

214/1

Közzételti példány

26749

58206--

GM₁-MONOSZIALO-GANGLIOZID ÉS BELSŐ ÉSZTEREI ALKALMAZÁSA
MORFIN ÉS ANALÓGJAI ANALGETIKUS HATÁSÁHOZ VALÓ HOZZÁSZOKÁS
KIALAKULÁSÁNAK MEGAKADÁLYOZÁSÁRA EMBERBEN

FIDIA S.p.A., Abano Terme, Olaszország

Bejelentés napja: 1991. 06. 28.

Elsőbbsége: 1990. 06. 29. (20822)^{AGO} Olaszország

K I V O N A T

A találmány a GM₁-monoszialo-gangliozyd, gyógyászati lag elfogadható sói és belső észterei új alkalmazására vonatkozik, gyógyászati készítmények előállítására, embereknek morfin és kémiailag rokon származékai, valamint metadon és származékai analgetikus hatásához való hozzászokásának megakadályozására.

12

28749

58206-
A

Kazetái
példá

Képviselő:

DANUBIA SZABADALMI ÉS VÉDJEGY IRODA KFT.

USZO₅ A 6 16 31/70

GM₁-MONOSZIALO-GANGLIOZID ÉS BELSŐ ÉSZTEREI ALKALMAZÁSA
MORFIN ÉS ANALÓGJAI ANALGETIKUS HATÁSÁHOZ VALÓ HOZZÁSZOKÁS
KIALAKULÁSÁNAK MEGAKADÁLYOZÁSÁRA EMBERBEN

FIDIA S.p.A., Abano Terme, Olaszország

Feltalálók:

DELLA VALLE Francesco,

TOFFANO Gino,

Bejelentés napja: 1991. 06. 28.

Elsőbbsége: 1990. 06. 29. (20822) ^{Agc} Olaszország

72680-1770

A találmány GM₁-monoszialo-gangliozid, gyógyszeratilag elfogadható sói és belső észterei alkalmazására vonatkozik, gyógyászati készítmények előállítására, az emberek morfin, kémiaailag hasonló ópiátok, metadon és származékai analgetikus hatásához való hozzászokása kialakulásának megakadályozására.

Ismeretes, hogy az ópiátok, és különösen a morfin folyamatos alkalmazása hozzászokás kialakulásához vezet. A morfin naponta többszöri adagolása különböző mértékben vezet a gyógyszer terápiás hatásához való hozzászokás kifejlődéséhez, a hozzászokás mértéke az adagolt dózis nagyságától és az adagolás gyakoriságától függ.

A hozzászokás akkor következik be, amikor - megismételt gyógyszeradagolás után - azonos gyógyszerdózis kisebb hatást fejt ki, vagy ha egyre nagyobb dózist kell adagolni a kiindulási dóziséval azonos hatás eléréséhez.

Még ha a tolerancia önmagában nem is befolyásolja a gyógyszer használatára való törekvés lehetőségét, szükség-szerűen módosítja az alkalmazás módját, mivel a meghatározott hatás eléréséhez szükséges mennyiség egyre növekedik. A morfin és a rokonszerkezetű ópiátok növekvő mennyiségeinek alkalmazása ahhoz vezethet, hogy a gyógyszert nem lehet gyógyászati célokra alkalmazni, a megnövekedett toxikus és másodlagos hatások miatt, amelyek a nagy dózisokban való alkalmazást követik.

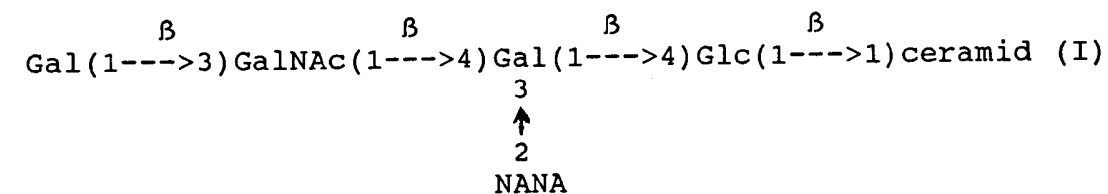
A glikoszfingolipidek (glikolipidek) osztályába tartozó gangliozidok közelebbről szíálsavat tartalmazó glikoszfingolipidek, és szerkezetük kémiaailag egy szacharid-mole-

kularészből áll, amelyhez egy ceramid- és a szialcsoport kapcsolódik.

A szacharid-rész legalább egy galaktózból vagy glükózból, és legalább egy N-acetil-glükózaminból vagy N-acetil-galaktózaminból áll, és ezek a komponensek egymáshoz glükozid-kötéssel kapcsolódnak.

Számos gangliozidot azonosítottak már, amelyek különösen az idegszövetekben, méginkább az agyszövetben fordulnak elő nagyobb mennyiségben.

A marha agyszövetekből extrahált gangliozid elemekből izolált számos gangliozid közé tartozik a GM₁-gangliozid, amelynek (I) képletében



Glc jelentése glükóz,

GalNAc jelentése N-acetil-galaktózamin,

Gal jelentése galaktóz, és

NANA jelentése N-acetil-neuraminsav.

A GM₁-gangliozid egyéb lehetséges elnevezései az alábbiak:

- monoszialo-tetraexozil-gangliozid-nátriumsó;
- II³-α-N-acetil-neuraminozil-ganglio-tetraglükozil-ceramid-nátriumsó (IUPAC-IUB név);
- II³-α-NeuAc-GgOse₄Cer-nátriumsó (IUPAC-IUB rövidítés);
- Chemical Abstracts regiszter: RN 37758-47-7.

A GM₁ szimbólum a Svennerholm-rendszerrel van összhangban [Svennerholm L., J. Neurochem. 19, 613-623

(1963)].

Mivel a gangliozidok főleg a neuron-membránokhoz kapcsolódnak [Ando G.: Gangliosides in the nervous system, *Neurochem. Int.* 5, 507-537 (1983)], feltételezték, hogy szerepet játszhatnak az információ-átvitelben a fenti membránokon keresztül [Fishman P.H., Brady R.O., *Science*, 194, 906-915 (1976)]. Közelebbről, a GM₁-monogangliozid résztvesz az idegsejt-differenciálódási folyamatokban egér kisagyban [Willinger M., Schachmer M., *Dev. Biol.* 74, 101-107 (1980)] és a meganeuritok indukálásában kortikális patkány idegsejtekben [Purpura D.P., Baker H.J., *Brain Res.* 143, 13-26 (1977)].

Azokból a kísérletekből, amelyek bizonyították, hogy a GM₁-gangliozidok felszaporodása elősegíti a neuromuszkuláris csatlakozások kialakulását vegyes idegsejt-izomsejt tenyészetekben [Obata K., Handa S.: *Integrative Control Functions of the Brain*, szerk. Ito és munkatársai, 2, 5-14 (1979)] a GM₁-gangliozid specifikus szerepére következtettek, a szinaptikus érintkezés kialakulásának elősegítésében.

A GM₁ egy biológiai anyag, amelyet marhaagyból extrahálnak, és nátriumsóját nagytisztaságú terméként lehet izolálni Tettamanti és munkatársai módszere [*Biochimica and Biophysica Acta* 296, 160-170 (1973)], vagy az 1 046 051 számú olasz szabadalmi leírás szerint.

A GM₁-gangliozid belső észtereit a 4 476 119 számú amerikai egyesült államokbeli és a 0072722 számú európai szabadalmi leírásban ismertetett módon lehet előállítani.

Bőséges irodalmi forrás van a gangliozidok ama képességére vonatkozólag, hogy kedvezően befolyásolják a sérült perifériás idegrendszer (PNS) és központi idegrendszer (CNS) funkcionális felépülését specifikus membránmechanizmusok és neurotróf faktorokkal való kölcsönhatás révén, amit idegsejt-tenyészetekkel in vitro tanulmányok bizonyítottak [Doherty P. és munkatársai: Ganglioside GM₁ does not initiate but enhances neurite regeneration of nerve growth factor - dependent sensory neurons, J. Neurochem. 44, 1259-1265 (1985)].

Közelebbről, ismertették a gangliozid elegy hatását a PNS-re traumás neuropátia esetén [Gorio A. és munkatársai: Motor Nerve Sprouting induced by ganglioside treatment. Possible implications for gangliosides on neural growth, Brain Res. 7, 236 1980)]; metabolikus neuropátia esetén [Norido F. és munkatársai: The development of diabetic neuropathy in the C57B1/Ks (db/db) mouse and its treatment with gangliosides, Exp. Neurol. 83, 221 (1984)]; és toxikus neuropátia esetén [Di Gregorio F. és munkatársai: Efficacy of ganglioside treatment in reducing functional alterations induced by vincristine in rabbit peripheral nerves, Cancer Chemother. Pharmacol., 26, 31-36 (1990)].

A CNS vonatkozásában különféle idegsejt-rendszerekben, különböző állatfajokban gazdagon ismertették a GM₁-monogangliozid és belső észterei pozitív regeneráló hatását iszkémia modellben [Karpiak S.E. és munkatársai: Ganglioside reduction of CNS ischemic injury, CRC Critical Rev. in Neurobiology, 5. kötet, 3. kiadás, (1990)]; traumás lézió modell-

ben [Toffano G. és munkatársai: Chronic GM₁ ganglioside treatment reduces dopamine cell body degeneration in the substantia nigra after unilateral hemitransection in rat, Brain Res. 296, 233-239 (1984)]; és neurotoxikus léziók esetén [Johnsson J. és munkatársai: Effect of GM₁ ganglioside on neonatally neurotoxin induced degeneration of serotonin neurons in the rat brain, Develop. Brain Res. 16, 171-180 (1984b)].

Nem ismertették azonban egyetlen irodalmi helyen sem a GM₁-gangliozid vagy belső észterei analgetikus hatását CNS-szinten, sem azt, hogy a a GM₁-gangliozid vagy belső észterei általában az ópiátok, közelebbről a morfin hatását; vagy a metadon és származékai hatását befolyásolnák, amiből a találmány szerinti alkalmazásra következtetni lehetett volna.

A találmány azon a felismerésen alapul, hogy a GM₁-gangliozid, ennek gyógyászatilag elfogadható sói és belső észterei gátolják emberben a morfin, a kémiaailag hasonló ópiátok, és a metadon és származékai analgetikus hatásához való hozzászokás kialakulását.

A fenti felismerés meglepő, mivel sem a GM₁, sem más gangliozidok önmaguk nem rendelkeznek analgetikus hatással CNS-szinten, ezért lehetetlen volt előre látni bármilyen egymásrahatást a morfinhoz hasonló analgetikumokkal. A morfinhoz kémiaailag hasonló ópiátok közé tartozik például a heroin, az etorfin, a tebain, a kodein, a pentazocin, stb.; míg a metadon származékai például a metadil-acetát.

A GM₁ aktivitásának kimutatására a találmány szerin-

ti alkalmazásra a 1589,9 d móltömegű GM₁-nátriumsóval végeztünk kísérletsorozatot, amelyet marhaagyból izoláltunk, az 1 046 051 számú olasz szabadalmi leírásban ismertetett eljárással.

Közelebbről, kétféle vizsgálatot végeztünk egéren, a következők szerint:

- analgetikus hatás vizsgálata, forró lemez módszerrel; és
- mortalitás, amelyet LD₅₀ értékkel adunk meg.

A GM₁-et 100 mg/1 ml dózisban fiziológiás sóoldatban szolubilizáljuk, foszfát-puffer jelenlétében, az oldat összetétele az alábbi:

Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	3	g
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	0,25	g
NaCl	8	g
desztillált víz	1000	ml-re

A vizsgálatot 23 - 28 g-os egerekkel (Swiss) végeztük, amelyeket 4 csoportba osztottunk.

Morfin analgetikus hatásához való hozzászokás kialakulásának vizsgálata

1. táblázat: GM₁-gyel végzett krónikus kezelés hatása a morfinhoz való hozzászokásra

Krónikus kezelés					Fájdalomküszöb %-os növekedése			
					morfin adagolás után			
1.szakasz 2.szakasz					(10 mg/kg s.c.)			
Cs	N	D	Szer	D	Szer	15'	30'	45'
1.	93	-	-	13	só	67±6	67±7	44±6
							p<0,05	p<0,05
2.	92	-	-	13	GM ₁	68±6	98±7	69±7
3.	89	13	só	6	só+M	1±4	6±4	5±3
							p<0,05	p<0,05
4.	80	13	GM ₁	6	GM ₁ +M	43±5	39±6	37±5

Cs = csoport száma

N = állatok száma

D = nap

só = sóoldat 10 mg/kg i.p. vagy s.c.

M = morfin

Az 1. és 2. csoportba tartozó állatokat az első szakaszban nem kezeltük, míg a második szakaszban 13 napon keresztül sóoldattal, illetve GM₁-gyel kezeltük azokat. A 3. csoportba tartozó állatokat az első szakaszban 13 napon keresztül sóoldattal, és a második szakaszban 6 napon keresztül sóoldattal és morfinnal kezeltük. A 4. csoportba tartozó állatok az első szakaszban 13 napon keresztül 30 mg/kg i.p. GM₁ kezelést kaptak, ezután a kezelést további 6 napon

keresztül folytattuk, de naponta kétszer morfint is adagoltunk, 10 mg/kg-tól 200 mg/kg-ig növekvő s.c. dózisokban.

Az analgetikus hatást, és az ennek következtében kialakuló morfinhoz való hozzászokást forró lemez módszerrel értékeltük ki. Ez a vizsgálati módszer - amely az állatok hőhatásra adott fájdalomreakcióján alapul [Berkowitz B.A. és munkatársai: Nitrous oxide analgesia: reversal by naloxone and development of tolerance, J. Pharmacol. Exp. Ther. 203, 539-547 (1977)] - a hatóanyagok központi analgetikus hatásának kiértékelésére specifikus módszert képvisel.

A vizsgálat megkezdése előtt 2 nappal a kísérleti állatokat úgy választottuk ki, hogy az állatokat egyenként egy állandó 52,5 °C hőmérsékleten tartott forró lemezre (Technilab Hot-plate - U. Basile, Milánó) helyeztük, és azok közül az állatok közül szelektáltunk, amelyek reakcióideje 5 és 10 másodperc között volt (fájdalomérzékelési alapérték).

A hőhatásra adott reakció jelének a felugrást, vagy a mellső mancsok felemelését és nyalogatását tekintettük. Az analgetikus aktivitást a kísérlet megkezdése után 20 nappal értékeltük ki, az állatok 10 mg/kg morfinnal s.c. végzett kezelése után 15, 30 45 perccel mért reakcióidejének a kezelés előtt 30 perccel (0 időpont) meghatározott alapértékéhez viszonyított növekedése alapján.

A kapott értékeket a morfin adagolás utáni fájdalomküszöb %-os növekedéseként fejeztük ki.

Eredmények

Az 1. táblázat adataiból látható, hogy

- a kontroll csoportba (1. csoport) tartozó állatokban a morfin-kezelés után megnövekedett a fájdalomküszöb;
- a GM₁-gyel végzett kezelés (2. csoport) nem módosítja a fájdalomküszöb növekedését, tehát a GM₁ maga nem rendelkezik analgetikus aktivitással;
- a 3. csoportba tartozó állatok 6 napos kezelés után teljes mértékben hozzászoktak a morfin okozta analgetikus hatáshoz;
- a GM₁-gyel előkezelt állatokban (4. csoport) lényegesen kisebb mértékben fejlődött ki a hozzászokás.

A morfin adagolása valóban jelentős analgetikus hatást váltott ki ezekben az egerekben, míg a kontroll csoportban teljesen hatástalan volt.

Mortalitás vizsgálata

Az analgetikus hatás kiértékelése után kiszámítottuk a morfin LD₅₀ értékét, először a sóoldat és morfin együttes adagolásával morfinhoz szoktatott csoportra, majd a másik csoportra, amelyet először 20 napon keresztül GM₁-gyel, majd GM₁-gyel és a másik csoportnak is adagolt dózissal azonos dózisú morfinnal együtt kezeltünk.

Ismeretes, hogy a morfinhoz hozzászoktatott egerek LD₅₀ értéke magasabb, mint a nem toleráns egereké (Goodman and Gilman: The pharmacological basis of therapeutics, szerk. Goodman Gilman és munkatársai, 543. oldal). Az eredményeket a 2. táblázatban foglaltuk össze.

2. táblázat: Krónikus GM₁-kezelés hatása a morfin-okozta pusztulásra

Kezelés	N	Morfin LD ₅₀ (mg/kg) i.p.
--	15	342 (246-479)
sóoldat (10 ml/kg) i.p.	37	320 (277-370)
GM ₁ (30 mg/kg) i.p.	35	367 (320-442)
sóoldat+morfin	38	686 (543-867)
GM ₁ +morfin	37	487 (292-810)

N = állatok szám

Az LD₅₀ értékeknél a zárójelben szereplő számok az adott állatcsoportban előforduló minimális és maximális értékeket jelentik.

A 2. táblázat adataiból látható, hogy

- az LD₅₀ értéke a toleráns egerekben jelentősen, 320-ról 686 mg/kg-ra emelkedett;
- a GM₁-gyel 20 napon keresztül előkezelt állatokban az LD₅₀ 367-ről 487 mg/kg-ra nőtt, ez a növekedés nem jelentős.

A fájdalomküszöbre és a letalitásra kifejtett hatás kiértékelésével kapott fenti eredmények azt mutatják, hogy a GM₁-gyel végzett előkezelés képes a morfin analgetikus hatásához való hozzászokást gátolni. A GM₁, gyógyászati lag elfogadható sói és belső észterei alkalmazása olyan gyógyászati készítmények előállítására, amelyek megakadályozzák az emberek hozzászokását a morfin, a kémiailag hasonló opiátok és a metadon és származékai analgetikus hatásához, igen

jelentős a klinikai gyakorlatban.

Gyakorlatilag a morfin alkalmazását az elviselhetetlen fájdalom csillapítására, különösen a rákos betegségek végső stádiumában korlátozza a hozzászokás kialakulása, ami miatt egyre nagyobb dózisokat kell alkalmazni, ami növeli a mellékhatásokat, és a morfin okozta toxikus hatásokat.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények további lehetséges alkalmazása a gyógyszerelvonási kúrában való alkalmazás.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények 10-400 mg hatóanyagot tartalmazhatnak gyógyászatilag elfogadható segédanyagokkal összekeverve, és humán gyógyászati célokra orálisan vagy parenterálisan, előnyösen intramuszkulárisan vagy szubkután módon adagolhatók.

A találmány szerinti gyógyászati készítményeket előnyösen legalább 8 napon keresztül adagoljuk az ópiátokkal, különösen morfinnal, a metadonnal vagy származékaival végzett kezelés megkezdése előtt, vagy a kezeléssel egyidőben, vagy azt követően is adagolhatók, legalább 8 napon keresztül. A hatóanyag dózisa az elérni kívánt hatástól és az adott adagolási módtól függően változhat, általában 0,15 - 6 mg/kg/nap lehet, ami 10-400 mg/nap dózissal egyenértékű, előnyösen 0,6 mg/kg/nap, ami mintegy 40 mg/nap dózissal egyenértékű.

A találmány szerinti gyógyászati készítményeket közelebbről - a korlátozás szándéka nélkül - az alábbi példákkal kívánjuk ismertetni.

1. példa

Ampulla tartalma:

- GM ₁ -monoszialo-tetraexozil-gangliozyd-nátriúmsó	20,0 mg
- dinátrium-hidrogén-foszfát.12H ₂ O	6,0 mg
- nátrium-dihidrogén-foszfát.2H ₂ O	0,5 mg
- nátrium-klorid	16,0 mg
- injekciókészítésre alkalmas víz	2,0 ml-re

2. példa

Ampulla tartalma:

- GM ₁ -monoszialo-tetraexozil-gangliozyd-nátriúmsó	40,0 mg
- dinátrium-hidrogén-foszfát.12H ₂ O	6,0 mg
- nátrium-dihidrogén-foszfát.2H ₂ O	0,5 mg
- nátrium-klorid	16,0 mg
- injekciókészítésre alkalmas víz	2,0 ml-re

3. példa

Ampulla tartalma:

- GM ₁ -monoszialo-tetraexozil-gangliozyd-nátriúmsó	100,0 mg
- dinátrium-hidrogén-foszfát.12H ₂ O	15,0 mg
- nátrium-dihidrogén-foszfát.2H ₂ O	1,25 mg
- nátrium-klorid	40,0 mg
- injekciókészítésre alkalmas víz	5,0 ml-re

S z a b a d a l m i i g é n y p o n t o k

1. GM_1 -monoszialo-gangliozid, gyógyászatilag elfogadható sói és belső észter származékai alkalmazása gyógyászati készítmények előállítására, embereknek a morfin, a kémiaailag rokon ópiátok, a metadon és annak származékai analgetikus hatásához való hozzászokása kialakulásának megakadályozására.

2. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a GM_1 -monoszialo-gangliozid nátriumsóját alkalmazzuk.

3. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy 10-400 mg hatóanyagot tartalmazó gyógyászati készítményeket állítuk elő.

4. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy orálisan vagy parenterálisan adagolható gyógyászati készítményeket állítunk elő.

5. Gyógyászati készítmények embereknek a morfin, a kémiaailag rokon ópiátok, a metadon és annak származékai analgetikus hatásához való hozzászokása kialakulásának megakadályozására, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy azok hatóanyagként GM_1 -monoszialo-gangliozidot, annak gyógyászatilag elfogadható sóját vagy belső észterét tartalmazzák külön-külön, vagy együtt.

6. Az 5. igénypont szerinti gyógyászati készítmények, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy hatóanyagként GM_1 -monoszialo-gangliozid nátriumsóját tartalmazzák.

7. Az 5. igénypont szerinti gyógyászati készítmények, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a hatóanyagot 10-400 mg mennyiségben tartalmazzák.

8. Az 5. igénypont szerinti gyógyászati készítmények, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy azokat orálisan vagy parenterálisan adagolhatjuk.

9. Gyógyászati eljárás embereknek a morfin, a kémiaailag rokon ópiátok, a metadon és annak származékai analgetikus hatásához való hozzászokása kialakulásának megakadályozására, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy GM₁-monoszialo-gangliozidot, annak gyógyászatilag elfogadható sóját vagy belső észterét adagoljuk, külön-külön, vagy együtt.

10. A 9. igénypont szerinti gyógyászati eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a hatóanyagot 0,15 - 6 mg/kg/nap dózisban adagoljuk.

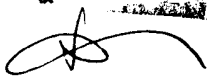
11. A 10. igénypont szerinti gyógyászati eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a hatóanyagot 0,6 mg/kg/nap dózisban adagoljuk.

12. A 9. igénypont szerinti gyógyászati eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az adagolást az analgetikum adagolását megelőzően legalább 8 napon keresztül végezzük.

13. A 9. igénypont szerinti gyógyászati eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az adagolást az analgetikum adagolásával egyidejűleg, vagy azt követően legalább 8 napon keresztül végezzük.

14. A 9. igénypont szerinti gyógyászati eljárás,
a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a gyógyászati ké-
szítmény adagolását orálisan vagy parenterálisan végezzük.

A meghatalmazott:

Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
6.


Aktaszámunk: 72680-1770

Ügyintézőnk: dr. Kiss Ildikó

Dr. Kiss Ildikó
[Signature]