

71.105/SZE

KIVONAT

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Ciszteinproteáz-gátlót tartalmazó gyógyszerkészítmény agyszöveti károsodás megelőzésére és kezelésére

Agyszöveti károsodás megelőzésére és gyógykezelésére szolgáló gyógyszerkészítmény, mely hatóanyagként az (I) általános képletű - ahol

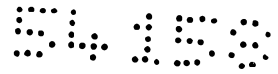
R^1 jelentése 1-4 szénatomos alkil- vagy 6-10 szénatomos, adott esetben helyettesített arilcsoport;

R^2 és R^3 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy az R^2 és R^3 csoport egymással kapcsolódva, egy 3-7 szénatomos gyűrűt képez;

R^4 jelentése rövidszénláncú alkilcsoport, mely adott esetben aril-, cikloalkilcsoporttal vagy aromás heterociklusos csoporttal helyettesített - vegyületet vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sóját tartalmazza.

Jelt. abue s (I)

A



R2

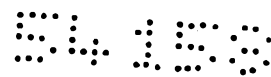
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Ciszteinproteáz-gátlót tartalmazó gyógyszerkészítmény agyszöveti károsodás megelőzésére és kezelésére

A jelen találmány agyszöveti károsodás megelőzésére és kezelésére szolgáló gyógyszerrel foglalkozik.

A agy sokirányú feladatot lát el, beleértve az autonóm idegrendszer szabályozását, a mozgás összerendezettségét, az ingerek értelmezését, a magasabb rendű mentális működést, például a gondolkodást. Amikor az agyi vérellátás hiányos, az agy működése szempontjából nélkülözhetetlen glükóz- és oxigénfelvétel megakad, és az agy képtelen tovább fenntartani a homeosztázisát, ami azt eredményezi, hogy az agyműködés súlyos hátrányokat szenved.

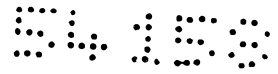
Az agyszöveti károsodás az agyat ellátó véráram különféle tényezőkből adódó elégtelenségének vagy szisztémás tényezők bonyolult kölcsönös ráhatásának, például a szívbajnak az eredménye. Továbbá az agyszövetet nemcsak az agytraumából, cerebrális ödémából, agytumorból, stb. másodlagosan adódó encephalothlipsis által károsodhat, hanem a szisztémás események, például súlyos vérzés, miokardiális infarktus, vérnyomáscsökkentő hatóanyag bevétele vagy aritmia okozta lecsökkent agyi vérellátás eredményeként is. Agyszöveti károsodást okozó betegség lehet többek között a cerebrális érgörcs, az agytrombózis, az agyi infarktus, az agyembólia, a nagyagybeli vérzés, a pókhálóhártya alatti (subarachnoidalis) vérzés, a magas vérnyomású agybetegség (encephalopathia), a múltó isémiás roham, a multi-infarktusos elmebaj (dementia), a cerebrális érelmeszesedés, a Huntington-kór, stb.



Az agyszöveti károsodás jelenlegi gyógyszeres kezelése cerebrális értágítókat, például cinnarizint, ciklándelátot és pentoxifillint; az agy anyagcseréjét serkentő hatóanyagokat, például meklofenoxát-hidrokloridot, tioktinsavat (6,8-ditio-oktánsav) és GAB-t; véralvadásgátlókat, például heparin-nátriumot; vérrögoldó hatóanyagokat, például urokinázt és a vérlemezkék aggregálódását gátlókat, például aszpirint és dipiridamolt alkalmaz. Ezen hatóanyagoknak azonban egyike sem kellően hatásos, így a probléma továbbra is megoldatlan.

Újabban leírták, hogy a kalpaingátló aktivitással rendelkező leupeptin védi az idegsejteket az agyi isémia okozta károsító hatással szemben [Lee, K. S., Frank, S., Vanderklich, P., Arai, A., Lynch, G., Proc. Natl. Acad. Sci., 88:7233-7237 (1991); Rami, A., Krieglstein, J., Brain Res., 609:67-70 (1993); WO 92/11850]. Ezeknél a vizsgálatoknál azonban a hatóanyagot közvetlenül vitték be az állatok agykamrájába, minthogy a leupeptin nem képes átjutni a vér-agy gáton. Azaz ez az eljárás reálisan nem alkalmazható embernél. A WOP 92/11850 számú szabadalmi irat tárgyalja, hogy bizonyos vegyületeket, például a kalpaingátló I-t intraperitoneálisan bejuttatva, úgy találták, hogy megvédik az idegsejteket az excitotoxikus faktoroktól. A kalpaingátló I-ről viszont megállapították, hogy citotoxikus [Inoue, S., Sharma, R. C., Schimke, R. T., Simon, R. D., J. Biological Chem., 268(8): 5894-5898 (1993)], és embernél biztonsággal nem alkalmazható. Újabban leírták, hogy az intravénásan beadott kalpaingátló Cbz-Val-Phe-H patkányoknál gátolta az agyi isémia okozta sejtkárosodást (cytopathiat) [Hong, S. C. Goto, Y., Lanzino, G., Soleau, S., Kassel, N. F., Lee, K. S., Stroke 25(3):663-669 (1994)], de a hatása nem elég erős, és ezért klinikai alkalmazásra még nem került.

A jelen találmány célja az agyszöveti sérülés megelőzésére és kezelésére szolgáló, a fenti hátrányos tulajdonságokat nem mutató hatóanyagot nyújtani, továbbá eljárást adni az ilyen károsodások megelőzésére és kezelésére.



Arra törekedtünk, hogy az agyszöveti károsodás megelőzésére és kezelésére szolgáló hatóanyagot fejlesszünk ki, ami könnyen át tud jutni a vér-agy gáton és biztonságosan használható. Felismertük, hogy az (I) általános képletű - ahol

R^1 jelentése 1-4 szénatomos alkil- vagy 6-10 szénatomos, adott esetben helyettesített arilcsoport;

R^2 és R^3 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy az R^2 és R^3 csoport egymással kapcsolódva, egy 3-7 szénatomos gyűrűt képez;

R^4 jelentése rövidszénláncú alkilcsoport, mely adott esetben aril-, cikloalkilcsoporttal vagy aromás heterociklusos csoporttal helyettesített -

vegyület vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sója jelentős profilaktikus és terápiás hatással rendelkezik az agyszöveti károsodást illetően. A jelen találmány kidolgozása a fenti felismerésen alapszik.

Az agyszöveti károsodáson nemcsak az agyi isémiával vagy az agyvérzéssel kapcsolatos károsodásokat értjük, hanem azokat a másodlagos szöveti sérüléseket is, melyeket az agytrauma, agyi ödéma, agydaganat, stb. okozta encephalothipsis és szisztémás eseményekből, például a vérnyomásnak jelentős vérszűken, miokardiális infarktus, vérnyomáscsökkentő gyógyszerek bevétele, aritmia, stb. okozta erős leeséséből adódó elégtelen agyi vérellátás vált ki.

Az 1. ábra diagramja a Gerbillus egér hippocampalis CA1 régiójában jelentkező sejtkárosodásra gyakorolt hatást szemlélteti. Az ordinátán a hippocampalis CA1 régió ép idegsejtjeinek számát jelöljük. A diagram (a) oszlopánál a Student t-teszt szignifikáns eltérést ($p < 0,01$) mutat a normál csoport adataihoz viszonyítva; ugyancsak szignifikáns az eltérés ($p < 0,05$) a (b) oszlopnál a kontrollhoz viszonyítva.

A 2. ábra diagramja a Gerbillus egér hippocampalis CA1 régiójában jelentkező apoptózisra gyakorolt hatást szemlélteti. Az ordinátán a hippocampalis CA1 régió



apoptózisos sejtjeinek számát tüntetjük fel. A diagram (a) oszlopánál a Student t-teszt szignifikáns eltérést ($p < 0,01$) mutat a normál csoport adataihoz viszonyítva; ugyancsak szignifikáns az eltérés ($p < 0,01$) a (b) oszlopnál a kontrollhoz viszonyítva.

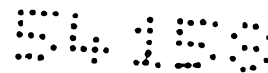
A jelen találmányban alkalmazott (I) általános képletű vegyület és gyógyászati szempontból alkalmazható sói a 43464/1977 (EP-O-771565) számú, nem vizsgált japán szabadalmi közleményben leírt ismert vegyületek, és az ott leírtak alapján előállíthatók.

Amennyiben az (I) általános képletben az aminosav maradék optikai izomerek alakjában létezik, hacsak másként nem jelezzük, azok L izomerek.

Az R^1 csoport meghatározásában az 1-4 szénatomos egyenes vagy elágazó alkilcsoport lehet például metil-, etil-, propil-, izopropil-, butil-, izobutil-, szek-butil-, terc-butil-csoport és hasonló. Előnyös közülük a metilcsoport.

Az R^1 csoport meghatározásában a 6-10 szénatomos arilcsoport kifejezés jelenthet például fenil-, naftil-, indenil-, azulenilcsoportot, stb. Előnyös a fenil- és a naftilcsoport. Az arilcsoport szubsztituense lehet például halogénatom (fluor-, klóratom, stb.), egyenes vagy elágazó láncú, 1-5 szénatomos alkilcsoport (például metil-, etil-, propil-, izopropil-, butil-, izobutil-, szek-butil-, terc-butil-, pentil-, izopentil-, neopentil-, terc-pentil-csoport, stb.), trifluor-metil-csoport, egyenes vagy elágazó, 1-5 szénatomos alkoxicssoport (például metoxi-, etoxi-, propoxi-, izopropoxi-, butoxi-, izobutoxi-, szek-butoxi-, terc-butoxi-, pentoxi-, izopentoxi-, neopentoxi-, terc-pentoxi-csoport és hasonló), hidroxilcsoport, 2-5 szénatomos acil-oxi-csoport (például acetoxi-, propionil-oxi-, butiril-oxi-, izobutiril-oxi-, valeril-oxi-csoport és hasonló), karboxilcsoport és 2-5 szénatomos acilcsoport (például acetil-, propinil-, butiril-, izobutiril-, valeril-, izovaleril-, pivaloilcsoport és hasonló). Előnyös a halogénatom vagy az 1-5 szénatomos alkilcsoport, ezeken belül a fluor- vagy klóratom és a metilcsoport.

Ha az R^1 jelentése adott esetben helyettesített, 6-10 szénatomos arilcsoport, az előnyösen 4-fluor-fenil-, 4-klór-fenil-, p-tolil- vagy 2-naftil-csoport.



Az R^2 és R^3 meghatározásában az egyenes vagy elágazó, 1-4 szénatomos alkilcsoport lehet metil-, etil-, propil-, izopropil-, butil-, izobutil-, szek-butil-, terc-butil-csoport és hasonló. Előnyös a propil-, terc-butil-csoport és különösen előnyös az izopropilcsoport.

Előnyös, ha az R^2 és R^3 szubsztituensek egyikének jelentése hidrogénatom és a másik propil-, izopropil-, izobutil- vagy terc-butil-csoport. Még előnyösebb, ha R^2 jelentése propil-, izopropil-, izobutil- vagy terc-butil-csoport és R^3 jelentése hidrogénatom, ezeken belül is legelőnyösebb, ha R^2 jelentése izopropilcsoport és R^3 jelentése hidrogénatom.

Az R^2 és R^3 szubsztituensek összekapcsolódásával kialakuló 3-7 szénatomos gyűrű lehet ciklopropilidén-, ciklobutilidén-, ciklopentilidén-, ciklohexilidén-, cikloheptilidén-csoport, stb. Különösen előnyös a ciklopentilidén- és a ciklohexilidén-csoport.

Az R^4 meghatározásában szereplő rövidszénláncú alkilcsoport egyenes vagy elágazó, 1-6 szénatomos alkilcsoportot jelent, mint amilyen a metil-, etil-, propil-, izopropil-, butil-, izobutil-, szek-butil-, terc-butil-, pentil-, izopentil-, neopentil-, terc-pentil-, hexil-, 4-metil-pentil-, 1,1-dimetil-butil-, 2,2-dimetil-butil-, 3,3-dimetil-butil-, 2-etil-butil-csoport és hasonló. Előnyös a metil- és izobutilcsoport. A fent említett rövidszénláncú alkilcsoportok aril-, cikloalkil- vagy aromás heterociklusos csoporttal lehetnek helyettesítettek.

Az arilcsoport lehet fenil-, 1-naftil-, 1-naftil-csoport és hasonló. Különösen előnyös a fenilcsoport.

A cikloalkilcsoport kifejezés előnyösen 3-6 szénatomos cikloalkilcsoportot jelent, például ciklopropil-, ciklobutil-, ciklopentil-, ciklohexilcsoportot, stb. Különösen előnyös a ciklohexilcsoport.

Az aromás heterociklusos csoportok közé tartoznak az egygyűrűs, legalább egy heteroatomot - ami lehet oxigén-, nitrogén- vagy kénatom - gyűrűtagként tartalmazó csoportok és a kondenzált gyűrűrendszerű csoportok. Egygyűrűs heterociklusos cso-

port többek között a pirrolil-, furil-, tienil-, oxazolil-, tiazolil-, imidazolil-, pirazolil-, piridilcsoport és hasonlók. Kondenzált heterociklusos csoport többek között az indolil-, kinolil-, benzotienil-, benzofuril-, indazolil-, kinazolinil-, ftalazinil-, kinoxalinilcsoport és hasonlók. Különösen előnyös az indolilcsoport.

Az R^4 meghatározásában szereplő, adott esetben aril-, cikloalkil- vagy aromás heterociklusos csoporttal helyettesített, rövidszénláncú alkilcsoportra előnyös példa az izobutil-, benzil-, ciklohexil-metil- és az indol-3-il-metil-csoport.

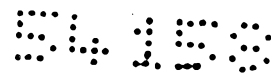
Az (I) általános képletű vegyületeket szemléltetik az alábbiak:

- N-(2-naftalinszulfonil)-L-valil-L-leucinal,
- N-(4-fluor-fenil-szulfonil)-L-valil-L-leucinal,
- N-(4-klór-fenil-szulfonil)-L-valil-L-leucinal,
- N-(4-metil-fenil-szulfonil)-L-valil-L-leucinal,
- N-(4-fluor-fenil-szulfonil)-L-valil-L-fenil-alaninal,
- N-(2-naftalén-szulfoni)-L-valil-L-fenil-alaninal,
- N-(4-klór-fenil-szulfonil)-L-valil-L-fenil-alaninal,
- N-(4-metil-fenil-szulfonil)-L-valil-L-fenil-alaninal,
- N-(4-klór-fenil-szulfonil)-L-valil-L-triptofanal,
- N-(4-fluor-fenil-szulfonil)-L-valil-L-ciklohexil-alaninal.
- N-(2-naftalén-szulfonil)-L-valil-L-ciklohexil-alaninal,
- N-(4-klór-fenil-szulfonil)-L-valil-L-ciklohexil-alaninal

és gyógyászati szempontból alkalmazható sóik.

Különösen előnyös az N-(4-fluor-fenil-szulfonil)-L-valil-L-leucianl és gyógyászati szempontból alkalmazható sói.

Az (I) általános képletű vegyület gyógyászati szempontból alkalmazható sói lehetnek szervetlen bázisokkal képzett sók, például alkálifémekkel, mint amilyen a nátrium, kálium, stb., az alkáliföldfémekkel, mint amilyen a kalcium, magnézium, stb. alumíniumummal képzett sók, az ammóniumsók; szerves bázsiokkal, például trimetil-



-aminnal, piridinnel, pikolinnal, etanolaminnal, dietanolaminnal, trietanolaminnal, diciklohexil-aminnal, N,N-dibenzil-etilén-diaminnal, stb. képzett sók; szervetlen savakkal, például klór-hidrogén-savval, bróm-hidrogén-savval, salétrommassal, kénsavval, foszforsavval, stb. képzett sók; szervetlen savakkal, például hangyasavval, ecetsavval, trifluor-ecetsavval, furmársavval, oxálsavval, borkősavval, maleinsavval, citromsavval, borostyánkősavval, almasavval, metánszulfonsavval, benzolszulfonsavval, p-toluolszulfonsavval, stb. képzett sók; és aminosavakkal, például argininnel, lizinnel, ornitinnel, aszparaginsavval, glutaminsavval, stb. képzett sók.

A jelen találmány szerinti megelőző és kezelő céllal alkalmazott gyógyszerek bármelyik ismert dozírozási alakban lehetnek, mely formák a gyógyszer technológiában ismert módszerekkel állíthatók elő, például oly módon, hogy a hatóanyagot gyógyászati szempontból alkalmazható vivő- vagy közeganyaggal keverjük össze vagy abban oldjuk. Ezek közül a dózisformák közül az embernél használt, szájon keresztül adandó készítmény lehet por, granulátum, tablettá, kapszula, szirup és más folyékony készítmény. A por, granulátum, tablettá és hasonló szilárd készítményekhez szokásosan használt vivőanyagokat alkalmazhatjuk, ami lehet közeganyag (például keményítő, glükóz, fruktóz, szacharóz, laktóz, stb.), síkosító anyag (például magnézium-sztearát, kalcium-sztearát), kötőanyag (például keményítő, gumiarábikum, stb.) és hasonló. Ezeket a szilárd készítményeket adott esetben bevonóanyaggal (például zselatin, szacharóz, stb.) vonhatjuk be, vagy olyan burokba (például hidroxipropilmetil-cellulóz-ftalát, metakril polimer, sellak) zárhatjuk, mely a hatóanyagot specifikusan a belekben szabadítja fel. A sziruphoz és más folyékony készítményekhez különféle adalékanyagot adhatunk, ami lehet tartósítószer (például nátrium-edelát, stb.), szuszpendáló szer (például gumiarábikum, karmellóz, stb.), ízesítő anyag (például egyszerű szirup, glükóz, stb.), szagosító anyag, stb. A nem-orális készítmény lehet injekció, kúp, stb. Az injekció elkészítéséhez oldószereket (például injektálható vizet), tartósítószer (például nátrium-edelátát, stb.), izotóniát biztosító anyagot (például

nátrium-kloridot, glicerint, mannitot, stb.) pH-beállító anyagot (például sósavat, citromsavat, nátrium-hidroxidot, stb.), szuszpendálószeret (például metil-cellulózt, nátrium-karboxi-metil-cellulózt, stb.) és más alkalmas adalékanyagokat használunk. A kúp alapanyaga lehet például kakaóvaj, makrogol, stb.

A találmány szerinti profilaktikus és terápiás gyógyszer alkalmas melegvérűek (például az ember, Gerbillus, patkány, egér, nyúl, szarvasmarha, sertés, kutya, macska és hasonlók) agyszöveti sérülésének kezelésére.

Agyszöveti károsodással kapcsolatos betegség az agyi vérgörcs, az agytrombózis, az agyi infarktus, az agyembólia, az intracerebrális vérzés, a pókhálóhártya alatti vérzés, a magas vérnyomásos agybaj, az átmeneti isémiás roham, a multi-infarktusos elmebaj, az agyérelmeszesedés, a Huntington-kór, nem korlátozva csak a felsoroltakra.

A találmány szerinti (I) általános képletű vegyületeknek vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sójának dózisa függ a kezelendő betegségtől, a beteg klinikai állapotától és más körülményeitől, a bevitel módjától és egyéb tényezőktől. Egy felnőtt betegnél általában objektív hatás érhető el 1-1000 mg, előnyösen 10-500 mg orálisan adott, 0,1-300 mg, előnyösen 1-150 mg parenterálisan adott napi dózissal, egyszeri vagy osztott adagban.

Hacsak a jelen találmány céljával nem ellenkezik, a találmány szerinti profilaktikus vagy terápiás gyógyszer más hatóanyagokkal együtt is alkalmazható. Különösen alkalmas társhatóanyagok a cerebrális értágítók, mint amilyen a cinnarizin, ciklándelát, pentoxifillin, stb.; az agy anyagcseréjének aktivátorai, mint amilyen a meklofenoxát-hidroklorid, a tioktinsav, a GABA, stb.; a véralvadásgátlók, mint amilyen a heparin-nátrium, stb.; a vérrögoldók, mint amilyen a urokináz, stb.; a vérlemezkék aggregációjának gátlói, mint amilyen az aszpirin, dipiridamol, stb.; az adrenokortikoidok, mint amilyen a hidrokortizon, a dexametazon, stb.; a hipertóniás oldatok, mint amilyen a glicerín és mannit; vérnyomáscsökkentők, mint amilyen a

reszerpin, a hidralizin-hidroklorid, stb.; az antibiotikumok, mint amilyenek a félszintetikus penicillinek, a cefalosporinok, stb.; és a nyugtatók/görcsoldók, mint amilyen a klórpromazin, a diazepam, a primidon, a karbamazepin, stb.

A találmány ipari alkalmazhatósága: a jelen találmány szerinti profilaktikus és terápiás hatóanyag felhasználható agyszöveti károsodásból eredő betegségek, mint amilyen az agyi érgörcs, agytrombózis, agyi infarktus, agyembólia, intracerebrális vérzés, szubarachnoidális vérzés, hipertenzív enkefalopátia, átmeneti isémiás roham, multi-infarktusos elmebaj, agyérelmeszesedés, Huntington-kór és hasonlók megelőzésére és kezelésére. Továbbá a hatóanyag biztonsággal használható agytraumával, agyi ödémával, agydaganattal, stb. kapcsolatos enkefalotlipszisből (encephalothlipsis) származó másodlagos agyszöveti károsodás, valamint a vérnyomás jelentős leesésével járó szisztémás eseményekből, például erős vérzésből, miokardiális infarktusból, vérnyomáscsökkentők beviteléből, aritmiából és hasonlókból adódó elégtelen agyi vérellátásból származó agyszöveti károsodás megelőzésére és kezelésére.

A jelen találmány a Japánban benyújtott 72280/1998 számú szabadalmi beadványon alapszik, melynek tartalmát itt hivatkozásként beépítjük.

Az elmondottak szemléltetésére az alábbiakban példákat adunk meg. A példák kizárólag szemléltető célzatúak és a találmány oltalmi körét nem korlátozzák. A példákban szereplő (1) vegyület az N-(4-fluor-fenil-szulfonil)-L-valil-L-leucinal.

1. példa

A tablettá összetétele:

(1) vegyület	50 mg
laktóz	80 mg
keményítő	17 mg
magnézium-sztearát	3 mg
kristályos cellulóz	10 mg.

A tablettákat a szokásos eljárással állítjuk elő. Ahol szükséges, csak a bélben oldódó bevonattal (például hidroxipropilmetilcellulóz-ftaláttal), cukorbevonattal vagy filmmel (például etilcellulózzal) borítjuk.

2. példa

A kapszula töltetének összetétele:

(1) vegyület	75 mg
mannit	75 mg
keményítő	17 mg
kalcium-sztearát	3 mg.

A fenti alkotórészeket egyenletesen összekeverjük, a szokásos gyógyszerészeti eljárással granuláljuk és keményfalú kapszulába töltjük. Ha szükséges, a granulátum szemcséit a kapszulába való betöltés előtt csak a bélben oldódó bevonattal (például hidroxipropilmetilcellulóz-ftaláttal), cukorbevonattal vagy egy filmréteggel (például etilcellulózzal) vonjuk be.

3. példa

A parenterálisan beadandó szuszpenzió összetétele:

(1) vegyület	750 mg
nátrium-karboximetilcellulóz	500 mg
injektálásra alkalmas vízzel	100 ml-re feltöltve.

A fenti alkotórészekből a gyógyszerészetben szokásos steril eljárással egy parenterálisan beadható szuszpenziót készítünk.

4. példa

A hatóanyagnak az isémiás agyi sérülésre gyakorolt hatását az alábbiak szerint vizsgáljuk:

60-80 g tömegű hím futóegerek (Gerbillus) bilaterális közös nyaki verőerét altatás alatt feltárjuk. Ezután ébrenléti állapotban aneurizmatikus csipeszekkel 10 percre

elzárjuk a véráramot a nyaki verőerekben. Az isémiát a recephártya véráramának vérárammérővel (Advance laser flow meter, ALF21N, Advance Co., Ltd.) mért leállításából és az isémiás tünetekből (roham, körzés, ptózis) állapítjuk meg. A csipeszek eltávolítása után vérárammérővel megállapítjuk a reperfúziót. Öt nappal a reperfúzió után az állatot éterrel elaltatjuk, sóoldatos átöblítéssel eltávolítjuk a vért a baloldali agykamrából, és 4 %-os formaldehiddel rögzítjük az agyszövetet. A szövetet paraffinba ágyazzuk, vékony metszeteket készítünk, és a szokásos módon hematoxin-eozin festékekkel festjük őket. A hippokampális CA1 régióban fénymikroszkóppal vizsgáljuk az idegsejteket és a hippokampális CA1 régió 1,0 mm-es szakaszán megszámloljuk az épen maradt idegsejteket. Egy másik paraffinba ágyazott agyszöveti metszetben a hippokampális CA1 régió 1 mm-es szakaszában fénymikroszkóp és Apoptosis in situ Detection Kit Wako (Wako Pure Chemical Ind., Ltd.) készlet segítségével megszámloljuk az apoptózisos idegsejteket.

A normál csoport állatainál is feltárjuk a közös nyaki verőeret, de nem váltunk ki isémiát. Vizsgálati anyagként a 3. példa parenterális szuszpenzióját visszük be intraperitoneálisan az állatba 15 perccel az isémia előtt, közvetlenül a reperfúzió után, majd napi egyszer, az (1) vegyületet 100 mg/testtömeg-kilogramm dózisban alkalmazva ((1) vegyülettel kezelt csoport). A kontroll és a normál csoport állatainak azonos módon a 3. példa vivőközegét adjuk be. Egy negyedik csoport állataiba pozitív kontrollként 100 mg/testtömeg-kilogramm dózisban Cbz-Val-Phe-H vegyületet (MDL; S. C. Hong és munkatársai, *Stroke*, 25(3):663-669 (1994)] viszünk be (MDL-lel kezelt csoport).

Az eredményeket az 1. és 2. ábra mutatja be.

Az isémia a hippokampális CA1 régióban az ép idegsejtek számának szignifikáns csökkenését és az apoptózisos idegsejtek számának szignifikáns növekedését okozza. Az (1) vegyület bevitele szignifikánsan gátolja a hippokampális CA1 régióban az ép idegsejtek isémia okozta csökkenését és az apoptózisos idegsejtek számának

növekedését. Az MDL kezelés csak kis gátló hatást mutat az ép idegsejtek számának csökkenését és az apoptózisos idegsejtek számának növekedését illetően a hippocampális CA1 régióban.

A fenti eredmények azt mutatják, hogy az MDL-hez képest a jelen találmány szerinti (1) vegyület sokkal hatásosabban jut át a vér-agy gáton, és felhasználható az agyszövet védelmére.

5. példa

A toxicitási vizsgálatokhoz 80-105 g tömegű, öthetes hím Wister patkányokba orálisan az (1) vegyület 0,5 %-os (tömeg/térfogat) karboxi-metil-cellulózból készült 3,3 %-os (tömeg/térfogat) szuszpenzióját visszük be 1000 mg (1) vegyület/testtömeg-kilogramm dózisban. Közvetlenül ezután, majd 1/4, 1/2, 1, 2, 3 és 5 órával a bevitel után, majd 14 napon keresztül napjában egyszer megfigyeljük az állatok általános állapotát és viselkedését. 14 nap múltán az állatokat éteres altatás alatt végzett kivételével elpusztítjuk, felboncoljuk és a szerveket egyben vizsgáljuk. A kontrollcsoport állatai csak 0,5 %-os (tömeg/térfogat) karboxi-metil-cellulózt kaptak.

Eredmények:

(1) Általános állapot és viselkedés: sem a kontrollcsoport sem az (1) vegyülettel kezelt csoport állatainál nem figyelhető meg változás az általános állapotot és viselkedést illetően.

(2) Testtömeg: a kontrollcsoport és az (1) vegyülettel kezelt csoport állatai között a testtömeget illetően különbség nincs.

(3) Boncolási megfigyelések: a kontrollcsoport és az (1) vegyülettel kezelt csoport állatai között a boncolási megfigyelések alapján különbséget nem találunk.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Gyógyszerkészítmény az agyszöveti károsodás megelőzésére vagy kezelésére, mely hatóanyagként az (I) általános képletű - ahol

R^1 jelentése 1-4 szénatomos alkil- vagy 6-10 szénatomos, adott esetben helyettesített arilcsoport;

R^2 és R^3 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy az R^2 és R^3 csoport egymással kapcsolódva, egy 3-7 szénatomos gyűrűt képez;

R^4 jelentése rövidszénláncú alkilcsoport, mely adott esetben aril-, cikloalkilcsoporttal vagy aromás heterociklusos csoporttal helyettesített - vegyületet vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sóját tartalmazza.

2. Az 1. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^1 jelentése fenil- vagy naftilcsoport, melyek helyettesítettek lehetnek fluor-, klóratommal vagy metilcsoporttal.

3. Az 1. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^1 jelentése metil-, 4-fluor-fenil-, 4-klór-fenil-, p-tolil- vagy 2-naftil-csoport.

4. Az 1. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^2 jelentése propil-, izopropil- vagy terc-butil-csoport és R^3 jelentése hidrogénatom.

5. Az 1. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^2 jelentése izopropilcsoport és R^3 jelentése hidrogénatom.

6. Az 1. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^2 és R^3 egymással kapcsolódva ciklopentilidén- vagy ciklohexilidén-csoportot képez.

7. Az 1. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^4 jelentése izobutil-, benzil-, ciklohexil-metil- vagy indol-3-il-metil-csoport.

8. Az 1. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol a hatóanyag az N-(4-fluor-fenil-szulfonil)-L-valil-L-leucinal vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sója.

9. Az 1-8. igénypontok bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az agyszöveti károsodás az agy elégtelen vérellátásával kapcsolatos.

10. Eljárás az agyszöveti károsodás megelőzésére vagy kezelésére, ami abból áll, hogy a melegvérű élőlény szervezetébe az (I) általános képletű - ahol

R^1 jelentése 1-4 szénatomos alkil- vagy 6-10 szénatomos, adott esetben helyettesített arilcsoport;

R^2 és R^3 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy az R^2 és R^3 csoport egymással kapcsolódva, egy 3-7 szénatomos gyűrűt képez;

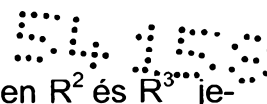
R^4 jelentése rövidszénláncú alkilcsoport, mely adott esetben aril-, cikloalkilcsoporttal vagy aromás heterociklusos csoporttal helyettesített - vegyületnek vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sójának hatásos mennyiségét juttatjuk be.

11. A 10. igénypont szerinti eljárás, ahol az (I) általános képletben R^1 jelentése fenil- vagy naftilcsoport, melyek helyettesítettek lehetnek fluor-, klóratommal vagy metilcsoporttal.

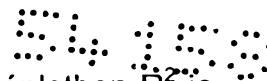
12. A 10. igénypont szerinti eljárás, ahol az (I) általános képletben R^1 jelentése metil-, 4-fluor-fenil-, 4-klór-fenil-, p-tolil- és 2-naftil-csoport.

13. A 10. igénypont szerinti eljárás, ahol az (I) általános képletben R^2 jelentése propil-, izopropil-, vagy terc-butyl-csoport és R^3 jelentése hidrogénatom.

14. A 10. igénypont szerinti eljárás, ahol az (I) általános képletben R^2 jelentése izopropilcsoport és R^3 jelentése hidrogénatom.



15. A 10. igénypont szerinti eljárás, ahol az (I) általános képletben R^2 és R^3 jelentése egymással kapcsolódva ciklopentilidén- vagy ciklohexilidén-csoportoz képez.
16. A 10. igénypont szerinti eljárás, ahol az (I) általános képletben R^4 jelentése izobutil-, benzil-, ciklohexil-metil- vagy indol-3-il-metil-csoport.
17. A 10. igénypont szerinti eljárás, ahol a hatóanyag az N-(4-fluor-fenil-szulfonil)-L-valil-L-leucinal vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sója.
18. A 10-17. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, ahol az agyszöveti károsodás az agy elégtelen vérellátásával kapcsolatos.
19. Az (I) általános képletű - ahol
- R^1 jelentése 1-4 szénatomos alkil- vagy 6-10 szénatomos, adott esetben helyettesített arilcsoport;
- R^2 és R^3 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy az R^2 és R^3 csoport egymással kapcsolódva, egy 3-7 szénatomos gyűrűt képez;
- R^4 jelentése rövidszénláncú alkilcsoport, mely adott esetben aril-, cikloalkilcsoporttal vagy aromás heterociklusos csoporttal helyettesített - vegyületnek vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sójának felhasználása az agyszöveti károsodás megelőzésére vagy kezelésére szolgáló gyógyszer előállítására.
20. A 19. igénypont szerinti felhasználás, ahol az (I) általános képletben R^1 jelentése fenil- vagy naftilcsoport, melyek helyettesítettek lehetnek fluor-, klóratommal vagy metilcsoporttal.
21. A 19. igénypont szerinti felhasználás, ahol az (I) általános képletben R^1 jelentése metil-, 4-fluor-fenil-, 4-klór-fenil-, p-tolil- vagy 2-naftil-csoport.
22. A 19. igénypont szerinti felhasználás, ahol az (I) általános képletben R^2 jelentése propil-, izopropil- vagy terc-butil-csoport és R^3 jelentése hidrogénatom.



23. A 19. igénypont szerinti felhasználás, ahol az (I) általános képletben R^2 jelentése izopropilcsoport és R^3 jelentése hidrogénatom.

24. A 19. igénypont szerinti felhasználás, ahol az (I) általános képletben R^2 és R^3 egymással kapcsolódva ciklopentilidén- vagy ciklohexilidén-csoportot képez.

25. A 19. igénypont szerinti felhasználás, ahol az (I) általános képletben R^4 jelentése izobutil-, benzil-, ciklohexil-metil- vagy indol-3-il-metil-csoport.

26. A 19. igénypont szerinti felhasználás, ahol a hatóanyag az N-(4-fluor-fenil-szulfonil)-L-valil-L-leucinal vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sója

27. A 19-20. igénypontok bármelyike szerinti felhasználás, ahol az agyszöveti károsodás az agy elégtelen vérellátásával kapcsolatos.

28. Agyszöveti károsodás megelőzésére vagy kezelésére szolgáló gyógyszerkészítmény, mely az (I) általános képletű - ahol

R^1 jelentése 1-4 szénatomos alkil- vagy 6-10 szénatomos, adott esetben helyettesített arilcsoport;

R^2 és R^3 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy az R^2 és R^3 csoport egymással kapcsolódva, egy 3-7 szénatomos gyűrűt képez;

R^4 jelentése rövidszénláncú alkilcsoport, mely adott esetben aril-, cikloalkil-csoporttal vagy aromás heterociklusos csoporttal helyettesített - vegyületnek vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sójának hatásos mennyiségét tartalmazza gyógyászati szempontból alkalmazható vivőanyag kíséretében.

29. A 28. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^1 jelentése fenil- vagy naftilcsoport, melyek helyettesítettek lehetnek fluor-, klór-atommal vagy metilcsoporttal.

30. A 28. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^1 jelentése metil-, 4-fluor-fenil-, 4-klór-fenil-, p-tolil- és 2-naftil-csoport.



31. A 28. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^2 jelentése propil-, izopropil-, vagy terc-butil-csoport és R^3 jelentése hidrogénatom.

32. A 28. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^2 jelentése izopropilcsoport és R^3 jelentése hidrogénatom.

33. A 28. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^2 és R^3 jelentése egymással kapcsolódva ciklopentilidén- vagy ciklohexilidéncsoportot képez.

34. A 28. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az (I) általános képletben R^4 jelentése izobutil-, benzil-, ciklohexil-metil- vagy indol-3-il-metil-csoport.

35. A 28. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol a hatóanyag az N-(4-fluor-fenil-szulfonil)-L-valil-L-leucinal vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sója

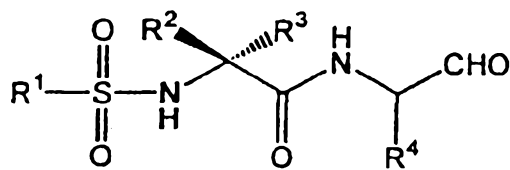
36. A 28-35. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, ahol az agyszöveti károsodás az agy elégtelen vérellátásával kapcsolatos.

37. Kereskedelmi kiszerelés, mely az 28-35. igénypontok bármelyike szerinti gyógyszerkészítményt tartalmazza egy kísérszöveggel, mely kísérszöveg ismerteti, hogy a gyógyszerkészítmény agyszöveti károsodás megelőzésére vagy kezelésére használható vagy használandó.

Fr. Kovács
2011.01.11.

A meghatalmazott: 1.

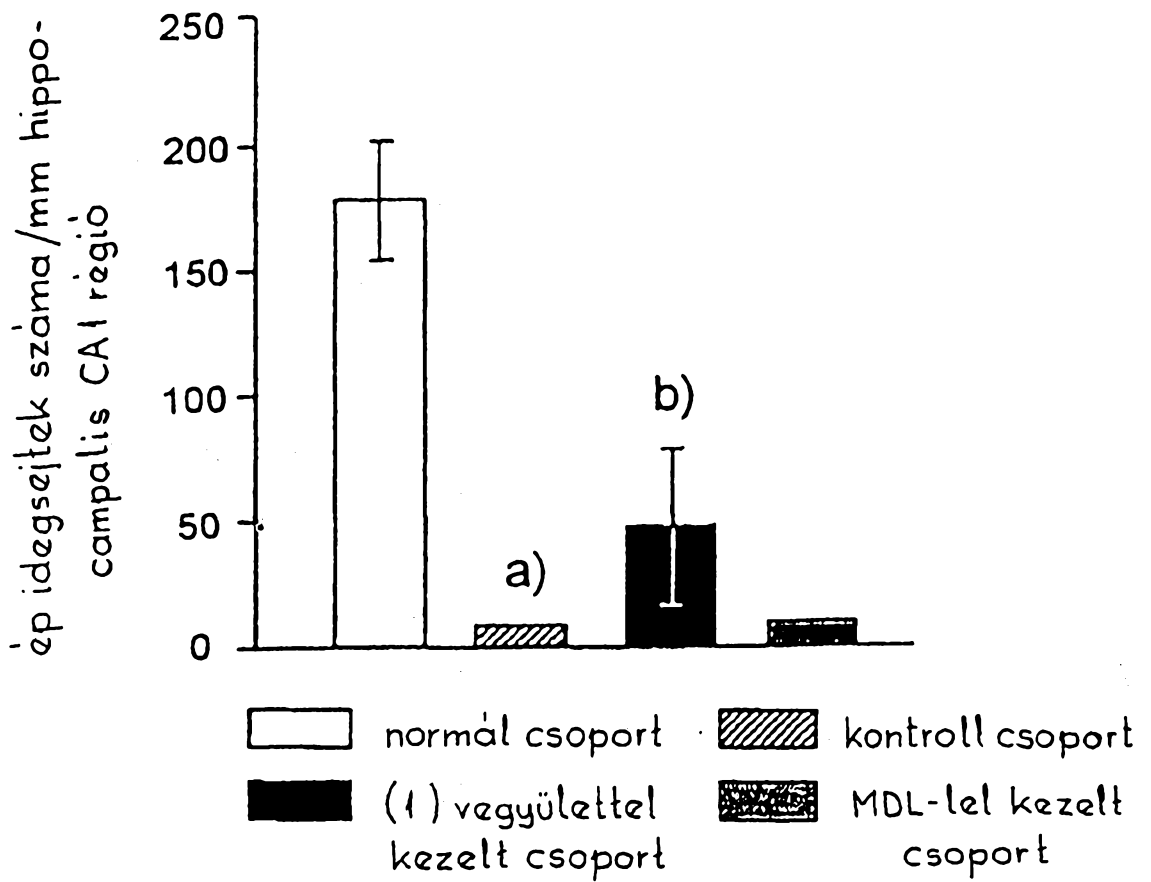
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



(I)

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

1. ábra



KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

2. ábra

