

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

**2001 - 348**

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **23.07.1999**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **28.07.1998**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1998/123892**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16.01.2002**  
(Věstník č. 1/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/US99/16736**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO00/06165**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>:

**A 61 K 31/4468**

**A 61 P 1/04**

**A 61 P 1/14**

(71) Přihlašovatel:

**SEPRACOR INC., Marlborough, MA, US;**

(72) Původce:

**McCullough John R., Hudson, MA, US;**

**Jerussi Thomas P., Framingham, MA, US;**

(74) Zástupce:

**Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1, 11000;**

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Farmaceutický prostředek**

(57) Anotace:

Jsou popsány prostředky a způsoby, které zahrnují užití opticky čistého (+) isomeru norcisapridu. Tato sloučenina se jeví jako potenciální lék k léčení poruch centrálního nervového systému. (+) norcisaprid se jeví jako potenciální antiemetické činidlo. (+) isomer norcisapridu také ruší nepříznivé vedlejší účinky a nepříznivé lékové interakce. Sloučenina je dále vhodná k léčení dysfunkce gastrointestinální motility, gastroedofageálního refluxu, dyspepsie, gastroparesy, intestinální pseudoobstrukce. Má také prokinetický účinek.

## FARMACEUTICKÝ PROSTŘEDEK

### 1. Oblast techniky

Vynález se týká způsobů a prostředků k léčení poruch centrálního nervového systému („CNS“), zvracení a poruch spojených s dysfunkcí gastrointestinální motility. V jiném hledisku, se vynález týká metabolitů cisapridu a optických isomerů těchto metabolitů.

### 2. Dosavadní stav techniky

#### 2.1 Sterické vztahy a působení léků

Je mnoho organických sloučenin v opticky aktivních formách, tj. majících schopnost otáčení roviny rovinně polarizovaného světla. V popsané opticky aktivní sloučenině, předpony D a L nebo R a S jsou užity k udání absolutní konfigurace molekuly kolem jejích chirálních center. Předpony d a l nebo (+) a (-) jsou k udání znaménka rotace rovinně polarizovaného světla sloučeninou. Označení s (-) nebo l udává, že je sloučenina levotočivá. Předpona (+) nebo d udává, že je sloučenina pravotočivá. Tyto sloučeniny, zvané stereoisomery, jsou pro udanou chemickou strukturu identické, až na to, že jsou navzájem zrcadlové obrazy. Specifické stereoisomery mohou být také nazvané jako enantiomery a směs takovýchto isomerů je často nazývaná enantiomerická nebo racemická směs.

Stereochemická čistota je významná ve farmacii, kde mnoho z většiny popsaných léků, vykazuje chiralitu. Je například možno uvést  $\beta$  adrenergní blokátory, propranolol, kde S-anantiomer je známý 100krát více silnější než R-anantiomer. Ačkoliv síla není pouze záležitostí farmacie.

## 2.2 Oblast farmakologie

U.S. Patent č. 4,962,115, 5,057,525 a 5,137,896 (společně „Van Daele“) popisuje N-(3-hydroxy-4-piperidenyl)benzamidů zahrnující cisaprid. Tyto shora zmíněné sloučeniny jsou ke stimulaci motility trávicího systému. Van Daele udává, že cis a trans diastereomerické racemáty těchto sloučenin mohou být získány odděleně běžnými způsoby a že cis a trans diastereomerické racemáty mohou být dále rozděleny do jejich optických isomerů.

Cisaprid je jeden ze třídy sloučenin známých jako benzamidové deriváty. (viz: Schapira a spol., Acta Gastroenterolog. Belg. LIII: 446-457, 1990). Tyto benzamidové deriváty mají jako skupina několik význačných farmakologických účinků. Význačné farmakologické účinky benzamidových derivátů náleží k jejich účinkům na neuronální systémy, které jsou modulovány neurotransmiterem serotoninem. Úloha serotoninu a tudíž farmakologie benzamidových derivátů, byla široce obsažena v různých stavech po mnoho let (viz Phillis, J.W., „The Pharmacology of Synapses“, Pergamon Press, Monografie 43, 1970; Frazer, A. a spol., Annual Rev. Of Pharmacology and Therapeutics 30: 307-348, 1990). Výzkum je tedy zaměřený na určení produkce a zásobních míst serotoninu, stejně tak jako na umístění receptorů serotoninu v lidském těle za účelem zjištění souvislosti mezi těmito místy a různými chorobami nebo stavy.

V tomto ohledu bylo objeveno, že hlavní místo produkce zásob serotoninu je enterochromafinní buňka gastrointestinální sliznice. Bylo také objeveno, že serotonin má silný stimulační účinek na motilitu střeva, stimulaci hladkého svalstva střeva, urychlením střevní pasáže a snížením doby absorpce, jako u průjmu. Tento stimulační účinek je také spojený s nevolností a zvracením.

Mnoho derivátů benzamidu, je pro svoji modulaci neuronálního systému v trávicím traktu serotoninem, často účinnými antiemetickými činidly a jsou také běžně užívány k potlačení zvracení během nádorové chemoterapie nebo radioterapie, obzvláště pokud jsou užity sloučeniny, které značně vyvolávají zvracení, jako je cisplatina (viz: Costall a spol., Neuropharmacology 26: 1321-1326, 1987). Tento účinek je skoro jistě výsledkem schopnosti sloučenin blokovat činnost serotoninu (5HT) na specifických místech účinku, jako je receptor 5HT<sub>3</sub>, který byl klasicky označen ve vědecké literatuře jako M-receptor serotoninu (viz: Clarke a spol., Trends in Pharmacological Sciences 10: 385-386, 1989). Chemoterapie a radioterapie může navozovat nevolnost a zvracení uvolněním serotoninu z poškozených enterochromafinních buněk v trávicím traktu. Uvolnění neurotransmiteru serotoninu stimuluje jak aferentní vlákna vagu (tudíž zahajuje zvracívý reflex), tak receptory serotoninu v chemorecepční spouštěcí zóně oblasti area postrema v mozku. Anatomická místa pro tuto činnost derivátů benzamidu a zda-li takovou činnost, je centrální nervový systém (CNS), periferní nervový systém nebo jejich kombinace, zůstávají nepoznány (viz: Barnes a spol., J. Pharm. Pharmacol. 40: 586-588, 1988).

Druhý vynikající účinek derivátů benzamidu je zvýšená činnost hladkého svalstva trávicího traktu z jícnu k horní části tenkého střeva, tak urychlující pasáž jícnem a střevem, stejně tak jako usnadňující vyprázdnění žaludku a zvýšení tonu dolního svěrače jícnu (viz: Decktor a spol., Eur.J. Pharmacol. 147: 313-316, 1988). Ačkoliv deriváty benzamidu nejsou samy o sobě agonisty cholinergních receptorů, dříve zmíněné účinky na hladkou svalovinu mohou být blokovány činidly, která blokují muskarinové receptory, jako je atropin nebo inhibitory neuronálních transmiterů, jako je tetrodoxin, který blokuje sodíkové kanály (viz: Fernandez a Massingham, Life Sci. 36:1-

14, 1985). Podobná blokující činnost se může týkat svíravých účinků serotoninu v tenkém střevě ( viz: Craig a Clarke, Brit. J. Pharmacol. 96:str. 247, 1989). Věří se, že primární účinky derivátů benzamidu na hladké svalstvo jsou výsledkem agonistické činnosti na skupinu receptorů serotoninu, označovanou jako receptory 5HT<sub>4</sub>, které jsou umístěné na interneuronech myenterického plexu ve střevní stěně (viz: Clarke a spol., Trends in Pharmacological Sciences 10: 385-386, 1989 a Dumuis a spol., N. S. Arch. Pharmacol. 340: 403-410, 1989). Aktivace těchto receptorů následně zvyšuje uvolňování acetylcholinu ze zakončení parasympatických nervů, které jsou umístěny blízko okolních vláken hladkého svalstva. Je to kombinace acetylcholinu s jeho receptory na membrány hladkého svalstva, která je účinným spouštěcím impulsem pro svalovou kontrakci.

Cisaprid má schopnosti podobné metoclopramidu, až na to, že mu chybí činnost blokující receptor dopaminu (viz: Reyntjens a spol., Curr. Therap. Res. 36: 1045-1046, 1984) a zvyšuje motilitu v tlustém střevě, stejně tak jako v horních částech trávicího traktu (viz: Milo, Curr. Therap. Res. 36: 1053-1062, 1984). Avšak účinky v tlustém střevě, mohou být kompletně blokovány atropinem a mohou představovat, alespoň zčásti, přímý účinek léku ( viz: Schuurkes a spol., J. Pharmacol. Exp. Ther. 234: 775-783, 1985). Užitím pěstovaných neuronů myších embryí a vytvářením cAMP jako konečného bodu pro určení činnosti 5HT<sub>4</sub>, byla koncentrace EC<sub>50</sub> racemického cisapridu  $7 \times 10^{-8}$  M ( viz: Dumuis a spol., N. S. Arch. Pharmacol. 340: 403-410, 1989). Léky této skupiny neovlivňují sekreci žaludeční kyseliny a mají různé účinky na motilitu tlustého střeva ( viz: Reyntjens a spol., Curr. Therap. Res. 36:1045-1046, 1984 a Milo, Curr. Therap. Res. 36: 1053-1062, 1984).

Racemický cisaprid je především užíván k léčení gastroezofageálního refluxu, který je charakterizovaný jako zpětný tok obsahů žaludku do jícnu. Cisaprid je použitelný pouze jako racemická směs opticky čistých isomerů, nazývaných enantiomery, 1:1, tj. směs cis(-) a cis(+) cisapridu, známá jako „Prepulsid™“.

Pozorování, že cisaprid spouští centrální nervový systém a váže se na 5HT<sub>4</sub> receptory, ukazuje, že cisaprid může mít účinky, zprostředkované centrálně. Jak bylo objasněno v Dumuis a spol., N. S. Arch. Pharmacol. 340: 403-410, 1989, je cisaprid silný ligand v 5HT<sub>4</sub> receptorech a tyto receptory jsou umístěny v několika oblastech centrálního nervového systému. Modulace serotonergních systémů může mít různé behaviorální účinky.

Pro svou činnost jako prokinetické činidlo, může být cisaprid také užit k léčbě dyspepsie, gastroparesy, zácpy, pooperačního ileu a intestinální pseudoobstrukce.

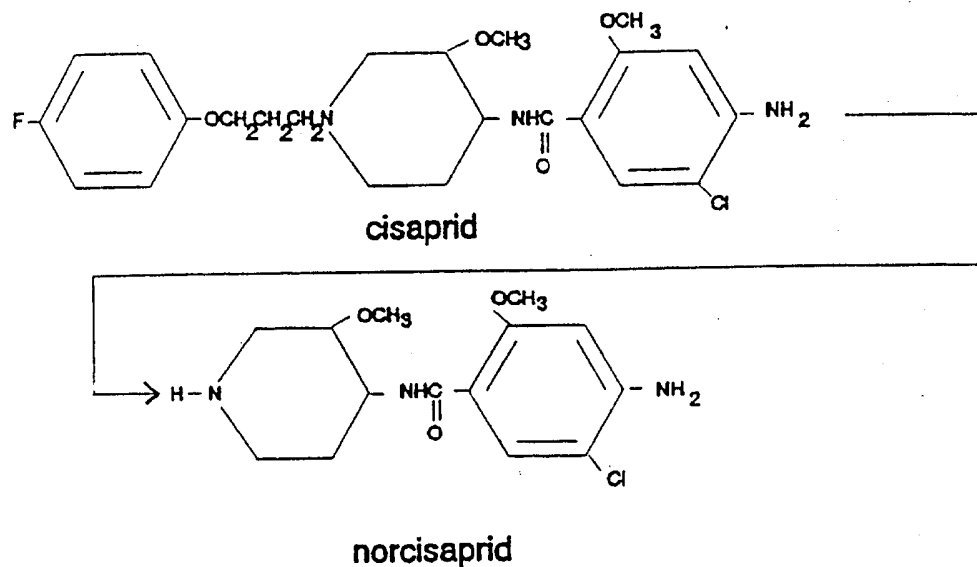
Dyspepsie je stav charakterizovaný snížením výkonu nebo funkce trávení, který může vzniknout jako symptom primární gastrointestinální dysfunkce nebo jako komplikace patřící k jiným poruchám, jako je apendicitis, žlučnickový záchvat nebo malnutrice. Gastroparesa je paralýza, která nastává při motorické abnormalitě žaludku nebo jako komplikace nemoci jako je diabetes, progresivní systémová sklerosa, anorexia nervosa nebo myotonická dystrofie. Zácpa je stav charakterizovaný málo častým nebo obtížným vyprazdňováním stolice, vyplývající ze stavů jako je nedostatek tonu střevní svaloviny nebo střevní křeče. Pooperační ileus je neprůchodnost střeva, která je způsobená přerušením svalového tonu po operaci. Intestinální pseudoobstrukce je stav charakterizovaný zácpou, kolikovitými bolestmi a zvracením, ale bez zřejmé fyzické obstrukce.

Společné podávání racemického cisapridu s dalšími terapeutickými činidly, je příčinou inhibičních problémů metabolismu cisapridu v játrech. Například, ketonazol, má výrazný účinek na kinetiku cisapridu, vyplývající z inhibice metabolické eliminace cisapridu a vede k osmi násobnému zvýšení ustáleného stavu plasmatických hladin. ( Viz: Lavrijsen, K., a spol. „ The Role of CYP3A4 in the In-vitro Metabolism of cisapride in the Human Liver Microsomes an In-vitro and In-vivo Interactions of Cisapride with Co-administered Drugs, „Department of Pharmacokinetics and Drug Metabolism, Janssen Research Foundation, Beerse, Belgium). Vzájemné působení racemického cisapridu a jiných léčebných činidel může také zesilovat vedlejší kardiovaskulární účinky, jako je kardiotoxicita. Toto zesílení se vyskytuje, pokud jiné účinné látky, které jsou přítomné v pacientově systému, interferují s metabolismem racemického cisapridu, tudíž vytvářejí racemický cisaprid v těle. Tyto interakce jsou význačnou nevýhodou k užití racemického cisapridu; zejména, protože racemický cisaprid je často užíván před, během nebo ihned po jiném terapeutickém činidlu.

Kromě toho, podávání cisapridu člověku, způsobuje nepříznivé účinky, které zahrnují tachykardii, účinky na centrální nervový systém („CNS“), zvýšení systolického tlaku, interakce s jinými léky, průjem, abdominální křeče a kardiální depresi. Dále bylo objeveno, že intravenosní podávání racemického cisapridu, demonstruje výskyt vedlejších nepříznivých účinků, který není pozorován po orálním podávání racemického cisapridu. (Viz: Stacher a spol. Digestive Diseases and Sciences 32(11):1223-1230 (1987)).

Cisaprid je skoro kompletně vstřebán po orálním podání člověku, ale biologická využitelnost základní sloučeniny je pouze 40-50%, během prvního rychlého průchodu metabolismem

v játrech (Viz: Van Peer a spol., in Progress in the Treatment of Gastrointestinal Motility Disorders: The Role of Cisapride. Proceedings of Symposium in Frankfurt. Listopad 1986. Johnson A. G. a Lux, G. Editoři, Excerpta Medica, Amsterdam, str. 23-29 (1988)). Více než 90% dávky cisapridu je metabolizováno hlavně oxidační N-dealkylací piperidinového dusíku nebo aromatickou hydroxylací, probíhající buď na 4- fluorofenoxylovém kruhu nebo na benzamidovém kruhu. Je malá část piperidinybenzamidů z metabolizovaného cisapridu, která je identifikována jako norcisaprid. (Viz: Meuldermans, W. a spol., Drug Metab. Dispos. 16(3): 410-419, 1988 a Meuldermans, W. a spol., Drug Metab. Dispos. 16(3): 403-409, 1988). Věří se, že metabolismus cisapridu na norcisaprid probíhá následovně:



Norcisaprid je hlavní močový metabolit, který obsahuje 50-80% účinné látky, zjištěné v moči člověka za 72 hodin po podání dávky. (Viz: Meuldermans, W. a spol., Drug Metab. Dispos. 16(3): 410-419, 1988). Krátké trvání účinku, jak vidíme u cisapridu, může být často spojováno s proměnlivými farmakologickými účinky, následujícími po orálním podávání sloučenin.

Bylo by zejména potřeba nalézt sloučeninu s přednostmi cisapridu, která nebude mít výše zmíněné nedostatky.

### 3. Podstata vynálezu

Předkládaný vynález se týká nových prostředků, které obsahují opticky čistý (+) norcisaprid a které jsou prospěšné pro léčení poruch CNS. Dále bylo zjištěno, že takovéto léčení může být uskutečněno, pokud podstatně snižuje nepříznivé účinky, spojené s podáváním racemického cisapridu, které zahrnují, ale nelimitují, průjem, abdominální křeče, kardiální depresi a zvýšení krevního tlaku a srdeční frekvence.

Dále bylo zjištěno, že opticky čistý (+) norcisaprid je účinné antiemetické činidlo, užívané jako podpůrná terapie ke zmírnění nevolnosti a zvracení, navozené chemoterapií nebo radioterapií, při nádorové léčbě. Kromě toho, opticky čistý (+) norcisaprid může být užit k léčbě zvracení, pokud podstatně snižuje výše popsané nepříznivé účinky, spojené s podáváním racemického cisapridu.

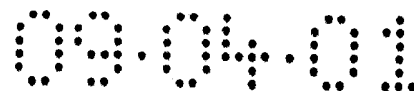
Dále bylo zjištěno, že tyto nové prostředky, obsahující opticky čistý (+) norcisaprid, jsou prospěšné pro léčení gastroesofageálního refluxu a dalších stavů, které se mohou týkat činnosti (+) norcisapridu jako prokinetického činidla, například, dyspepsie, gastroparesy, zácpy, pooperačního ileu a

intestinální pseudoobstrukce. Kromě toho, opticky čistý (+) norcisaprid může být užit k léčení stavů, které podstatně snižují výše popsané nepříznivé účinky, spojené s podáváním racemického cisapridu.

Předkládaný vynález tedy zahrnuje způsoby pro léčení výše popsaných stavů u člověka, podáváním opticky čistého (+) norcisapridu zmíněnému člověku. Předkládaný vynález také zahrnuje způsoby a prostředky, které demonstrují zdokonalenou biologickou využitelnost oproti racemickému cisapridu, bez ohledu na způsob podávání. Dále ještě, předkládaný vynález zahrnuje způsoby a prostředky pro léčení chorobných stavů u člověka, které mají neočekávaný užitek a to, být schopné podávání obojího, opticky čistého (+) norcisapridu a dalšího terapeutického činidla, bez inhibičních účinků, obecně spojovaných se společným podáváním cisapridu a dalšího terapeutického činidla, například, bez nepříznivých lékových interakcí.

Užití opticky čistého (+) norcisapridu se jeví lepším, v porovnání s racemickým norcisapridem, v léčení výše zmíněných chorobných stavů.

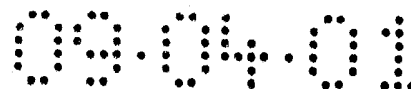
Tento vynález se zabývá novými prostředky, které obsahují opticky čistý (+) norcisaprid. Tyto prostředky jsou účinné v léčení zvracení. Kromě toho tyto nové prostředky, které obsahují opticky čistý (+) norcisaprid, mohou být užity k léčení dalších stavů, které se mohou týkat činnosti (+) norcisapridu jako prokinetického činidla. Tyto stavy zahrnují, ale nejsou limitovány, dyspepsii, gastroparesu, zácpu a intestinální pseudoobstrukci. Dále ještě, opticky čistý (+) norcisaprid může být užit k léčení těchto stavů, pokud snižuje nepříznivé vedlejší účinky, spojené s podáváním racemického cisapridu.



Předkládaný vynález dále obsahuje užití (+) norcisapridu, v podstatě prostého jeho (-) isomeru, k léčení poruch centrálního nervového systému („CNS“), které například zahrnují, ale nejsou limitovány, depresi, mánii, bipolární afektivní poruchu, úzkost, panickou poruchu. Jsou také zjištěny způsoby pro léčení výše popsaných stavů u člověka podáváním (+) isomeru norcisapridu, v podstatě prostého jeho (-) isomeru, člověku, při potřebě takovéto léčby, pokud tyto způsoby podstatně snižují vedlejší nepříznivé účinky, které jsou spojené s cisapridem. Tyto účinky zahrnují, ale nejsou limitovány, průjem, abdominální křeče, kardiální depresi, zvýšení krevního tlaku a zrychlení srdeční frekvence. Mimo to, opticky čistý (+) norcisaprid, může být užit, podle vynálezu, k léčení poruch CNS, pokud podstatně ruší nebo snižuje vedlejší nepříznivé účinky, spojené s léky užívanými k léčení poruch CNS, například s takovými jako jsou benzodiazepiny. Dále jsou zjištěny způsoby léčení různých chorobných stavů u člověka společným podáváním opticky čistého (+) norcisapridu a dalšího terapeutického činidla, pokud neočekávaně ruší nepříznivé vedlejší účinky spojené s podáváním cisapridu a terapeutického činidla.

Aktivní sloučeninou těchto prostředků a způsobů je opticky čistý isomer metabolického derivátu cisapridu, tento metabolický derivát je popsán v Meuldermans, W. a spol., Drug Metab. Dispos. 16(3): 410-419, 1988 a Meuldermans, W. a spol., Drug Metab. Dispos. 16(3): 403-409, 1988.

Aktivní sloučenina předkládaných zjištěných prostředků a způsobů je chemicky (+) isomer metabolického derivátu cis-4-amino-5-chloro-N-(1-(3-(4-fluorofenoxy)propyl)-3-methoxy-4-piperidinyl)-2-methoxybenzamid (zde označovaný jako „cisaprid“), známý jako 4-amino-5-chloro-N-(3-methoxy-4-piperidinyl)-2-methoxybenzamid, zde označovaný jako „(+)



norcisaprid". Výraz „ (+) isomer norcisapridu“ a zejména výraz „ (+) norcisaprid“ zahrnuje opticky čistý a v podstatě čistý (+) norcisaprid. Podobně, jak zde užito, výrazy „racemický cisaprid“, „racemický norcisaprid“ nebo „ racemická směs cisapridu“ nebo „racemická směs norcisapridu“ se týkají cis diastereomerických racemátů.

Předkládaný vynález obsahuje způsob léčení poruch CNS u člověka a způsoby léčení poruch CNS u člověka, které zahrnují podávání terapeuticky účinného množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, v podstatě prostých jeho (-) stereoisomeru, člověku, při potřebě takového léčení; pokud tyto způsoby podstatně snižují původní náchylnost k nepříznivým účinkům, spojených s podáváním racemického cisapridu. (+) norcisaprid může být zejména užit k léčení různých poruch CNS, které zahrnují, ale nejsou limitovány: (1) poznávací poruchy, jako je Alzheimerova choroba, senilní demence; (2) behaviorální poruchy jako je schizofrenie, mánie, obsesivně nutková porucha a poruchy z používání psychoaktivních látek; (3) náladové poruchy jako je deprese, bipolární afektivní porucha, úzkostné a panické poruchy; (4) poruchy řízení autonomní funkce, jako je hypertenze a poruchy spánku; a (5) neuropsychiatrické poruchy, jako je syndrom Gillesův de la Tourettův a Huntingtonova nemoc. Tyto a další příbuzné poruchy jsou dobře známe v oboru, tudíž bude jasné odborníkům, založeno na tomto objevu, které další příbuzné poruchy mohou být léčeny (+) norcisapridem v souladu s tímto vynálezem.

Ve výhodném provedení, je (+) norcisaprid užit k léčení náladových poruch, jako je deprese, bipolární afektivní porucha, úzkostná a panická porucha a behaviorální poruchy, jako je schizofrenie, mánie a více výhodně náladové poruchy.

Předkládaný vynález také obsahuje farmaceutický prostředek k léčení člověka trpícího poruchou CNS. Tento

prostředek obsahuje terapeuticky účinné množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, v podstatě prosté jeho (-) stereoisomeru.

Mimo to, předkládaný vynález obsahuje antiemetický prostředek k léčení člověka, při potřebě antiemetické terapie. Tento prostředek obsahuje (+) norcisaprid nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl, v podstatě prosté jeho (-) stereoisomeru.

V dalším hledisku, předkládaný vynález zahrnuje způsob léčení stavu u člověka, způsobeného dysfunkcí gastrointestinální motility. Tento způsob zahrnuje podávání terapeuticky účinného množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, v podstatě prostých jeho (-) stereoisomeru člověku, při potřebě léčení dysfunkce gastrointestinální motility. Stavy,, způsobené dysfunkcí gastrointestinální motility u člověka zahrnují, ale nejsou limitovány, gastroesofageální reflux, dyspepsii, gastroparesu, zácpu, pooperační ileus a intestinální pseudoobstrukci.

Předkládaný vynález dále ještě zahrnuje farmaceutický prostředek, který obsahuje (+) norcisaprid, nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl, v podstatě prosté jeho (-) stereoisomeru a je určený k léčení stavu, způsobeného dysfunkcí gastrointestinální motility u člověka.

Tyto nové prostředky mohou být dále užity k léčení různých poruch, popsanych výše, pokud podstatně snižují nepříznivé vedlejší účinky způsobené podáváním racemického cisapridu. Tyto nové prostředky mohou popřípadě obsahovat farmaceuticky přijatelný nosič, pomocnou látku nebo jejich kombinace, jak popsáno níže.

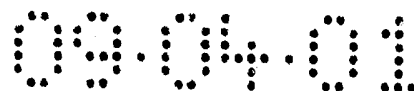
Zvýšená biologická využitelnost umožňuje více účinný farmakodynamický profil než racemický cisaprid nebo racemický norcisaprid a více účinné ovlivnění léčených poruch. Například, více účinné ovlivnění poruch může být dosaženo podáváním (+) norcisapridu, jelikož může být redukována frekvence dávkování. To bude usnadňovat, například léčbu během noci, kdy pacient spí. Podobně, může být nižší frekvence dávkování prospěšná, pokud je (+) norcisaprid užit profylakticky nebo jako léčba zvracení u pacientů s rakovinou.

Vynález také zahrnuje snížení kardiovaskulárních vedlejších účinků, které jsou potencovány společným podáváním cisapridu s dalším terapeutickým činidlem. Mohou to být interakce mezi cisapridem a jinými terapeutickými činidly. Například, terapeutika, která interferují s metabolismem racemického cisapridu, jsou příčinou vytváření cisapridu v těle. Toto vytváření může způsobovat nebo zesilovat nepříznivé kardiovaskulární účinky, známé ve spojení s racemickým cisapridem, jako je kardiotoxicita. Tedy, přítomnost těchto terapeutik, buď při společném podávání nebo postupném podávání před nebo po racemickém cisapridu, může způsobovat nebo zesilovat nepříznivé účinky racemického cisapridu. Užití (+) norcisapridu může neočekávaně vést ke snížení nepříznivých vedlejších účinků. Věřící se, že (+) norcisaprid snižuje obojí, nepříznivé lékové interakce, které se vyskytují s racemickým norcisapridem, tudíž nepřímo snižuje nepříznivé vedlejší účinky stejně tak jako snižuje nepříznivé vedlejší účinky samotného racemického cisapridu. (+) norcisaprid může být tedy společně podáván s léky jako ketonazol, známým činidlem k inhibici systému cytochromů P 450, který je zodpovědný za metabolismus cisapridu. S uvedenými léky může být (+) norcisaprid společně podáván bez způsobení nebo zvýšení nepříznivých kardiovaskulárních účinků racemického cisapridu.

Předkládaný vynález tedy obsahuje způsoby pro léčení výše popsaných chorob u člověka. Tyto způsoby zahrnují podávání (a) terapeuticky účinného množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, v podstatě prostých jeho (-) stereoisomeru; a (b) dalšího terapeutického činidla člověku. Inhibiční problémy společného podávání, spojené s podáváním cisapridu a dalšího terapeutického činidla, mohou být překonány podáváním opticky čistého (+) norcisapridu ve spojení s dalším terapeutickým činidlem. Lékař se tudíž nebude zajímat o kardiotoxické vedlejší účinky racemického cisapridu, pokud bude podáván (+) norcisaprid s další účinnou látkou.

Mohou být užita další terapeutická činidla ve spojení s léčením (+) norcisapridem nebo pokud mohou být podávána během léčení s (+) norcisapridem, která zahrnují, ale nejsou limitována, antifungální, antivirová, antibakteriální, antitumorosní nebo antihistaminová činidla nebo selektivní inhibitory příjmu serotoninu. Příklady antifungálních činidel zahrnují, ale nejsou limitovány, ketoconazol, itraconazol a amfotericin B. Příklady antibakteriálních činidel zahrnují, ale nejsou limitovány, temafloxicin, lomefloxacin, cefadroxil a erythromycin. Příklady antivirových činidel zahrnují, ale nejsou limitovány, ribavirin, rifampicin, AZT, DDI, acyklovir a gincaciklovir. Příklady antitumorosních činidel zahrnují, ale nejsou limitovány, doxorubicin a cisplatinu. Další činidla, která mohou být podávána společně s (+) norcisapridem zahrnují, ale nejsou limitována, digoxin, diazepam, etanol, acenokumarol, fluoxetin, ranitidin, paracetamol, terfenadin, astemizol, propranolol a další známá činidla k inhibici systému cytochrómů P450.

Využití v podstatě opticky čistého nebo opticky čistého isomeru (+) norcisapridu má za následek čistší dávku, která se týká stanovení účinnosti, snížených nepříznivých účinků a tudíž

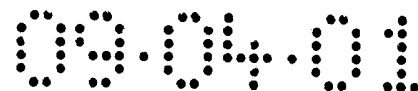


zlepšení terapeutického indexu. Takovéto využití také umožňuje léčení různých chorobných stavů u člověka obojím, opticky čistým (+) norcisapridem a dalším terapeutickým činidlem.

Výraz „nepříznivé účinky“ zahrnuje, ale není limitován, gastrointestinální poruchy jako je průjem, abdominální křeče a abdominální škroutání; únavu, bolest hlavy, kardiální depresi, zvýšení systolického tlaku, zrychlení srdeční frekvence, neurologické účinky a účinky na CNS, a nepříznivé účinky, které jsou výsledkem interakce cisapridu s dalšími účinnými látkami, které inhibují metabolismus cisapridu systémem cytochrómů P450. Tyto další účinné látky zahrnují, ale nejsou limitovány, ketoconazol, digoxin, diazepam, etanol, acenokumarol, cimetidin, ranitidin, paracetamol, fluoxetin, terfenadin, astemizol a propranolol.

Výrazem „v podstatě prostý jeho (-) stereoisomeru“, jak zde užito, se míní prostředky, které obsahují nejméně 90% hmotnostních (+) norcisapridu a kolem 10% hmotnostních nebo méně (-) norcisapridu. Ve více výhodném provedení, se výrazem „v podstatě prostý jeho (-) stereoisomeru“ míní prostředek, který obsahuje nejméně kolem 95% hmotnostních (+) norcisapridu a kolem 5% hmotnostních nebo méně (-) norcisapridu. V nejvíce výhodném provedení výrazem „v podstatě prostý jeho (-) stereoisomeru“, jak zde užito, se míní prostředek, který obsahuje 99% hmotnostních (+) norcisapridu. Tato procenta jsou založená na celkovém množství norcisapridu v prostředku. Výrazy „v podstatě čistý (+) isomer norcisapridu“ nebo „v podstatě opticky čistý (+) norcisaprid“ a „opticky čistý (+) isomer norcisapridu“ a „opticky čistý (+) norcisaprid“ jsou obsaženy ve výše popsaných množstvích.

Výrazy „vyvolávající antiemetický účinek“ a „antiemetická terapie“, jak zde užito, se míní poskytnutí úlevy od symptomů nevolnosti a zvracení, navozených spontánně nebo ve spojení



s chemoterapií a radioterapií rakoviny, která navozuje zvracení. Dále se těmito výrazy míní prevence výše zmíněných symptomů.

Výrazem „léčení stavů způsobených dysfunkcí gastrointestinální motility“, jak zde užito, se míní léčení symptomů a stavů spojených s poruchami, které zahrnují, ale nejsou limitovány, gastroezofageální reflux, dyspepsii, gastroparesu, zácpu, pooperační ileus a intestinální pseudoobstrukci.

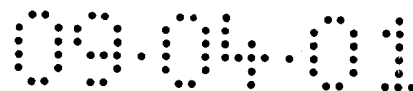
Výrazem „prokinetický“, jak zde užito, se míní zvýšení peristaltiky a tedy pohybu trávicího traktu.

Výrazem „gastroezofageální reflux“, jak zde užito, se míní stav, charakterizovaný zpětným tokem obsahů žaludku do jícnu.

Výrazem „dyspepsie“, jak zde užito, se míní stav, charakterizovaný porušením výkonu nebo funkce trávení, který může vzniknout jako symptom primární gastrointestinální dysfunkce nebo jako komplikace během jiných onemocnění jako je apendicitis, žlučnickový záchvat nebo malnutrice.

Výrazem „gastroparesa“, jak zde užito, se míní paralýza žaludku, která nastává při motorické abnormalitě žaludku nebo jako komplikace onemocnění jako je cukrovka, progresivní systémová sklerosa, anorexia nervosa nebo myotonní dystrofie.

Výrazem „zácpa“, jak zde užito, se míní stav, charakterizovaný málo častou defekací nebo obtížným vyprazdňováním stolice. Tento stav vyplývá ze stavů jako je nedostatek tonu střevní svaloviny nebo střevní křeče.



Výrazem „pooperační ileus“, jak zde užito, se míní střevní obstrukce při porušení svalového tonu, která je následkem chirurgického výkonu.

Výrazem „intestinální pseudoobstrukce“, jak zde užito, se míní stav, charakterizovaný zácpou, kolikovitými bolestmi a zvracením, ale bez zřejmé fyzikální obstrukce.

Výrazem „společné podávání“, jak zde užito, se míní podávání dvou terapeutických činidel buď současně, společně nebo postupně bez určitých časových limitů tak, že obě činidla jsou přítomná v těle ve stejném čase.

Racemická směs cisapridu může být syntetizována způsobem, popsáným v Evropské patentové přihlášce č. 0,076,530 A2, vydané 13. dubna, 1983, v U.S. Patentu č. 4,962,115, 5,057,525 a 5,137,896 a ve Van Daele a spol., Drug Development Res. 8: 225-232 (1986). Metabolismus cisapridu na norcisaprid je popsán v Meuldermans, W. a spol., Drug Metab. Dispos 16(3): 410-419, 1988 a Meuldermans, W. a spol., Drug. Metab. Dispos. 16(3): 403-409, 1988. Norcisaprid může být syntetizován ze známých komerčně dostupných výchozích látek, v souladu se standardními postupy organické chemie. Někteří odborníci mohou syntetizovat cisaprid nebo norcisaprid postupy dle EP 0,076,530 A2 a U.S. Patent č. 5,137,896, Van Daele.

(+) isomer norcisapridu může být získán z jeho racemické směsi rozdělením enantiomerů užitím běžných způsobů, tak jako z opticky aktivní dělicí kyseliny. Viz., například, „Enantiomers, Racemates and Resolutions, J. Jacques, A. Collet a S. H. Wilen, (Wiley-Interscience, New York, 1981); S. H. Wilen, A. Collet a J. Jacques, Tetrahedron, 33, 2725 (1977); a „Stereochemistry of Carbon Compounds, E. L. Eliel (McGraw-Hill, NY, 1962) a S. H. Wilen, str. 268, v „Tables of Resolving



Agents and Optical Resolutions" (E. L. Eliel, vydavatel Univ. Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

Velikost profylaktické nebo terapeutické dávky (+) norcisapridu v akutním nebo chronickém ovlivnění onemocnění a/nebo poruch zde popsaných se bude měnit se závažností stavu, který má být léčen, a se způsobem podání. Dávka a dokonce i frekvence dávek, bude také různá podle věku, tělesné hmotnosti a individuální reakce pacienta. Odborníky mohou být snadno vybrány vhodné dávkovací režimy se správným uvážením těchto faktorů. Obyčejně, celkové denní dávkovací rozmezí (+) norcisapridu, pro stavy zde popsané, bude od kolem 0.5 mg až kolem 500 mg v jediné nebo v rozdělených dávkách. Výhodně, bude denní dávkovací rozmezí mezi kolem 1 mg až kolem 250 mg v jediné dávce nebo v rozdělených dávkách. Avšak nejvíce výhodně, bude denní dávkovací rozmezí mezi kolem 5 mg až kolem 100 mg v jediné dávce nebo v rozdělených dávkách. Je výhodné, pokud jsou dávky podávány 1krát až 4krát denně.

V zacházení s pacientem, může být léčba zahájena nižší dávkou, třeba kolem 5mg až kolem 10 mg, a zvýšení nad 50 mg nebo výše, bude záviset na pacientově celkové reakci. Dále je doporučeno, aby děti a pacienti nad 65 let a pacienti s porušenou funkcí jater nebo ledvin, nejprve dostali nízké dávky a aby byla provedena titrace ke zjištění individuální reakce (reakcí) a krevní hladiny (hladin). V některých případech může být nezbytné užití dávek vně tohoto rozmezí, jak bude zřejmé odborníkům. Dále je zřejmé, že klinik nebo ošetřující lékař bude vědět, jak a kdy přerušit, přizpůsobit nebo ukončit léčbu ve spojení s individuální reakcí pacienta.

K poskytnutí účinné dávky norcisapridu pacientovi, mohou být užity některé vhodné způsoby podávání. Například, orální, rektální, parenterální ( subkutánní, intramuskulární, intravenosní), transdermální a podobné formy podávání mohou být



použity. Dávkovací formy zahrnují tablety, pastilky, disperse, suspence, roztoky, kapsle, měkké elastické želatinové kapsle, náplasti a podobně.

Farmaceutické prostředky, podle vynálezu, zahrnují jako aktivní složku (+) norcisaprid nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl, a mohou také obsahovat farmaceuticky přijatelný nosič a popřípadě další terapeutické složky.

Výraz „farmaceuticky přijatelné soli“ nebo „jeho farmaceuticky přijatelná sůl“ se týká solí připravených z farmaceuticky přijatelných netoxických kyselin a zásad nebo organických kyselin a zásad. Jelikož sloučenina, podle vynálezu, je zásaditá, mohou být soli připraveny z farmaceuticky přijatelných netoxických kyselin. Vhodné farmaceuticky přijatelné adiční soli s kyselinami pro sloučeninu, podle vynálezu, zahrnují sůl kyseliny octové, benzensulfonové (besylát), benzoové, kafrosulfonové, citronové, etensulfonové, fumorové, glukonové, glutámové, bromovodíkové, chlorovodíkové, isethionové, mléčné, maleiové, jablečné, mandlové, metansulfonové, slizové, dusičné, pamoové, pantothenové, fosforečné, jantarové, sírové, vinné, p-toluensulfonové a podobně. Výhodnými adičními solemi s kyselinami jsou chloridy a sulfáty. V nejvíce výhodném provedení je (+) norcisaprid podáván jako volná base.

Prostředky, podle vynálezu, zahrnují prostředky jako jsou suspence, roztoky a elixíry; aerosoly; nebo nosiče jako jsou škroby, cukry, mikrokrystalická celulóza, ředidla, granulační činidla, lubrikanty, pojiva, desintegrační činidla a podobně. V případě orálních pevných přípravků (jako jsou prášky, kapsle a tablety) budou pevné orální přípravky preferovány před kapalnými přípravky. Výhodným orálním pevným přípravkem jsou kapsle. Nejvíce výhodným orálním pevným přípravkem jsou tablety.

Vhodné farmaceutické prostředky, podle vynálezu, pro orální podávání, mohou být přítomny jako oddělené farmaceutické dávkovací formy, jako jsou kapsle, oplatky, měkké želatinové kapsle nebo tablety, nebo aerosolové spreje. Všechny tyto formy obsahují předem stanovené množství aktivní složky, jako je prášek nebo granule, nebo jako je roztok nebo suspence ve vodné kapalině, nevodné kapalině, emulze oleje ve vodě nebo kapalná emulze vody v oleji. Tyto prostředky mohou být připraveny některým z farmaceutických způsobů, ale všechny způsoby zahrnují krok přivádění ke spojení aktivní složky s nosičem, který tvoří jednu nebo více potřebných složek. Prostředky jsou zejména připravovány rovnoměrným a dokonalým promícháním aktivní složky s kapalným nosičem nebo jemně rozptýlenými pevnými nosiči nebo obojím a potom, pokud je to nezbytné, se produkt tvaruje do žádané formy.

Například, tablety mohou být připraveny stlačením nebo odléváním, popřípadě s jednou nebo s více přídavnými složkami. Stlačené tablety mohou být připraveny stlačením aktivní složky do volně rozptýlených forem, jako jsou prášky nebo granula, ve vhodném přístroji, popřípadě mohou být míchány s pojivem, lubrikantem, inertním ředidlem, povrchově aktivním nebo dispergujícím prostředkem. Odlévané tablety mohou být připraveny mletím směsi práškové složky, zvlhčené inertním kapalným ředidlem, ve vhodném přístroji. Je žádoucí, aby každá dávkovací forma, jako je tableta nebo měkká želatinová kapsle, obsahovala od kolem 0,5 mg až kolem 250 mg aktivní složky, výhodně od kolem 1 mg až kolem 100 mg aktivní složky a více výhodně od kolem 5 mg až kolem 50 mg aktivní složky. Tableta, oplatka nebo kapsle může obsahovat jednu nebo několik dávek, například, kolem 5 mg, kolem 10 mg nebo kolem 25 mg aktivní složky.

Tablety a kapsle, pro jejich snadné podávání, představují nejvíce výhodné orální dávkovací formy, v tomto případě jsou použity pevné farmaceutické nosiče. Pokud je to žádáno, mohou být tablety povlečeny standardními vodnými nebo nevodnými technikami a mohou být formulovány pro řízené uvolňování užitím technik, které jsou dobře známé odborníkům (viz, například, Ebert, Pharm. Tech., 1(5):44-50 (1977)). Měkké elastické želatinové kapsle mají měkký kulovitý želatinový obal trochu silnější než tvrdé želatinové kapsle, kde je želatina změkčována přidáním glycerinu, sorbitolu nebo podobných polyolů. Tvrdost obalu kapsle může být změněna obměnou typu želatiny a obměnou množství změkčovadla a vody. Měkké želatinové obaly mohou obsahovat konzervační prostředky, jako jsou metylparabeny, propylparabeny a kyselina sorbová, k prevenci růstu plísní. Aktivní složka může být rozpuštěna nebo rozptýlena v kapalném nosném prostředí nebo nosiči, jako jsou rostlinné nebo minerální oleje, glykoly jako je polyetylglykol a propylenglykol, surfaktanty jako jsou polysorbáty nebo jejich kombinace.

Kromě běžných dávkovacích forem, vytyčených výše, mohou být sloučeniny, podle vynálezu, také podávány řízeným uvolňováním prostředků a/nebo přívodními prostředky, jak popsáno v U.S. Patent č. 3,845,770; 3, 916,899; 3,536,809; 3,598,123; a 4,008,719.

Vynález je dále objasněn pomocí následujících příkladů, popisujících detailně přípravu sloučenin a prostředků, podle vynálezu, stejně tak jako jejich využití. Odborníkům bude zřejmé, že může být upotřebeno mnoho modifikací látek a způsobů bez odchýlení se od cíle a zájmu vynálezu.

## 5. Příklady provedení vynálezu

### 5.1. Příklad 1

#### Antiemetické účinky

Relativní účinky opticky čistého racemického cisapridu a norcisapridu jako antiemetického činidla, jsou zjištěny farmakologickou studií u fretek. Hodnocení těchto sloučenin je založené na jejich relativním účinku v testu pro měření antiemese.

Samci fretek (kastrovaní, o hmotnosti 1.0-2.0 kg) byli nakoupeni z Triple F farem (Sayre, PA). Byli umístěni po čtyřech do klece s 12ti hodinovým světelným cyklem a krmeni podle chuti krmivem Ralston Purina Cat Chow. Každá fretka byla k pokusu užita nakrmená po minimálně 24 hodinové době aklimatizace za příznivých podmínek pro zvířata.

*Příprava fretky.* Každá fretka byla anestetizována se směsí 5% isofluranu a O<sub>2</sub> při uložení po dobu 2-5 minut v anestetické komoře. Anestetický plyn byl odsán odsávací hadicí ve vakuu. Zvířata byla vyjmuta a zvážena. Zatímco bylo zvíře udržováno pod anestesíí užitím malé nosní masky přívodem 5% isofluranu a O<sub>2</sub>, byly mu do žíly (cephalica) na hřbetu přední tlapy vpraveny injekce zkoumané sloučeniny nebo nosného prostředí za použití manžety a 1 ml tuberkulinové stříkačky s 25 G jehlou. Každá přední tlapa byla pro snadnější určení polohy žíly oholena. Doba zotavení, pokud se týká anestesie, byla 5-8 minut.

*Příprava léku.* Morfinsulfát (15mg/kg) byl získán běžným způsobem a před každou zkouškou zředěn na 1mg/ml ve fyziologickém roztoku chloridu sodného. Byl zvážen sypný prášek cisplatiny a rozpuštěn ve fyziologickém roztoku chloridu sodného, zahřátého na 75°C, ke zhotovení roztoku 5mg/ml (90 mg bylo umístěno ve scintilační lahvičce a doplněno na 18 ml

fysiologického roztoku chloridu sodného). Roztok byl míchán míchadlem a udržován v inkubátoru při 40°C až do podání injekce. Roztok byl čirý, světle žluté barvy. Zkoumaná sloučenina, pokud byla ve vodě rozpustná, byla rozpuštěna ve fysiologickém roztoku chloridu sodného při teplotě místnosti (10 mg base/10 ml) k přípravě 1mg/ml roztoku jako base. Pro dávky 3.0-10.0 mg/kg byl připraven roztok 5 mg/ml. Pro dávky 0.001 mg/kg byl připraven roztok 0.01 mg/ml.

*Pokus. Model zvracející po morfinu:* Pokus se skládá z dávkování zkoumané sloučeniny pěti fretkám a jedné fretce s podáváním nosného prostředí (tj. fysiologického roztoku chloridu sodného), jako kontroly. Zkoumaná sloučenina nebo fysiologický roztok chloridu sodného (0,5 ml) byla vstříknuta i. v. v čase nula. O pět minut později byl morfinsulfát 0,3 mg/kg podán s.c. do oblasti zátylku. Po 30ti minutách po morfinové injekci byla zaznamenána pozorování.

*Cisplatinový model:* Cisplatina 10mg/kg byla vstříknuta i. v. každé anestetizované fretce v čase nula. O 30 minut později byl skupině šesti fretek vstříknut fysiologický roztok chloridu sodného (0,5 ml) nebo zkoumaná sloučenina (C=1, zkouška=5). Pozorování byla zaznamenána po čtyřech hodinách.

Počáteční dávka zkoumané sloučeniny byla u obou pokusů 1 mg/kg. Dávkování byla zvýšena nebo snížena po přírůstcích jedna polovina log. Pokus byl proveden ke zkoušce nejméně tři dávek tak, že procento snížení zvracení po morfinu nebo cisplatině bylo 70% nebo více v případě první dávky, přibližně 50% v případě druhé dávky a méně než 50% v případě třetí dávky. Tyto tři dávky a účinky byly užity k vytvoření hodnoty ED 50.

*Pokusné sledování a sběr údajů.* Klece pro šest fretek, byly upraveny dveřmi z plexiskla a zdvihacími dny pro snazší pozorování a fretky byly umístěny do klecí individuálně.

Množství zvracivých epizod a dávení a doby, ve kterých k nim došlo, byly zaznamenány v průběhu 30ti minut po počáteční době, kdy byla podána injekce zkoumaného léku (morfinový model). Množství zvracivých epizod a dávení a doby, při kterých k nim došlo, byly zaznamenány v průběhu čtyř hodin po počáteční době, ve které byla podána injekce cisplatinu (cisplatinový model). Zvracivá epizoda byla definována jako vyprázdnění pevných látek nebo kapaliny nebo jako dávení, mající za následek otevření úst bez vyprázdnění obsahu žaludku. Dávení byla definována jako rytmické pohyby svalů hrudního koše. Souhrn zvracivých epizod a dávení byl průměrně stanoven pro každou skupinu pěti fretok a účinek léčení byl vypočítán jako procento snížení zvracivých epizod ve srovnání s kontrolními hodnotami podle vzorce:

#epizody (fys.roztok chloridu sodného.) - #epizody(lék) X 100

#epizody (fysiologický roztok chloridu sodného)

K vytvoření hodnoty ED 50 byla užitá průměrná ochrana v %, při použití analýzy probitů a RS-1 statistického balíčku.

## 5.2. Příklad 2

### Biologická dostupnost

Jednotlivá dávka testované látky nebo nosného prostředí se podá samcům malých honičích psů buď intravenosně jako bolus po jednu minutu při použití injekční jehly s křídélkem č. 23 do vena saphena nebo se podá jako jednotlivá dávka pomocí orální sondy. Od každého psa se před pokusem odeberou 2 ml plné krve a dále pak v intervalech 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 9, 12 a 24 hod. po intravenosním nebo orálním podání optických isomerů nebo racemické směsi cisapridu nebo norcisapridu. Před podáním testované látky jsou psi umístěni na utaženém řemenu a po odběru krevních vzorků v intervalu 0.083 hod. se převedou do

metabolických klecí. Všechny krevní vzorky se sbírají cévním katétrem, umístěným na začátku pokusu ve vena cephalica.

Krev je nabírána do 3 ml stříkačky. Prvních 1.0-2.0 ml krve se odloží. Další 2.0 ml plné krve se rychle přemístí do heparinizované zkumavky. Heparinizované zkumavky se udržují na ledu až do přidání krve. Po přidání krve do zkumavky se obsahy zkumavky míchají a centrifugují k získání plasmy. Plasma se opatrně slije a přemístí do testovací zkumavky, označené štítkem s: číslem zvířete, dávkou podané testované látky, dobou podání a dobou sběru krevního vzorku. Zkumavky se až do analýzy skladují při  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Analýza koncentrace optických isomerů nebo racemátů norcisapridu se v každém plasmatickém vzorku určí užitím vysokotlaké kapalinové chromatografie. Pro každou testovanou látku je plasmatická koncentrace s ohledem na dobu sběru vzorku zanesena do diagramu pro oba způsoby podání. Orální biologická dostupnost každé testované látky se stanoví srovnáním  $C_{\max}$  a AUC pro orální způsob podání oproti testované látce pro intravenosní způsob podání.  $T_{1/2}$  pro každou testovanou látku pro oba způsoby podání se vypočítá jako ukazatel trvání účinku.

### 5.3. Příklad 3

#### Aktivita 5HT<sub>1A</sub> receptoru

K určení potenciální agonistické a/nebo antagonistické činnosti racemického norcisapridu, cisapridu a jejich enantiomerů se užije volba receptoru a amplifikační technologie (ER-SAT, Receptor technologies Inc., Winooski, VT) na klonovaných subtypech lidských receptorů serotoninu 5-HT<sub>1A</sub>, k jehož expresi dochází v NIH 3T3 buňkách (Burstein a spol., J. Biol. Chem., 270:3141-3146 (1995); a Messier a spol., Pharmacol. Toxicol., 76(5):308-311 (1995)).

Zkouška zahrnuje koexpresi enzymů jako markeru,  $\beta$ -galaktosidasy s příslušnými receptory serotoninu. Ligandy stimulují proliferaci buněk, které exprimují receptor a tudíž marker. Ligandem indukované účinky mohou být stanoveny zkouškou markeru.

NH 3T3 buňky se inkubují, naočkují na plotny a poté se uskuteční transfekce užitím lidských receptorů serotoninu 5-HT<sub>1A</sub>, pSV- $\beta$ -galaktosidasy a DNA spermie lososa. Prostředí se změní o jeden den později a po dvou dnech, podíly buněk podrobených účinku trypsinu se umístí do vyhloubení ploten s 96 vyhloubeními. Po pěti dnech pěstování se za přítomnosti ligandů měří hladiny  $\beta$ -galaktosidasy. Buňky se pak propláchnou a inkubují se substrátem, o-nitrofenyl  $\beta$ -D-galaktopyranosidem. Plotny se odečtou po 16ti hodinách při 405 nm na odečítacím zařízení. Každá sloučenina je testována pro aktivitu třikrát v sedmi odlišných koncentracích (10, 2.5, 0.625, 0.156, 0.039, 0.0098 a 0.0024 nM).

Žádná ze sloučenin nevykazovala agonistickou aktivitu v lidských 5-HT<sub>1A</sub> receptorech serotoninu. Údaje z antagonistické inhibice sloučenin jsou sestaveny z rovnice:

$$\text{Odpověď} = \frac{\text{Max odpověď} + (\text{Min odpověď})}{1 + (\text{koncentrace ligandu}/\text{EC}_{50})}$$

Hodnoty IC<sub>50</sub> (koncentrace potřebné k inhibici 50% specifických vazeb) se vypočítají z antagonistické činnosti oproti koncentraci 2 $\mu$ M 5-HT, užitím metody nelineárních nejmenších čtverců (KaleidaGraph). Výsledky jsou zobrazeny v tabulce 1 a 2.

### Aktivita 5HT<sub>2</sub> receptoru

K určení potenciální agonistické a/nebo antagonistické činnosti racemického norcisapridu, cisapridu a jejich enantiomerů se užije volba receptoru a amplifikační technologie (ER-SAT, Receptor technologies Inc., Winooski, VT) na klonovaných subtypech lidských receptorů serotoninu 5-HT<sub>2</sub>, k jehož expresi dochází v NIH 3T3 buňkách (Burstein a spol., J. Biol Chem., 270:3141-3146 (1995); a Messier a spol., Pharmacol. Toxicol., 76(5):308-311 (1995)).

Zkouška zahrnuje koexpresi enzymů jako markeru,  $\beta$ -galaktosidasy s příslušnými receptory serotoninu. Ligandy stimulují proliferaci buněk, které exprimují receptor a tudíž marker. Ligandem indukované účinky mohou být stanoveny zkouškou markeru.

NH 3T3 buňky se inkubují, naočkují na plotny a poté se uskuteční transfekce užitím lidských receptorů serotoninu 5-HT<sub>2</sub>, pSV- $\beta$ -galaktosidasy a DNA spermie lososa. Prostředí se změní o jeden den později a po dvou dnech, podíly buněk podrobených účinku trypsinu se umístí do vyhloubení ploten s 96 vyhloubeními. Po pěti dnech pěstování se za přítomnosti ligandů měří hladiny  $\beta$ -galaktosidasy. Buňky se pak propláchnou a inkubují se substrátem, o-nitrofenyl  $\beta$ -D-galaktopyranosidem. Plotny se odečtou po 16ti hodinách při 405 nm na odečítacím zařízení. Každá sloučenina je testována pro aktivitu třikrát v sedmi odlišných koncentracích (10, 2.5, 0.625, 0.156, 0.039, 0.0098 a 0.0024 nM).

Žádná ze sloučenin nevykazovala agonistickou aktivitu v lidských 5-HT<sub>2</sub> receptorech serotoninu. Údaje z antagonistické inhibice sloučenin jsou sestaveny z rovnice:

$$\text{Odpověď} = \frac{\text{Max odpověď} + (\text{Min odpověď})}{1 + (\text{koncentrace ligandu}/\text{EC}_{50})}$$

Hodnoty  $\text{IC}_{50}$  (koncentrace potřebné k inhibici 50% specifických vazeb) se vypočítají z antagonistické činnosti oproti koncentraci  $2\mu\text{M}$  5-HT, užitím metody nelineárních nejmenších čtverců (KaleidaGraph). Výsledky jsou zobrazeny v tabulce 1 a 2.

TABULKA 1

Vypočítané hodnoty  $\text{IC}_{50}$  ( $\mu\text{M}$ ) na receptorech 5-HT<sub>1A</sub> a 5-HT<sub>2</sub>

Sloučenina	5-HT <sub>1A</sub>	5-HT <sub>2</sub>
(±) norcisaprid	7.48	2.21
(+) norcisaprid	0.0054	0.38
(-) norcisaprid	1.30	----

TABULKA 2

Vypočítané hodnoty  $\text{IC}_{50}$  ( $\mu\text{M}$ ) na receptorech 5-HT<sub>1A</sub> a 5-HT<sub>2</sub>

Sloučenina	5-HT <sub>1A</sub>	5-HT <sub>2</sub>
(±) cisaprid	----	0.26
(+) cisaprid	----	0.0050
(-) cisaprid	----	7.08

#### 5.4. Příklad 4

##### Vazba receptoru 5HT<sub>3</sub>

Racemický norcisaprid, racemický cisaprid a jejich (+)- a (-)- enantiomery byly testovány (Cerep, Celle l'Evescault, Francie) pro vazbu na subtypy receptorů 5HT<sub>3</sub>, odvozených od N1E-115 buněk.

Po inkubaci s příslušnými ligandy, byly přípravky rychle filtrovány ve vakuu přes GF/B filtry ze skelných vláken a byly promyty ledovým pufrem za použití Brendelova nebo Packardova buněčného stroje pro oddělování buněk. Vázaná radioaktivita byla určena počítačem pro kapalinovou scintilaci (LS 6000, Beckman) při použití scintilační kapaliny (Formula 989).

Specifická vazba radioligandu k receptoru byla definována jako rozdíl mezi celkovou vazbou a nespecifickou vazbou, určenou v přítomnosti přebytku neoznačeného ligandu. Výsledky byly vyjádřeny jako procento inhibice specifické vazby, získané v přítomnosti sloučenin. IC<sub>50</sub> byly určovány užitím koncentrací, sahajících od  $3 \times 10^{-10}$  až do  $10^{-5}$  M, k získání úplných kompetičních křivek a byly vypočítány nelineární regresní analýzou. Výsledky jsou znázorněny v tabulce 3 a 4 níže.

##### Receptor 5HT<sub>4</sub>

Racemický norcisaprid, racemický cisaprid a jejich (+)- a (-)- enantiomery byly testovány (Cerep, Celle l'Evescault, Francie) pro vazbu na subtypy receptorů 5HT<sub>4</sub>, odvozených od korpus striatum morčete.

Po inkubaci s příslušnými ligandy, byly přípravky rychle filtrovány ve vakuu přes GF/B filtry ze skelných vláken a byly promyty ledovým pufrem za použití Brendelova nebo Packardova buněčného stroje pro oddělování buněk. Vázaná radioaktivita

byla určena počítačem pro kapalinovou scintilaci (LS 6000, Beckman) při použití scintilační kapaliny (Formula 989).

Specifická vazba radioligandu k receptoru byla definována jako rozdíl mezi celkovou vazbou a nespecifickou vazbou, určenou v přítomnosti přebytku neoznačeného ligandu. Výsledky byly vyjádřeny jako procento inhibice specifické vazby, získané v přítomnosti sloučenin.  $IC_{50}$  byly určovány užitím koncentrací, sahajících od  $3 \times 10^{-10}$  až do  $10^{-5}$  M, k získání úplných kompetičních křivek a byly vypočítány nelineární regresní analýzou. Výsledky jsou znázorněny v tabulce 3 a 4 níže.

TABULKA 3

Hodnoty  $IC_{50}$  (nM) pro vazbu na receptorech 5-HT<sub>3</sub> a 5-HT<sub>4</sub>

Sloučenina	5HT <sub>3</sub>	5HT <sub>4</sub>	Poměr 5HT <sub>3</sub> /5HT <sub>4</sub>
Rac-norcisaprid	8.2	686	0.012
(+) norcisaprid	4.5	331	0.014
(-) norcisaprid	30.4	1350	0.023

TABULKA 4

Hodnoty  $IC_{50}$  (nM) pro vazbu na receptorech 5-HT<sub>3</sub> a 5-HT<sub>4</sub>

Sloučenina	5HT <sub>3</sub>	5HT <sub>4</sub>	Poměr 5HT <sub>3</sub> /5HT <sub>4</sub>
Rac-cisaprid	365	169	2.2
(+) cisaprid	310	340	0.9
(-) norcisaprid	2790	199	14.0

Aktivita agonistů 5-HT<sub>4</sub> receptorů, může být také stanovena užitím zkoušky, založené na schopnosti aktivních sloučenin zvyšovat tvorbu cyklického AMP u neuronů myších embryí, vyrostlých v tkáňové kultuře (viz: Dumuis a spol., N.S. Arch. Pharmacol. 340:403-410, 1989).

#### 5.5. Příklad 5

##### Stanovení kardiovaskulárních účinků

Použijí se bdělé krysy s normálním tlakem nebo spontánní hypertensí. Krevní tlak se zaznamenává nepřímo v teplotně řízeném prostředí před pokusem a po 1, 2 a 4 hodinách. Zkoumaná látka se podá vhodným způsobem. Zkoumané látky jsou racemický (+) a (-) cisaprid a racemický (+) a (-) norcisaprid. Jako významné se hodnotí změny systolického tlaku více než 10% (>10) v některém ze dvou dříve zmíněných třech postupných časových bodech. Zkoumá se také tachykardie. U stejných krys s normálním tlakem nebo se spontánní hypertensí, se zaznamená, bezprostředně po záznamu krevního tlaku, srdeční frekvence kardiografem. Zvýšení srdeční frekvence vyšší než 20% (>20) než kontrolní údaj před léčbou, se hodnotí jako významné.

Podobné studie mohou být provedeny s použitím morčat nebo selat.

#### 5.6. Příklad 6

##### Účinky centrálního nervového systému

Účinky racemických nebo opticky čistých enantiomerů norcisapridu a cisapridu na paměť, mohou být zkoušeny užitím způsobu, popsaného Forster a spol., Drug Development Research, 11:97-106 (1987). V tomto postupu se farmakologické účinky léků

na paměť testují u myši užitím „únikové zkoušky“. Skupiny myši se označí podle podání nosného prostředí nebo léčebné látky a každá myš se trénuje ke vstupu do správné větve T bludiště pro únik před 0.8 mA elektrickou ránou, přiváděnou ze dna klece do tlapy. Myšim se podávají dávky nosného prostředí nebo testované sloučeniny během sledovaného období.

Myši jsou nejprve podrobeny preferenční zkoušce, při které vstup do každého ramene bude mít za následek ukončení elektrického šoku, ale myši se trénují pro únik před elektrickou ránou opačným ramenem ve všech následujících pokusech. Myši se trénují („minimální trénink“) až se dosáhne dvakrát po sobě správné volby ramene (kriterium poznání).

Po týdnu trénování se všechny myši testují pro retenci rozeznávání. Míra retence je počet správných voleb v procentech, tj. takových, při kterých myš vstoupí do toho ramene bludiště, ve kterém nedostane šok do tlapy. Retence rozeznávání se srovnává pro skupiny myši, které dostaly dávku s (+) norcisapridem, (-) norcisapridem, racemickým norcisapridem, (+) cisapridem, (-) cisapridem, racemickým cisapridem nebo nosným prostředím.

Účinky racemických a opticky čistých enantiomerů norcisapridu nebo cisapridu na spánek mohou být testovány užitím elektroencefalografické analýzy. Skupiny krys nebo psů se připraví implantací mozkových elektrod při celkové anestézii pro elektroencefalografické záznamy a poté se tyto elektrody, po vymizení účinků anestézie, připojí k elektroencefalografickému záznamovému přístroji. Záznamy se zhotovují plynule a jsou užity ke klasifikaci spánkového stavu zvířat. Spánkové stavy jsou klasifikovány buď jako „bdění“, „pomalé spánkové vlny“ nebo „REM spánek“. Procentuální zastoupení každého spánkového stavu, následujícího po podání placeba, isomerů nebo racemátu norcisapridu nebo isomerů nebo

racemátu cisapridu , se srovnává k vyhodnocení účinku zkoumaných látek na regulaci spánku.

Blokáda podmíněné únikové odpovědi (CAR) může být užita k demonstraci schopnosti racemického a opticky čistého norcisapridu nebo cisapridu k léčení symptomů schizofrenie. Testovací postup používá krysy, které se trénují k úniku před elektrickou ranou do tlapy, stlačením páky na začátku testovacího období. Začátek testovacího období se signalizuje neškodným stimulem (světlem nebo bzučákem). Zvířata, která se při tomto postupu plně trénují, se budou vyhýbat elektrické ráně do tlapy ve více než 90% sledované doby. Sloučeniny, které jsou účinná antipsychotika, budou tuto podmíněnou únikovou odpověď blokovat. Tedy (-), (+) a racemický norcisaprid a cisaprid se testují podáváním stanovených dávek testovaných a referenčních sloučenin trénovaným krysám a poté se zjišťují jejich relativní účinky na podmíněný únik.

Racemický a opticky čistý cisaprid a norcisaprid se testují pro antidepresivní účinnost užitím testu s myší pověšenou za ocas ( Steru a spol., Psychopharmacology 85:367-370, 1985). Stanovená dávka (-), (+) nebo racemického norcisapridu nebo (-), (+) nebo racemického cisapridu nebo referenční účinné látky se podá myši a tato myš se zavěsí ve výšce kolem 15 cm nad stolem na háček, který se napojí na ocas. Pohyby zvířete se zaznamenávají na polygraf. Myši se typicky zmítají několik minut a poté se pokusy o pohyb mísí s obdobími imobility („behaviorální beznaděj“). Snížení celkového trvání imobility během standardního zkušebního období ukazuje potenciální antidepresivní účinek testované sloučeniny.

Racemický a opticky čistý norcisaprid a cisaprid se testují pro účinky na poruchy z užívání psychoaktivních látek podáváním testované nebo referenční sloučeniny laboratorním zvířatům, například, krysám, které se trénují do stlačení páky

v očekávání příjmu jedné z různých psychoaktivních látek („zvíře si samo podá lék“). Jednotlivá zvířata, použitá v této studii, se sledují pro samo-podávání kokainu, alkoholu a morfinu. Fixované poměry a progresivní poměry se užijí pro nastavení počtu stlačení páky, které je požadováno pro zvíře k přijetí látky. (-), (+) a racemický norcisaprid nebo cisaprid se podávají ve stanovených dávkách před standardním obdobím, kdy si zvíře samo podává lék. Snížení množství samo-podávání nebo redukce počtu stlačení páky/odměna udává, že testovaná sloučenina má použití v léčbě poruch z užívání psychoaktivních látek.

### 5.7 Příklad 7

#### Orální prostředek

##### Tablety

Složení	Množství na tabletu v mg		
	A	B	C
Aktivní složka (+) norcisaprid	5.0	10.0	25.0
Laktosa BP	62.0	57.0	42.0
Škrob BP	20.0	20.0	20.0
Mikrokrystalická celulóza	10.0	10.0	10.0
Hydrogenovaný rostlinný olej	1.5	1.5	1.5
Polyvinylpyrrolidon	1.5	1.5	1.5
Hmotnost po slisování	100.0	100.0	100.0

Aktivní složka (+) norcisaprid se proseje skrz vhodné síto a smíchá s laktosou, až se vytvoří homogenní směs. Přidají se přiměřené objemy vody a prášky se granulují. Po sušení se přidají granula a smíchají se zbývajícími pomocnými látkami. Výsledná granula se stlačí do tablet požadovaných tvarů. Mohou být připraveny tablety s jiným obsahem účinné látky, změnou poměru aktivní složky k pomocné látce (látkám) nebo hmotností po slisování.

Odborníkům bude zřejmé, že jsou možné různé modifikace a varianty v jednotlivých provedeních předkládaného vynálezu. Rozumí se, že takovéto modifikace jsou bez odchýlení se od cíle a podstaty vynálezu, definovaného v nárocích.

**Zastupuje:**

## P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1. Použití účinného množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, zejména prosté (-) stereoisomerů pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení nebo prevenci poruch, způsobených disfunkcí gastrointestinální motility.
2. Použití účinného množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, zejména prosté (-) stereoisomerů pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení nebo prevenci gastroesofageálního refluxu.
3. Použití účinného množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, zejména prosté (-) stereoisomerů pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení nebo prevenci dispepsie.
4. Použití účinného množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, zejména prosté (-) stereoisomerů pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení nebo prevenci gastroparézy.
5. Použití účinného množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, zejména prosté (-) stereoisomerů pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení nebo prevenci zácpy.
6. Použití účinného množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, zejména prosté (-) stereoisomerů pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení nebo prevenci intestinální pseudoobstrukce.

7. Použití podle nároku 1, při němž se (+) norcisaprid podává perorálně.
8. Použití podle nároku 7, při němž se (+) norcisaprid podává ve formě tablety.
9. Použití podle nároku 1, při němž se (+) norcisaprid podává parenterálně.
10. Použití podle nároku 1, při němž se podává 0,5 až 500 mg (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli denně.
11. Použití podle nároku 10, při němž se podává 1 až 250 mg (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli denně.
12. Použití podle nároku 11, při němž se podává 5 až 100 mg (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli denně.
13. Použití podle nároku 10, při němž se uvedené množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli podává rozděleně ve formě jednotlivých dávek 1 až 4krát denně.
14. Použití podle nároku 1, při němž množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli tvoří alespoň 90 % hmotnostních celkového hmotnostního množství norcisapridu.
15. Použití účinného množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli, v podstatě prosté (-)

stereoisomeru pro výrobu farmaceutického prostředku pro vyvolání prokinetického účinku k léčení gastroesofageálního refluxu.

16. Použití podle nároku 15, při němž se (+) norcisaprid podává parenterálně nebo perorálně ve formě tablety, kapsle nebo kapalné suspenze.

17. Použití podle nároku 15, při němž se podává 0,5 mg až 500 mg (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli denně.

18. Použití podle nároku 17, při němž se podává 1 mg až 250 mg (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli denně.

19. Použití podle nároku 18, při němž se podává 5 mg až 100 mg (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli denně.

20. Použití podle nároku 17, při němž se uvedené množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli podává rozděleně ve formě jednotlivých dávek 1 až 4krát denně.

21. Použití podle nároku 15, při němž uvedené množství (+) norcisapridu nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli tvoří alespoň 90 % hmotnostních celkového hmotnostního množství norcisapridu.

22. Použití podle nároku 15, při němž se (+) norcisaprid nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl, v podstatě prostá

(-) stereoisomeru podává spolu s farmaceuticky přijatelným nosičem.

23. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako svou účinnou složku obsahuje (+) norcisaprid nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl, v podstatě prostou (-) stereoisomeru spolu s farmaceuticky přijatelným nosičem.

Zastupuje: