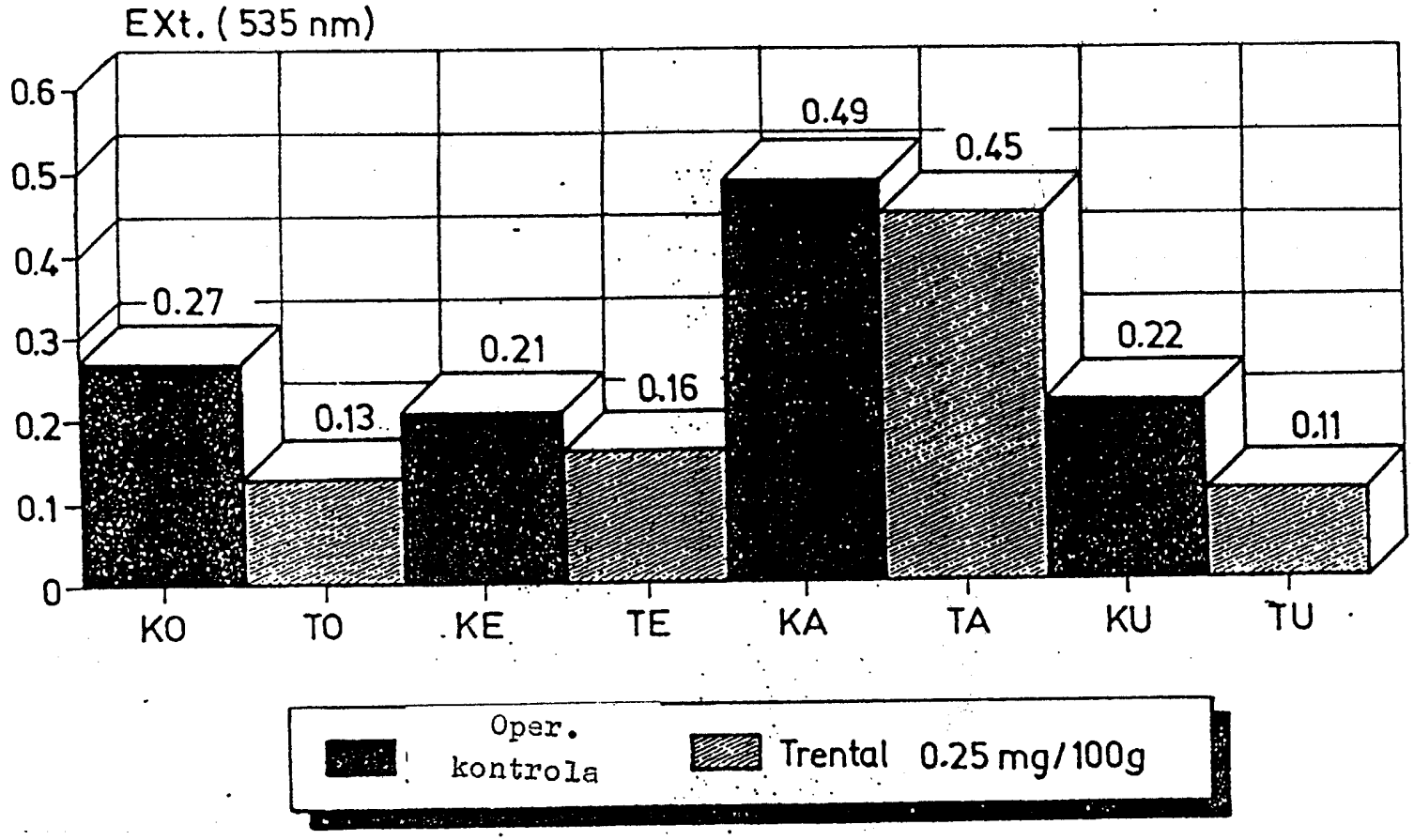
Jednohodinový pokus

Obr.1

1873-94

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
PŘÍL.
DOŠLO 02 VIII 94
č.j. 140582

Vliv působení Trentalu na obsah TBARS
v oblasti operace



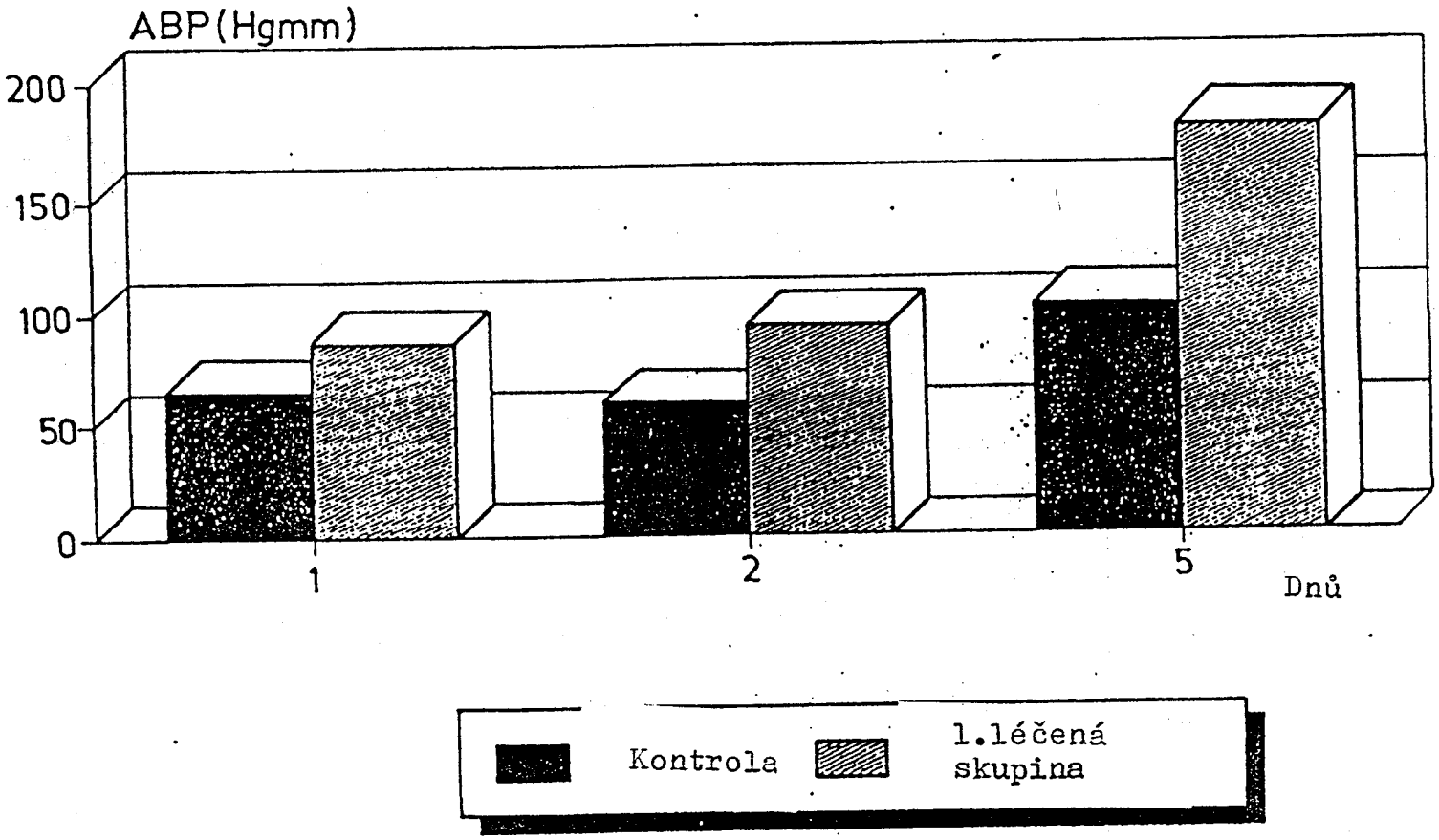
24-hodinový pokus

Obr. 2

APV3-94

Změna hodnoty ABP po působení
0,25 mg/100 g Trentalu

PŘÍL.
ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
DOŠLO
02 VII 94
č.j.
040582

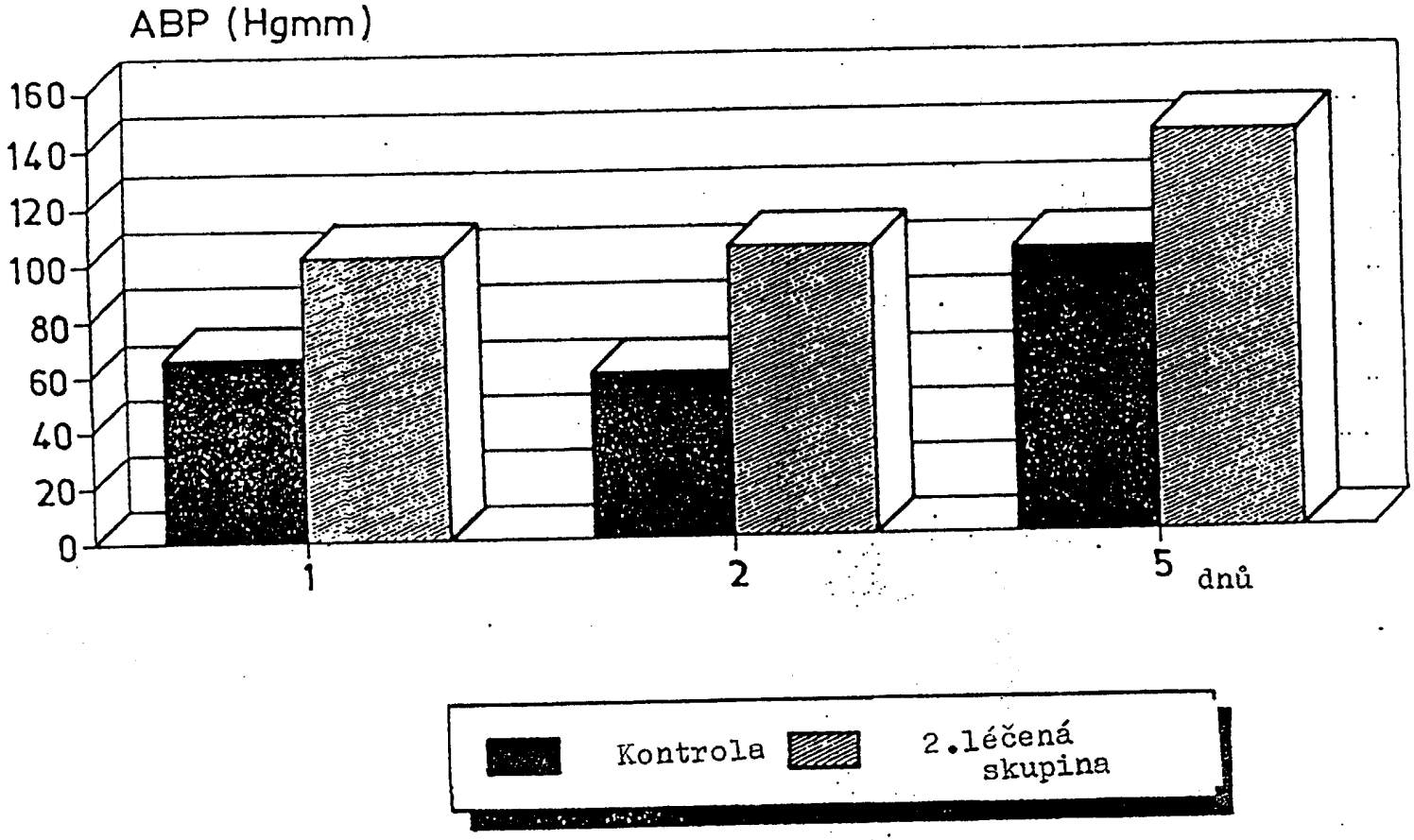


Obr. 3

1853-94

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
PŘÍL.
DOŠLO
02. VII 94
č.j.
0405 8?

Změna hodnoty ABP po lečbě
2mg/100 g Trentalu

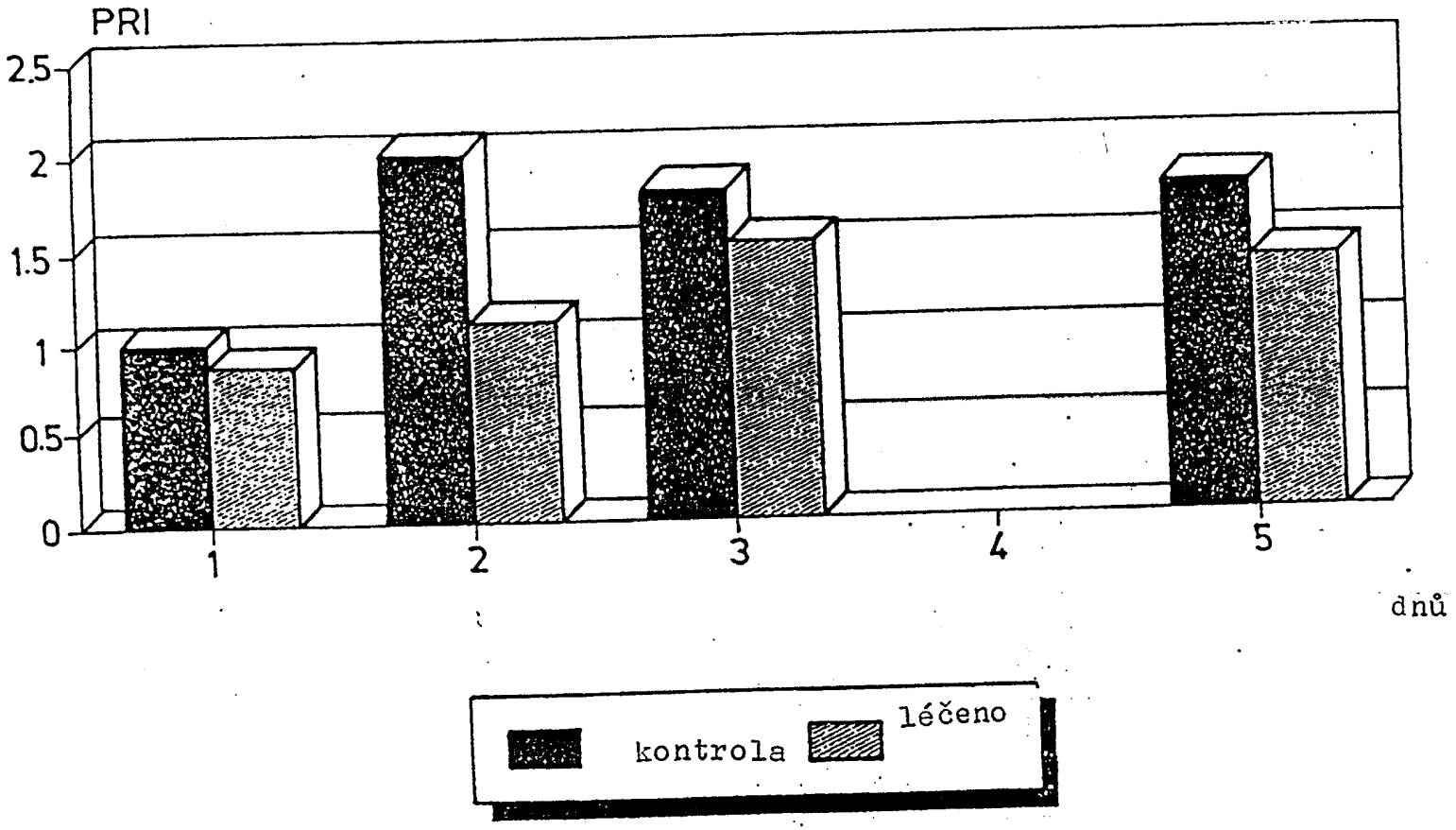


Obr. 4

1853-94

Vliv Trentalu na zánětlivou reakci pobřišnice

č.j. 40582
DOŠLO 02. VIII 94
ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
PŘÍL.



PRI = Peritoneální reakční index

Obr.5