

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

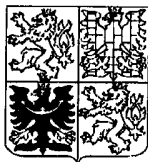
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1498-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **13. 11. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **14.11.95**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/19542281**

(33) Země priority: **DE**

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

(86) PCT číslo: **PCT/EP96/04957**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/17971**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 31/55

(71) Přihlášovatel:

**BOEHRINGER INGELHEIM KG, Ingelheim
am Rhein, DE;**

(72) Původce:

**Jung Birgit, Schwabenheim, DE;
Meade Christopher John Montague, Bingen,
DE;
Pairet Michel, Biberach, DE;**

(74) Zástupce:

**Korejzová Zdeňka JUDr., Břehová 1, Praha
1, 11000;**

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Použití epinastinu pro výrobu
farmaceutického prostředku**

(57) Anotace:

**Použití epinastinu jako léčiva pro léčbu boles-
ti, zejména migrény, Bing-Hortonova syndro-
mu, tensních bolestí hlavy, bolestí svalů, zá-
nětlivé bolesti nebo neuralgií.**

CZ 1498-98 A3

být uspokojivě léčeny slabými analgetiky.

Na druhou stranu, neexistuje všeobecně přijímaný system klasifikace bolestí hlavy; chronická opakující se bolest ve smyslu tohoto vynálezu označuje především migrenu a Bing-Hortonův syndrom. Migrena sama o sobě má několik podtypů (viz J. Olesen and R.B. Lipton, Neurology 44 (1994) str. 6 - 10 pro klasifikaci). Ačkoliv migrena a tensní bolest hlavy jsou dvě různé formy, klasifikují je někteří vědci jako kontinuální formy, s migrenou na jedné straně a tensní bolestí hlavy na druhé straně spektra (K.L. Kumar and T.G. Cooney: "Headaches" v "Medical Clinics of North America" svazek 79 č. 2 (1995), str. 261 - 286). Proto se zdá rozumné předpokládat, že mnoho pacientů s tensní bolestí hlavy bude také odpovídat na terapii pro migrenu. Několik jiných onemocnění, která jsou spojena s chronickou bolestí, jako je neuralgie, bolesti svalů a zánětlivá bolest (například po spálení na slunci nebo při osteoartritidě nebo po zranění při sportu) má společné rysy s chronickou opakující se bolestí (A. Dray, L. Urban and A. Dickenson, Trends in Pharmacological Sciences 15 (1994): 190 - 197).

Současná terapie migreny zahrnuje použití námelových alkaloidů jako je ergotamin a 5HT_{1o} antagonistů jako je sumatriptan. Ačkoliv mnoho pacientů má užitek z těchto léků, v žádném případě na tuto léčbu nereagují všichni pacienti. Také mají mnoho nežádoucích účinků jako jsou závratě a nevolnost. Léky pro profylaktickou léčbu migreny zahrnují methysergid a pizotifen, beta-blokátory jako je propranolol, a blokátory vápníkového kanálu jako je flunarizin. Chronické podávání těchto léčiv může mít nežádoucí účinky, které poškodí kvalitu života nemocného a léky obvykle pouze redukují frekvenci ataků migreny, ale nezabrání jim

(viz H.C. Diener, Eur. Neurol. 34 (Suppl. 2) (1994): 18 - 25).

Zůstává proto dále potřeba léku pro léčbu migreny, který je nejen účinný, ale také bez významných nežádoucích účinků. Existuje zde také potřeba léku s vysokým stupněm bezpečnosti pro určitou skupinu pacientů jako jsou děti a pacienti s redukovanými jaterními nebo ledvinými funkcemi, nebo s kardiovaskulárními onemocněními.

Podstata vynálezu

Nyní bylo překvapivě zjištěno, že epinastin výborně splňuje tyto požadavky. Toto je ukázáno následujícími výsledky výzkumů.

U laboratorních zvířat je možné indukovat zánět v dura mater elektrickou stimulací ganglia trigeminu, což způsobuje uvolnění neuropeptidů jako je substance P ze zakončení sensitivních nervů. Extravasace plasmy může být sledována markery jako je Evansova modř. Tento zvířecí model je často používán pro testování léků použitelných u migreny. Překvapivě, epinastin ukázal výjimečně dobrou aktivitu v tomto modelu. Pro chronickou zánětlivou bolest je široce používaným modelem ten, který je prvně popsán Randallem a Selittem (L.O. Randall and J.J. Selitto, Arch. Int. Pharmacodyn. 111 (1957): 409 - 419). Zánět je indukován na tlapce krysy injekcí kvasinkových buněk a měří se zánětem indukovaná hyperalgesie. Epinastin také ukázal překvapivě dobrou aktivitu v tomto modelu.

Epinastin je známý jako antihistaminikum. Interakce mezi ligandem (např. lékem) a receptorem mohou být kvantifikovány pomocí afinitní konstanty (K_1). Čím menší hodnota afinitní

konstanty, tím silnější vazba mezi lékem a receptorem. Zejména je věnována pozornost těm sloučeninám, jejichž hodnota K_1 je menší nebo je stejného řádu jako očekávaná hodnota léku v cílových tkáních (nebo plasmě). $5HT_7$ receptor je speciálním podtypem receptoru pro 5-hydroxytryptamin (pro klasifikaci viz "Trends in Pharmacological Sciences 1994 Receptor and Ion Channel Nomenclature Supplement"). Překvapivě, byla zjištěna dobrá vazba epinastinu na $5HT_7$ receptor. K_1 hodnoty pro epinastin a pro dvě srovnávaná antihistaminika jsou uvedena v tabulce 1.

Zde popsaný vynález bude nyní ilustrován odkazem na příklady. Z tohoto popisu budou odborníků v oboru zřejmě jiné možnosti provedení vynálezu. Je zde výslovně uvedeno, že příklady jsou míněny pouze jako ilustrace a ne jako omezení předkládaného vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

Studie vazby epinastinu na $5HT_7$ receptor

Vazba 2,0 nM (3H) LSD na krysí $5HT_7$ receptor exprivovaný na CHO buňkách byla měřena po dobu 60 minut při 37 °C v 50 mM Tris-HCl pufru, pH 7,4, obsahujícím 10 mM $MgCl_2$ a 0,5 mM EDTA. Reakce byla ukončena rychlou vakuovou filtrací na fitlrech ze skelných vláken předem ošetřených 0,1% polyethyleniminem. Studie vazby byly provedeny dvojnásobně za absence léku a za přítomnosti 6 až 8 koncentrací epinastinu mezi 3 nM a 10 μM . Byla měřena radioaktivita zachycená na filtrech za přítomnosti každé koncentrace léku a byla srovnávána s kontrolními hodnotami pro určení interakce léku s klonovaným $5HT_7$ receptorovým místem. Nespecifická vazba byla určena za přítomnosti

5-karboxamidotryptaminu (5-CT). IC_{50} pro nahrazení radioznačeného ligandu byla určena grafickou extrapolací a K_1 hodnoty byly počítány po korekci pro posun obsazování radioligandu podle rovnice, kterou popsal Cheng and Prusoff (viz Biochem. Pharmacol. 22 (1973): 3099 - 3108). Provedeny byly tři pokusy. V každém pokusu bylo zjištěno, že epinastin se váže na $5HT_7$ receptor překvapivě dobře. Průměrná zjištěná hodnota K_1 pro epinastin byla 33 nM, průměrná K_1 (+) enantiomeru byla 28 nM a (-) enantiomeru 189 nM. Jednotlivé hodnoty pro K_1 epinastinu a jeho enantiomerů, které byly zjištěny v těchto třech pokusech, jsou uvedeny v tabulce 1, spolu s hodnotami K_1 pro dvě srovnávací antihistaminika.

Tabulka 1:

Vazba epinastinu (racematu a enantiomerů) a dvou srovnávacích antihistaminik (ketotifen a mepyramin) na 5HT₇ receptor

Sloučenina	Úplný chemický název	Měřené hodnoty K ₁ , nM
Epinastin	3-amino-9,13b-dihydro-1H-dibenz(c,f)-imidazo(1,5-a)azepin hydrochlorid (racemat)	27, 41, 30
Epinastin (+) enantiomer	(+)3-amino-9,13b-dihydro-1H-dibenz(c,f)-imidazo(1,5-a)azepin hydrochlorid	45, 18, 22
Epinastin (-) enantiomer	(-)3-amino-9,13b-dihydro-1H-dibenz(c,f)-imidazo(1,5-a)azepin hydrochlorid	155, 204, 207
Ketotifen		406, 572, 331
Mepyramin		2660, 747, 1330

Studie účinku epinastinu na extravasaci plasmy v dura mater krys indukované elektrickou stimulací ganglia trigeminu

Samci Wistar krys o hmotnosti 175 - 190 g byly anestetizováni

nembutalem 50 mg/kg i.p. a byla kanylována vena jugularis pro injekci léčiva. Zvířata byla umístěna do stereotaktického rámu. Symetrické vrty byly provedeny 3,0 mm laterálně a 3,2 mm posteriorně od bregma a elektrody byly umístěny 9,5 mm od dura mater. Testovaná sloučenina epinastin nebo kontrolní roztok byly injikovány intravenosně 10 minut před elektrickou stimulací pravého ganglia trigeminu (5 minut; 2,0 mA, 5 Hz, trvání 5 ms) a Evansova modř (30 mg/kg i.v.) byla podána 5 minut před elektrickou stimulací jako marker extravasace plasmatických proteinů. 15 minut po konci periody stimulace byla zvířatům podána perfuse 50 ml fyziologického roztoku přes levou srdeční síň pro odstranění intravaskulární Evansovi modři. Dura mater byla odebrána, usušena a zvážena. Tkáňová Evansova modř byla extrahována v 0,3 ml formamidu při 50 °C po dobu 24 hodin. Koncentrace barviva byla měřena spektrofotometrem při vlnové délce 620 nm, byla interpolována na standardní křivku a byla vyjádřena jako obsah Evansovi modři v ng na mg hmotnosti tkáně.

Výpočet dat:

Extravasace byla vyjádřena jako kvocient vypočítaný dělením obsahu Evansovi modři stimulované strany obsahem Evansovi modři v nestimulované straně. Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2

Účinek epinastinu ve zvířecím modelu migreny

Kontrolní skupina byla ošetřena 0,9% roztokem chloridu sodného: 1 ml/kg i.v.

Zvíře č.	Tělesná hmotnost	Dura mater stimul. strany			Dura mater nestim. str.			Kvocient stimul/ nestim. str.
		hmot. obsah EB (mg)	obsah EB/hmot. ($\mu\text{g/ml}$)	obsah EB/hmot. ($\mu\text{g/ml}$)	hmot. obsah EB (mg)	obsah EB/hmot. ($\mu\text{g/ml}$)	obsah EB/hmot. ($\mu\text{g/ml}$)	
1	180 g	4,24	0,85	0,060	5,58	0,73	0,039	1,54
2	185 g	5,34	0,76	0,043	5,13	0,60	0,035	1,23
3	185 g	5,06	0,47	0,028	4,60	0,38	0,025	1,12
4	190 g	6,05	1,33	0,066	6,23	1,03	0,050	1,32
5	185 g	4,22	0,72	0,051	5,77	0,67	0,035	1,46
6	185 g	4,81	0,57	0,036	5,03	0,54	0,032	1,13
7	185 g	7,62	1,35	0,053	6,53	1,22	0,056	0,95

EB = Evansova modř

průměr = 1,25

Skupina ošetřená epinastinem 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. ředěným v 0.9% roztoku chloridu sodného: 1 ml/kg

Zvíře č.	Tělesná hmotnost	Dura mater stimul. strany			Dura mater nestim. str.			Kvociet stimul/ nestim. str.
		hmot.	obsah EB	obsah EB/hmot. EB	hmot.	obsah EB	obsah EB/hmot. EB	
		(mg)	($\mu\text{g}/\text{ml}$)	($\mu\text{g}/\text{ml}$)	(mg)	($\mu\text{g}/\text{ml}$)	($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
1	175 g	6,63	1,20	0,054	6,01	1,28	0,064	0,84
2	175 g	4,96	0,74	0,046	4,78	0,80	0,050	0,92
3	170 g	4,63	0,53	0,034	7,68	1,01	0,039	0,87
4	165 g	6,52	0,54	0,025	6,29	0,53	0,025	1,00
5	190 g	7,97	1,23	0,046	9,32	1,39	0,045	1,02
6	190 g	6,24	0,70	0,034	6,52	0,83	0,038	0,89
7	190 g	6,87	0,60	0,026	7,29	0,48	0,020	1,30

EB = Evansova modř

průměr = 0,98

Tabulka 2 ukazuje, že ve zvířecím modelu pro migrenu léčba epinastinem signifikantně redukuje extravasaci Evansovi modři indukovanou elektrickou stimulací ganglia trigeminu.

Studie účinku epinastinu na kvasinkami indukovanou hyperalgesii v tlapce krysy

Metoda podle Randalla a Selitta byla modifikována použitím stupnice analgesie podle Basile of Milan.

Skupina 10 vyhladovělých rys kmene Chbb:THOM (hmotnost 110 - 140 g, 5 samců a 5 samic) dostala orálně 1% Natrosol 250 HX, 1 ml/100 g tělesné hmotnosti, obsahující 0, 0,3, 1,0, 3,0 nebo 10 mg/kg epinastinu (racemické směsi). O 1 hodinu později byla zvířatům injikována subplantárně suspenze kvasinkových buněk v objemu 0,1 ml do pravé zadní tlapky. 3 hodiny po injekci kvasinkové suspenze byl určen práh bolesti zvyšováním tlaku na zánětem postiženou tlapku dokud se neobjevily známky bolesti. Z prahu bolesti měřeného po různých dávkách epinastinu byla použita lineární regresní analýza pro určení ED_{50} . Jak ukazuje tabulka 3, epinastin zvyšoval práh bolesti v tomto modelu. Dávka epinastinu nutná pro zvýšení prahu bolesti o 50% byla vypočítána jako 1,1 mg/kg.

Tabulka 3

Účinek epinastinu na práh bolesti v zánětem postižené tlapce u krys

Substance	Dávka mg/kg p.o.	Počet krys	Průměrná hodnota prahu bolesti g/zadní tlapku	Standardní odchylka	% zvýšení
kontrola	0,0	10	150,4	30,4	
epinastin	0,3	10	164,8	41,8	9,6
epinastin	1,0	10	235,2	51,5	56,4
epinastin	3,0	10	259,4	60,7	72,5
epinastin	10,0	10	272,8	60,9	81,4

Tabulka 4

Test analgetické aktivity podle Randall Selitto

Zvíře: Samec/samice krysy

Hmotnost: 110 - 140 g

Krmení: vyhladověné

Podání: 1,0 ml/100 g p.o.

Přísada: 1% Natrosol

Hodnota v 90. minutě

Substance	Dávka mg/kg	N	Průměrná hodnota	Aktivita v %	SD	VK v %
kontrola	0/0	10	150		46,188	30,792
epinastin/ibuprofen	0/3,0	10	153	2,00	20,028	13,090
epinastin/ibuprofen	0/10,0	10	202,00	34,67	29,740	14,723
epinastin/ibuprofen	0,3/0	10	216,00	44,00	44,020	20,380
epinastin/ibuprofen	0,3/3,0	10	252,00	68,00	57,116	22,665
epinastin/ibuprofen	0,3/10,0	10	277,00	84,67	81,792	29,528
epinastin/ibuprofen	1,0/0	10	232,00	54,67	57,889	24,952
epinastin/ibuprofen	1,0/3,0	10	295,00	96,67	70,593	23,930
epinastin/ibuprofen	1,0/10,0	10	369,00	146,00	107,233	29,060

Epinastin nebo jeho enantiomery mohou být podány pro léčbu bolesti jako roztok pro injekce vhodným způsobem, jako je intravenosní, intramuskulární nebo subkutání podání, jako tablety, jako čípky, jako aerosol pro inhalační podání do plic nebo jako nasální spray.

Při podání tablet nebo čípků bude jedna dávka pro dospělé činit asi 5 až 200 mg, s preferovanou dávkou mezi 10 a 50 mg. Pro inhalaci jsou podány jednotlivé dávky mezi 0,05 až 20 mg, preferovaně mezi 0,2 a 5 mg. Pro parenterální injekce bude jednotlivá dávka v rozmezí 0,1 až 50 mg s preferovanou dávkou mezi 0,5 a 20 mg. Uvedené dávky mohou být, pokud to je nutné, podány několikrát za den.

Zeměna preferovanou a výhodnou se zdá být kombinace epinastinu s jinými terapeutickými činidly, například s aspirinem, paracetamolem, nesteroidními antiflogistiky (NSAID) jako je ibuprofen, meloxicam, indometacin nebo naproxen; 5HT_{1D} agonisty jako je sumatriptan, MK-462, naratriptan nebo 311C; CP-122, 288; UK 116,044; antagonisty dopaminového D₂ receptoru jako je metoklopramid; námelovými alkaloidy jako je ergotamin, dihydroergotamin nebo metergolin; klonidinem; methysergidem; dotarizinem; lisuridem; pizotifenem; kyselinou valproovou; amitriptilinem; beta blokátory jako je propranolol nebo metoprolol; antagonisty vápníkového kanálu jako je flunarizin nebo lomerizin, nebo s antagonisty neurokininů. Takové kombinace, byť v jedné dávkové formě, nebo v separátních formách umožňujících sekvenční podání nebo v podstatě simultánní podání, jsou dalším rysem předkládaného vynálezu.

Následují příklady farmaceutických kompozic obsahujících aktivní látku.

Tablety:

Epinastin 20 mg
Stearan hořečnatý 1 mg

Kukuřičný škrob 62 mg
Laktosa 83 mg
Polyvinylpyrolidon 1,6 mg

Injekční roztoky:

Epinastin 0,3 g
Chlorid sodný 0,9 g
Voda pro injekce do 100 ml.

Roztok může být sterilizován za použití standartních metod.

Roztok pro nasální nebo pro inhalační podání:

Epinastin 0,3 g
Chlorid sodný 0,9 g
Benzalkoniumchlorid 0,01 mg
Přečištěná voda do 100 ml.

Roztok popsáný výše je vhodný pro nasální podání jako spray, nebo v kombinaci s prostředkem, který je schopen produkovat aerosol s částicemi určité velikosti s preferovanou velikostí mezi 2 až 6 μm , pro podání do plic.

Kapsle pro inhalaci:

Epinastin je aplikován v mikronisované formě (velikost částic mezi 2 a 6 μm) obvykle spolu s mikronizovaným nosičem jako je laktosa a je naplněn do kapslí z tuhé želatiny. Pro inhalaci může být aplikován obvyklý prostředek pro podání prášku do plic. Každá kapsle obsahuje mezi 0,2 a 20 mg epinastinu a 0 až 40 mg laktosy.

Inhalační aerosol:

Epinastin 1 díl
Sojový lecitin 0,2 dílu
Hnací směs plynů do 100 dílů

Směs je preferovaně naplněna do aerosolové nádoby s odměřovací chlopní, kdy je jeden vstřík měřen tak, že je podána dávka 0,5 mg. Pro jiné dávky v naznačeném rozmezí dávek je použit vhodný přípravek s použitím většího nebo menšího množství aktivní látky.

Krém

Kompozice	g/100 g krému
Epinastin	2,0
Koncentrovaná kyselina chlorovodíková	0,011
Pyrosiřičitan sodný	0,050
Směs stejných dílů cetyl alkoholu a stearyl alkoholu	20,0
Vaselina alba	5,0
Syntetický bergamotový olej	0,075
Destilovaná voda do	100,0

P a t e n t o v é n á r o k y

1. Použití epinastinu ve formě enantiomeru, směsi enantiomerů, nebo jako racematu pro léčbu bolesti.

2. Použití epinastinu podle nároku 1, pro léčbu migrény, Bing-Hortonova syndromu, tensní bolesti hlavy, bolesti svalů, zánětlivé bolesti nebo neuralgií.

3. Použití epinastinu jako racematu nebo ve formě enantiomeru, buď jako volné baze nebo jako adiční sole s farmaceuticky přijatelnou kyselinou, pro produkci léčiva pro terapeutickou léčbu bolesti.

4. Použití epinastinu podle nároku 3 pro produkci léčiva pro terapeutickou léčbu migrény, Bing-Hortonova syndromu, tensní bolesti hlavy, bolesti svalů, zánětlivé bolesti nebo neuralgií.

5. Použití epinastinu podle jakéhokoliv z nároků 1 až 4 v kombinaci s dalšími analgetiky.

6. Použití epinastinu podle nároku 5, kde dalším použitým analgetikem je NSAID, $5HT_{1D}$ -agonista, antagonist dopaminového D_2 receptoru, námelový alkaloid, beta-blokátor, blokátor vápníkového kanálu nebo antagonist neurokininu.

7. Použití podle nároku 6, kde NSAID je ibuprofen, meloxicam, indometacin nebo naproxen.

8. Použití podle nároku 6, kde $5HT_{1D}$ agonista je sumatriptan, MK-462, naratriptan nebo 311C.

9. Použití podle nároku 6, kde antagonistu dopaminového D_2 receptoru je metoklopramid.

10. Použití podle nároku 6, kde námelový alkaloid je ergotamin, dihydroergotamin nebo metergolin.

11. Použití podle nároku 6, kde beta-blokátor je propranolol nebo metoprolol.

12. Použití podle nároku 6, kde blokátorem vápníkového kanálu je flunarizin nebo lomerizin.

13. Použití podle nároku 6, kde bolest zmírňující léčivo je kombinováno s aspirinem, paracetamolem, klonidinem, methysergidem, dotarizinem, lisuridem, pizotifenem, kyselinou valproovou, amitryptilinem, CP-122,288 nebo UK 116,044.