



H U 0 0 0 2 1 9 4 8 2 B

(19) Országkód

**HU****MAGYAR  
KÖZTÁRSASÁG****MAGYAR  
SZABADALMI  
HIVATAL****SZABADALMI  
LEÍRÁS**

(11) Lajstromszám:

**219 482 B**

(21) A bejelentés ügyszáma: P 95 01286  
(22) A bejelentés napja: 1993. 11. 02.  
(30) Elsőbbségi adatok:  
07/970,685 1992. 11. 04. US  
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/US 93/10503  
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 94/09785

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>**A 61 K 31/517**

A 61 P 13/08

(40) A közzététel napja: 1996. 09. 30.  
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi  
Közlönyben: 2001. 04. 28.

(72) Feltaláló:

Gray, Nancy M., Marlborough,  
Massachusetts (US)

(73) Szabadalmas:

SEPRACOR Inc., Marlborough,  
Massachusetts (US)

(74) Képviseelő:

dr. Vitális László, DANUBIA Szabadalmi  
és Védjegy Iroda Kft., Budapest

(54)

**(+)-Doxazoszin alkalmazása vizeletfolyást fokozó  
gyógyászati készítmények előállítására**

KIVONAT

A találmány (+)-doxazoszin alkalmazása emberben vizeletfolyást fokozó és egyidejű vérnyomáscsökkenést mérséklő vagy kiküszöbölő gyógyászati készítmények

előállítására, ahol a készítmény 10 tömeg%-nál kevesebb (-)-doxazoszint tartalmaz.

**HU 219 482 B**

A találmány tárgya optikailag tiszta (+)-doxazoszin alkalmazása új gyógyászati készítmények előállítására. Ezek a készítmények hasznosak jóindulatú prosztatatúltengésben (BPH) szenvedő betegek kezelésére. A tiszta (+)-doxazoszin kevésbé mutatja a (-)-enantiomerre jellemző vérnyomáscsökkentő hatást, ezért a fenti indikáció esetén kedvezőbb, mint a racém doxazoszin. A leírásban eljárásokat is ismertetünk BPH kezelésére emberekben a doxazoszin (+)-izomerének beadása útján a racém doxazoszinnal együtt járó vérnyomáscsökkentő hatás elkerülése mellett.

A találmány szerint előállított készítmények hatóanyaga az irodalomban ismertetett doxazoszin optikai izomerje [Young és Brogden: *Drugs*, 35, 525–541 (1988); US 4,188,390]. A hatóanyag kémiaiailag a 4-amino-2-[4-(1,4-benzo-dioxán-2-karbonil)-piperazin-1-il]-6,7-dimetoxi-kinazolin, más néven az 1-(4-amino-6,7-dimetoxi-2-kinazolinil)-4-[(2,3-dihidro-1,4-benzodioxán-2-il)-karbonil]-piperazin (+)-izomerje, amelyet a leírásban doxazoszin néven említünk.

A találmány szerint előállított készítmény hatóanyaga, a (+)-doxazoszin a kereskedelmi forgalomban csak 1:1 racém elegy alakjában kapható. Más szóval a (+)-doxazoszin csak az enantiomereknek is nevezett optikai izomerek elegyeként kapható. A doxazoszin racém elegye beadás céljára metánszulfonát (mezilát)-só alakjában kapható, a részletes gyógyszerészeti irodalomban a hidrokloridot is ismertetik.

Számos szerves vegyület optikailag aktív alakokban létezik, azaz ezek a vegyületek képesek a síkban polarizált fény síkját elforgatni. Optikailag aktív vegyületek leírásakor a D és L vagy R és S prefixumok használatosak a molekula királis centruma(i) körüli abszolút konfiguráció megjelölésére. A D és L vagy (+) és (-) prefixumok használatosak a síkban polarizált fény – a vegyület útján bekövetkező – forgási irányának jelölésére, ahol a (-) vagy L azt jelenti, hogy a vegyület balra forgató. A (+) vagy D prefixummal ellátott vegyület jobbra forgató. Az elnevezésben nincs korreláció az abszolút sztereokémia és egy enantiomer forgatási iránya között. Ezért a D-tejsav ugyanaz, mint a (-)-tejsav, és az L-tejsav prefixuma (+). Egy adott kémiai szerkezet esetén ezek a sztereoizomerek nevezett vegyületek azonosak, azzal az eltéréssel, hogy egymásnak tükörképei. Egy meghatározott sztereoizomert enantiomernek is nevezhetünk, és az ilyen izomerek elegyét gyakran enantiomer vagy racém elegynek nevezik.

A doxazoszin [az (I) képletű vegyület] azon gyógyszer-csoportjába tartozik, amelyek az  $\alpha_1$ -adrenoreceptorokat gátolják. A posztganglionos szimpatikus idegszálakkal átszőtt  $\alpha_1$ -receptorok a test számos rendszerében jelen vannak, beleértve a szív-ér rendszert és a vizeletvezető rendszert. Kezd beigazolódni, hogy az  $\alpha_1$ -receptoroknak altípusai vannak, ilyenformán az  $\alpha_1$ , adrenergikus receptorok monolitikus elemek helyett inkább felismerőegységek családját alkotják. A szakirodalom igazolja, hogy jelenleg az  $\alpha_1$ -receptornak legalább három megkülönböztethető altípusa van [Bylund: *FA-SEB J.*: 6, 832–839 (1992)]. Beszámoltak arról, hogy a prazoszin [a (II) képletű vegyület], a doxazoszin

akirális analógja ezen altípusok mindegyikéhez hasonló affinitást mutat. A doxazoszinnak egyetlen királis centruma van a karboxilcsoporttal szomszédos szénatomon [amely az (I) képletben fel van tüntetve]. Ez a körülmény lehetővé tesz egy pár enantiomert, amelyeket analitikai léptékben (0,52  $\mu\text{g}$ ) rezolváltak [Ley és munkatársai: *Recent Advances in Chiral Separations*, Steven és Wilson (szerkesztő), Plenum Press, New York, 97–103 (1991)], a szakirodalomban azonban nem számoltak be az enantiomerek preparatív léptékű elválasztásáról.

Anélkül, hogy elméleti megfontolásokhoz ragaszkodnánk, lehetséges, hogy a (+)-doxazoszin kedvező hatása a vizeletfolyás fokozására és a húgyhólyag ürítésére gyakorolt kedvező hatás egyéb szív-ér rendszeri paraméterekre, így a vérnyomásra és a szív működésre gyakorolt minimális hatás mellett azon alapszik, hogy az  $\alpha_1$ -receptorok egyik meghatározott alcsoportját a (+)-izomer enantiomerjéhez viszonyítva szelektív módon gátolja, miközben enantiomerje elsődlegesen a vérnyomás szabályzásában szerepet játszó alcsoportot gátol.

Doxazoszin racém elegyét jelenleg főleg vérnyomáscsökkentő szerként használják. Az orálisan beadott doxazoszin biológiai hozzáférhetősége jó, a plazmára vonatkozó felezési idő emberben – mind orális, mind pedig intravénás beadás után – közelítőleg 10 óra. A (II) képletű prazoszin használatát is ismertették BPH kezelésére [Hedlund és munkatársai: *J. Urology*, 130, 275–278 (1983)]. Azonban egyik gyógyszer sem terjedt el széles körben a BPH befolyásolására annak következtében, hogy ezek a hatóanyagok elsődlegesen a szív-ér rendszert befolyásolják.

A korábban ismert, a BPH kezelésére szolgáló  $\alpha_1$ -receptorantagonisták által felvetett bonyolult szív-ér rendszeri nehézség azok vérnyomáscsökkentő hatása, amely különösen az álló testhelyzet okozta alacsony vérnyomásban fejeződik ki. Az álló testhelyzet okozta alacsony vérnyomás tünete legvalószínűbben akkor lép fel, ha nagy kezdeti dózisban használják a korábbi  $\alpha_1$ -antagonistákat, vagy pedig ha a dózist gyorsan növelik. Mérsékelt fokú folyadék-visszatartás is megfigyelhető, ami az értágítás további eredménye. Esetenként szapora szívverés kiváltását is megfigyelték.

A legtöbb  $\alpha_1$ -antagonista valamilyen hasonló hátrányos hatást okoz. A racém doxazoszinnal kezelt betegekben fellépő mellékhatások előfordulása az egyes tanulmányok szerint változik. A magas vérnyomással kezelt betegekben a doxazoszinnal összefüggő összes mellékhatás előfordulása a 0–75% tartományban volt, de általában hasonló volt ahhoz, amit a vérnyomás hasonló csökkentését eredményező dózisu egyéb  $\alpha_1$ -gátló hatóanyagok kiváltottak. A tanulmányok szerint a leggyakrabban előforduló mellékhatások: testhelyzetfüggő alacsony vérnyomás, émelygés, aluszékonyság, fáradtság és szédülés.

A fentiek alapján igény mutatkozik BPH kezelésére szolgáló hatásos és szelektív  $\alpha_1$ -antagonista iránt.

Megállapítottuk, hogy a doxazoszin optikailag tiszta (+)-izomerje meglepő módon hatásos szer BPH kezelésére, amely nem váltja ki a racém doxazoszin vérnyo-

máscsökkentő hatását. A találmány lehetővé teszi emberekben BPH kezelését a doxazoszin optikailag tiszta (+)-izomerjének beadása útján, miközben a doxazoszin racém elegyével kapcsolatos, a szív-ér rendszerre gyakorolt hatások elkerülhetők.

A találmány (+)-doxazoszin alkalmazása emberben vizeletfolyást fokozó és egyidejű vérnyomáscsökkentést mérséklő vagy kiküszöbölő gyógyászati készítmények előállítására, ahol a készítmény 10 tömeg%-nál kevesebb (-)-doxazoszint tartalmaz.

A doxazoszin kapható racém elegye (azaz a két enantiomer 1:1 mólarányú racém elegye) vérnyomáscsökkentő hatást mutat, ezáltal a magas vérnyomással kapcsolatos állapotokban és ilyen rendellenességek esetén lehetővé teszi a kezelést, és a tünetek csökkentését.

Az emberi testben a húgyhólyagnyak, a húgyhólyagfenék, a húgycső és a prosztatátok simaizmai szimpatikus idegekkel vannak ellátva, és ezekben a testrészekben igazolták az összehúzóást közvetítő  $\alpha$ -adrenoreceptorokat. Feltételezték, hogy a vizelet-visszatartást – a jóindulatú prosztatátútlengés esetén a kifolyás növekvő gátlásának eredményeként – részben a prostata  $\alpha$ -adrenoreceptorok stimulálása okozhatja. Ennek a nézetnek az alátámasztására kedvező eredményeket ismertettek, amelyeket a fenoxi-benzamin és prazoszin  $\alpha$ -adrenoreceptor-blokkolókkal végzett kezelés során kaptak.

Noradrenalinval végzett kezelés miatt összehúzó állapotban lévő izolált emberi húgycső prazoszin hatására teljesen relaxált. Prazoszin ezenkívül  $\alpha$ -adrenoreceptor-blokkoló hatást gyakorol *in vitro* mind emberi prostata mirigyszövetében, mind pedig a prosztatátok szövetében. Ezért ha az  $\alpha$ -adrenoreceptorok stimulálása hozzájárul a jóindulatú prosztatátútlengés okozta gátláshoz, azok blokkolásának terápiás hatást kellene mutatnia, és a prazoszin ténylegesen hatásosnak bizonyult jóindulatú prosztatátútlengésben szenvedő betegek esetén a vizeletfolyás és a hólyagürítés javítása tekintetében. Doxazoszin használatát ilyen indikáció esetén nem ismertették. Lényegében tiszta (+)-doxazoszin használata lehetővé teszi a vizeletfolyás és a hólyagürítés javítását a hagyományos  $\alpha_1$ -antagonisták és a racém doxazoszin használatával együtt járó szív-ér rendszeri aktivitás nélkül. Ezért a racém doxazoszin beadásánál kívánatosabb a doxazoszin (+)-izomerjének beadása.

A „hátrányos hatások” kifejezés többek között magában foglalja az alacsony vérnyomást, a testhelyzetből fakadó alacsony vérnyomást, émelygést, aluszékonyságot, fáradtságot és szédülést. A doxazoszin mellékhatásaiaként ismertetett tünetek többek között fejfájás, homályos látás, ödéma, mellkasi szorítás, székrekedés, szájszárazság, szexuális zavarok, félelemérzet vagy idegesség, álmatlanság, szívdobogás, szapora szívverés, bőrkirritás, zsibbadás, izomgörcsök, fokozott verejtékezés, hasmenés, haspuffadás, nehéz légzés, alacsony fehérvérsejtszám, neutropénia, nátha és megnövekedett gyakoriságú vizeletürítés.

A „(-)-sztereoizomerétől lényegében mentes” kifejezés a találmány előnyös kiviteli alakja szempontjából azt jelenti, hogy a készítmény legalább 99 tömeg% (+)-doxazoszint és legfeljebb 1 tömeg% (-)-doxazo-

szint tartalmaz. A találmány legelőnyösebb kiviteli alakja szempontjából a „(-)-sztereoizomertől lényegében mentes” kifejezés a leírásban azt jelenti, hogy a készítmény 99 tömeg%-nál több (+)-doxazoszint tartalmaz. Ezek a %-ban megadott adatok a készítményben lévő doxazoszin összmenyiségére vonatkoznak. Az előzőekben ismertetett mennyiségek a „doxazoszin lényegében optikailag tiszta (+)-izomerje” vagy „lényegében optikailag tiszta (+)-doxazoszin” és „doxazoszin optikailag tiszta (+)-izomerje” vagy „optikailag tiszta (+)-doxazoszin” kifejezésekre is értendő.

Doxazoszin racém elegyének kémiai szintézisét lefolytathatjuk az US 4 188 390 dokumentumban ismertetett eljárás szerint. Doxazoszin egyedi enantiomerjeit előállíthatjuk az enantiomerek racém elegyének hagyományos eljárásokkal lefolytatott rezolválása útján. Doxazoszin rezolválható optikailag aktív savval, így borostyánkőssavval az N-(1,4-benzo-dioxán-2-karbonil)-piperazin vagy a végtermék szakaszában. A benzo-dioxán-karbonsav köztiterméket optikailag aktív bázissal, így brucinnal vagy  $\alpha_1$ -fenetil-aminnal is rezolválhatjuk. A szakember számára ismert, egyéb, hagyományos rezolválási eljárásokat, így a kristályosítás és kromatográfiás eljárás útján lefolytatott rezolválást is használhatjuk [Eliel E. L.: Stereochemistry of Carbon Compounds, McGraw Hill; Wilen és Lochmuller: J. Chromatography, 113, 283–302 (1975)]. Az optikailag tiszta (+)-izomert ezenkívül előállíthatjuk a racém elegy enzimatis biokatalitikus rezolválása útján is (lásd az US 5 057 427 és az US 5 077 217 dokumentumokat, amelyeket hivatkozásunk útján beépítünk a leírásba).

A (+)-doxazoszin megelőző vagy terápiás dózisának nagysága a betegség akut vagy krónikus kezelésében függ a kezelendő állapot súlyosságától és a beadás módjától. A dózis és természetesen a dózis gyakorisága az egyes betegek életkorától, testtömegétől és a készítményre adott reakciójától is függ. A (+)-doxazoszin teljes napi dózistartománya a leírásban ismertetett állapotok esetén általában 0,1–20 mg egyetlen dózisban vagy több részletre osztva. A napi – egyszeri vagy részletekre osztott – dózis előnyösen 0,5–10 mg, legelőnyösebben 0,5–5 mg. A beteg kezelését célszerű kisebb, így 0,5–1 mg dózissal kezdeni, és a beteg általános reakciójától függően a dózist 10 mg-ig vagy azt meghaladó értékre növelni. Ajánlott továbbá, hogy gyermekek és 65 év fölötti betegek, valamint károsodott vese- vagy májműködésű betegek kezdetben kis dózisokat kapjanak, és egyedi reakciójuk és vértükük alapján kapják a további kezelést. Szakember számára nyilvánvaló, hogy bizonyos esetekben a megadott tartományon kívüli dózisek is szükségessé válhatnak. Megjegyezzük továbbá, hogy a klinikai vagy kezelőorvos számára egyértelmű, hogyan és mikor szakítsa meg, módosítsa vagy fejezze be a terápiát az egyes betegek reakciójától függően. A „vizeletfolyás fokozásához elegendő, de a vérnyomáscsökkentésre való hajlam kiváltásához elégtelen mennyiség” kifejezést a fentiekben ismertetett adagolási mennyiségek és adagolási ütemezés magában foglalja.

Bármilyen alkalmas adagolási módot alkalmazhatunk ahhoz, hogy a beteg számára a hatásos (+)-doxazo-

szin dózist biztosítsuk. Így többek között alkalmazhatunk orális, rektális, parenterális (szubkután, intramuszkuláris, intravénás), transzdermális és hasonló beadási módokat. Az adagolási forma lehet tablettá, pasztilla, diszperzió, szuszpenzió, oldat, kapszula, tapasz és hasonló.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények hatóanyagként (+)-doxazosint vagy gyógyászatilag elfogadható sóját tartalmazzák, és tartalmazhatnak gyógyászatilag elfogadható hordozót is, és adott esetben egyéb gyógyászati alkotókat is.

A „gyógyászatilag elfogadható sók” vagy „annak gyógyászatilag elfogadható sója” kifejezések gyógyászatilag elfogadható nemtoxikus savakból vagy bázisokból, így szervetlen savakból és bázisokból, továbbá szerves savakból és bázisokból előállított sókra vonatkoznak. Minthogy a találmány szerinti vegyület bázikus, sókat előállíthatunk gyógyászatilag elfogadható, nemtoxikus savakból, így szervetlen és szerves savakból. A találmány szerinti vegyület alkalmas, gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sói képezhetőek ecetsav, (deziláthoz) benzolszulfonsav, benzoésav, kámforszulfonsav, citromsav, eténszulfonsav, fumársav, glükonsav, glutaminsav, hidrogén-bromid, hidrogén-klorid, izetionsav, tejsav, maleinsav, almasav, mandulásav, (meziláthoz) metánszulfonsav, nyálkasav, salétromsav, pamoinsav, pantoténsav, foszforsav, borostyánkősav, kénsav, borkősav, p-toluolszulfonsav és hasonlókat használatával.

A találmány szerinti készítmények lehetnek szuszpenziók, oldatok, elixírek, aeroszolok és szilárd adagolási formák. Orális szilárd készítmények (így porok, kapszulák és tabletták) esetén általában használt hordozók a keményítők, cukrok, mikrokristályos cellulóz, hígítószerke, granulálószerke, kenőanyagok, kötőanyagok, szétesést fokozó szerke és hasonlóak. Az orális folyékony készítményekkel szemben előnyösebbek az orális szilárd készítmények. A legelőnyösebb orális szilárd készítmények a tabletták.

A könnyű beadás következtében tabletták és kapszulák jelentik a legelőnyösebb orális adagolási egységet, amelyek esetén szilárd gyógyászati hordozókat használunk. Kívánt esetben a tablettákat szokásos – vizes vagy nemvizes – eljárásokkal bevonhatjuk.

A fentiekben ismertetett szokásos adagolási formákon kívül a találmány szerinti hatóanyagokat beadhatjuk még az US 3 845 770, az US 3 916 899, az US 3 536 809, az US 3 598 123 és az US 4 008 719 dokumentumokban ismertetett szabályozott hatóanyag-leadású eszközök és megoldások útján is, amely dokumentumokat hivatkozásunk útján beépítjük a leírásba.

Az orális beadásra alkalmas, találmány szerinti gyógyászati készítmények lehetnek diszkrét egységek, így kapszulák, ostyák vagy tabletták vagy aeroszolpalack alakjában, amelyek a hatóanyag előre meghatározott mennyiségét tartalmazzák, vagy pedig por vagy granulátum, vizes vagy nemvizes folyadékban lévő oldat vagy szuszpenzió, „olaj a vízben” vagy „víz az olajban” típusú emulzió alakjában. Ilyen készítmények előállíthatók bármilyen gyógyszerészeti eljárással, ahol valamennyi eljárás magában foglalja a hatóanyag és

– egy vagy több szükséges alkotórész által képviselt – hordozó egyesítésének műveletét. A készítményeket általában úgy állítjuk elő, hogy a hatóanyagot a folyékony hordozókkal vagy finoman eloszlalt szilárd hordozókkal vagy mindkettővel alaposan elkeverjük, majd szükség esetén a terméket a kívánt alakra hozzuk.

Tablettákat előállíthatunk sajtolás vagy formázás útján, adott esetben egy vagy több járulékos alkotórész alkalmazása mellett. Sajtoló tablettákat készíthetünk úgy, hogy a szabadon folyó alakban, így por vagy granulátum alakjában lévő hatóanyagot – adott esetben kötőanyaggal, kenőanyaggal, inert hígítóval, felületaktív anyaggal vagy diszpergálószerrel keverve – alkalmas berendezésben sajtoljuk. Formázott tablettákat előállíthatunk úgy, hogy a porított vegyület inert folyékony oldószerrel nedvesített elegyét alkalmas berendezésben formázzuk. Kívánatos módon minden tablettá 0,5–10 mg hatóanyagot tartalmaz. A tablettá, ostyá vagy kapszula legelőnyösebben a 0,5 mg, 2 mg vagy 8 mg hatóanyag-dózis egyikét tartalmazza.

A találmányt a következőkben példákkal szemléltetjük, amelyekben részletesen leírjuk a találmány szerinti készítmények előállítását, valamint azok alkalmazását. Szakember számára nyilvánvaló, hogy mind az anyagok, mind pedig az eljárások terén számos változat lehetséges anélkül, hogy a találmány céljától és oltalmi körétől eltávolodnánk.

#### 1. vizsgálat

Az értágulás vizsgálatát a következő módon folytattuk le: 2,0–2,5 kg testtömegű New Zealand White típusú nyulakat nyaktöréssel előltünk, és azonnal kimetsztük a mellkasi aortákat. Az aortákat ezután meleg, oxigénnel dúsított Krebs-féle hidrogén-karbonát-oldatba merítettük, és 1–3 mm széles keresztirányú vagy spirális csikokra vágtuk. A csikokat izotóniás hidrogén-karbonát-puffert tartalmazó szövetfürdőbe függesztettük függőleges helyzetben. A puffer összetétele a következő: 119,0 mmol/l NaCl, 4,7 mmol/l KCl, 2,5 mmol/l CaCl<sub>2</sub>, 1,5 mmol/l MgSO<sub>4</sub>, 1,2 mmol/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25,0 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> és 11,0 mmol/l dextróz. A fürdőként szolgáló közegen 95 térfogat% O<sub>2</sub>-t és 5 térfogat% CO<sub>2</sub>-ot tartalmazó gázt vezettünk át, hőmérsékletét 37,0±0,5 °C-on és pH-ját 7,4 értéken tartottuk. Mind-egyik csík alsó végét szövetrögzítővel biztosítottuk, a felső végüket zsinór vagy vékony lánc közvetítésével erő/elmozdulás jeladóhoz csatlakoztattuk, ezáltal a választékot regisztrálóberendezésen jelenítettük meg. A szövetmintákat 0,1–2,0 g kezdeti terhelőtömeg hatásának vetettük alá, és a vizsgálat kezdete előtt lehetővé tettük azok nyúlását, és az egyensúlyi helyzet elérését. A csíkokra ható feszültséget az egyensúlyi helyzet elérésének időszakában szakaszosan a kezdeti feszültségre szabályoztuk be. Gyógyszereket a szövetfürdőbe fecskendők vagy pipetták útján vittünk be, a bemerítésre szolgáló közeg az előmelegített, oxigénnel átöblített tartályokból leszívatas útján távolítottuk el vagy cseréltük ki. A kapott válaszokat az alapvonal fölött a feszültség változásaként adtuk meg a gramm mértékegységben megadott terhelőtömegeggyel kifejezve.

Mértük a szövet reagálását 1 µg/ml fenil-efrin hozzáadására. A szövetet különböző koncentrációjú vizsgálati anyaggal inkubáljuk, és ismételten kiértékeljük a fenil-efrinre adott reakciót. Egy további lehetőségként a szöveteket egy α-receptor-stimulátorral, így fenil-efrinnel előzetesen összehúzzatjuk, majd a fürdőfolyadékhoz fokozatosan hozzáadott vizsgálati anyaggal relaxáltatjuk.

### 2. vizsgálat

A fentiekben leírt módon járunk el, azonban a húgyvezetékre gyakorolt hatás meghatározása céljából nyíl-aorta helyett kutyá húgycsőszövetét használjuk.

### 3. vizsgálat

Az álló testhelyzet okozta alacsony vérnyomás és a szapora szívverés vizsgálatát kutyákon végeztük el. Kutyák csoportjait racém doxazoszin, (-)-doxazoszin és (+)-doxazoszin megfelelő dózisaival kezeltük, és meghatározott időpontokban megfigyeltük, és feljegyeztük az (álló testhelyzet okozta alacsony) vérnyomásra és a (szapora) szív működésre gyakorolt hatást. A gyógyszerek álló testhelyzet okozta alacsony vérnyomásra és a szív működés sebességére gyakorolt hatásának vizsgálatához sebészeti úton beépített artériakatóterekkel ellátott, öntudatuknál lévő, normális vérnyomású kutyákat használunk. Az állatokat bőr alatti elektródákkal is el lehet látni, amelyeket elektrokardiogram felvételére alkalmas berendezéshez kapcsolunk. A belső katéter vége az aorta és a bal nyaki verőér kapcsolódásánál van elhelyezve. A vérnyomást nyomásjeladó útján mérjük, a szív működés sebességét a vérnyomás szisztolés csúcspól vagy az EKG R-hullámaiból számítjuk. A vizsgált vegyületek dózisait orálisan vagy parenterálisan adjuk be, és a szív-ér rendszer paramétereire gyakorolt hatást kezdetben normál álló helyzetű állatokon mérjük. Az állatokat ezután első mancsuknál fogva felemeljük úgy, hogy azok hátsó mancsukon állva függőleges helyzetben vannak. Az álló testhelyzet okozta alacsony vérnyomást kiváltó gyógyszerek hirtelen csökkenést okoznak a regisztrált artériás vérnyomásban, amit olykor szapora szív működés kísér.

### 4. Vizsgálat

Házinyúl húgyhólyagjában a trigonum simaizomzata a humán prosztatában talált α-1 receptoraltípushoz hasonló receptort tartalmaz, így alkalmazzák humán prosztata modellvizsgálatára. E vizsgálatban doxazoszin és enantiomerei által kiváltott hatást tanulmányoztuk házinyúl húgyhólyagjának fenil-efrin által kiváltott kontrakciójának gátlására.

A következőkben ismertetjük a vizsgálat lefolytatásának módját. 2–4 kg testtömegű New Zealand White típusú him nyulakat pentobarbitál-nátrium intraperitoneális beadása útján elaltattunk, lefejezéssel elöltünk, majd a húgyhólyag trigonumából 1 mm-nél keskenyebb és 4–7 mm hosszúságú szövetcsíkokat vágunk ki. A szövetcsíkokat 50 ml Krebs–Henseleit-oldatot tartalmazó szövetcellákban helyeztük el, és a 37,0 °C hőmérsékleten tartott oldaton 95 térfogat% oxigént és

5 térfogat% szén-dioxidot tartalmazó gázt vezettünk keresztül. A közeg összetétele a következő: 118 mmol/l NaCl, 4,7 mmol/l KCl, 2,5 mmol/l CaCl<sub>2</sub>, 1,2 mmol/l MgSO<sub>4</sub>, 1,3 mmol/l NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> és 11,1 mmol/l glükóz. A közeg (1 mmol/l koncentrációjú) propranolol is tartalmaz a β-adrenoreceptor által kiváltott hatások gátlására. A kontrakció regisztrálására Model FT-10 típusú izometriás jeladót (gyártó cég: Grass Instrument Company, Quincy, MA, US) használtuk Model 7 típusú regisztrálóberendezéssel (gyártó cég: Grass Instrument Company, Quincy, MA, US). Valamennyi szövetmintán 1 g nyugalmi terhelőtömeget alkalmaztunk.

A kísérletek során minden egyes húgyhólyag trigonumából 7 mintát vettünk, amelyeket egyedileg szövetcellában szuszpendáltattunk, és bármilyen hatóanyag bevitel előtt 2 órán át hagytuk azokat a szövetfürdő oldatával egyensúlyba jutni. A vizsgálat kezdetén az egyes szövetek életképességének ellenőrzésére regisztráltuk a szövetminták kontrakcióit fenil-efrin progresszív módon növekvő kumulatív koncentrációi esetében (a 10<sup>-8</sup> és 10<sup>-3</sup> mol/l tartományban 10-szeres növekményeket alkalmazva). Ezután 1-1 szövetmintát 1 órán át racém vagy (+)- vagy (-)-doxazoszin hatásának tettünk ki 10<sup>-6</sup> vagy 10<sup>-7</sup> mol/l koncentráció alkalmazása mellett (3 típusú hatóanyag 2 koncentrációban történő vizsgálatához 6 szövetminta szükséges), a 7. szövetmintát kezeletlen állapotban hagytuk kontrollszövet céljára. Miután a hatóanyag 1 órán át kifejtette hatását a szövetmintákra, a fenil-efrin növekvő koncentrációira adott válaszként egy második alkalommal is regisztráltuk a kontrakciókat.

A racém, (+)- és (-)-doxazoszin hatásosságát jelző pA<sub>2</sub>-értékek meghatározására egy második koncentrációhatás adatsorból mindegyik szövetmintára meghatároztuk azt a fenil-efrin-koncentrációt, amely a maximális reakció felének megfelelő választ vált ki (EC<sub>50</sub>). Az utóbbi értéket lineáris regresszióval kapott egyenesek szolgáltatják, amelyek a hatóanyag koncentrációjának logaritmusához és a megfelelő, a zárójelben szereplő, a maximális válasz feléhez tartozó adathoz vannak illesztve. Mindegyik hatóanyaggal kezelt szövetmintára kiszámítottuk pA<sub>2</sub>-értékét a hatóanyaggal kezelt szövetre és a kezeletlen (kontroll) szövetre vonatkozó EC<sub>50</sub>-értékekből a következő összefüggés alapján:

$$pA_2 = -\log[B] + \log(ER - 1)$$

ahol [B] jelentése a hatóanyag koncentrációja, és ER jelentése a kezelt szövetre vonatkozó EC<sub>50</sub>- és a kezeletlen szövetre vonatkozó EC<sub>50</sub>-érték hányadosa.

A fenti vizsgálatokban alkalmazott L-fenil-efrin-hidroklorid, DL-propranolol-hidroklorid és L-aszkorbinsav szállítója a Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, US. A racém és (+)- és (-)-doxazoszint a bejelentő állította elő. Valamennyi L-fenil-efrin-oldatot 100 mmol/l koncentrációjú aszkorbinsavoldatban készítettük.

A vizsgálati eredmények statisztikai feldolgozásához az Abstat nevű programot (Anderson–Bell Corp., Parker, CO, US) használtuk.

A vizsgálati eredmények alapján meghatározott pA<sub>2</sub>-értékek a következők: (+)-doxazoszin – 8,06 ± 0,13,

racém doxazoszin –  $7,74 \pm 0,10$  és (–)-doxazoszin –  $7,11 \pm 0,14$ . A (+)- és (–)-doxazoszin, valamint a (–)- és racém doxazoszin esetére meghatározott különbségek statisztikailag szignifikánsak ( $P < 0,01$ , Scheffe-vizsgálat).

A vizsgálati eredmények alapján megállapítható, hogy a (+)-doxazoszin 9-szer hatásosabb, mint a (–)-doxazoszin (és 2-szer hatásosabb, mint a racém doxazoszin) háziyúl húgyhólyagjának fenil-efrin által kiváltott kontrakciói gátlásának tekintetében. A tekintett szövetekben lévő  $\alpha$ -1 receptoraltípusok hasonlósága alapján ezért a (+)-doxazoszin hatásossága várhatóan meghaladja a (–)-doxazoszin hatásosságát humán prosztata ellazulása és ezáltal a jóindulatú prosztatatúltengés tüneteinek enyhítése tekintetében.

A vizsgálati adatokat az 1. ábra tünteti fel. A racém, (+)- és (–)-doxazoszin koncentrációja az ábra felső részén lévő diagram esetén  $10^{-6}$  mol/l, míg az alsó részén lévő diagram esetén  $10^{-7}$  mol/l.

### 5. vizsgálat

A következőkben spontán magas vérnyomásban szenvedő patkányok *in vivo* vizsgálatát ismertetjük.

#### Vizsgálati módszer és alkalmazott anyagok

E vizsgálathoz 250–350 g testtömegű, hím, spontán magas vérnyomásban szenvedő patkányokat használunk. A szállítótól (Charles River, Kingston, NY, US) beérkező patkányokat a vizsgálat előtt legalább 1 héten át 12 órás világos-sötét ciklushoz szoktatjuk. Az állatokat szokásos laboratóriumi eledelen tartjuk, vizet tetzés szerint vesznek magukhoz.

**Sebészeti eljárás:** a sebészeti beavatkozás előtt megelőző célú antibiotikumként mindegyik patkány (12 mg/kg szubkután) amoxicillint kap. 2 óra múlva a patkányokat (50 mg/kg ip.) nátrium-pentobarbitál beadásával érzéstelenítjük. Érzéstelenítést követően az ágyékot és a lapockacsontok közötti területet leborotváljuk, majd povidon-jód és 70 tömeg%-os izopropilalkohol elegyével bedörzsöljük. Aszeptikus körülmények között bemetszést teszünk a bal láb combcsonti részén, és tompa bevágással szabaddá tesszük a combcsonti ütőeret és vénát. A bal combcsonti ütőérbe 20 USP egység/ml heparint tartalmazó steril sóoldattal töltött kanült vezetünk be, majd továbbítjuk a hasüregi aortába. Egy második kanült vezetünk be a bal combcsonti vénába, és továbbítjuk az alsó gyűjtőérbe. A kanülok 5 cm hosszúságú tefloncsőből készülnek, és hosszabb tygon csőhöz csatlakoznak. Mindegyik kanül egyik végét a véredénybe vezetjük be, míg a másik végét – sterilizált rozsdamentes acél anyagú szűrőcsapot használva – a lapockacsontok közötti helyen a bőr alá vezetjük be. A kanüloket ezután 1 cm távolságra a bőrön kívülre vezetjük és lezárjuk. A bőrön kívül lévő kanül helyzetét összehúzó varrattal rögzítjük. A combcsont környékén bemetszett bőrt ezután sebészeti tappasszal lezárjuk.

Amint az állatok magukhoz térnek és visszanyerik mozgási képességeiket, visszahelyezzük azokat ketrecükbe, ahol tetszés szerint hozzájutnak eledelhez és vízhez.

### A vizsgált anyagok beadása

A sebészeti beavatkozásból való felépülést követő 2–3 nap múlva mindegyik patkányt hason fekvő helyzetben egy műanyagból készített kisállatrögzítőbe helyezzük, amely hirtelen  $90^\circ$  C-kal felfelé dönthető lap-hoz van csatlakoztatva. 1 óra időtartamú egyensúlyba-hozási időtartam után – amely közben 10 perc időközönként megmérjük a vérnyomás és pulzus kiindulási szintjét – a patkányokat 120 s időtartamra felfelé döntjük, ezt követően visszavisszük azokat eredeti, hason fekvő helyzetükbe. 15 perc múlva egy második alkalommal meghatározzuk a 120 s időtartamú döntésre adott választ. A leírás további részében ezeket a válaszokat az „ellenőrző” válaszokként jelöljük.

A második ellenőrző választ követően a patkányoknak valamely vizsgált anyag 0,1, 0,3, 1,0 és 3,0 mg/kg értékű növekvő, összegzett (IV) dózisát adjuk be. Hordozóval kezelt állatok 1 ml/kg mértékegységben kifejezve azonos térfogatú hordozót kapnak. A vizsgált vegyület vagy hordozó dózisait 1 perc időtartam alatt bolusként adjuk be intravénásan. A vizsgált vegyület vagy hordozó beadását követő 1 perc múlva a patkányokat 120 s időtartamra ismét felfelé döntjük. (Valamennyi vizsgált anyag esetén a vérnyomásra gyakorolt maximális hatást a beadást követő 1 percen belül figyeljük meg). Az egyes döntésekre adott válaszként a vérnyomást a döntés előtt és azt követően folyamatosan figyeljük, míg a pulzus értékét 10 s időközönként határozzuk meg. Az egyes kezelési csoportokban összesen 6 patkányt vizsgálunk.

### Statisztikai elemzés

Az egyes vizsgált anyagok és a hordozó által az átlagos vérnyomásra és a pulzusra gyakorolt közvetlen hatás szignifikanciájának megállapítására a vizsgálati eredményeket oly módon normalizáljuk, hogy a két ellenőrző döntésre adott válaszok előtti mérések átlaga és a vizsgált anyag vagy hordozó beadását követő maximális változás közötti különbséget %-ban adjuk meg. Hasonlóképpen a hirtelen helyzetváltozást kísérő vérnyomás- és pulzusváltozás szignifikanciájának megállapítására a mérési eredményeket a mérést követő maximális változás és a közvetlenül a döntés előtti mérés %-ban kifejezett különbségeként normalizáljuk. Ezenkívül feljegyezzük a vérnyomás maximális csökkenésének eléréséhez szükséges időtartamot, valamint azt az időtartamot, amely a vérnyomásnak a döntés előtti értékre való visszatéréséhez szükséges. Számos vizsgált állat esetén a vizsgálat 120 s időtartama alatt a vérnyomás nem tér vissza a döntés előtti értékre. A statisztikai vizsgálatokban ilyen esetekben 120 s értéket alkalmazunk. Az egyes megfigyelt paraméterek esetén a vizsgált vegyülettel kezelt és a vizsgált vegyület egyenértékű dózissal kezelt állatokban fellépő válaszok közötti különbséget egyváltozós varianciaanalízis (ANOVA) alkalmazásával hasonlítjuk össze. Ha az eredmény statisztikusan szignifikáns, vizsgált vegyülettel kezelt állatokban fellépő egyedi válaszokat ekvivalens dózissal hordozóval kezelt állatokban kapott válaszokkal hasonlítunk össze a Student–Newman–Kuels-vizsgálat alapján. Ha a két csoport közötti különbségre vonatkozóan  $p \leq 0,05$ , a különbséget statisztikusan szignifikánsnak minősítjük.

E vizsgálat szempontjából az átlagos vérnyomást a következő egyenlettel számítjuk:

$$\text{átlagos vérnyomás} = [(\text{szisztolés vérnyomás} - \text{diasztolés vérnyomás}) \times 0,33] + \text{diasztolés vérnyomás}$$

#### Alkalmazott anyagok

A fenti vizsgálatot a kereskedelmi forgalomban kapható legnagyobb tisztaságú anyagokkal folytatjuk le. A (+/-)-terazoszin, (+/-)-doxazoszin, (+)-doxazoszin és (-)-doxazoszin gyártója: Sepracor, Inc. (Marlborough, MA, US). A prazoszin gyártó cége: Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, US). A fentiekben ismertetett vizsgálatokhoz a vizsgált anyagokat olyan hordozóban szolubilizáljuk, amely 67 tömeg% vizet és 33 tömeg% mennyiségben etanol és polietilén-glikol 550 alkotta 1:1 tömegarányú elegyet tartalmaz. A teljes oldáshoz általában meleg vízzel végzett enyhe melegítés szükséges. Az egyes vizsgálati anyagokat a vizsgálat megkezdését megelőző 1 óra időtartamon belül készítjük el.

#### Vizsgálati eredmények

Hordozó vagy vizsgált vegyület intravénás beadását követően hirtelen testhelyzetbe hozás után a vérnyomás %-os csökkenésére vonatkozó adatokat tüntet fel a következő táblázat.

Kezelés	Dózis (mg/kg, i.v.)			
	0,1	0,3	1,0	3,0
Hordozó	5±1	3±3	4±1	5±1
Prazoszin	18±3*	26±5*	21±6*	20±2*
(R,S)-Terazoszin	15±3*	26±3*	16±3*	24±2*
(+/-)-Doxazoszin	13±2*	14±3*	15±3*	10±2
(+)-Doxazoszin	6±2	11±2	5±1	7±2
(-)-Doxazoszin	1±1	4±1	2±1	6±1

Az adatok 6 magához tért patkány válasza alapján meghatározott értékeket mutatnak átlag±szórás alakban (\*p<0,05).

A kapott eredmények azt mutatják, hogy (+)-doxazoszin [és (-)-doxazoszin] esetén az álló testhelyzet okozta alacsony vérnyomás kisebb, mint racém doxazoszin vagy prazoszin és (R,S)-terazoszin esetén.

#### 1. példa – Orális formulálás: kapszulák

Alkotórész	Kapszulánkénti mennyiség (mg)		
	A	B	C
(+)-Doxazoszin	0,5	2,0	8,0
Laktóz	84	82,5	76,5
Kukoricakeményítő	15	15	15
Magnézium-sztearát	0,5	0,5	0,5
Sajtoló tömeg	100,0	100,0	100,0

A (+)-doxazoszin hatóanyagot szitáljuk, majd elkeverjük a kötőanyaggal. Az elegyet alkalmas berendezést használva megfelelő méretű, kétrészes, keményszelatin kapszulákba töltjük. Más dózisokat előállíthatunk a töltőtömeg megváltoztatása útján és „szükség esetén” a kapszula méretének megváltoztatásával.

#### 2. példa – Orális formulálás: tabletták

Alkotórész	Kapszulánkénti mennyiség (mg)		
	A	B	C
(+)-Doxazoszin	0,5	2,0	8,0
Laktóz	72,25	70,75	64,75
Kukoricakeményítő	3,0	3,0	3,0
Víz (1000 tablettánként)*	30,0 ml	30,0 ml	30,0 ml
Kukoricakeményítő	18,75	18,75	18,75
Magnézium-sztearát	0,50	0,50	0,50
Sajtoló tömeg	125,0	125,0	125,0

\* A víz gyártás közben elpárolog.

A hatóanyagot mindaddig keverjük a laktózzal, amíg egyenletes keveréket kapunk. A kukoricakeményítő kisebb hányadát pasztaszerű kukoricakeményítő előállítására összekeverjük a vízzel. Ezután a pasztát összekeverjük az egyenletes keverékkel mindaddig, amíg egyenletes nedves masszát kapunk, majd hozzáadjuk a maradék kukoricakeményítőt, és a keverést egyenletes granulátum eléréséig folytatjuk. A granulátumot 6,35 mm szitanyílású rozsdamentes acélszitát használva alkalmas őrlőberendezésben szitáljuk. Az őrlött granulátumot alkalmas szárítókemencében szárítjuk, majd ismét alkalmas őrlőberendezésben őrljük. Ekkor hozzákeverjük a magnézium-sztearátot, és a kapott elegyet kívánt alakú, vastagságú, keménységű és szétesési tulajdonságú tablettáká sájtoljuk.

#### SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. (+)-Doxazoszin alkalmazása emberben vizeletfolyást fokozó és egyidejű vérnyomáscsökkenést mérséklő vagy kiküszöbölő gyógyászati készítmények előállítására, ahol a készítmény 10 tömeg%-nál kevesebb (-)-doxazoszint tartalmaz.

2. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás intravénás infúzió útján, transzdermálisan vagy orálisan tablettaként vagy kapszulaként beadható gyógyászati készítmények előállítására.

3. A 2. igénypont szerinti alkalmazás 0,1–20 mg napi dózisú (+)-doxazoszint vagy gyógyászati lagon elfogadható sóját tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására.

4. A 3. igénypont szerinti alkalmazás 0,5–10 mg napi dózisú gyógyászati készítmények előállítására.

5. A 4. igénypont szerinti alkalmazás 0,5–5 mg napi dózisú gyógyászati készítmények előállítására.

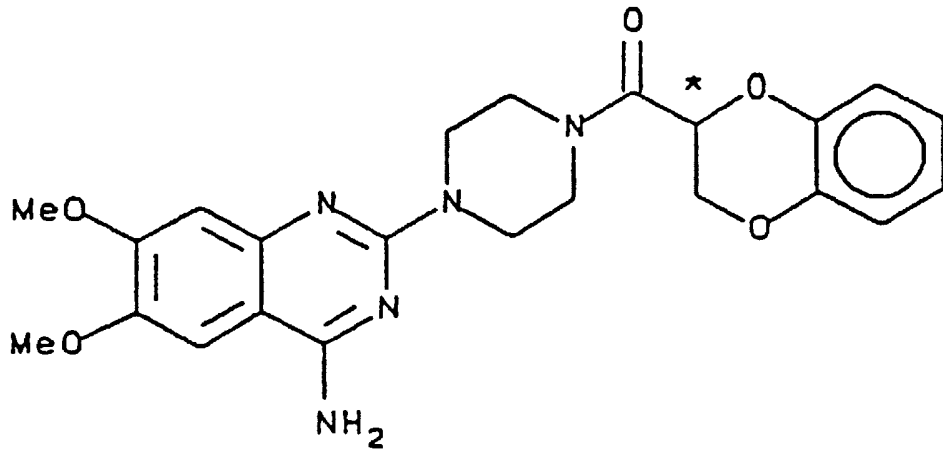
6. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás a doxazoszin össztömegére vonatkoztatva legalább 99 tömeg% (+)-doxazoszint vagy abból készült, gyógyászatilag elfogadható só-tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására.

7. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, ahol a (+)-doxazoszint vagy gyógyászatilag elfogadható sóját gyógyászatilag elfogadható hordozóval együtt használjuk.

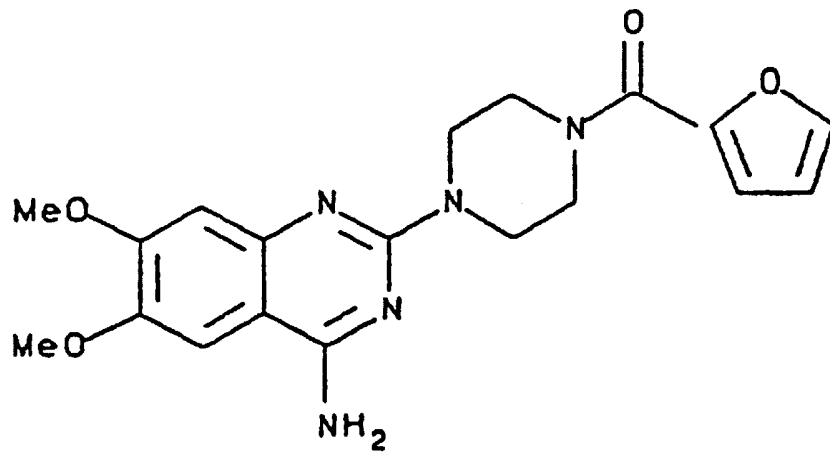
8. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, ahol a (+)-doxazoszin sójaként hidrokloridját vagy metánszulfonátját használjuk.

5 9. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás jóindulatú prosztataátültetés kezelésére szolgáló, egyidejű vérnyomáscsökkenést mérséklő vagy kiküszöbölő gyógyászati készítmények előállítására, ahol a készítmény 10 tömeg%-nál kevesebb (-)-doxazoszint tartalmaz.

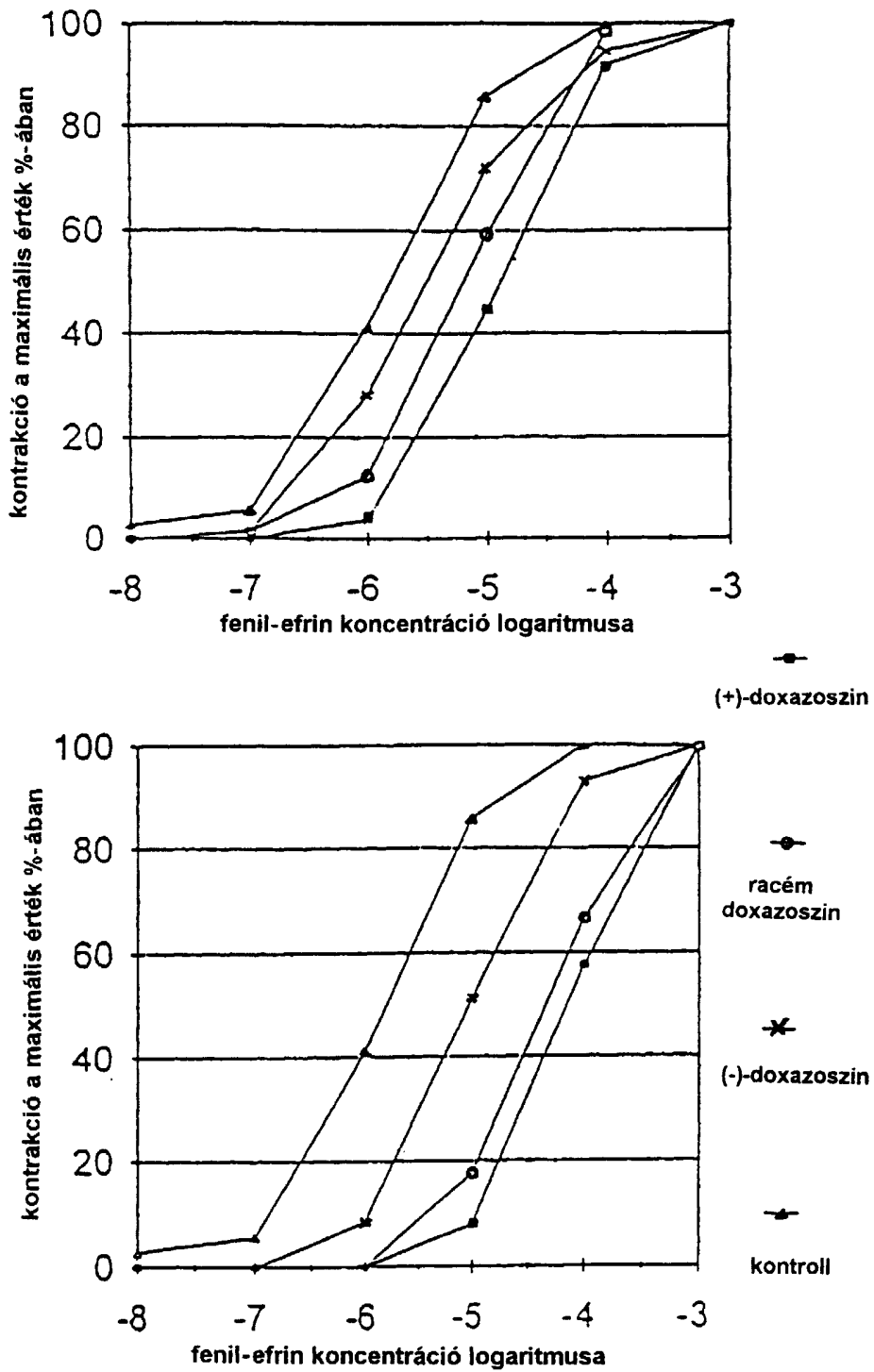




(I)



(II)



1. ÁBRA