



(19) Országkód

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: P 92 03921

(22) A bejelentés napja: 1992. 12. 11.

(30) Elsőbbségi adatok:

91/15534 1991. 12. 13. FR

(40) A közzététel napja: 1995. 04. 28.

(45) A megadás meghirdetésének a dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1999. 05. 28.

(11) Lajstromszám:

216 193 B

(51) Int. Cl.⁶

A 61 K 31/165

(72) Feltaláló:
Lafon, Louis (FR)

(73) Szabadalmas:
Laboratoire L. Lafon, Maisons Alfort (FR)

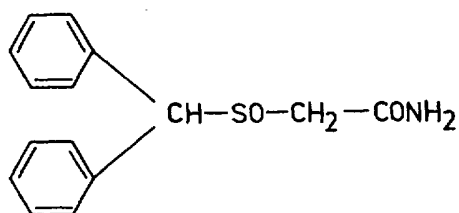
(74) Képvisező:
DANUBIA Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.,
Budapest

(54) **Eljárás isémia következményei ellen protektív hatású modafiniltartalmú
gyógyászati készítmények előállítására**

KIVONAT

Eljárás modafinilt tartalmazó gyógyászati készítmény előállítására, amelyre jellemző, hogy az ismert módon előállított modafinilt gyógyászati készítmények előállí-

tásánál szokásosan alkalmazott hordozó- és/vagy vivő-
anyaggal összekeverve isémia következményei ellen
protektív hatást kifejtő készítménnyé alakítják.



(I)

HU 216 193 B

A jelen találmány tárgya a modafinil új terápiás felhasználása.

Az (I) általános képletű vegyület a modafinil, melynek (benzohidril-szulfonil)-acetamid a kémiai neve.

Ezt a vegyületet és terápiás alkalmazását központi idegrendszerre ható aktív szerként az FR-A-2 385 693 számú szabadalmi leírás ismerteti. Közelebbről: a vegyület hiperaktivitással járó izgalmi állapot és hipermobilitás kiváltására alkalmas vizsgálataik szerint.

Azt találtuk, hogy a modafinil protektív hatást fejt ki az isémia agyszövetre kifejtett hatásával szemben, és ez a tulajdonsága felhasználható a terápiában, különösen az agyi infarktuszok és az akut és krónikus agyi isémiás állapotok kezelésében.

Így a jelen találmány tárgya a modafinil felhasználása olyan gyógyászati készítmény előállítására, amely alkalmas emberben az agyszövet isémia okozta károsodásának kivédésére, különösen az agyi isémiák kezelésére. Még közelebbről a jelen találmány tárgya szerinti, modafiniltartalmú készítmények felhasználhatók agyi katasztrófák hosszú távú kezelésére és a tranzien isémiás roham kezelésére.

Ez irányú felhasználásra a modafinilt különösen orális adagolásra alkalmas formában alkalmazhatjuk. Általában az alkalmazható dózis 1 mg/kg-tól 100 mg/kg-ig terjedhet.

A modafinil isémiaellenes hatását bemutató vizsgálatok eredményeit az alábbiakban ismertetjük:

1. A modafinil hatásai striatumkárosodásban, amit him Sprague-Dawley patkányoknál a neostriatum területén endothelin-1 (erősszehúzó szer) helyi befecskendezésével hoztunk létre akut, lokális szöveti isémia kiváltásával.

A kísérleti eljárást K. Fuxe és munkatársai ismertetik (Endothelin-1 induced lesions in the brain as a new model of focal ischaemia, Conn PM (ed) Methods in Neurosciences, 7. kötet). Röviden, a patkányokat elaltatjuk, és mesterséges úton lélegeztetjük őket. A patkányok fejét sztereotaxiás készülékbe helyezzük. Három elemet implantálunk lokálisan a neostriumba:

1. egy tűt az endothelin-1 (ET-1) mikroinjekciók kivitelezésére;

2. egy mikrodialíziszondát mikrominták nyerésére az extracelluláris részben felszabadult tejsav és piruvinsav biokémiai vizsgálatára, és végül

3. egy Doppler lézer mikroszondát, melynek célja a vérátáramlás mérése a károsodott területen.

A szisztémás artériás vérnyomást perifériásan vérnyomásmérővel mértük.

A neostriumban a hisztopatológiai eltéréseket az állatok eltávolított agyából határoztuk meg, miután az

állatokat hét nappal az endothelin-1 befecskendezése révén a lokális infarktusz indukálása után leöltük. A károsodott terület nagyságát az Agnati és munkatársai (Neuroscience, 1988, 26, 461-478) és Zoli és munkatársai (Develop. Brain Res. 1980, 51, 45-61) által közölt technikai leírás szerinti számítógéppel támogatott képanalizátor segítségével mértük. Anatomopatológiai szeleteket preparáltunk ultramikrokriotommal az egész neostriumból, minden 100 µm-ből egy 14 µm vékony szeletet véve. Az idegsejteket krezilibolyával (Nissl festés) festettük meg, a gliasejteket immunokémiai módszerrel glia fibrilláris savi protein (GFAP) segítségével jelöltük meg.

A modafinilt naponta adagoltuk intraperitoneálisan 10, 30 és 100 mg/kg dózisban, kétnapos periódusban. Az első injekció 30 perccel előzte meg az 1 µg/ml dózisú endothelin-1 injekcióját.

Továbbá biokémiai analízist (tejsav és piruvinsav) végeztünk, valamint a viselkedési vizsgálatokat végeztünk az azonos oldalra való forgó mozgások – amelyet intraperitoneális apomorfíninjekcióval váltottuk ki (1 mg/kg) – megfigyelésével.

Az I. táblázat mutatja a modafinilnak a károsodott részekre kifejtett hatását (mm³-ben kifejezve). A 30 és 100 mg/kg dózisok az isémiás károsodást szenvedett részek térfogatának dóziszfüggő csökkenését okozták.

I. táblázat

Kezelés (i. p.)	Dózis (mg/kg)	n	A károsodott terület Kresilibolya GFAP IR	
Oldószer		5	11,11±1,45	18,26±1,42
Modafinil	10	5	9,05±0,39	14,18±1,31
Modafinil	30	4	5,49±1,09	9,01±0,80
Modafinil	100	5	3,07±0,68	4,46±0,61

Az anatomo- és hisztopatológiai vizsgálatok azt mutatták, hogy az idegsejtek – különösen közvetlenül a szövetelhalás környezetében – nagyobb számban fordulnak elő, mint a kontrollállatoknál, és a nem isémiás területek neuronjaihoz hasonló troficitást mutatnak. Továbbá a glia infiltráció a károsodás területén és környékén kevésbé intenzív a modafinillel kezelt állatokban.

A II. táblázat összefoglalja a neostriatum vérátáramlás-értékeinek és a szisztolés artériás vérnyomás perifériás értékeinek eredményeit. Ezek az adatok azt mutatják, hogy a modafinil nincs hatással a véráramlásra. Így a modafinil isémiaellenes hatása független helyi szöveti átáramlásra való hatástól és nem kapcsolódik haemodinamikai effektushoz.

II. táblázat

Az ET-1 injekciója utáni idő %-os változás								
Kezelés (i. p.)	Dózis (mg/kg)	10	20	40	60	80	100	120
Vérátáramlás								
Oldószer (n=6)		-14,26±3,9	-52,0±15,1	-44,1±12,2	-35,9±5,9	-34,2±5,9	-32,7±5,3	-32,7±5,5

II. táblázat (folytatás)

Az ET-1 injektálása utáni idő %-os változás								
Kezelés (i. p.)	Dózis (mg/kg)	10	20	40	60	80	100	120
Modafinil (n=6)	100	-31,8±15,5	-38,6±11,5	-36,5±9,2	-38,2±12,3	-30,0±11,8	-21,2±12,5	-18,5±13,8
Modafinil (n=5)	30	-13,5±14,1	-28,5±19,4	-31,8±13,4	-42,3±15,8	-39,5±12,8	-31,3±12,6	-27,6±12,9
Modafinil (n=5)	10	-26,3±18,6	-40,4±15,5	-43,4±14,9	-43,8±12,4	-38,9±14,6	-32,5±16,2	-31,7±16,2
Artériás vérnyomás								
Oldószer (n=6)		0,8±3,2	-0,7±3,2	0,3±2,3	-0,4±2,7	-3,0±2,2	-0,3±2,0	-1,2±1,9
Modafinil (n=6)	100	-0,2±2,4	-1,7±2,4	1,5±1,5	-2,9±1,1	0,5±1,9	0,5±2,4	-0,5±2,6
Modafinil (n=5)	30	-0,4±1,7	-0,4±2,4	-0,3±2,1	-1,5±1,2	-2,1±3,1	-0,5±2,2	-1,2±3,1
Modafinil (n=5)	10	0,8±1,6	5,3±4,5	-4,3±3,8	-0,8±1,9	1,2±2,6	2,1±2,1	-0,4±1,8

A biokémiai adatokat a III. táblázat összegzi. A modafinil hozzávetőlegesen dózisfüggő csökkenést okoz a tejsav extracelluláris térbe jutásának endothelin-1 indu-

kálta növekedésében. Az extracelluláris piruvinsav-koncentrációt nem módosítja a modafinil.

III. táblázat

Laktát						
Kezelés	Dózis	n	Kezdeti érték (mM)	Növekedés Csúcs* (%) AUC**		
Oldószer		6	257,7±64,4	279,5±59,9		54 748±11 588
Modafinil	10	5	250,6±76,4	264,3±105,6		45 609±8037
Modafinil	30	5	254,7±77,0	219,0±66,3		32 314±9057
Modafinil	100	6	265,5±77,5	137,0±45,3		20 147±4992
Piruvát						
Kezelés	Dózis	n	Kezdeti érték (nM)	Növekedés Csúcs (%) AUC**		Csökkenés Csúcs (%) AUC**
Oldószer		6	10,4±2,4	29,7±7,7	220,7±154,5	-30,6±10,7 -209,1±99,0
Modafinil	10	5	9,8±1,4	29,5±13,2	106,6±51,0	-35,2±11,3 -196,3±82,9
Modafinil	30	5	10,7±2,5	35,0±16,0	80,0±34,0	-35,9±5,0 -277,7±142,7
Modafinil	100	6	10,2±2,6	13,0±8,2	99,0±90,1	-24,2±6,6 -101,4±29,9

A tejsav-koncentráció csökkenése a károsodott területen belüli extracelluláris térben, ahol vérátáramlás csökkent, arra utal, hogy a modafinil felelős a rendelkezésre álló oxigén hasznosításából származó jótékony hatásért, ami kedvező a funkciós neurontroficitás szempontjából.

Vizsgáltuk továbbá a modafinilkezelés hatását az apomorfín indukálta azonos oldali forgó mozgásra patkányban, unilaterális endothelin-1 (ET-1) indukálta neostriatumkárosodás esetén.

A magatartást az ET-1 injekció utáni 6. napon vizsgáltuk. 1 mg/kg nem szelektív dopaminreceptor-agonista apomorfín-hidrokloridot fecskendeztünk bőr alá

(S. C.) a nyakba 1 órával a napi modafinil beadása után. Az apomorfín indukálta azonos oldalra való forgó mozgást rotométerben mértük (Ungerstedt és Arbuthnott, 1970). A forgások számát (360°-os fordulat) 5 perces intervallumokban rögzítettük 60 perc összsidőtartamon át. A substantia nigra területén 4 héttel korábban azonos oldalon 6-hidroxi-dopaminnal károsított patkányokon végzett kísérletekben a modafinil 30–100 mg/kg dózisban nem változtatta meg az apomorfín és amfetamin indukálta forgási szokásokat, ha harminc perccel a dopaminerg szerek előtt alkalmaztuk.

A területi értékeket (átlalános hatások) amit a görbe az alapvonallal alkot, középérték+SEM-értékek-

kel fejezzük ki, önkényesen választott mértékegységben. A csúcsértékeket (maximális válaszok) a forgások számával (360°-os fordulat/5 perc) fejezzük ki. Statisztikai analízist végeztünk a nem paraméteres teszttel, a kezelték és a kontroll összevetésével (* $P < 0,05$) és a

Jonckheere–Terpstra-teszt (JT) segítségével a dózisfüggő hatásokra vonatkozóan (szignifikancia a táblázatban feltüntetve).

Az adatokat a IV. táblázat összegzi.

IV. táblázat

Kezelés	Dózis (mg/kg)	n	Fordulás azonos oldalra	
			csúcs	terület
Oldószer		5	57,2±3,3	1701,0±34,2
Modafinil	10	5	41,4±7,6 *	1237,5±325,0 *
Modafinil	30	5	26,2±0,8 *	706,0±61,4 *
Modafinil	100	5	11,2±2,4	276,0±87,9
			JT: $P < 0,01$	JT: $P < 0,01$

A viselkedés vizsgálata, amit az apomorfín indukálta azonos oldalra való forgómozgások mérésével illusztráltuk, azt mutatta, hogy a modafinil hozzávetőlegesen dózisfüggő módon gátolja az azonos oldalra való forgó mozgásokat endotelin-1 indukálta striatumkárosodott patkányokban. A gátlás 100 mg/kg dózisonál teljes.

A hiszto-anatomopathológiai, biokémiai és viselkedésvizsgálatok eredményei összhangban vannak, és demonstrálják, hogy a modafinil antiisémias hatást fejt ki az idegsejt vitalitására, troficitására és funkciójára vonatkozó direkt vagy indirekt hatás révén, valamint a károsodott területen és környékén a gliareakció csökkentése révén.

Végeztünk továbbá fotokémiai úton indukált cerebrális infarktusra vonatkozó vizsgálatokat is.

Ezekben a vizsgálatokban a fotokémiai agyi katasztrófamodellt használtuk fel, amit Marc De Rick és munkatársai ismertettek Stroke (20, IV, 1383).

A hátsó láb botlásának vizsgálata:

Az V. táblázat mutatja be hatnapos modafinilkezelés hatását egy megemelt gerendán történő ellenoldali hátsóláb-botlások előfordulásának számára Sprague-Dawley patkányok szenzomotoros kortexének fotokémiai úton előidézett trombózisa után.

V. táblázat

Hátsóláb-botlások (ellentétes oldal)			
Patkány	Kontroll	Patkány	Modafinil (100 mg/kg)
1	9	15	8
2	9	16	10
3	14	17	10
4	9	18	7
5	9	19	8

Hátsóláb-botlások (ellentétes oldal)			
Patkány	Kontroll	Patkány	Modafinil (100 mg/kg)
6	16	20	8
7	12	21	7
8	11	22	5
9	9	23	7
10	7	24	8
11	10	25	5
12	11	26	2
13	10	27	7
14	6		7 (5–8)*
40	9,5 (9–11)		

* $p < 0,025$

Amint az V. táblázatban látható, a Sprague-Dawley patkányok 10–100 mg/kg oldószert modafinilkezelése dózissal összefüggő csökkenést okoz az ellenkező oldali hátsóláb-botlások számában a 7. napon, a napi modafinilkezelést követően. A hatás 100 mg/kg modafinil esetén válik szignifikánssá.

Ezek a hátsóláb-botlással kapcsolatos eredmények azt mutatják, hogy a 6 napos modafinilkezelés képes csökkenteni a diaschisisjelenséget (másodlagos elváltozások más agyi területeken), ami az agyi katasztrófa következménye.

A forgó mozgások vizsgálata:

A VI. táblázat mutatja be a hatnapos modafinilkezelés eredményeit olyan Sprague-Dawley patkányok apomorfín indukálta ellenoldalra való forgó mozgásaira, amelyeknél fotokémiai úton a szenzomotoros kortextben trombózist idéztünk elő.

VI. táblázat

Oldószer			Modafinil (100 mg/kg)	
Patkány	Teljes fordulatok	Csúcs	Teljes fordulatok	Csúcs
1	79	2,4	145	4,6
2	80	2,5	136	4,9
3	123	3,3	201	6,0
4	19	0,5	26	1,2
5	98	3,0	114	4,0
6	56	2,1	55	1,9
7	84	2,6	142	5,5
8	64	2,3	47	1,7
9	69	2,2	86	2,4
10	47	1,0	106	2,5
11	48	1,8	54	2,3
12	72	2,4	160	4,9
13	14	1,7	62	2,0
14	18	1,4	150	4,1
	62±8,4	2,1±0,2	106±13,9**	3,4±4,2**

**p<0,01

A VII. táblázat mutatja be hatnapos, különböző dózisú modafinilkezelés eredményeit olyan Sprague-Dowley patkányok apomorfín indukálta ellenoldalra való forgó mozgásaira, amelyeknél fotokémiai úton trombózt idéztünk elő a szenzomotoros kéregben.

VII. táblázat

Kezelés	Dózis (mg/kg)	Ellenoldalra való fordulások	
		Teljes fordulatok	Csúcs fordulat/perc/patkány
Oldószer		44,6±10,0	1,7±0,2
Modafinil	10	44,3±12,5	1,7±0,3
Modafinil	30	91,6±20,7	2,8±0,6
Modafinil	100	102,9±17,9	3,0±0,5
Joncheere-Terpstra-teszt		p<0,01	p<0,05

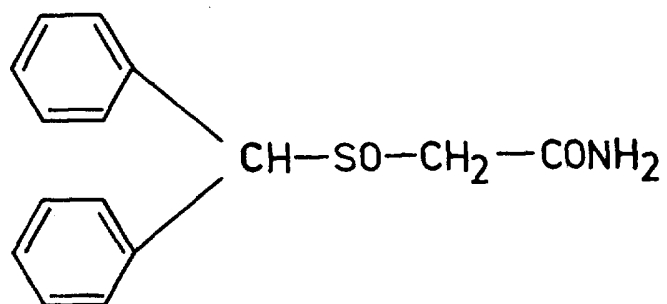
Az az eredmény, hogy a hatnapos modafinilkezelés dóziszfüggő módon képes befolyásolni az olyan patkányok ellenoldalra irányuló apomorfín indukálta forgó mozgását, amelyek szenzomotoros kortexében helyi isémia állt fenn, jelentős érdeklődésre tarthat számot.

Az eredmények azt mutatják, hogy amellet, hogy a kortex fokális isémiája révén sok kortikostriatalis glutamátrost tűnik el, úgy tűnik, hogy a hatnapos modafinilkezelés szenzitívve teszi a striatum idegsejtjeit az apomorfín által létrehozott dopaminerg hatásra, ami többek között a DA receptor hatás meghosszabbodásához vezet.

Összegezve, a fotokémiai agyikatasztrófa-modell révén nyert tapasztalatok azt mutatják, hogy a hatnapos modafinilkezelés csökkentheti a diaschisis jelenségét, és képes biztosítani a motoros működés helyreállítását egy neokortikális infarktus után, anélkül, hogy megváltoztatná az elhalt terület kiterjedését vagy az astroglia és a mikroglia reakciót, amint azt főleg a károsodás utáni 7. napon észleltük. Mindazonáltal 4 óra múlva egy morfológiai protektív hatást fejthet ki a modafinil (100 mg/kg).

SZABADALMI IGÉNYPONT

Eljárás modafinilt tartalmazó gyógyászati készítmény előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az ismert módon előállított modafinilt gyógyászati készítmények előállításánál szokásosan alkalmazott hordozó- és/vagy vivőanyaggal összekeverve isémia következményei ellen protektív hatást kifejtő készítménnyé alakítjuk.



(1)