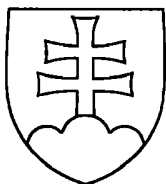


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania prihlášky: 21. 7. 1999
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 9815871.0,
9815872.8, 9905387.8
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: 21. 7. 1998,
21. 7. 1998, 9. 3. 1999
(33) Krajina alebo regionálna
organizácia priority: GB, GB, GB
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: 6. 8. 2001
Vestník ÚPV SR č.: 08/2001
(62) Číslo pôvodnej prihlášky
v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: PCT/GB99/02361
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: WO00/04890

(11), (21) Číslo dokumentu:

101-2001

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁷:

A61K 31/00
A61K 31/425
A61K 31/44

- (71) Prihlasovateľ: SMITHKLINE BEECHAM PLC, Brentford, Middlesex, GB;
SMITHKLINE BEECHAM LABORATOIRES PHARMACEUTIQUES S. A. S., Nanterre, FR;
(72) Pôvodca: Bril Antoine Michel Alain, Saint-Grégoire, FR;
Buckingham Robin Edwin, Harlow, Essex, GB;
Khandoudi Nassirah, Saint-Grégoire, FR;
(74) Zástupca: Majlingová Marta, Ing., Bratislava, SK;

- (54) Názov: Použitie enhancera absorpcie glukózy na zníženie alebo prevenciu apoptózy a farmaceutický prostriedok s jeho obsahom
(57) Anotácia:
Použitie enhancera absorpcie glukózy na zníženie alebo prevenciu apoptózy diferencovaných buniek vybraných zo skupiny, ktorá zahŕňa srdcové myocyty, pankreatické β -bunky, endoteliálne bunky a neuronálne bunky u človeka alebo cicavca mimo človeka; vynález zahŕňa aj farmaceutický prostriedok s obsahom enhancera absorpcie glukózy.

SK 101-2001 A3

Použitie enhancera absorpcie glukózy na zníženie alebo prevenciu apoptózy a farmaceutický prostriedok s jeho obsahom

Oblasť techniky

Vynález sa týka použitia enhancera absorpcie glukózy na zníženie alebo prevenciu apoptózy a farmaceutický prostriedok s jeho obsahom.

Doterajší stav techniky

Kardiovaskulárne choroby sú hlavnou príčinou úmrtnosti dospelých diabetikov s etiológiou choroby typu 1 a typu 2. Zdôraznená prítomnosť kardiovaskulárnej choroby v diabetes znamená nielen že výskyt infarktu myokardu je vyšší v diabetickej populácii, ale tiež že jeho výskyt prináša podstatne vyššie riziko úmrtia u diabetikov ako u nediabetikov. Prihláška európskeho patentu 0 306 228 sa týka niektorých tiazolidíndiónových derivátov o ktorých uvádza, že majú antihyperglykemický a antihyperlipidemický účinok. V EP 0 306 228 je opísaný najmä jeden tiazolidíndión, ktorý je 5-[4-[2-(*N*-metyl-*N*-(2-pyridyl)amino)etoxy]-benzyl]-tiazolidín-2,4-dión (v ďalšom: Zlúčenina (I)). WO94/05 659 opisuje niektoré soli Zlúčeniny (I), vrátane maleátu v Príklade 1.

Zlúčenina (I) je príklad skupiny antihyperglykémických látok, známych ako "inzulínové senzibilizátory". Najmä Zlúčenina (I) je tiazolidíndiónový inzulínový senzibilizátor. Tiazolidíndiónové inzulínové senzibilizátory zahŕňajú zlúčeniny, ktoré obsahujú 2,4-tiazolidíndiónové zoskupenie.

Prihlášky európskych patentov s číslami 0 008 203, 0 139 421, 0 032 128, 0 428 312, 0 489 663, 0 155 845, 0 257 781, 0 208 420, 0 177 353, 0 193 256, 0 319 189, 0 332 331, 0 332 332, 0 528 734, 0 508 740, prihlášky medzinárodných patentov s číslami 92/18 501, 93/02 079, 93/22 445 a patenty USA 4 687 777, 5 104 888 a 5 478 852 tiež opisujú niektoré tiazolidíndiónové inzulínové senzibilizátory.

Ďalšou skupinou zlúčenín, ktoré sa všeobecne pokladajú za inzulínové senzibilizátory sú zlúčeniny, ktoré sa uvádzajú ako príklady v opise prihlášok

medzinárodných patentov WO93/21 166 a WO94/01 420. Tieto zlúčeniny sa tu označujú ako "acyklické inzulínové senzibilizátory". Ďalšie príklady acyklických inzulínových senzibilizátorov sa uvádzajú v patente USA 5 232 945 a v prihláškach medzinárodných patentov WO92/03 425 a WO91/19 702.

Príklady ďalších inzulínových senzibilizátorov sa uvádzajú v európskej patentovej prihláške 0 533 933, v prihláške japonského patentu 05 271 204 a v patente USA 5 264 451.

Uvedené publikácie sa tu zahŕňajú týmto odkazom.

Shimabukuro a ďalší (Diabetes 44(Suppl.1) 797 (abstrakt) (1995)) uvádzajú, že dlhotrvajúca liečba tiazolidíndiónom troglitazonom chráni funkciu srdca diabetika. Tiež Eckel a ďalší (Diabetes 46(Suppl.1) 575 (abstrakt) (1997)) uviedli, že chronická expozícia troglitazonom môže vyvolať srdcovoochranný účinok tak, že zvyšuje dodávky glukózy do myocytov diabetického srdca.

V súčasnosti sa neočakávane ukázalo, že akútne podávanie Zlúčeniny (I) má srdcovoochranný účinok na diabetické srdce a preto je Zlúčenina (I) vhodná na prevenciu alebo zníženie post-ischemického poškodenia, ako je infarkt myokardu. Akútne podanie Zlúčeniny (I) sa indikuje tiež na zlepšenie zotavenia funkcie diabetického srdca po ischémii myokardu.

Ďalej a možno ešte viac neočakávane sa ukázalo, že podávanie, najmä akútne podanie Zlúčeniny (I) má mimoriadne účinný srdcovoochranný vplyv na ne-diabetické srdce.

Ukázalo sa tiež, že Zlúčenina (I) inhibuje alebo chráni pred apoptózou srdcových myocytových buniek a apoptózou ďalších typov diferencovaných buniek, najmä terminálne diferencovaných buniek (to znamená buniek, ktoré nemôžu podstúpiť delenie bunkového jadra).

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu je použitie enhancera absorpcie glukózy na výrobu lieku na zníženie apoptózy alebo na preventívnu ochranu pred apoptózou diferencovaných buniek, vybraných zo skupiny, ktorá zahŕňa srdcové myocyty, pankreatické β -bunky, endoteliálne bunky a neurónové bunky cicavca vrátane

človeka, pričom zahŕňa podávanie, vrátane akútneho podania, účinného netoxického množstva enhancera absorpcie glukózy cicavcovi, vrátane človeka, ktorý to potrebuje.

Výhodné diferencované bunky sú terminálne diferencované bunky. Vhodné bunky sú srdcové myocyty. Vhodné bunky sú pankreatické β bunky. Vhodné bunky sú endoteliálne bunky. Vhodné bunky sú neuronálne bunky.

Z iného hľadiska tento vynález poskytuje použitie enhancera absorpcie glukózy na výrobu lieku na zníženie apoptózy alebo na preventívnu ochranu pred apoptózou buniek, indukovanou príhodami, vybranými zo skupiny, ktorá zahŕňa ischemické poškodenie, depriváciu séra alebo cytokínovú aktiváciu u cicavca, vrátane človeka, ktorý to potrebuje. Z jedného hľadiska je apoptóza buniek indukovaná ischemickým poškodením. Z iného hľadiska je apoptóza buniek indukovaná depriváciou séra. Z ďalšieho hľadiska je apoptóza buniek indukovaná cytokínovou aktiváciou.

Z jedného osobitného hľadiska vynález poskytuje použitie enhancera absorpcie glukózy na výrobu lieku na zníženie post-ischemického poškodenia srdca, najmä infarktom myokardu, u cicavca, vrátane človeka, ktorý to potrebuje.

Vynález poskytuje tiež použitie enhancera absorpcie glukózy na výrobu lieku na zlepšenie funkčného zotavenia srdca po srdcovej ischemii, u cicavca, vrátane človeka, ktorý to potrebuje.

Tento vynález zahŕňa tiež enhancer absorpcie glukózy ako je Zlúčenina (I), alebo jej tautoména forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát, na zníženie alebo prevenciu apoptózy diferencovaných buniek, vybraných zo skupiny, ktorá zahŕňa srdcové myocyty, pankreatické β -bunky, endoteliálne bunky a neurónové bunky.

Z ďalšieho hľadiska tento vynález zahŕňa enhancer absorpcie glukózy ako je Zlúčenina (I), alebo jej tautoména forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát, na zníženie alebo prevenciu apoptózy diferencovaných buniek, indukovanej príhodami, vybranými zo skupiny, ktorá zahŕňa ischemické poškodenie, depriváciu séra alebo cytokínovú aktiváciu.

Z jedného osobitného hľadiska tento vynález zahŕňa enhancer absorpcie glukózy, ako je Zlúčenina (I), alebo jej tautoména forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát na použitie na zníženie post-ischemického poškodenia srdca, najmä infarktom myokardu, alebo na použitie na zlepšenie funkčného zotavenia srdca po srdcovej ischémii.

Niektorí cicavci vrátane človeka môžu trpieť chorobou diabetes mellitus alebo príbuznou poruchou. Podrobnejšie, uvedená diabetes mellitus je typ 1 diabetes mellitus. Podrobnejšie, uvedená diabetes mellitus je typ 2 diabetes mellitus.

Vhodný enhancer absorpcie glukózy je inzulínový senzibilizátor.

Vhodný enhancer absorpcie glukózy je tiazolidíndión.

Vhodné tiazolidíndióny sú tie, ktoré sa opisujú v hore uvedených publikáciách.

Výhodný tiazolidíndión je Zlúčenina (I), alebo jej tautoména forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát.

Ďalšie vhodné tiazolidíndióny zahŕňajú (+)-5-[[4-[(3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-benzopyrán-2-yl)metoxy]fenyl]metyl]-2,4-tiazolidíndión (alebo troglitazon), 5-[4-[(1-metylcyklohexyl)metoxy]benzyl]tiazolidín-2,4-dión (alebo ciglitazon), 5-[4-[2-(5-etylpyridín-2-yl)etoxy]benzyl]tiazolidín-2,4-dión (alebo pioglitazon) alebo 5-[(2-benzyl-2,3-dihydrobenzopyrán)-5-ylmetyl]tiazolidín-2,4-dión (alebo englitazon), alebo ich farmaceuticky prípustné deriváty.

Vhodný farmaceuticky prípustný derivát je farmaceuticky prípustná soľ, alebo farmaceuticky prípustný solvát, vrátane farmaceuticky prípustného solvátu farmaceuticky prípustnej soli.

Vhodné farmaceuticky prípustné deriváty, vrátane farmaceuticky prípustných solí a farmaceuticky prípustných solvátov enhancera absorpcie glukózy, ako sú napríklad tiazolidíndióny sa opisujú v hore uvedených publikáciách a v referenčných textoch ako je British a US Pharmacopoeias, Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.), Martindale The Extra Pharmacopoeia (Londýn, The Pharmaceutical Press).

Vhodné farmaceuticky prípustné soli Zlúčeniny (I) zahŕňajú soli opísané v EP 0 306 228 a WO94/05 659. Výhodná farmaceuticky prípustná soľ je maleát.

Vhodné farmaceuticky prípustné solvátové formy Zlúčeniny (I) zahŕňajú formy opísané v EP 0 306 228 a WO94/05 659, najmä hydráty.

Niektoré enhancery absorpcie glukózy, ako sú tiazolidíndióny, napríklad Zlúčenina (I) môžu jestvovať v jednej alebo viacerých tautomérnych formách; všetky také formy sú zahrnuté v spôsobe podľa tohto vynálezu, či už ako jednotlivé tautoméne formy alebo ich zmesi.

Niektoré enhancery absorpcie glukózy, ako sú tiazolidíndióny, napríklad Zlúčenina (I) môžu obsahovať chirálny uhlíkový atóm a preto môžu jestvovať vo viacerých stereoizomérnych formách; všetky také formy sú zahrnuté v spôsobe podľa tohto vynálezu či už ako jednotlivé izoméry alebo ako zmesi izomérov.

Enhancery absorpcie glukózy, ako sú tiazolidíndióny, vrátane ich farmaceuticky prípustných derivátov sa pripravujú použitím bežných spôsobov prípravy; tiazolidíndióny sa ľahko pripravujú napríklad spôsobmi, opísanými v hore uvedených publikáciách; tak Zlúčenina (I), alebo jej tautoména forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát ako je jej soľ, alebo jej farmaceuticky prípustný solvát sa môže pripraviť spôsobmi, opísanými v EP 0 306 228 a WO94/05 659.

Hore uvedené stereoizomérne formy, ako sú stereoizomérne formy tiazolidíndiónov možno pripraviť, a ak sa vyžaduje aj deliť, známymi spôsobmi, napríklad spôsobmi opísanými v hore uvedených publikáciách.

Uvedený spôsob akútneho podania enhancera absorpcie glukózy, najmä tiazolidíndiónov ako je Zlúčenina (I) sa považuje za samostatnú časť tohto vynálezu. Preto vynález ďalej poskytuje enhancer absorpcie glukózy, ako je tiazolidíndión, napríklad zlúčeninu (I), alebo jej tautoménu formu, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát na použitie ako akútne podávateľnú terapeutickú látku.

Vynález tiež zahŕňa enhancer absorpcie glukózy, ako je tiazolidíndión, napríklad zlúčeninu (I), alebo jej tautoménu formu, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát na použitie ako akútne podávateľnú srdcovoochrannú látku, najmä na prevenciu alebo zníženie ischemického porušenia srdca, najmä infarktom myokardu.

Tento vynález ďalej zahŕňa enhancer absorpcie glukózy, ako je tiazolidíndión, napríklad Zlúčenina (I), alebo jej tautoména forma, alebo jej farmaceuticky

prípustný derivát na akútne podávanie na zlepšenie funkčného zotavenia srdca po ischémii myokardu.

Vo všetkých hore uvedených použitíach možno enhancer absorpcie glukózy, ako je tiazolidíndión, napríklad Zlúčenina (I), alebo jej tautomérna forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát podávať *per se* alebo, výhodne, ako farmaceutický prípravok obsahujúci tiež farmaceuticky prípustný nosič.

Preto tento vynález tiež zahŕňa farmaceutický prípravok, obsahujúci enhancer absorpcie glukózy, ako je Zlúčenina (I), alebo jej tautomérna forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát a farmaceuticky prípustný nosič, pričom uvedený prípravok je prispôsobený na akútne podanie.

Podrobnejšie, tento vynález zahŕňa farmaceutický prípravok na použitie ako akútne podávateľnú srdcovoochrannú látku, najmä na prevenciu alebo zníženie post ischemického poškodenia srdca, najmä infarktom myokardu; uvedený prípravok zahŕňa enhancer absorpcie glukózy, ako je Zlúčenina (I), alebo jej tautomérna forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát a farmaceuticky prípustný nosič.

Vynález ďalej zahŕňa farmaceutický prípravok na akútne podávanie na zlepšenie funkčného zotavenia srdca po ischémii myokardu; uvedený prípravok zahŕňa enhancer absorpcie glukózy, ako je Zlúčenina (I), alebo jej tautomérna forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát a farmaceuticky prípustný nosič.

Je tiež zrejmé, že akútny srdcovoochranný účinok enhancera absorpcie glukózy môže byť použiteľný na podporu post chirurgického zotavenia. Preto tento vynález ďalej zahŕňa spôsob podpory post chirurgického zotavenia po operácii, najmä po veľkých operáciách ako je operácia srdca; uvedený spôsob zahŕňa podávanie, všeobecne akútne podávanie, účinného netoxického množstva enhancera absorpcie glukózy, ako je Zlúčenina (I), alebo jej tautomérna forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát. Uvedené podávanie enhancera absorpcie glukózy možno uskutočniť pred operáciou alebo po operácii.

Výraz "farmaceuticky prípustný" tu zahŕňa zlúčeniny, prípravky a zložky na humánne aj veterinárne použitie; napríklad výraz "farmaceuticky prípustná soľ" zahŕňa aj veterinárne prípustnú soľ.

Použitý výraz "post ischemické poškodenie srdca" tu zahŕňa infarkt myokardu a niektoré arytmie, najmä infarkt myokardu.

Použitý výraz "zlepšenie funkčného zotavenia srdca" zahŕňa zlepšenie alebo obnovenie srdcového minútového objemu a/alebo podporu zotavenia, najmä rýchlosti zotavenia srdcového minútového objemu.

Použitý výraz "akútne podanie", alebo "akútne podávanie", alebo frázy alebo výrazy na vyjadrenie rovnocenného významu k akútnemu podávaniu znamenajú jednorázové podanie liečiva alebo krátkodobé užívanie. Krátkodobé užívanie inzulínového senzibilizátora znamená časový úsek menší ako je doba dosiahnutia antihyperglykemického účinku. Vhodný krátkodobý interval užívania je 3 až 4 týždne.

Použitý výraz "enhancer absorpcie glukózy" znamená látku, ktorá zvyšuje bazálny alebo inzulínom stimulovaný príjem glukózy membránou bunky.

V spôsobe podľa tohto vynálezu sa účinné liečivá výhodne podávajú vo forme farmaceutického prípravku.

Prípravky sú zvyčajne prispôsobené na perorálne podávanie. Možno ich ale prispôbiť aj na iné spôsoby podávania, napríklad na parenterálne podávanie, sublinguálne alebo transdermálne podávanie.

Prípravky môžu byť v liekovej forme tabliet, kapsúl, práškov, granulátu, pastiliek, čapíkov, rekonstituovateľných práškov, alebo vo forme tekutých prípravkov, ako sú perorálne alebo sterilné parenterálne roztoky alebo suspenzie.

Na dosiahnutie konzistentnosti pri podávaní je výhodné, aby prípravok podľa tohto vynálezu mal formu jednotkovej dávky.

Jednotkovou dávkovou formou na perorálne podávanie môžu byť tablety a kapsuly a môžu obsahovať bežné pomocné látky ako sú spojivá, napríklad sirup, arabskú gumu, želatínu, sorbitol, traganť, alebo polyvinylpyrolidón; plnivá, napríklad laktózu, sacharózu, kukuričný škrob, fosforečnan vápenatý, sorbitol alebo glycín; tabletovacie mastivá, napríklad stearan horečnatý; látky podporujúce rozpad, napríklad škrob, polyvinylpyrolidón, sodnú soľ glykolátu škrobu, alebo mikro-kryštalickú celulózu; alebo farmaceuticky prípustný tenzid, ako je laurylsíran sodný.

Uvedené prípravky sú výhodne vo forme jednotlivých dávok v príslušnom množstve relevantnej dennej dávky.

Vhodné dávkovacie režimy, vrátane podrobností o jednotkových dávkach pre tiazolidindióny zahŕňajú režimy, opísané v hore uvedených publikáciách alebo v

uvedených referenčných textoch ako je British and US Pharmacopoeias, Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.), Martindale The Extra Pharmacopoeia (Londýn, The Pharmaceutical Press).

Prípravky sú výhodne vo forme jednotkových dávok v množstve príslušnom na relevantnú dennú dávku. Napríklad, pre zlúčeninu (I) obsahuje vhodná jednotková dávka do 12 mg Zlúčeniny (I).

V akútnej liečbe podľa tohto vynálezu sa enhancer absorpcie glukózy, ako je Zlúčenina (I), alebo jej tautométna forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát vo všeobecnosti podá ako jednorázová dávka. Ak sa ale vyžaduje, možno na dosiahnutie krátkodobej nechronickej liečby podávať aj ďalšie dávky, napríklad na prevenciu alebo zníženie ischemického poškodenia ako je infarkt myokardu, v dôsledku ďalších ischemických príhod a/alebo na prevenciu alebo zníženie úpornosti takých príhod a/alebo ich opakovania.

V hore spomenutom akútnom podávaní enhancerov absorpcie glukózy, napríklad tiazolidíndiónov, je zrejmé, že akútne podávanie zahŕňa vyššie dávky ako sú dávky spojené s antihyperglykemickým účinkom.

Z ďalšieho hľadiska, liečba zahŕňa následné podávanie alebo spoločné podávanie trombolytickej látky, ako je streptokináza, s enhancerom absorpcie glukózy, ako je Zlúčenina (I), alebo jej tautométna forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát.

Jednotlivé trombolytické látky a ich potrebné dávkovanie sú zahrnuté v referenčných textoch British and US Pharmacopoeias, Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.), Martindale The Extra Pharmacopoeia (Londýn, The Pharmaceutical Press).

Tuhé perorálne prípravky možno pripraviť bežnými spôsobmi zmiešaním, plnením alebo tabletovaním. Aby sa v prípravku dosiahlo dokonalé rozptýlenie účinnej látky vo veľkom množstve plniva možno operácie zmiešavania použiť opakovane. Tieto operácie sú v odbore bežné. Tablety môžu byť poťahované spôsobmi, ktoré sú v bežnej farmaceutickej praxi dobre známe, vhodné je najmä poťahovanie tabliet enterosolventnými povlakmi.

Perorálne tekuté prípravky možno formulovať napríklad ako emulzie, sirupy alebo elixíry, alebo ich možno dodať ako suché prípravky na rekonštitúciu s vodou

alebo iným vhodným riedidlom pred použitím. Tekuté prípravky môžu obsahovať bežné prísady, ako sú dispergačné látky, napríklad sorbitol, sirup, metylcelulózu, želatínu, hydroxyetylcelulózu, kboxymetylcelulózu, gélový stearan hlinitý, stužené jedlé tuky; emulgátory, napríklad lecitín, monoleát sorbitolu alebo arabskú gumu; nevodné nosiče (ktoré môžu zahŕňať jedlé oleje), napríklad mandľový olej, frakcionovaný kokosový olej, olejové estery ako sú estery glycerolu, propylénglykol alebo etanol; konzervačné látky, napríklad metyl alebo etyl *p*-hydroxybenzoát alebo kyselinu sorbovú; a ak sa vyžaduje, obsahujú tiež chuťové, vonné a/alebo farbiace látky.

Na parenterálne podávanie sa pripravujú tekuté dávkové formy z účinnej zlúčeniny a sterilného nosiča; v závislosti od použitej koncentrácie môže byť účinná zložka dispergovaná alebo rozpustená v riedidle. Pri príprave roztokov sa účinná zlúčenina môže rozpustiť vo vode na injekcie a pred naplnením do vhodných liekoviek alebo ampúl a uzavretím sterilizovať filtráciou. Je výhodné, ak sa v riedidle môžu rozpustiť farmaceutické pomocné látky ako je miestne anestetikum, konzervačné a tlmivé látky. Na zvýšenie stálosti možno prípravok po naplnení do ampulky alebo liekovky zmraziť a vodu odstrániť vo vákuu. Parenterálne suspenzie sa pripravujú v podstate rovnakým spôsobom s výnimkou, že účinnú zlúčeninu možno dispergovať v riedidle miesto rozpustiť a sterilizáciu nemožno uskutočniť filtráciou. Účinnú zlúčeninu možno sterilizovať vystavením účinku etylénoxidu pred dispergovaním v sterilnom riedidle. Je výhodné, ak sa do formulácií zahrnú tenzidy alebo zmáčadlá, čo uľahčuje rovnomerné rozdelenie účinnej látky v prípravku.

Prípravky môžu obsahovať od 0,1 % do 99 % (hmotnostných), výhodne 10 až 60 % (hmotnostných) účinnej zlúčeniny; podiel účinnej zlúčeniny závisí od spôsobu podávania.

Ak sa vyžaduje, prípravky môžu mať formu balenia so sprievodnými písanými alebo tlačnými pokynmi na použitie.

Uvedené srdcovoochranné účinky, najmä akútny srdcovoochranný účinok enhancera absorpcie glukózy, ako je Zlúčenina (I) alebo jej tautomérna forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát, sa považujú tiež za potenciálne využiteľné ako kardioplégne látky. Tento vynález preto ďalej zahŕňa enhancer absorpcie glukózy, ako je Zlúčenina (I), alebo jej tautomérna forma, alebo jej farmaceuticky prípustný

derivát na použitie ako kardioplégnu látku, najmä pri kardioplégnych riešení na ochranu srdcovej funkcie počas chirurgického zákroku.

Bližšie použitia kardioplégnej látky zahŕňajú chirurgický zákrok s premostením srdca (by-pass). Bližšie, použitia kardioplégnej látky zahŕňajú použitie v srdcovej transplantáčnej chirurgii na udržanie životaschopnosti srdca.

Množstvo účinnej látky, potrebné na kardioplégne použitie sa zistí štandardnými skúšobnými postupmi, napríklad takými ako sa uvádzajú v tomto texte; napríklad si možno predstaviť, že kardioplégne roztoky Zlúčeniny (I) obsahujú medzi 0,01 μM a 10 μM Zlúčeniny (I).

Prípravky sa pripravujú a formulujú bežnými spôsobmi, napríklad takými, aké sa uvádzajú v referenčných textoch, napríklad v British a US Pharmacopoeias, Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.), Martindale The Extra Pharmacopoeia (Londýn, The Pharmaceutical Press) a Harry's Cosmeticology (Leonard Hill Books), alebo v ďalších, uvedených publikáciách.

Uvedené srdcovoochranné účinky podľa tohto vynálezu možno identifikovať skúšobnými postupmi, ktoré sa tu uvádzajú, alebo tými, ktoré sú v odbore známe, ktoré napríklad opísal Khandoudi N., Bernard M., Cozzone P., Feuvray D. (Intracellular pH and role of Na^+/H^+ exchange during ischaemia and reperfusion of normal and diabetic rat hearts, Cardiovasc. res. 24, 873 až 878 (1990)), alebo Khandoudi N., Laville M.P., Bril A. (Protective effect of the Sodium/Hydrogen exchange inhibitors during global low flow-ischemia, J. Cardiovasc. Pharmacol. 28, 540 až 546 (1996)).

Proti-apoptózové účinky podľa tohto vynálezu jednotlivého enhancera absorpcie glukózy možno stanoviť použitím bežne známej metodiky, napríklad spôsobmi, ktoré sa opisujú v štandardných referenčných textoch alebo v J. Mol. Cell Cardiol., 30(3), 495 až 507 (1998), alebo v Circ. Res. 75(3), 426 až 433 (1994), alebo v hore uvedených publikáciách.

V hore uvedených rozsahoch dávok neboli zistené nijaké škodlivé toxikologické účinky prípravkov alebo spôsobov podľa tohto vynálezu.

Nasledujúce príklady objasňujú vynález, ale nijako vynález neobmedzujú.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Obr. 1: znázorňuje vplyv Zlúčeniny (I) na post-ischemické funkčné oslabenie pracujúcich srdc normálnych samčiekov potkanov Wistar; a

Obr. 2: znázorňuje vplyv Zlúčeniny (I) na post-ischemické funkčné oslabenie pracujúcich srdc STZ-diabetických samčiekov potkanov Wistar.

Priklady uskutočnenia vynálezu

Materiály a postupy

Materiály:

Zásobný roztok Zlúčeniny (I) sa pripravil vždy čerstvý v dimetylsulfoxide (DMSO) a ďalšie riedenia sa uskutočnili perfúznym tlmivým roztokom. Najvyššia koncentrácia riedidla DMSO bola 0,001 %, ktorá nemá vplyv na žiadny zo sledovaných parametrov, čo sa overilo pridaním samotného DMSO v kontrolnej – porovnávacej skúške.

Roztok streptozotocínu (STZ, komerčne dostupná látka) sa pripravil rozpustením látky v citranovom tlmivom roztoku (40 mg.ml^{-1}).

Skúšobný systém:

Samčekom potkanov Wistar (Charles River; St. Aubin lés Elbeuf, Francúzsko) s telesnou hmotnosťou medzi 260 až 280 g sa chovali v klietkach v cykle 12 h/12 h svetlo/tma s prístupom k vode a so štandardným kŕmením *ad libitum*. Pred pokusmi sa chovali najmenej týždeň na aklimatizáciu.

Indukcia experimentálnej diabetes:

Samčekom potkanov Wistar medzi 300 a 320 g sa nechali cez noc bez krmiva a diabetes sa indukovala jednorazovým podaním intravenózneho injekcie STZ, 40 mg.kg^{-1} telesnej hmotnosti. Vývoj diabetes a jej pretrvávanie boli monitorované radom kvantitatívnych stanovení glukózy v moči pomocou reagenčných prúžkov. V deň pokusu sa úpornosť diabetes stanovila meraním koncentrácie glukózy zo

vzoriek krvi, odobratých v čase excisie srdca. Za diabetické potkany sa považovali iba tie, ktoré mali hladiny glukózy presahujúce 20 mM a iba tieto sa použili v pokusoch.

Experimentálne postupy

Perfúzia izolovaných srdc

Anestéza potkanov sa uskutočnila intraperitoneálnym podaním tiopentalu sodného (50 mg.kg^{-1} hmotnosti). Z normoglykémických a z diabetických (mesiac po indukcií s STZ) potkanov sa rýchlo odstránilo srdce a vložilo do ľadového tlmivého roztoku na okamžité prerušenie kontraktility. Aorta sa uvoľnila a potom pripojila na kanylu, pripojenú na premývaciu (perfúznu) aparatúru. Začala desaťminútová retrográdna perfúzia Langerdorffovým spôsobom, potom sa režim prepol na perfúziu s použitím techniky pracujúceho srdca [16]. Perfúznou tekutinou bol Krebs-Henselleitov tlmivý roztok (pH 7,4) nasledujúceho zloženia (v mM): NaCl 118, NaHCO_3 23, KCl 4,7, KH_2PO_4 1,2, MgCl_2 1,2, CaCl_2 1,25, glukóza 11, pyruvát 2. Tlmivý roztok sa plynulo sýtil plynou zmesou 95 % O_2 /5 % CO_2 a celý systém sa temperoval pri 37°C . Perfuzát sa nerekuloval. Počiatočné napätie bolo udržiavané pri tlaku 15 cm H_2O a sťahy ako aj koronárny perfúzny tlak boli udržiavané konštantné na 80 cm H_2O .

Meranie funkcie srdca

Tepová frekvencia (tepy za minútu) a vrcholový systolický tlak (mm Hg) sa plynulo monitorovali pomocou bočného vyústenia ramena aortovej kanyly, naplneného tekutinou, pripojeného na prevodník tlaku (Statham P23Db) a na analógový záznam (zapisovač Gould, model 8188.602). Tok aortou a koronárny tok sa merali (ml.min^{-1}) odberom v jednotlivých časoch. Srdcový minútový objem (ml.min^{-1}) sa odvodil zo súčtu toku aortou a koronárneho toku.

Indukcia globálnej ischémie a reperfúzia

Totálna ischémia sa iniciovala zaškrtením ľavej predsiene a aortovej perfúznej trubice a znížením koronárneho toku na nulu po dobu 30 minút. Potom sa

uskutočnila reperfúzia srdca pri 37°C v móde pracujúceho srdca a po 30 minútach bola obnovená ventrikulárna funkcia.

Na skúmanie účinku Zlúčeniny (I) sa táto látka pridávala do perfuzátu 15 minút pred indukciou ischémie a potom sa udržiavala počas reperfúznej fázy.

Spracovanie údajov a analýza

Získané údaje sa uvádzajú vo forme stredných hodnôt $\pm$ SEM. Štatistická významnosť rozdielov sa určovala pomocou Studentovho t-testu. Za štatisticky významné rozdiely sa považovali rozdiely pri $p \leq 0,05$.

Výsledky

Základné funkčné parametre perfúzie srdca normálnych samčekov potkanov Wistar *ex vivo* sa uvádzajú v Tab.1. V použitom perfúznom systéme s konštantným výtokovým odporom odráža aortový tok ventrikulárnu kontraktilitu [16].

Účinky zahrnutia Zlúčeniny (I) (1 μ M) do perfuzátu 15 minút pred beztokovou ischémiou (30 minút) a do následnej reperfúzie na funkciu srdcového svalu sú znázornené na Obr. 1. Údaje kontrolnej skupiny ukazujú, že zotavenie post-ischemických kontrolných srdca je pomerne pomalé a nie všetky funkcie (napríklad minútový objem) sa ani po 30 minútach reperfúzie vrátili na preischemickú úroveň. Zahrnutie Zlúčeniny (I) do perfuzátu pred ischémiou významne zvýšilo rýchlosť zotavenia každého z funkčných indexov. Napríklad zahrnutie Zlúčeniny (I) (1 μ M) do perfuzátu 15 minút pred a počas ischémie a v priebehu následnej reperfúznej fázy podporilo obnovenie minútového objemu a tepovej frekvencie.

Tab. 1 uvádza základnú ventrikulárnu funkciu izolovaných pracujúcich srdc samčiekov potkanov Wistar, s nosičom alebo so Zlúčeninou (I), pridanými do perfuzátu

	Samččky potkana Wistar, kontrolná skupina	Samččky potkana Wistar, Zlúčenina (I), (1 μ M)
aortálny tok (ml.min ⁻¹)	36,5 $\pm$ 1,6	34,0 $\pm$ 0,7
koronárny tok (ml.min ⁻¹)	15,0 $\pm$ 0,6	16,6 $\pm$ 0,6
minútový objem (ml.min ⁻¹)	52,2 $\pm$ 2	51 $\pm$ 1
Vrcholový systolický tlak (mm Hg)	79,1 $\pm$ 1	73 $\pm$ 1
tepový objem (ml/úder)	0,16 $\pm$ 0,01	0,16 $\pm$ 0,01
tep (úder/min)	314 $\pm$ 10	317 $\pm$ 15

Tab. 2: uvádza základnú ventrikulárnu funkciu izolovaných pracujúcich srdc STZ-diabetických potkanov, s nosičom alebo Zlúčeninou (I), pridanými do perfuzátu

	Samččky potkana Wistar, STZ diabetické, kontrolná skupina (n = 6)	Samččky potkana Wistar, STZ diabetické, Zlúčenina (I), (1 μ M) (n = 6)
aortálny tok (ml.min ⁻¹)	42,5 $\pm$ 1,7	42,3 $\pm$ 1,5
koronárny tok (ml.min ⁻¹)	13,6 $\pm$ 0,5	12,1 $\pm$ 0,4
minútový objem (ml.min ⁻¹)	56,2 $\pm$ 2,0	54,4 $\pm$ 1,7
Vrcholový systolický tlak (mm Hg)	77 $\pm$ 2	76 $\pm$ 2
tepový objem (ml/úder)	0,24 $\pm$ 0,02	0,25 $\pm$ 0,01
tep (úder/min)	242 $\pm$ 19	225 $\pm$ 14

Závery

Výsledky uvedenej štúdie potvrdzujú, že Zlúčenina (I) má ochranné vlastnosti s rýchlym nástupom u srdc normálnych ako aj diabetických potkanov, vystavených beztokovej ischémii *in vitro*.

•

•

•

•

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Použitie enhancera absorpcie glukózy na výrobu lieku na zníženie alebo prevenciu apoptózy diferencovaných buniek, vybraných zo skupiny, ktorá zahŕňa srdcové myocyty, pankreatické β -bunky, endoteliálne bunky a neurónové bunky cicavca vrátane človeka, pričom zahŕňa podávanie, vrátane akútneho podania, účinného netoxického množstva enhancera absorpcie glukózy cicavcovi, vrátane človeka, ktorý to potrebuje.

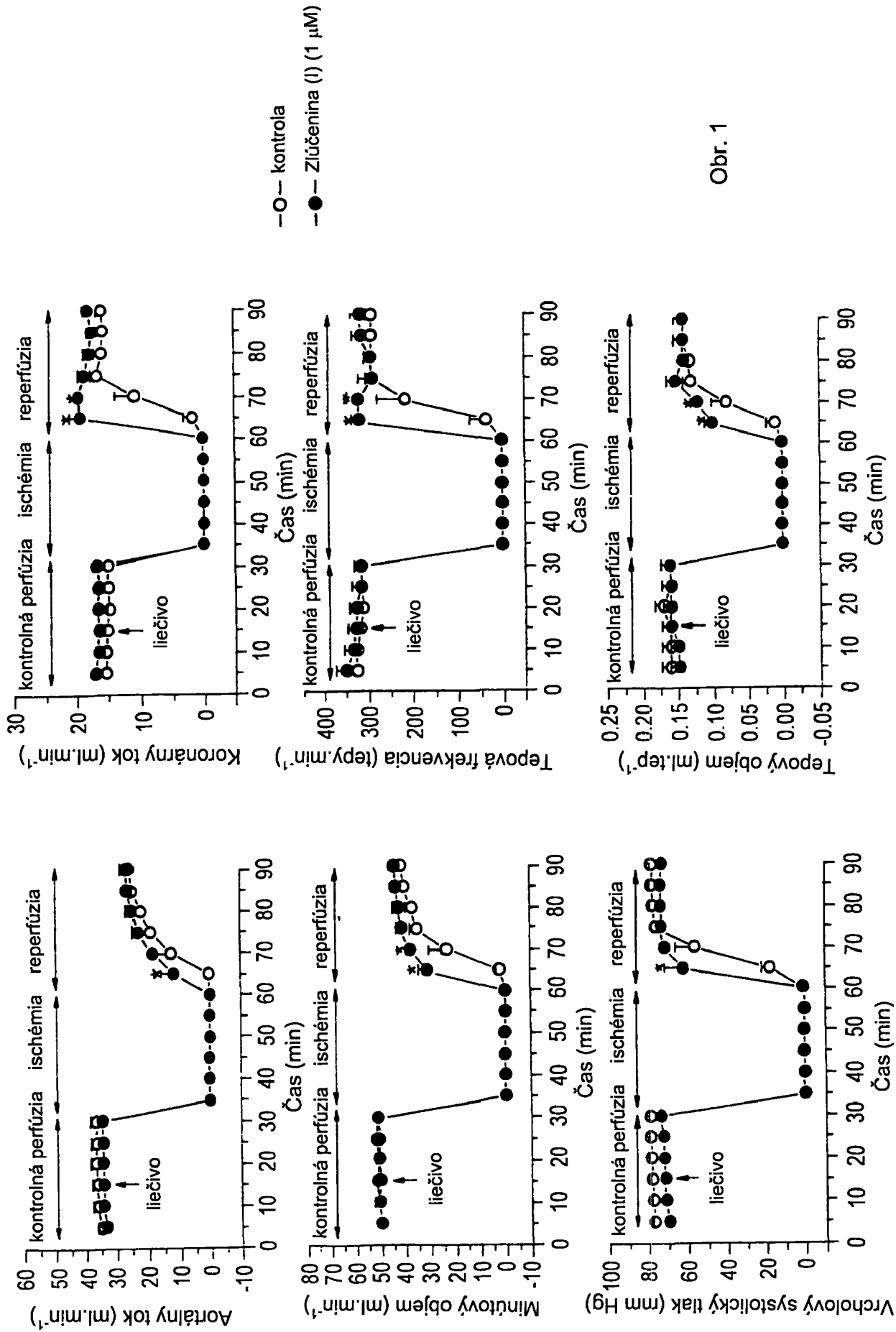
2. Použitie enhancera absorpcie glukózy na výrobu lieku na zníženie alebo prevenciu apoptózy buniek, indukovanej prípadmi, vybranými zo skupiny, ktorá zahŕňa ischemické poškodenie, depriváciu séra alebo cytokínovú aktiváciu u cicavca vrátane človeka, pričom zahŕňa podávanie, vrátane akútneho podania, účinného netoxického množstva enhancera absorpcie glukózy cicavcovi, vrátane človeka, ktorý to potrebuje.

3. Použitie enhancera absorpcie glukózy na výrobu lieku na zníženie post-ischemického poškodenia srdca a/alebo na zlepšenie funkčného zotavenia srdca po myokardiálnej ischemii, pričom zahŕňa podávanie účinného netoxického množstva enhancera absorpcie glukózy cicavcovi, vrátane človeka, ktorý to potrebuje.

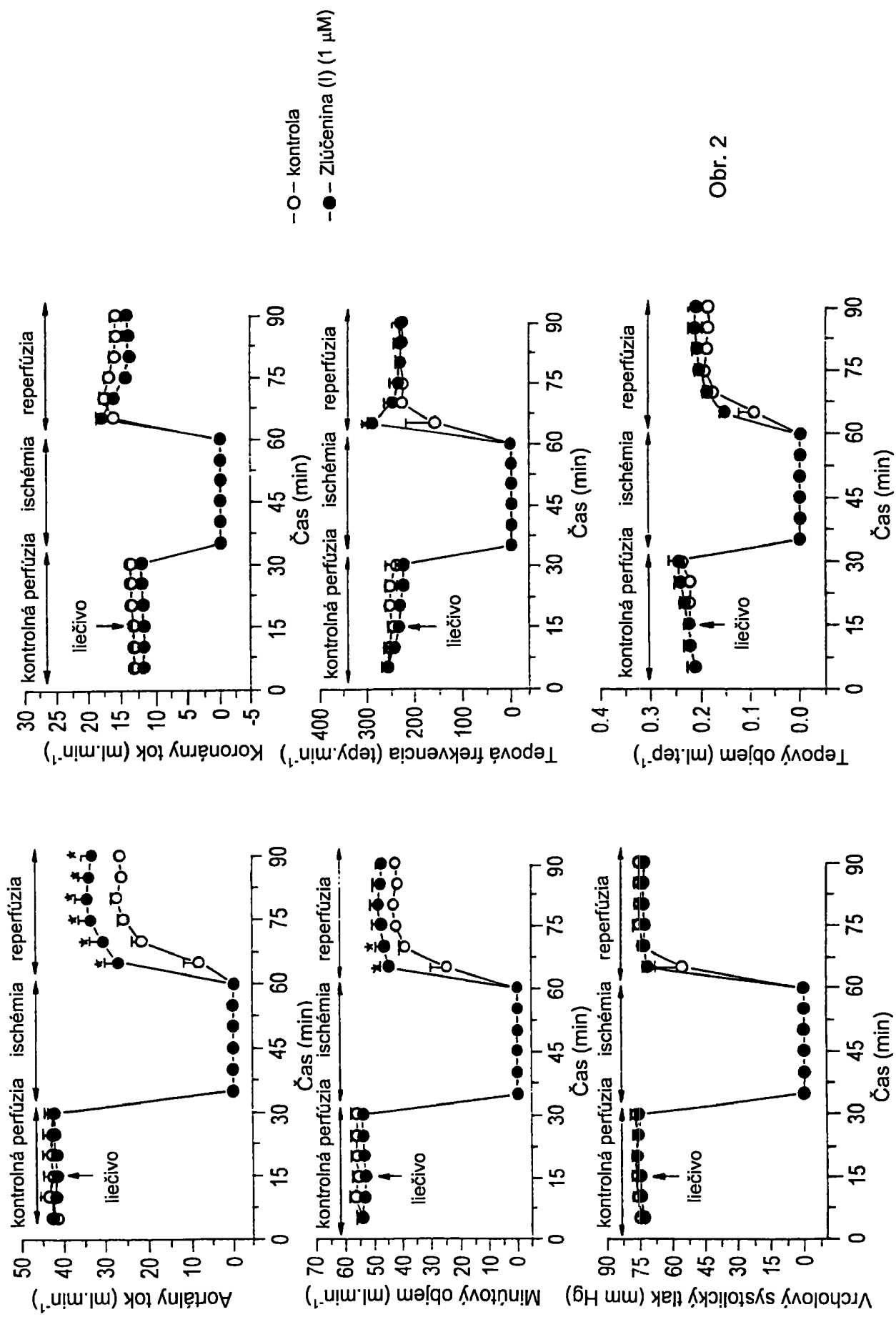
4. Použitie podľa niektorého z nárokov 1 až 3, pričom enhancer absorpcie glukózy je tiazolidíndión.

5. Použitie podľa nároku 4, pričom tiazolidíndión je Zlúčenina (I), alebo jej tautoména forma, alebo jej farmaceuticky prípustný derivát.

6. Použitie podľa nároku 4, pričom uvedený tiazolidíndión sa vyberie zo skupiny, ktorá zahŕňa: (+)-5-[[4-[(3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-benzopyrán-2-yl)methoxy]fenyl)methyl]-2,4-tiazolidíndión (alebo troglitazon), 5-[4-[(1-methylcyklohexyl)methoxy]benzyl]tiazolidín-2,4-dión (alebo ciglitazon), 5-[4-[2-(5-etylpyridín-2-yl)ethoxy]benzyl]tiazolidín-2,4-dión (alebo pioglitazon) alebo 5-[(2-benzyl-



Obr. 1



Obr. 2