

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

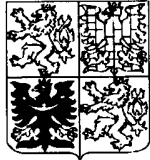
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2250-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **16. 01. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **18.01.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/9600216**

(33) Země priority: **SE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14. 10. 98**
(**Věstník č. 10/98**)

(86) PCT číslo: **PCT/SE97/00057**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/25994**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K	31/725
A 61 K	38/00
A 61 L	31/00
A 61 L	33/00

(71) Přihlášovatel:

HANSSON Hans-Arne, Hovás, SE;

(72) Původce:

Hansson Hans-Arne, Hovás, SE;

(74) Zástupce:

**Hakr Eduard Ing., Přístavní 24, Praha 7,
17000;**

(54) Název přihlášky vynálezu:

Řízení hojivého procesu

(57) Anotace:

Použití inhibitoru trombinu pro výrobu produktu pro použití při řízení tělesných ranných hojivých procesů, zejména pro inhibici nebo prevenci adhezí spojených s fibrinem, a/nebo tvorby tkáně jizvy, a produktů obsahujících polysacharidy /např. chitosany/ a inhibitory trombinu s nízkou molekulovou hmotností založené na peptidu pro použití pro řízení tělesných ranných hojivých procesů.

CZ 2250-98 A3

Řízení hojivého procesu

Oblast techniky

Tento vynález se týká použití známých farmaceuticky aktivních sloučenin pro výrobu produktu pro použití pro řízení tělesných ranných hojivých procesů zejména při prevenci adhezí (srůstů) a/nebo tvorby tkáně jizvy, pocházející z fyzikálního traumatu, včetně poranění, chirurgického výkonu a popálenin, a také ze zánětu, a dále farmaceutických produktů pro použití pro řízení tělesných ranných hojivých procesů.

Dosavadní stav techniky

Relativní pohyblivost mnoha orgánů lidského těla je nezbytným předpokladem optimální funkce. V tomto ohledu je důležité, že jsou tyto orgány schopné se pohybovat a klouzat vzhledem k sousedním orgánům a/nebo vzhledem k tělesným dutinám, ve kterých jsou uzavřeny. Například, kdyby nebyly jícnem, žaludek, střeva, játra a orgány urogenitálního traktu alespoň částečně pohyblivé vzhledem k sousedním orgánům a břišní stěně a bránici, nastaly by funkční poruchy, jako je omezení dýchacích pohybů, omezený pohyb nitrobřišních struktur, střevní obstrukce a/nebo neplodnost.

Jestliže orgán utrpí fyzikální trauma, jako je poranění, chirurgický výkon, popálenina nebo elektrický šok, nebo prodělá zánět jako následek patogenní příčiny, je jedním z nevyhnutelných následků hojivých a zánětlivých procesů, které následují, tvorba adhezí a tkáně jizvy, které mohou přirozeně omezit výše zmíněnou pohyblivost orgánu.

Adheze a tkáň jizvy se tvoří jako následek tvorby fibrinové sítě s adherovanými destičkami po fyzikálním poranění nebo patogenním zánětu, a následné přestavby a nahrazení této sítě granulační tkání.

Složitá a typicky vysoce nepravidelná struktura fibrinové sítě s adherovanými destičkami tvořené v časném stadiu po traumatu nebo jako následek zánětu, je klíčově důležitá v průběhu každého hojivého procesu. Každá fyzikální struktura, zejména filamenta a membrány, bez ohledu na to, zda jsou difúzní nebo ostře ohraničené, působí jako vodič pro invadující granulační tkáň. Tato nově tvořená tkáň je, v souladu s mechanismem popsáným výše, nakonec přestavěna na tkáň jizvy, uspořádanou jako fibrózní vlákna nebo membrány. Buňky invadující granulační tkáň nemohou prakticky nikdy plně nahradit původní buňky a v důsledku toho tkáň není nikdy regenerována, ale pouze opravena. To platí jak pro kůži tak pro mukózní membrány, včetně těch, které lemují tělesné dutiny, a také pro další struktury, včetně svalů, šlach a nervů. Kromě toho takto vytvořená tkáň jizvy se může časem kontrahovat a zůstat kontrahovaná, deformující a narušující poraněnou oblast.

Proliferace a invaze fibrinových vláken dokonce jen několika buňkami granulační tkáň (včetně angiogenních buněk) je obvykle postačující pro vyvolání tvorby adhezí. Směr, hustota a uspořádání jednotlivých fibrinových vláken ve fibrinové síti s adherovanými destičkami sraženiny poskytuje informaci a určuje dráhu, kterou směřují invadující buňky granulační tkáň, a také specifické buňky jako jsou Schwannovy buňky. Mezibuněčný fibrin se může ukládat, přilepit a vytvořit abnormální spojení mezi sousedními strukturami.

Tedy struktura fibrinové sítě s adherovanými destičkami je klíčově důležitá pro navedení invadující granulační tkáně a tedy i pro tvorbu adhezí a tkáně jizvy.

Evropská patentová přihláška EP 0 051 354 popisuje polymerovou látku obalenou polysacharidem chitosanem, ke kterému je připojen antitrombotický přípravek heparin.

Patent Spojených Států č. 5 116 824 popisuje směsnou látku obsahující N-acylchitosan a kolagen, která je vhodná pro krytí ran. Heparin může být začleněn jako antitrombotický přípravek.

Žádný z těchto dokumentů dosavadního stavu techniky nevyjevuje použití zařízení popsaného zde pro prevenci tvorby adhezí a/nebo tkáně jizvy po fyzikálním traumatu, jako je poranění nebo chirurgický výkon nebo patogenní zánět. Kromě toho není zmíněno použití inhibitorů trombinu, zvláště inhibitorů trombinu s nízkou molekulovou hmotností.

Dále nebylo ani vyjeveno ani navrženo možné kombinované použití fibrinolytických přípravků a polysacharidů pro prevenci tvorby adhezí a/nebo tkáně jizvy.

Podstata vynálezu

Překvapivě jsme zjistili, že inhibitory trombinu významně inhibují nebo zabraňují tvorbě adhezí a/nebo tkáně jizvy po fyzikálním traumatu nebo patogenním zánětu, a mohou tedy být použity při řízení ranného hojivého procesu v těle.

První aspekt vynálezu poskytuje použití inhibitoru trombinu pro výrobu produktu pro použití pro řízení tělesného ranného hojivého procesu.

Zjistili jsme konkrétně, že pro inhibici nebo prevenci adheze spojené s fibrinem a/nebo tvorby tkáně jizvy jako

následek fyzikálního traumatu nebo patogenního zánětu mohou být použity inhibitory trombinu.

Termínem „adheze spojené s fibrinem“ míníme adhezi plynoucí z vytvoření fibrinové sítě s adherovanými destičkami (tj. sítě z fibrinu a buněk včetně destiček) po fyzikálním traumatu nebo patogenním zánětu, jak bylo popsáno dříve v tomto textu.

Zjistili jsme, že inhibitory trombinu mohou být použity pro inhibici nebo prevenci tvorby adheze spojené s fibrinem a/nebo tkáně jizvy po fyzikálním traumatu, včetně fyzikálního poranění kůže nebo vnitřních orgánů, včetně náhodného poranění, chirurgického výkonu, včetně laparoskopických chirurgických výkonů, „otevřených“ konvenčních chirurgických výkonů gastrointestinálního traktu a gynekologických výkonů, chirurgických výkonů při nádorových onemocněních, ortopedických výkonů, (např. léčba zlomenin, implantace protéz, výkony na šlachách, svalech a vazech), neurochirurgie, kardiochirurgie a hrudní nebo úrazové chirurgie a zavedení katétrů, tepelném traumatu, včetně popálenin, chemickém traumatu, včetně expozice leptavým, kyselým nebo zásaditým látkám, a elektrického šoku.

Kromě toho jsme zjistili, že inhibitory trombinu mohou být použity pro inhibici nebo prevenci tvorby adheze spojené s fibrinem a/nebo tkáně jizvy plynoucí z patogenního zánětu, včetně zánětu vzniklého jako následek chorobných stavů, jako jsou revmatoidní onemocnění, systémové zánětlivé reakce a autoimunitní nemoci.

Další aspekt vynálezu poskytuje způsob inhibice nebo prevence adheze spojené s fibrinem a/nebo tvorby tkáně jizvy, tento způsob zahrnuje podávání inhibitoru trombinu pacientovi, který tuto inhibici či prevenci potřebuje.

V případě chirurgického výkonu nebo patogenního zánětu může „podávání“ nastat dle vhodnosti před, po nebo během chirurgického výkonu nebo na počátku chorobného stavu.

Inhibitor trombinu může být podáván buď lokálně nebo systémově, ve formě farmaceutického přípravku obsahujícího inhibitor trombinu ve farmaceuticky přijatelné dávkové formě. Dávkové formy, které mohou být použity pro lokální nebo systémové podávání zahrnují ty, které jsou odborníkům dobře známy, například jak je popsáno v Lachman et al., „Theory and Practice of Industrial Pharmacy“, Lea a Febiger, 1986.

Termínem „farmaceuticky přijatelná dávková forma“ míníme dávkovou formu, která je sterilní a výhodně nepyrogeenní.

Konkrétně jsme zjistili, že ve srovnání s podáváním samotného polysacharidu má společné podávání polysacharidu a inhibitoru trombinu za následek inhibici nebo prevenci adheze spojené s fibrinem a/nebo tvorby tkáně jizvy.

Podle dalšího aspektu vynálezu se tedy poskytuje způsob inhibice nebo prevence adheze spojené s fibrinem a/nebo tvorby tkáně jizvy, přičemž tento způsob obsahuje společné podávání polysacharidu a inhibitoru trombinu pacientovi, který tuto inhibici či prevenci potřebuje.

Inhibitor trombinu může být společně podáván s polysacharidem buď lokálně nebo systémově. Kromě toho se může společné podávání uskutečnit odděleně, tj. nezávislým podáváním inhibitoru trombinu před, po nebo ve stejný čas jako podávání polysacharidu, vhodným způsobem, například v případě lokální aplikace podáváním nebo infundováním roztoku inhibitoru trombinu prostřednictvím polysacharidového produktu. Jako alternativa v případě lokální aplikace může být inhibitor trombinu připojen k polysacharidu vhodným způsobem, např. impregnací, fyzikální nebo chemickou vazbou.

Vhodné inhibitory trombinu pro použití pro inhibici nebo prevenci adheze spojené s fibrinem a/nebo tkáně jizvy zahrnují hirudin a fragmenty hirudinu (tj. ty, které mají alespoň 8 aminokyselin na karboxylovém konci, např. fragment obsahující poslední aminokyseliny C-koncové části známé sekvence hirudinu), biosyntetické analogy hirudinu (např. takové, které mají až od 10 do 12 aminokyselin, některé z nich jsou komerčně dostupné), protein NAPc2, a inhibitory trombinu s nízkou molekulovou hmotností založené na peptidech.

Výhodné inhibitory trombinu zahrnují inhibitory trombinu s nízkou molekulovou hmotností založené na peptidech. Odborníkovi je známo, že termín „inhibitory trombinu s nízkou molekulovou hmotností založené na peptidech“ zahrnuje inhibitory trombinu s jednou až čtyřmi peptidovými vazbami, a/nebo s molekulovou hmotností pod 1000, a zahrnuje inhibitory, které jsou popsány v přehledu Claessona v Blood Coagul. Fibrin., 1994, 5, 411, a také inhibitory objevené a popsané v patentu Spojených Států č. 4 346 078, mezinárodních patentových přihláškách WO 93/11152, WO 95/23609, WO 95/35309, WO 96/25426, WO 94/29336, WO 93/18060 a WO 95/01168, a evropských patentových přihláškách 648 780, 468 231, 559 046, 641 779, 185 390, 526 877, 542 525, 195 212, 362 002, 364 344, 530 167, 293 881, 686 642, 669 317 a 601 459.

Výhodné inhibitory trombinu s nízkou molekulovou hmotností založené na peptidech zahrnují ty, které jsou obecně známy jako „gatraný“. Konkrétní gatraný, které mohou být zmíněny, zahrnují $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag-H}$ (známý jako inogatran, viz mezinárodní patentovou přihlášku WO 93/11152 a v ní seznam zkratek) a $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cgl-Aze-Pab-H}$ (známý jako melagatran, viz mezinárodní patentovou přihlášku

WO 94/29336 a v ní seznam zkratk). Výhodné inhibitory trombinu zahrnují konkrétně melagatran.

Při inhibici nebo prevenci tvorby adhezí spojených s fibrinem a/nebo tkáně jizvy závisí vhodné dávky inhibitorů trombinu na použitém inhibitoru trombinu, vážnosti léčené choroby, stavu léčeného pacienta a způsobu podání. Vhodné dávky jsou ty, při nichž se dosahuje průměrné plazmatické koncentrace v rozmezí 0,001 až 100 $\mu\text{mol/l}$, výhodně 0,005 až 20 $\mu\text{mol/l}$ a zejména 0,009 až 15 $\mu\text{mol/l}$ po dobu, po kterou je nezbytná léčba. Vhodné dávky pro inogatran jsou ty, které dosahují průměrné plazmatické koncentrace v rozmezí 0,1 až 10 $\mu\text{mol/l}$ a výhodně 0,5 až 2 $\mu\text{mol/l}$, vhodné dávky pro melagatran jsou ty, které dosahují průměrné plazmatické koncentrace v rozmezí 0,01 až 5 $\mu\text{mol/l}$ a výhodně 0,1 až 1 $\mu\text{mol/l}$.

O žádném z inhibitorů trombinu založeném na peptidech s nízkou molekulovou hmotností, včetně inogatranu a melagatranu, nebylo dle přihlašovatelovy znalosti doposud publikováno, že ovlivňuje aktivaci a agregaci trombocytů, a tudíž tvorbu tkáně jizvy a adhezí pojivové tkáně.

Další aspekt vynálezu tedy poskytuje použití inhibitorů trombinu s nízkou molekulovou hmotností založených na peptidech pro zabránění nebo omezení aktivace a agregace trombocytů.

Shledali jsme, že použití fibrinolytického přípravku, navíc k inhibitoru trombinu nebo místo něj, má také za následek inhibici nebo prevenci adheze spojené s fibrinem a/nebo tvorby tkáně jizvy. Konkrétně jsme zjistili, že společné podávání polysacharidu a fibrinolytického přípravku, navíc k inhibitoru trombinu nebo místo něj, má také za následek inhibici nebo prevenci adheze spojené s fibrinem a/nebo tvorby tkáně jizvy.

Příklady fibrinolytických přípravků, které mohou být použity, zahrnují aktivátory plazminogenu (tPA), streptokinázu a urokinázu.

Vhodné polysacharidy, které mohou být použity, zahrnují ty, které jsou vhodné pro řízení ranných hojivých procesů, například tedy ty, které se považují odborníkem za vhodné pro výrobu ve fyzikálních formách popsaných níže, a tak usnadňují aplikaci polysacharidu na ránu. Konkrétní polysacharidy, které mohou být uvedeny, zahrnují chitosany, hyaluronany, chondroitinsulfáty, dermatansulfáty, keratansulfáty a heparansulfáty. Výhodné polysacharidy zahrnují chitosany.

Polysacharidy mohou být vyráběny v různých druzích fyzikálních forem, v závislosti na léčené části těla, v souladu s technikami, které jsou odborníkům dobře známy. Fyzikální formy, které mohou být uvedeny, zahrnují filmy, membrány, gely, roztoky, vlákna, tyčinky nebo trubičky jakéhokoliv rozměru. Avšak my preferujeme polysacharid ve formě filmu, membrány nebo gelu.

V dalším aspektu vynález poskytuje farmaceutický produkt obsahující polysacharid a inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidech.

Produkty, jak jsou zde definované, mají výhodu, že významně inhibují a/nebo zabraňují tvorbě adhezí spojených s fibrinem a/nebo tkáně jizvy, jak popsáno níže. Produkty mohou také mít tu výhodu, že jsou účinnější, vyvolávají méně vedlejších účinků nebo mohou mít další užitečné farmakologické vlastnosti ve srovnání s podobnými produkty známými z dosavadního stavu techniky.

Vynález je ilustrován pomocí následujících příkladů, které ho však žádným způsobem neomezují. Tabulka 1 zobrazuje inhibici adheze spojené s fibrinem za použití inhibitoru trombinu inogatranu.

Příklady provedení vynálezu

Pokusy na zvířatech se prováděly v souladu s etickým povolením O 68/95, 69/95 a 70/95, uděleným Etickým výborem pro pokusy na zvířatech Univerzity Gothenberg.

Příklad 1

Poranění serózního povrchu žaludku anestetizovaného dospělého laboratorního potkana vyvolané působením 80% kyseliny octové na oblast o průměru 7 mm po dobu 60 sekund mělo opakovaně za následek vytvoření silných a rozsáhlých adhezí, spojujících a pevně připojujících žaludek ke střevu, omentu, játrům a méně obvykle ke slezině.

Příklad 2

Serózní povrch žaludku dospělého anestetizovaného laboratorního potkana byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund. Po opláchnutí pufrovaným fyziologickým roztokem byla oblast přikryta chitosanovou membránou, nebo v alternativním pokuse gelem, s průměrem o několik milimetrů větším než poraněná oblast. Bylo pozorováno, že se snížil počet a velikost vytvořených adhezí, které byly spojeny s játry, střevy a omentem.

Příklad 3

Serózní povrch žaludku dospělého anestetizovaného laboratorního potkana byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund. Po

opláchnutí pufrovaným fyziologickým roztokem byla oblast přikryta chitosanovou membránou, nebo v alternativním pokuse gelem, s průměrem o několik milimetrů větším než poraněná oblast. Na membránu se denně kapalo 100 μ l roztoku inhibitoru trombinu $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cgl-Aze-Pab-H}$ (melagatran, 100-500 μ g/ml, rozpuštěný ve fyziologickém roztoku pufrovaném fosfátem). V žádném případě nebyla vytvořena absolutně žádná přemostující tkáň, tj. adheze v důsledku náhrady fibrinových vláken granulační tkání, mezi žaludkem a játry, střevy a omentem po 2 až 5 dnech.

Příklad 4

Serózní povrch žaludku dospělého anestezovaného laboratorního potkana byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund. Po opláchnutí pufrovaným fyziologickým roztokem byla do peritoneální dutiny implantována osmotická minipumpa (Alza 2001, objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem melagatranu, 2-100 μ g/ml), dodávající 100 μ l roztoku po dobu téměř týdne. Ve všech případech se vytvořily pouze nesouvislé jemné adheze z fibrinu, destiček a dalších krevních buněk a z nově vytvořené granulační tkáně mezi žaludkem a játry, střevy a omentem během následujících až 10 dnů ošetření, občas byl nalezen náhodný velký svazek granulační tkáně.

Příklad 5

Serózní povrch žaludku dospělého anestezovaného laboratorního potkana byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund. Po

opláchnutí pufrovaným fyziologickým roztokem byla do peritoneální dutiny implantována osmotická minipumpa (Alza 2001, objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem inhibitoru trombinu melagatranu, 2-100 μ g/ml) a týden dodávala 100 μ l roztoku, s ventilem pumpy připojeným k chitosanové membráně, nebo v alternativním pokuse ke gelu, s průměrem o několik milimetrů větším než poraněná oblast. Nebyla detekována ani fibrinová síťka ani pruhy granulační tkáně mezi žaludkem a játry, střevy a omentem po dobu sledování až 10 dnů.

Příklad 6

Serózní povrch žaludku dospělého anestezovaného laboratorního potkana byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund. Po opláchnutí pufrovaným fyziologickým roztokem byla do peritoneální dutiny implantována osmotická minipumpa (Alza 2001, objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem inhibitoru trombinu melagatranu, 2-100 μ g/ml), ventil pumpy se ponechával otevřený a dodával obsah pumpy do břišní dutiny. Poraněná oblast byla přikryta chitosanovou membránou, nebo v alternativním pokuse gelem, s průměrem o několik milimetrů větším než poraněná oblast. Nebyla detekována ani fibrinová síťka ani pruhy granulační tkáně mezi žaludkem a játry, střevy a omentem po dobu sledování až 10 dnů.

Příklad 7

Serózní povrch žaludku dospělého anestetizovaného laboratorního potkana byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund. Po opláchnutí pufrovaným fyziologickým roztokem byla poraněná oblast překryta chitosanovou membránou, nebo v alternativním pokuse gelem, s průměrem o několik milimetrů větším než poraněná oblast. Subkutánně byla implantována osmotická minipumpa (Alza 2001, objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem inhibitoru trombinu melagatranu, 2-100 μ g/ml), ventil pumpy se ponechával otevřený a dodával obsah pumpy do sousední tkáně. Nebyla detekována ani fibrinová síťka ani pruhy granulační tkáně mezi žaludkem a játry, střevy a omentem po dobu sledování až 14 dnů.

Příklad 8

Serózní povrch žaludku dospělého anestetizovaného laboratorního potkana byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund. Po opláchnutí pufrovaným fyziologickým roztokem byla poraněná oblast překryta chitosanovou membránou, nebo v alternativním pokuse gelem, s průměrem o několik milimetrů větším než poraněná oblast. Do peritoneální dutiny byla implantována osmotická minipumpa (Alza 2001, objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem streptokinázy zakoupené od Sigma Chemical Co, St. Louis, Mo, USA) s ventilem pumpy spojeným s povrchem chitosanové membrány a otevřeným na ni. Nebyla detekována ani fibrinová síťka s adherovanými destičkami ani pruhy

granulační tkáň mezi žaludkem a játry, střevy a omentem po dobu sledování až 10 dnů.

Příklad 9

Serózní povrch žaludku dospělého anestezovaného laboratorního potkana byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund. Po opláchnutí pufovaným fyziologickým roztokem byla poraněná oblast přikryta chitosanovou membránou, nebo v alternativním pokuse gelem, s průměrem o několik milimetrů větším než poraněná oblast. Do peritoneální dutiny byla implantována osmotická minipumpa (Alza 2001, objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem streptokinázy zakoupené od Sigma Chemical Co, St. Louis, Mo, USA) s ventilem pumpy udržovaným volným a otevřeným. Nebyla detekována ani fibrinová síťka ani pruhy nově vytvořené granulační tkáň spojující žaludek s játry, střevy a omentem po dobu sledování až 14 dnů.

Příklad 10

Serózní povrch žaludku dospělého anestezovaného laboratorního potkana byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund. Po opláchnutí pufovaným fyziologickým roztokem byla poraněná oblast přikryta chitosanovou membránou, která měla průměr o několik milimetrů větší než poraněná oblast. Do peritoneální dutiny byla implantována osmotická minipumpa (Alza 2001, objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem actilyse® (rekombinantní lidský tkáňový aktivátor

plazminogenu, Boehringer Ingelheim) s ventilem pumpy udržovaným volným a otevřeným. Nebyla detekována ani fibrinová síťka ani pruhy nově vytvořené granulační tkáně spojující žaludek s játry, střevy a omentem po dobu sledování až 14 dnů.

Příklad 11

U dospělého anestezovaného laboratorního potkana byl proveden řez ve stehně přes kůži do svalové tkáně a v definované oblasti (asi 10 x 15 mm) byla chirurgicky odstraněna svalová fascie. Rána byla uzavřena stehem a nakonec po 10 dnech otevřena pro pozorování. Byly rozeznány početné adheze a zjištěn výskyt granulační tkáně, která spojovala a připojovala poraněnou oblast k sousedním svalům, svalovým fasciím, cévám a nervům, a také ke kůži.

Příklad 12

U dospělého anestezovaného laboratorního potkana byl proveden řez ve stehně přes kůži do svalové tkáně a v definované oblasti (asi 10 x 15 mm) byla chirurgicky odstraněna svalová fascie. Svalová fascie byla pokryta chitosanovou membránou, nebo v alternativním pokuse gelem, ke kterému byla připojena hadička z osmotické minipumpy, která byla implantována subkutánně (Alza 2001, celkový objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem inhibitoru trombinu melagatranu, 0,2-100 μ g/ml). Rána byla poté uzavřena stehem a nakonec po 10 dnech otevřena a pozorována. Vážnost a rozměry adhezí vytvořených mezi sousedními strukturami byly výrazně sníženy. Granulační tkáň byla přítomna zhruba

v normálním rozsahu a distribuci, ale převážně nebyla spojující a nepřipojovala poraněnou oblast k sousedním svalům, svalovým fasciím, cévám a nervům nebo kůži, při srovnání s neošetřenými zvířaty a jak popsáno v příkladu 11 výše.

Příklad 13

Serózní povrch žaludku dospělých anestetizovaných laboratorních potkanů byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund, a poté opláchnut pufrovaným fyziologickým roztokem. Jedna nebo více osmotických minipump (Alza 2001, objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, nebo Alza 2ML1, objem asi 2000 μ l, rychlost pumpování asi 10 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem inhibitoru trombinu inogatranu, 65,86 μ g/ μ l) byly týden implantovány do břišní dutiny a ventil pumpy byl ponechán volný v břišní dutině v sousedství poraněné oblasti. Nebyla detekována ani fibrinová síťka ani pruhy granulační tkáně mezi žaludkem a játry, střevy a omentem po dobu sledování až 10 dnů, při plazmatických koncentracích alespoň 0,5 μ mol/l (viz tabulka 1). Tvorbě adhezí bylo tedy zabráněno způsobem závislým na dávce.

Příklad 14

Serózní povrch žaludku dospělých anestetizovaných laboratorních potkanů byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund, a poté opláchnut pufrovaným fyziologickým roztokem. Poraněná oblast byla přikryta hyaluronanovou nebo chitosanovou membránou

s průměrem o několik milimetrů větším než poraněná oblast. Do peritoneální dutiny byla na týden implantována každému zvířeti jedna osmotická minipumpa (Alza 2001, objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem inhibitoru trombinu hirudinu (Sigma Chemical Co, St. Louis, Mo, USA). Ventil pumpy byl v břišní dutině umístěn v sousedství poraněné oblasti a jejího polysacharidového krytí. Nebyla detekována ani fibrinová síťka ani pruhy granulační tkáně mezi žaludkem a játry, střevy a omentem po dobu sledování až 10 dnů.

Příklad 15

Serózní povrch žaludku dospělého anestetizovaného laboratorního potkana byl vystaven působení 80% kyseliny octové v oblasti o průměru 7 mm po dobu 60 sekund, a poté opláchnut pufrovaným fyziologickým roztokem. Poraněná oblast byla přikryta hyaluronanovou nebo chitosanovou membránou s průměrem o několik milimetrů větším než poraněná oblast. Do peritoneální dutiny byla na týden implantována osmotická minipumpa (Alza 2001, objem asi 220 μ l, rychlost pumpování asi 1 μ l/h, Alza Corp., Palo Alto, CA, USA, předem naplněná roztokem hirudinových fragmentů (fragment se skládal z posledních aminokyselin C-koncové části známé sekvence hirudinu) Sigma Chemical Co, St. Louis, Mo, USA) a ventil pumpy byl v břišní dutině umístěn v sousedství poraněné oblasti a jejího polysacharidového krytí. U žádného zvířete nebyla detekována ani fibrinová síťka ani pruhy granulační tkáně mezi žaludkem a játry, střevy a omentem po dobu sledování až 10 dnů.

Tab. 1. Výsledky pro inogatran

Číslo potkana/ Den analýzy	Hmotnost potkana	Rychlost infúze	Dávka	Dávka	Koncent- race v plazmě	Adhe- rence	Průměrná koncentrace v plazmě
	g	μL/h	μg/h	μg/kg/h	μmol/L	skóre	μmol/L
163/1	532	1*1	66	124	0.58		
2					0.30		
7					0.17	3	
163/1	466	1*1	66	142	0.61		
2					0.14		
7					0.19	4	0.18
163/1	491	2*1	132	269	0.47		
2					0.35		
7					0.24	2	
164/1	532	2*1	132	248	0.46		
2					0.79		
7					0.37	2	0.31
165/1	449	4*1	264	588	1.27		
2					0.47		
7					0.57	0	
166/1	473	4*1	264	558	0.81		
2					0.89		
7					0.87	1	0.72
169/1	496	1*10	658	1327	2.52		
2					2.11		
7	Menší tendence ke krvácení				1.88	0	
171/1	487	1*10	658	1351	1.13		
2					4.23		
7	Menší tendence ke krvácení				1.79	0	1.84
170/1	477	2*10	1317	2761	4.44		
2					2.82		
7	Difúzní krvácení, snížený počet červených krvinek				5.56	0	

Ve všech případech byla koncentrace inogatranu v roztoku 65,85 μg/μl.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Použití hirudinu, hirudinového fragmentu, inhibitoru trombinu s nízkou molekulovou hmotností založeného na peptidu nebo fibrinolytického přípravku k výrobě produktu pro použití pro řízení tělesných ranných hojivých procesů.
2. Použití hirudinu, hirudinového fragmentu, inhibitoru trombinu s nízkou molekulovou hmotností založeného na peptidu nebo fibrinolytického přípravku k výrobě produktu pro použití pro inhibici nebo prevenci adheze spojené s fibrinem.
3. Použití hirudinu, hirudinového fragmentu, inhibitoru trombinu s nízkou molekulovou hmotností založeného na peptidu nebo fibrinolytického přípravku k výrobě produktu pro použití pro inhibici nebo prevenci tvorby tkáně jizvy.
4. Použití podle kteréhokoliv z předchozích nároků 1 až 3, kde produkt dále obsahuje polysacharid.
5. Použití podle nároku 1, 2, 3 nebo 4, kde inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu je gatran.
6. Použití podle nároku 5, kde inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu je inogatran nebo melagatran.
7. Použití podle nároku 6, kde inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu je melagatran.

8. Použití podle kteréhokoliv z předchozích nároků 1 až 7, kde produkt obsahuje fibrinolytický přípravek v kombinaci s hirudinem, hirudinovým fragmentem nebo inhibitorem trombinu s nízkou molekulovou hmotností založeným na peptidu.
9. Použití podle kteréhokoliv z předchozích nároků 1 až 8, kde fibrinolytický přípravek je aktivátor plazminogenu, streptokináza nebo urokináza.
10. Použití podle nároku 4 nebo kteréhokoliv z nároků 5 až 9 v závislosti na nároku 4, kde se polysacharid vyrábí ve formě filmu, membrány, gelu, roztoku, vlákna, tyčinky nebo trubičky jakéhokoliv rozměru.
11. Použití podle nároku 10, kde se polysacharid vyrábí ve formě filmu, membrány nebo gelu.
12. Použití podle nároku 4, podle kteréhokoliv z nároků 5 až 9 v závislosti na nároku 4, nároku 10 nebo nároku 11, kde polysacharid je chitosan.
13. Způsob řízení tělesných ranných hojivých procesů v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje podávání hirudinu, hirudinového fragmentu, inhibitoru trombinu s nízkou molekulovou hmotností založeného na peptidu nebo fibrinolytického přípravku pacientovi, který toto řízení potřebuje.
14. Způsob inhibice nebo prevence adhezí spojených s fibrinem v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje podávání hirudinu, hirudinového fragmentu, inhibitoru trombinu s nízkou molekulovou hmotností založeného na peptidu nebo

fibrinolytického přípravku pacientovi, který tuto inhibici nebo prevenci potřebuje.

15. Způsob inhibice nebo prevence tvorby tkáně jizvy v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje podávání hirudinu, hirudinového fragmentu, inhibitoru trombinu s nízkou molekulovou hmotností založeného na peptidu nebo fibrinolytického přípravku pacientovi, který tuto inhibici nebo prevenci potřebuje.

16. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 13 až 15, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje společné podávání polysacharidu s hirudinem, hirudinovým fragmentem nebo inhibitorem trombinu s nízkou molekulovou hmotností založeným na peptidu.

17. Způsob podle nároku 13, 14, 15 nebo 16, v y z n a č u j í c í s e t í m, že inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu je gatran.

18. Způsob podle nároku 17 v y z n a č u j í c í s e t í m, že inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu je inogatran nebo melagatran.

19. Způsob podle nároku 18 v y z n a č u j í c í s e t í m, že inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu je melagatran.

20. Způsob podle nároku 16 nebo kteréhokoliv z nároků 17 až 19 v závislosti na nároku 16, v y z n a č u j í c í s e t í m, že polysacharid je chitosan.

21. Použití inhibitoru trombinu vybraného ze skupiny sestávající z hirudinu, hirudinových fragmentů a inhibitorů trombinu s nízkou molekulovou hmotností založených na peptidu pro řízení tělesných ranných hojivých procesů.
22. Použití inhibitoru trombinu s nízkou molekulovou hmotností založeného na peptidu pro prevenci nebo redukci aktivace a agregace trombocytů.
23. Použití podle nároku 21 nebo 22, kde inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu je gatran.
24. Použití podle nároku 23, kde inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu je inogatran nebo melagatran.
25. Použití podle nároku 24, kde inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu je melagatran.
26. Farmaceutický produkt v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje polysacharid a inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu.
27. Produkt podle nároku 26 v y z n a č u j í c í s e t í m, že inhibitor trombinu je gatran.
28. Produkt podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že inhibitor trombinu je inogatran nebo melagatran.
29. Produkt podle nároku 28 v y z n a č u j í c í s e t í m, že inhibitor trombinu je melagatran.

15.07.99

- 22 -

30. Produkt podle kteréhokoliv z nároků 26 až 29, vyznačující se tím, že polysacharid je chitosan.

31. Produkt podle kteréhokoliv z nároků 26 až 30, vyznačující se tím, že polysacharid je ve formě filmu, membrány nebo gelu.

32. Produkt podle kteréhokoliv z nároků 26 až 31, vyznačující se tím, že inhibitor trombinu s nízkou molekulovou hmotností založený na peptidu je infundován prostřednictvím polysacharidu.