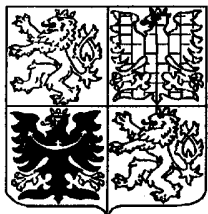


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(21) 1888-93

(13) A3

5(51)

A 61 K 37/02

(22) 10.09.93

(32) 11.09.92

(31) 92/9210833

(33) FR

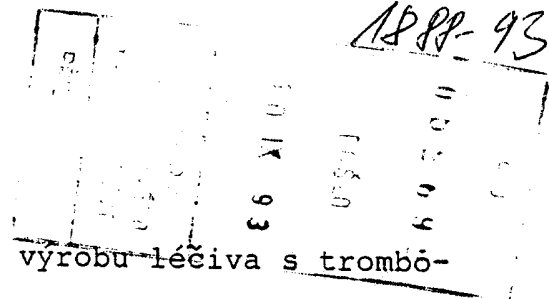
(40) 16.03.94

(71) SYNTHELABO, Le Plessis-Robinson, FR;

(72) Berry Christopher, Champigny s/Marne, FR;
Ferrari Patrice, Bois D' Arcy, FR;

(54) **Použití přímého inhibitoru trombinu pro výrobu
léčiva s trombolytickou účinností**

(57) Řešení se týká použití inhibitoru působícího na aktivní
místo trombinu např. aratrobanu, Phe-Pro-Arg-
chlormethylketonu a Ac-(D-Phe)-Pro-boro-Arg-OH, pro
výrobu léčiva s trombolytickou účinností.



Použití přímého inhibitoru trombinu pro výrobu léčiva s trombolytickou účinností

Oblast techniky

Vynález se týká použití přímého inhibitoru trombinu pro výrobu léčiva s trombolytickou účinností.

Dosavadní stav techniky

Sloučeniny, které inhibují trombin interakcí s aktivním místem této proteázy, se používají jako antitrombotická činidla nebo je v případě některých sloučenin takové použití ve stádiu vývoje. Příklady takových sloučenin jsou argatroban (Okamoto S. a kol., Biochem. Res. Commun. 101, 440, 1981 a jinde), produkt PPACK (Kettner C.A. a Shaw E.N., Thromb. Res. 14, 969, 1779 a jinde), produkt DUP 714 (Kettner C.A. a kol., J. Biol. Chem. 265, 18289, 1990 a jinde) a hirudiny (Rydel T.J. a kol., Science 245, 277, 1989 a jinde).

V případě infarktu myokardu, arteriální nebo venální trombózy nebo plicní embolie mohou inhibitory trombinu urychlit lyzi a zamezit reokluzi po léčení exogenním trombolytickým činidlem, jakým je aktivátor rekombinantního plasminogenu (rTPA) nebo streptokináza.

Podstata vynálezu

V rámci vynálezu byla studována účinnost přímých inhibitorů trombinu jako takových ve funkci trombolytických činidel v nepřítomnosti exogenních plasminogenních aktivátorů.

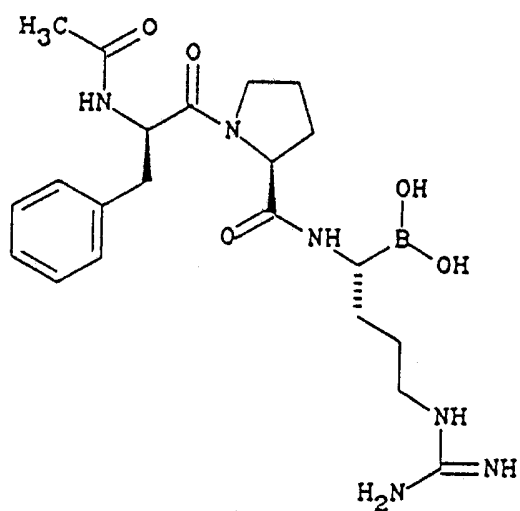
Sloučeniny použitelné podle vynálezu byly studovány na krysách za účelem stanovení jejich účinnosti jako trombolytických

činidel za použití modelu okluzní trombózy aorty indukované elektrickou stimulací.

Krasy CD s tělesnou hmotností 450 až 500 g se anestetizují pentobarbitalem sodným (60 mg/kg intraperitoneálně), načež se jim zavede katétr do levé renální arterie. Trombóza se indukuje metodou popsanou Hladovcem (Thromb. Haemosts., (1971), 26, 407-410). Obnaží se segment abdominální aorty dlouhý asi 1 cm mezi renální arterií a kyčelním rozvětvením, načež se zde umístí elektromagnetická sonda pro měření průtoku krve a ve směru toku krve ještě bipolární elektroda. Po 15 minutové stabilizační periodě se na vnější povrch arterie přímo zavádí pomocí stimulatoru po dobu 5 minut proud 5 mA. Když krevní průtok dosáhne nulové hodnoty, která byla předběžně stanovena sevřením arterie mezi sondou a elektrodou, zaznamenaná se čas vzniku trombotické okluze. Po 5 minutách stabilizace trombu, se katétreem injikuje testovaná sloučenina nebo vehikulum v 0,5 ml dávce a potom následuje 60 minutová perfuze při průtoku 0,1 ml/min. Po dobu perfuze se zaznamená krevní průtok. Trombolýza se vyhodnotí měřením plochy pod křivkou, která závisí na času nezbytném k dosažení opětovné rekanalizace a na míře této rekanalizace. Výsledky se vyjádří jako průměrné hodnoty $\pm$ střední standardní odchylka.

U pokusných zvířat, kterým se zavádí pouze vehikulum, zůstává abdominální aorta ucpána po celou dobu podávání vehikula. Naproti tomu zvyšují přímé inhibitory trombinu v závislosti na dávce inhibitoru plochu pod křivkou a rychle restaurují krevní průtok.

V rámci vynálezu byly zejména testovány následující látky: argatroban, Phe-Pro-Arg-chlormethylketon (PPACK) a Ac-(D-Phe)-Pro-boro-Arg-OH (DUP 714) vzorce 1



(1)

které vykazovaly trombolytickou účinnost.

Získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka

Trombolytický účinek produktů argatroban, PPACK a DUP 714

Sloučenina	Dávka ($\mu\text{g/kg}$ + $\mu\text{g/kg/min}$)	n	Plocha pod křivkou ($\text{cm}^2 \pm \text{s.s.o.}$)	Zvětšení (%)	Počet pokusných zvířat, u kterých dochází k trombolýze
Vehikulum	-	11	35.8 ± 12.5	-	0
Argatroban	25 + 5	8	137.5 ± 45.6	284	4 [#]
	100 + 20	8	181.1 ± 99.6	406	3
	200 + 40	8	$460.3 \pm 86.5^{**}$	1186	7 ^{##}
Vehikulum	-	8	43.4 ± 21.6	-	0
PPACK	50 + 10	8	291.7 ± 96.5	572	5 [#]
	100 + 20	8	284.8 ± 98.9	556	5 [#]
	200 + 40	8	$542.7 \pm 75.2^{**}$	1148	7 ^{##}
Vehikulum	-	9	47.2 ± 34.0	-	1
DUP714	100 + 20	8	$339.7 \pm 84.7^*$	620	5 ^{##}
	200 + 40	8	$362.3 \pm 61.1^*$	667	7 ^{##}
	400 + 80	8	$575.3 \pm 99.0^{**}$	1118	8 ^{##}

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ versus test s vehikulem (Dunnett)

$p < 0.05$, ## $p < 0.01$ versus test s vehikulem (Fisher)

s.s.o. = střední standardní odchylka

Uvedené výsledky ukazují, že přímé inhibitory trombinu mohou být použity pro výrobu léčiv s trombolytickou účinností.

Tyto inhibitory mohou být použity při patologických stavech, u kterých se používají trombolytická činidla, jakými jsou infarkt myokardu, zánět tepen spodních okončetin, rozsáhlá venální trombóza a plicní embolie.

Za tímto účelem mohou být uvedené látky formulovány do všech farmaceutických forem, které jsou vhodné pro intravenózní podání, v kombinaci s příslušnými farmaceutickými pomocnými látkami a v dávkách, umožňujících denní podání 10 až 500 mg účinné látky.

P A T E N T O V É

N Á R O K Y

1. Použití inhibitoru působícího na aktivní místo trombinu pro výrobu léčiva s trombolytickou účinností.
2. Použití podle nároku 1, v y z n a č e n é t í m , že přímým inhibitorem trombinu je argatroban.
3. Použití podle nároku 1, v y z n a č e n é t í m , že přímým inhibitorem trombinu je Phe-Pro-Arg-chlormethylketon.
4. Použití podle nároku 1, v y z n a č e n é t í m , že přímým inhibitorem trombinu je Ac-(D-Phe)-Pro-boro-Arg-OH.

~~Zastupuje:~~