

(19)



(10) **LT 3119 B**

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patent numeris: **3119**

(51) Int.Cl.⁵: **C07C 211/34,
A61K 31/13**

(21) Paraiškos numeris: **IP249**

(22) Paraiškos padavimo data: **1992 12 21**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1994 07 15**

(45) Patent paskelbimo data: **1994 12 25**

(31,32,33) Prioritetas: **4060/91, 1991 12 20, HU**

(72) Išradėjas:

**Kalman Magyar, HU
Jozsef Gaal, HU
Istvan Sziraki, HU
Jozsef Lengyel, HU
Anna Z. Szabo, HU
Katalin Marmarosí-nee-Kellner, HU
Istvan Hermecz, HU
Istvan Szatmari, HU
Zoltan Torok, HU
Peter Kormoczy, HU**

(73) Patent savininkas:

**CHINOIN GYOGYSZER-ES VEGYESZETI TERMEKEK GYARA RT., 1-5, To utca, Budapest
IV, HU**

(74) Patentinis patikėtinis:

Rita Laurinavičiūtė, 5, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Farmacinė kompozicija ir jos paruošimo būdas

(57) Referatas:

Išradimas priskiriamas farmacinėms kompozicijoms, tinkančioms neurodegeneraciniams susirgimams gydyti, turinčioms aktyvius ingredientus, sąlygojančius adekvačias koncentracijas laike ir lygyje tiek kraujyje, tiek ir smegenyse ir jų paruošimo būdai.

Išradimas yra farmacinė kompozicija, skirta neurodegeneratyvinių ligų gydymui, turinti atitinkamų koncentracijų aktyvius igriedientus, priklausomai nuo laiko ir lygio, tiek kraujyje, tiek ir smegenyse, bei jos paruošimo būdas.

Žinoma, kad monoamino oksidazė /MAO/ yra vienas iš pagrindinių biogeninių aminų apyskaitos, vykstančios žmogaus nervinėse ląstelėse, fermentas (Blaschko H., Pharmacol. Rev. 4, 415 (1951)). Dėl savo aktyvumo biologiniai aminai, turintys esminę paskirtį pernešti nervinį impulsą, virsta neefektyviais metabolitais. Pastebėta, kad kai kurių ligų atvejais, biogeninių aminų lygis smegenyse būna sumažėjęs.

Agentai, slopinantys metabolizuojantį fermentą (fermentus) gali atstatyti normalų šių fermentų lygį. Tai ir yra ta priežastis, dėl ko MAO slopintojai buvo pradėti naudoti žmogaus terapijoje. Pastebėta, kad MAO slopintojai gali sukelti eilę pašalinių efektų, kurie susiję su tiramino (struktūriškai tai biogeninis aminas) suaktyvinimu ("sūrio reakcija"), kuris gaunamas iš maisto ir gali sukelti kraujo spaudimo padidėjimą, bei gali būti mirties priežastimi /Piackar ir kt., Psychopharmacology 73, 3087, (1981)/.

MAO egzistuoja dviejose formose, pavadintose MAO-A ir MAO-B. Selektiviai slopinant B formą, A-forma gali suskaldyti tiraminą, kuris yra mišraus substrato tipas ir pavojingo pašalinio efekto galima išvengti. Tai galėtų pasireikšti (-)-deprenilo, /(-)-N-(-1-fenil-izopropil)-N-metil-propilamino hidrochlorido/ atveju, kuris selektyviai ir negrižtamai slopina MAO-B fermentą (Elsworth ir kt., Psychopharmacology 57, 33, /1978/). Fermento aktyvumo regeneracija galėtų įvykti dėl negrižtamo slopinimo naujai resintezuojant fermentą. Fermento negrižtamo slopinimo vystymasis apima dvi

stadijas. Pirmoji yra grįžtama, ir tik kita stadija yra slopinančio komplekso susidarymas, kuris tampa negrįžtamu. Fermento regeneracijos pusperiodis yra 7-8 dienos (Oreland ir kt., J. Neural. Transm. Suppl. 32, 55-59, /1990/).

Fermentų substrato specifiškumas ir geriausiai žinomų inhibitorių selektyvumas yra apžvelgtas Dostert ir jo bendradarbių (Medicinal Research Reviews, t-9, Nr. 1. 45-89, /1989/). Balard (Science 219, 979-980, /1980/) ir Bruns (Proc. Natl. Acad. Sci. 80, 4546-4550, /1983/) aprašė, kad MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinas), dėl savo neurotoksinio aktyvumo sukelia žmonėms parkinsoninį sindromą ir panašūs simptomai gali būti pastebimi bandymuose su gyvūnais. MPTP sukelia selektyvų smegenų dryžuotojo kūno dopaminėrginiu neuronų pažeidimą. Histologiniai pakitimai yra panašūs į tuos, kurie stebimi parkinsoninio lavono smegenyse. Yra žinoma, kad šio MPTP efekto galima išvengti su MAO slopintojais, ypač su deprinilu. Prevencinis (-)-deprinilo vaidmuo atsiranda dėl MPTP vartojimo į MPP⁺ slopinimo. (Nature, 311, 467, /1984/). MPTP sukelti neuronaliniai pažeidimai gali būti atitolinti taip pat su dopamino absorbcijos inhibitoriais (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 2175, 1985), kaip mazindolu, slopinant MPP⁺ (metil-fenil-piridino jono) aktyvią absorbciją į dopaminerginius neuronus.

Funkcionuojant MAO, susidaro laisvi vandenilio peroksido ir deguonies radikalai, kurie gali sukelti oksidacinius neuronų pažeidimus. Dėl MAO taip pat gali susidaryti amoniakas ir kai kurie heterocikliniai izochinolinai, kurie laikomi neurotoksiškais. (Mater ir kt., Drug metabolism. Reviews, 22, 291-332, /1990/; P Riederer ir kt., Acta Neurol. Scand., 126, 41, /1989/; Benedetti ir Dostert, Biochem. Pharm. t. 38, 555, /1989/).

Žinoma, kad DSP-4 (N-(2-chloretil)N-etil-2-brom-benzil-aminas), neurotoksinis agentas, sukelia selektyvų noradrenalino (NA) pašalinimą nuo centrinių ir periferinių noradrenerginių neuronų (Grzanna ir kt., J. Histochem. Cytochem., 1435-1442, 1989).

Taip pat žinoma, kad

10 - resorbcijos inhibitoriai, tokie kaip dezipraminas (10,11-dihidro-N-metil-5-H-dibenz(6,7)azepin-5-propanaminas) slopina DSP-4 NA-pašalinimo efektą (Jonsson ir kt., Neuroscience, 7, 2895, /1982/; Ross Br. J. Pharmacol., 58, 521, /1976/)

15 -MDL 72974A/(E)-4-fluor-beta-fluor-etilenfenilo butanaminas) didelio selektyvumo MAO-B inhibitorius, stokoja katecholaminerginio resorbcijos blokavimo savybių, ir todėl nepavyksta užkirsti kelio DSP-4 sukeltam toksiškumui (Finnegen ir kt., Eur. J. of Pharmacol., 184, 119-126, /1990/).

25 Tampa aišku, kad (-)-deprenilas negali būti apibūdinamas tik kaip paprastas selektyvus MAO-B negrižtamas inhibitorius. Buvo nustatyta, kad jis slopina dopamino, noradrenalino ir tiramino absorbciją galiniuose nervuose ir periferinių nervų mazguose, bet tik ypatingai didelėmis dozėmis (Knoll, Advances in Biochem. Psychopharmacology, t. 5, 393, 1972). Reikia atkreipti dėmesį į tai, kad kartu su MAO slopinimo efektu, deprenilas pasižymi absorbcijos slopinimo aktyvumu.

30 Mūsų tikslas yra paruošti optimalių savybių farmacinę kompoziciją, skirtą neurodegeneratyvių ligų gydymui.

35 Atliekant bandymus, mes ištyrėme, kad

1.) Ilgalaikis MAO slopinimas gali būti pasiektas tik tuo atveju, jei inhibitoriaus koncentracija smegenyse ir kraujyje siekia pakankamai didelę (15-40 pmol/mg audinio) koncentraciją. Kada inhibitoriaus koncentracija yra per didelė (30 mg/dieną) metabolitų koncentracija būna taip pat pakankamai didelė ir sukelia nepageidaujamą psichostimuliuojantį efektą ir/arba sumažėja inhibitoriaus selektyvumas (MAO-A taip pat slopinamas).

10

1.) Deprenilas ir p-fluor-deprenilas (N-(4-fluor-fenil)-izoprop-1-il)-N-metil-propinilaminas) pasižymi aktyvumu, kaip pradinis (nepakitęs) junginys ir kaip metabolitas.

15

Rezultatai iliustruojami fig.1 ir fig.2.

Po alternatyviai ir poziciškai pažymėto deprenilo ir p-fluor-deprenilo (žiedas- ^3H ir propargilas- ^{14}C (1.5, 10 mg/kg, atitinkamai) skyrimo per burną žiurkėms, junginių pasiskirstymas buvo tiriamas 15-oje smegenų sričių (visos susijungusių smegenų dalys buvo tiriamos nepriklausomai, kartu 25 smegenų plotuose ir plazmoje) 96 h bėgyje, kaip laiko funkcija. Buvo nustatyta, kad nepakitęs junginys greitai absorbuojosi (per 15 minučių) ir išsiskverbė į centrinę nervų sistemą. Nepakitusi deprenilo molekulė neilgai išsilaiko smegenyse, bet metabolitai audiniuose gali būti randami ilgesnį laiką.

20

25

Vienalaikiai ir tokie patys pažymėti kiekiai rodė nepakitusią molekulę (duomenys priklauso molinėms koncentracijoms, apskaičiuotoms pagal dvi pažymėtas). Dėl greitų pasikeitimų, pastebėtų $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ santykio, išvirkšto į audinius, mūsų eksperimentas rodo žymų metabolitų formavimąsi (amfetamino, metilamfetamino, p-fluor-metilamfetamino ir p-fluoramfetamino) ir jų buvimą smegenyse.

35

3.) Potencialūs deprenilo ir p-fluor-deprenilo metabolitai (metilamfetaminas, amfetaminas ir p-fluor-metilamfetaminas, p-fluor-amfetaminas, atitinkamai) pasižymi ryškiu absorbcijos slopinimo efektyvumu; jie gali užkirsti kelią MPTP neurotoksiškumui in vivo be ryškaus MAO slopinimo laipsnio išsivystymo. Rezultatai parodyti 1,2 ir 3 lentelėse. Bandymai buvo atlikti pagal Heikillo metodiką (Nature, 311, 467-469, /1984/).

4.) Potencialūs deprenilo ir p-fluordeprenilo metabolitai (metilamfetaminas, amfetaminas ir p-fluor-amfetaminas, atitinkamai) gali užkirsti kelią DSP-4 sukeltam neurotoksiškumui 1-5 mg/kg (p.d.) doze in vivo be MAO slopinimo išsivystymo.

Rezultatai parodyti 8 lentelėje.

Bandymai atlikti pagal Finnegan metodiką (Finnegan ir kt., Eur. J. Pharmacol., 184; 119-126, /1990/).

Naudojant metabolitus didelė koncentracija in vivo (10 mg/kg; p.t.), jie padidina DSP-4 toksiškumo efektą, kuris pasireiškė gyvūnų mirtimi.

5.) Ilgalaikis metabolitų buvimas reikalingas neurotoksiškumo prevencijai, arba tinkamai aukštai nepakeisto junginio koncentracijai per trumpesni periodą (koncentracija, būtina negrižtamo MAO-B slopinimo užbaigimui), arba dėl absorbcijos slopinimo grįžtamumo.

Nustatyta, kad maksimalus efektas gali būti pasiektas išpildžius abi sąlygas.

Išradimas apima dviejų fazių vaistinę kompoziciją, susidedančią iš aktyvaus ingrediento-junginio, pasižyminčio MAO slopinimo efektu, ir junginio, pasižyminčio

absorbciją slopinančiu efektu, kartu su įprastomis pagalbinėmis medžiagomis.

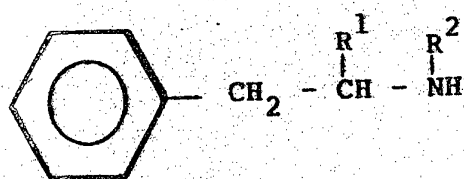
5 Pagal išradimą, kompozicijos aktyvus ingredientas turi 5-95 masės % grįžtamo ar negrįžtamo MAO inhibitoriaus, 5-95 masės % absorbcijos inhibitoriaus, geriausiai prailginto veikimo 1-19:1-19 santykiu, geriausiai 1:1, 1:2 ar 1:3 santykiu.

10 Kompozicija skiriama priklausomai nuo paciento stovio, klinikinio vaizdo rimtumo ir nuo individualaus paciento jautrumo, 5-20 mg, geriausiai 10 mg/per dieną doze.

15 Dažniausiai absorbcijos inhibitorius nėra ilgo veikimo, todėl inhibitorius geriausiai naudojamas prailginto veikimo formoje. Geriausiais MAO inhibitoriais gali būti panaudoti pasirinktinai deprenilas, p-fluor-deprenilas, jų druskos, bei optiškai aktyvūs izomerai.

20 Absorbcijos inhibitoriais geriausiai gali būti naudojami deprenilas, p-fluor-deprenilas arba kai kurie bendros I formulės junginiai

25



I,

30 kurioje R¹ yra tiesi arba šakota C₁₋₈ alkilo grupė, C₇₋₁₀ fenilalkilo grupė, arba fenilo grupė, C₃₋₈ cikloalkilo grupė, R² yra tiesi arba šakota C₁₋₈ alkilo grupė arba C₁₋₈ alkilo grupė, pakeista halogeno atomu, hidroksi-C₁₋₄ alkoksi grupe arba viena ar dviem fenilo grupėmis,
35 fenilo grupė arba C₃₋₈ cikloalkilo grupė, su sąlyga, kad R¹ ir R² kartu turi mažiausiai 3 anglies atomus arba kai

kurias druskas, gautas pridėjus rūgštis arba jų metabolitai.

5 Bendros formulės I junginių geriausiai gali būti panaudoti:

N-propil-1-fenil-2-pentilaminas arba jo druska, gauta pridėjus rūgštis,

10 N-propil-1-fenil-2-butilaminas arba jo druska, gauta pridėjus rūgštis arba

N-propil-1-fenil-2-heksilaminas arba jo druska, gauta pridėjus rūgštis.

15

Dviejų fazių kompozicijos, pagal išradimą, gali būti paruoštos iš esmės žinomais metodais, piliulių, tablečių, padengtų tablečių, transkutaninių kompozicijų, dražė, mikrokapsulių su suspensijomis, kapsulių, 20 padengtų kapsulių, suspensijų per os, suspensinių injekcijų formoje, naudojant žinomus priedus.

Priedais geriausiai gali būti panaudotos sekančios medžiagos:

25

a) Užpildais: sacharozė, laktozė, manitolis, krakmolas, krakmolas-talkas-sacharozė, kalcio fosfatas, hidroalkolinis polividono tirpalas (polivinilpirolidonas) ir t.t.

30

b) Sulėtinantys priedai:

- lipofilinė bazė (stearino rūgštis, stearino rūgštis palmitatas, glicerinas-ditripalmitatas-stearatas ir t.t.

35

- kiti priedai, žinomi farmacinėje technologijoje:
Eudragito dariniai ir t.t.;

5 - celiuliozės dariniai: HPMC, CMC, ES ir jų
druskos.

c) Granuliacinis tirpalas: vanduo, etanolis, etanolis-
vanduo, izopropanolis-vanduo.

10 d) Rišamosios medžiagos: PVP/VA, Eudragit dariniai,
celiuliozės dariniai ir jų druskos.

Tam tikra prasme galima teigti, kad farmacinė
kompozicija paruošiama in situ, tai yra pacientas vienu
15 metu gydomas tinkamai MAO inhibitoriaus doze,
reikalinga galutinio 98% MAO slopinimo pasiekimui, ir
tinkama absorbcijos inhibitoriaus doze, reikalinga
pasiekti pastovų absorbcijos slopinimą.

20 Deprenilo, p-fluor-deprenilo, junginių, kurių bendra
formulė I, gavimas yra aprašytas US patente Nr. 4 564
706, Europos patento Nr. 186 680 aprašyme ir
Portugalijos patento Nr. 85 799 aprašyme.

25 PAVYZDŽIAI

1. Dviejų fazių tabletė paruošiama iš esmės žinomu
būdu:

30 Kompozicija:

Vidinė fazė: paruošta dviguba granuliacija

a) Deprenilas	: 5 mg
Metilceliuliozė k 4 M kokybė	: 50 mg
Laktozė	: 20 mg

Pakankamas izopropanolio kiekis granulių pagaminimui.

b)	Deprenilas	: 10 mg
	Krakmolas kukurūzų	: 40 mg
	Avicel 1 PH-101	: 20 mg
	PVP K-25	: 10 mg

Pakankamas izopropanolio kiekis granulių pagaminimui (taip pat gali būti panaudotas distiliuotas vanduo).

5

Išorinė fazė:

Mg stearatas	: 8 mg
Talkas	: 15 mg
Aerosilas-200	: 2 mg

10 2. Prailginto veikimo veikimo tablečių, turinčių 15 mg deprenilo, paruošimas

Komponentai

Deprenilas	15 mg
Stearino rūgštis	30 mg
Eudragitas RSPM	45 mg
Collidon VA 64	47 mg
Carbopol 940	35 mg
Steroteks	25 mg
Magnio stearatas	3 mg
	220 mg

15 (Tablečių diametras 8 mm)

Tabletavimo technologija

20 1. Granulių paruošimas sausu granuliavimu, iš esmės gerai žinomą būdu.

Pudros sumaišymo seka:

Collidon VA 64, Carbopol 940, stearino rūgštis, steroteks (susmulkintas) (hidrogenizuotas medvilnės aliejus), Eudragitas RSPM (akrilinės-metakrilinės rūgšties esterio kopolimeras), deprenilas.

2. Pudros mišinys tabletuojamas ekscentrine tabletavimo mašina, kai yra maži apsis./min.

Tirpumo bandymo rezultatai:

Atlikti trys lygiagretūs matavimai.

Vienoje dėžutėje yra 15 tablečių.

a) 316,5 cg/15 dalių

b) 316,0 cg/15 dalių

c) 319,0 cg/15 dalių

Tirpinimo terpe buvo naudotas dirbtinis skrandžio skystis be pepsino (Ph. Hg. VII.)

Praskiedimas nulis.

$d=1$ cm;

$\lambda=256$ mm.

Rezultatai

Laikas (minutėmis) Ištirpusi aktyvi medžiaga (%)

10	4,5
15	9,0
30	21,0

60	31,2
90	47,7
120	39,3
150	41,1
180	48,6
240	51,9
300	63,3
360	69,0
420 (7 valandos)	75,6

3. Dviejų fazių piliulių paruošimas

- 5 - su šiomis kompozicijomis paruošiamos "greitos" ir "lėtos" piliules:

* GREITOS PILIULĖS

- Neutralios piliulės (cukraus apvalkalas) 61,1 mg
- Deprenilas 16,3 mg
- Laktozė 16,6 mg
- Polividonas (K30) 6,3 mg

10 * LĖTOS PILIULĖS

- Neutralios piliulės (cukraus apvalkalas) 44,6 mg
- Deprenilas 11,9 mg
- Laktozė 11,9 mg
- Polividonas (K30) 4,6 mg
- Etilceliuliozė apie 8,4 mg
- Talkas apie 16,9 mg
- Ricinos aliejus apie 1,7 mg
- gamybos būdas:

15 Sacharozės kristalai padengiami krakmolo-talka-sacharozės mišiniu ir hidroalkoholiniu polividono ir sacharozės tirpalu (cukraus apvalkalas).

Deprenilo hidrochlorido ir laktozės mišinys pritvirtinamas prie mikrogranulių, naudojant alkoholinį polividono tirpalą. "Lėtų" piliulių atveju, ant mikrogranulių pritaikoma alkoholinės etilceliuliozės (plastifikuota su ricinos aliejumi) ir talko glazūra.

Norint gauti reikalingą "greitą" arba "lėtą" piliulę, norimi "greitų" ir "lėtų" piliulių kiekiai įmaišomi į kapsulę iš esmės žinomu būdu.

4. Dviejų fazių transkutaninės kompozicijos paruošimas (UG-191)

Komponentai

Karbovaškas	35000	1,0
Karbovaškas	4000	16,0
Karbovaškas	400	53,0
1,2-propilenglikolis		2,0
Ksantano guma		15,0
Deprenilas		7,0
Cremofor EL		6,0
		100,0

Technologija:

Karbovaško komponentai išlydyti ir mišinys išpiltas į Erweka tipo maišymo indą prie 50°C ir sumaišytas 6 faze. Deprenilas ištirpintas ir suspenduotas į propileno glikolio ir Cremofor EL mišinį prie 50°C ir mišinys porcijomis (50 g kiekviena) pridėtas į maišymo indą. Po kiekvienos porcijos, mišinys maišomas 1 minutę. Pagaliau, Ksantano guma pridėta porcijomis (5 g kiekviena), kai yra didesnis greitis (9 faze). Po kiekvienos pridėtos porcijos, mišinys maišomas 1 minutę. Po to maišymo greitis sumažintas iki 3,5 fazės ir maišymas tęsiamas, kol atšąla (apytiksliai, 1,5

valandos). Aktyvios medžiagos kiekis yra 6,84 %, o stabilumas atitinkamas.

5 Skystas kristalinis būvis: 100%, su persišviečiančiais kietais 8-10 mikronų kristalais. /Cremofoor EL: glicerin-poli-etilenglikol-ricinoleatas, Ksantano guma: polisacharidas/.

Farmakologiniai duomenys:

10

Planuojant eksperimentines sąlygas, turi būti atsižvelgta į sekančius duomenis.

15

Tiesioginis metabolitų absorbcijos inhibitoriaus efektyvumo matavimas in vivo nelavo įmanomas dėl jų grįžtamos prigimtės.

20

MAO-B inhibitoriaus efektyvumas - naudojant trombocitų MAO-B aktyvumą indikatoriumi - periferiškai išmatuojamas kiaulėse (trombocitai, gaunami iš kitų rūšių, neturi gerai išmatuojamo MAO-B fermento aktyvumo).

25

Matuojant DSP-4 neurotoksiškumo priklausomybę nuo laiko žiurkėse (indikatoriumi naudojant Amonio rago noradrenalino turį) paveikus skirtingomis deprenilo dozės formomis, gali būti įvedamas tarpusavio ryšis tarp DSP neurotoksiškumo trūkumų ir atitinkamo, bet ne ypatingai aukšto deprenilo metabolitų lygio kraujyje.

30

Eksperimentų serijose analitine technika buvo matuojamas pastovus naminių kiaulių deprenilo metabolitų lygis kraujyje, o MAO aktyvumas buvo taip pat nustatomas trombocituose, smegenyse ir kepenyse.

35

Eksperimentai buvo atliekami su vyriškos lyties (didelėmis baltomis) naminėmis kiaulėmis, sveriančiomis 20-25 kg. Eksperimentų metu kiaulės laikomos

narveliuose atskirai, ir duodamas tas pats maistas, kuris buvo naudotas anksčiau. Gyvūnams per burną skiriamos 5; 7,5; 10; 15 mg (-)-deprenilo piliulės ir 10 mg injekcijos. Kraujo pavyzdžiai (5 ml) paimti po 0; 0,08; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 12; 24 ir 48 h į centrifugavimo vamzdelius su 500 TV heparino analitiniams matavimams.

Pavyzdžiai centrifuguojami 1500 apsis./min. greičiu 10 min. plazmos atskyrimui. Metabolitai nustatomi dujų chromatografijos metodu, naudojant Hp-5890 dujų chromatografą, eliuavimo laikas metilamfetaminui: 21,4 min.

Rezultatai parodyti fig. 3.

DSP-4 neurotoksiškumo slopinimas išmatuotas žiurkėse. Dirbant su žiurkėmis, sekama Finnegan schema (Finnegan ir kt., EUR. J. Pharmacol., 184; 119-126; /1990/).

20

Buvo naudojamos Wistar vyriškos lyties žiurkės, sveriančios 170-200 g. Gyvūnai patalpinami po šešis į narvelį, esant pastoviai temperatūrai (22°C) apšviestame 12 h per dieną kambaryje. Maistas ir vanduo buvo

laisvai prieinami. Žiurkės buvo paveikiamos per burną 3 mg/kg 3 pavyzdžio kompozicija (1 mg/kg "greita" (F)+2 mg/kg "lėta" (S)), 1, 2, 4 ir 8 valandas prieš DSP-4 poveikį (50 mg/kg intraperitoniškai). Prieš (-)-deprenilo poveikį, gyvūnai neėdė 24 valandas. Žiurkių

Amonio ragas išskrostant ir noradrenalino kiekis buvo matuojamas aukšto slėgio skysčio chromatografijos (ASSC) technika.

Rezultatai parodyti fig. 4.

35

Iš fig. 4. matyti, kad 3 mg/kg deprenilo per os gali užkirsti kelią 50 mg/kg DSP-4 p. d. neurotoksiškumui

žiurkėse. Kontrole naudojant ("greitą") sudėti, pirmame
 periode trukdymas aukštas (86,1 %), bet jis krenta
 eksponentiškai, ir po 8 valandų siekia DSP-4 poveikio
 kontrolei (19,6 %) lygį. Apibrėžta kompozicija pasirei-
 5 škia 58,8 % slopinimu, slopinimas praktiškai identiškas
 (54,5 %), palyginus su kontroline sudėtimi (51,5 %) po
 dviejų valandų, bet yra žymiai aukštesnis (43,31 %)
 negu kontrolės (16 %) ir praktiškai nepasikeičia
 aštuonių valandų bėgyje. Paveikus 4 mg/kg deprenilu
 10 nustatyta, kad kontrolinė ("greita") sudėtis sušvelnino
 DSP-4-neurotoksiškumo priklausomybę nuo laiko, skir-
 tingai nuo apibrėžtos ("greitos" ir "lėtos") sudėties.
 (Žiūr. fig. 5). Tai reiškia, kad "greitos" komponentės
 dozės negalima didinti neribotai, nekreipiant dėmesio į
 15 nepageidautinus pašalinius efektus.

Priešingai, pritaikant apibrėžtos kompozicijos su
 didėjančiu kiekiu "lėtos" dalies, MAO-slopinimas didės,
 20 tai reiškia, kad bus prarastas deprenilo selektyvumas.

Rezultatai pateikti 4 lentelėje.

4 lentelė

25 Procentinis MAO slopinimas deprenilo preparatais

Preparatas	Smegenys	
	MAO-B	MAO-A
1 mg/kg (tabletės)	88.02±1.49	2.55±0.56
0.5+0.25 mg/kg		
("lėtos" ir "greitos")	85.84±4.16	14.83±3.37
0.5+1.0 mg/kg		
("greitos" ir "lėtos")	90.50±3.10	27.28±3.93

Transkutaninių preparatų atveju kontrolinė grupė
 veikiama per burną 10 mg deprenilo želatininėje
 30 kapsulėje. MAO-B aktyvumo nustatymui kraujo pavyzdžiai

imami po 0, 3, 6, 24, 48, 72 ir 96 h. Paėmus kraujo pavyzdį po 96 h, kiaulės buvo užmušamos, o MAO-B ir MAO-A aktyvumas nustatomas išskrostose smegenyse.

- 5 Kita grupė buvo veikiama, kaip ir kontrolinė, su UG-111 transkutaniniu preparatu, turinčiu 10 mg (-)-deprenilo. Kraujo pavyzdžiai imami po 0, 3, 6, 24 ir 48 h. Transkutaniniai preparatai buvo nuimti po 24 h. Likusio (-)-deprenilo preparatų kiekio nustatymui panaudotas
- 10 pleistras ir jo nailoninis apvalkalas. Oda plaunama etanoline medvilne-vilna, kuri taip pat buvo naudojama (ASSC) nustatymui. Kiaulės buvo užmuštos 48-ą valandą, o MAO-A ir MAO-B aktyvumas nustatytas smegenyse.

- 15 Trečia kiaulių grupė buvo veikiama, kaip ir kontrolė UG-167, turinčiu 20 mg (-)-deprenilo.

- Kraujo pavyzdžiai paimti po 0, 3, 6, 24, 48 ir 72 h. Pleistrai buvo nuimti 48-ą h ir procedūra, aprašyta 2-
- 20 ai grupei, buvo užbaigiama.

- Ketvirta kiaulių grupė buvo veikiama UG-191, turinčiu 30 mg (-)-deprenilo. Kraujo pavyzdžiai, paimti po 0, 3, 6, 24, 48, 72 ir 96 h. Pleistrai buvo nuimti 48-ą h ir
- 25 visa procedūra, aprašyta 2-ai grupei, buvo užbaigiama.

- Kraujas buvo paimtas iš tuščios venos 20 ml plast-
- 30 masiniu švirkštu, turinčiu 1,5 ml 7,6 % Na-citrato tirpalo. Kiekvienu kraujo pavyzdžio ėmimo metu buvo paimta 18,5 ml kraujo. Mao aktyvumas matuojamas radiometriškai pagal Wurtman ir Axelrod metodiką (Biochem. Pharmacol, 12. 1414-19; 1963) su nedidele modifikacija (K. Magyar in: Monoamine Oksidasės and their Selective Inhibition. Ed.: K. Magyar, Pergamon
- 35 Press, Akademiai Kiado, Budapest 11-21; 1980).

Trombocitai preparatuose buvo sekami metodu, aprašytu Willberg ir Orelan (Med. Biol., 54:137-44; 1976).

5 lentelė

5

(-)-Deprenilo absorbcija nuo transkutaninių preparatų, kaip laiko funkcija, kiaulėse. (Likusio pleistire (-)-deprenilo kiekis buvo nustatinėjamas ASSC technika).

Transkutaninis preparatas	Eksperimento trukmė (h)	Likęs deprenilas % + S.D
UG-111 (kontrolinis)		
10 mg	24	14.2±5.5
UG-167 (kontrolinis)	24	36.5±9.3
20 mg	48	6.1±5.1
UG-191	24	58.5±14.1
30 mg	48	28.3±12.1
	72	8.4±2.4

10

MAO-B aktyvumo slopinimo rezultatai trombocituose po naudojimo per os ir transkutaliai parodyti 6 lentelėje.

6 lentelė

15

(-)-Deprenilo efektyvumas, slopinant trombocitų (%) MAO-B aktyvumą, palyginus su kontrole. Matavimai buvo atlikti su ¹⁴C-PEA substratu. + S.D. (n=3).

Pritaikymo būdas	Laikas					
	3	6	24	48	72	96
per os 1 (10 mg)	97.77	86.04	100.00	82.67	72.32	0.0
	92.52	96.51	100.00	70.48	65.63	0.0
	0.0	95.63	100.00	69.93	50.17	0.0
	95.15	92.73±	100±	74.36±	52.71±	-
		3.35	00	4.16	6.56	

Pritaikymo būdas	Laikas					
	3	6	24	48	72	96
UG-111	0.0	36.27	52.68	60.70	-	-
(kontrolinis)	54.80	86.47	86.02	92.03	-	-
transkutaninis	95.66	95.47	93.76	98.63	-	-
(10 mg 24 h)	75.23	72.74± 18.42	77.49± 12.6	83.79± 11.7	-	-
UG-167	23.29	55.77	90.94	88.56	100.00	-
(kontrolinis)	72.11	95.90	98.54	91.44	89.34	-
transkutaninis	65.81	65.05	0.0	90.57	75.02	-
(20mg 48h)	53.74± 15.33	72.24± 12.13	94.74	90.19± 0.85	88.12± 7.24	-
UG-191	85.76	90.55	98.18	94.02	95.08	96.52
transkutaninis	79.83	93.32	95.73	94.66	95.87	96.16
(30mg 72h)	0.0	0.0	67.75	95.51	94.22	92.84
	82.80	91.94	87.22± 9.76	94.73± 0.43	95.06	95.17

MAO aktyvumo nustatymo smegenyse rezultatai parodyti 7 lentelėje.

- 5 7 lentelė. (-)-Deprenilo efektyvumas slopinant MAO-aktyvumą (%), palyginus su kontrole. Matavimai atlikti naminių kiaulių smegenų nerviniuose centruose bei homogenatų ir kepenyse su ^{14}C -PEA; ^{14}C -5-HT substratas. + S.D. (n=3).

10

Pritaikymo būdas	Smegenys		Kepenys	
	^{14}C -PEA	^{14}C -5-HT	^{14}C -PEA	^{14}C -5-HT
peros (96h)	73.22±8.13	20.14±6.0	41.04±7.62	10.45±6.4
UG-111 (48h)				
transkutaninis (24h)	56.31±10.03	16.39±8.77	28.80±5.15	13.7
				0
				0
UG-167 (72h)				

transkutanin				
is (48h)	86.76±6.67	18.50±3.81	30.30±10.23	19.4
				4.1
				0
UG-191 (96h)				
transkutanin				
is (72h)	88.82±1.21	15.52±3.35	16.92±10.59	0

Kompozicija, dalelių dydis, skirtingų kontrolės preparatų skysto kristalinio būvio procentas sekantis:

5 UG-111

PEG 4000	16.0g
PEG 400	60.0g
Propilenglikolis	8.0g
Cremofor EL	2.0g
Deprenilas HCL	5.0g
PEG 400 iki	100.0g

Vidutinis dalelių dydis: 72.7 mikronai; skystas kristalinis būvis: 20%.

10 UG-167

PEG 4000	19.0g
PEG 400	55.0g
Propilenglikolis	8.0g
Ksantano guma	10.0g
Deprenilas HCL	5.0g
PEG 400 iki	100.0g

Vidutinis dalelių dydis: 91-109 mikronai; skystas kristalinis būvis: 70-80%.

1 lentelė. Deprenilo ir PFD metabolitų dydžiai IC₅₀ esant MPP+ absorbcijai dryžuotojo kūno sinapsėse.

Junginys	IC ₅₀ M	Junginys	IC ₅₀ M
(-)-deprenilas	-	(-)-p-F-deprenilas	-
(-)-dezmetil-deprenilas	-	(-)-p-F-dezmetil-deprenilas	-
(+)-dezmetil-deprenilas	9.1x10 ⁻⁶		
(-)-metamfetaminas	4.9x10 ⁻⁷	(-)-p-F-metamfetaminas	1.3x10 ⁻⁶
(+)-metamfetaminas	9.1x10 ⁻⁸	(+)-p-F-metamfetaminas	1.3x10 ⁻⁷
		(-)-p-F-amfetaminas	7.2x10 ⁻⁷
		(+)-p-F-amfetaminas	1.0x10 ⁻⁷
Homifensinas	3.1x10 ⁻⁷		
Mazindolis	1.7x10 ⁻⁷		

5 2 lentelė. Absorbcijos slopinimas žiurkių smegenų sinapsėse in vitro.

Junginys.	NA Pagumburyje	DA Dryžuotame kūne	5-HT Amonio rage
(-)-DEPR.	5.1X10 ⁻⁵	1.0X10 ⁻⁴	5.0X10 ⁻³
(+)-DEPR.	1.7X10 ⁻⁵	2.4X10 ⁻⁵	3.6X10 ⁻²
(-)-p-FLUOR-D	1.3X10 ⁻⁵	2.9X10 ⁻⁵	1.4X10 ⁻³
(+)-p-FLUOR-D	6.1X10 ⁻⁶	1.6X10 ⁻⁵	6.0X10 ⁻⁴
(-)-METHYLAMPH.	3.5X10 ⁻⁶	4.2X10 ⁻⁵	-
(+)-METYLAMPH.	3.5X10 ⁻⁷	6.0X10 ⁻⁷	1.9X10 ⁻²
(-)-p-FLUOR-MA	7.5X10 ⁻⁶	3.0X10 ⁻⁴	-
(+)-p-FLUOR-MA	7.7X10 ⁻⁶	2.3X10 ⁻⁵	1.7X10 ⁻³

3 lentelė. Deprenilo efektyvumas, papildomai paveikus MPTP neurotoksiškumą.

1.povei- kis lai-kas tarp poveikių 30'	2.po-veikis	Dop- aminas	%	DOPAC	%	HVA %	%
fiziologinė	fiziologinė	15.1+		0.9+		1.4+	
druska	druska	0.4	100	0.02	100	0.06	100
MPTP	"	8.0+		0.7+		1.3+	
		0.5 ^a	53	0.04 ^a	77	0.07 ^a	79
MPTP	deprenilas	15.3+		0.9+		1.3+	
		0.4 ^b	101	0.04 ^b	100	0.05 ^c	93
MPTP	pargilinas	7.1+		0.5+		0.9+	
		0.6 ^{NS}	47	0.04 ^{NS}	55	0.09 ^{NS}	64
Pargilinas	MPTP	13.8+		1.0+		1.4+	
		0.5 ^b	91	0.06 ^b	111	0.06 ^b	100
MPTP	Mazindolis	14.8+		1.1+		1.7+	
		0.8 ^b	98	0.08 ^b	122	0.10 ^b	121

5 a) žymiai žemesnis, negu kontrolė (p 0.01);

b) žymiai aukštesnis, negu grupėje, paveiktoje MPTP (p 0.01);

10 c) žymiai aukštesnis, negu grupėje, paveiktoje MPTP (0.05 p 0.01);

NS: nežymiai;

15 DOPAC ir NVA: dopamino metabolitai.

8 lentelė

(-)-Deprenilo ir (-)-p-fluor-deprenilo metabolitų sąveika su DSP-4 neurotiškumu žiurkėse

5

Išankstinis poveikis mg/kg; p.d.	Poveikis DSP-4	Amonio rago NA tūris, % + S.D.	Išlikimas %
(-)-MA 1	50	61+3.5	100
(-)-MA 5	30	116+2.1	63
(-)-MA 10	50	nd*	0
(-)-p-F-MA 10	50	nd*	0

*nd: nenustatytas. Dėl toksinės sąveikos gyvūnai mirė pirmą dieną.

10

MA= metilamfetaminas;

p-F-MA= p-fluormetilamfetaminas.

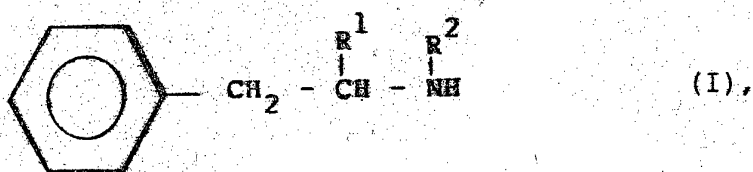
IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Dviejų fazių farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji susideda iš aktyvaus ingrediento monoamino oksidazės inhibitoriaus ir absorbcijos inhibitoriaus, kartu su įprastais farmaciniais priedais.
5
2. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji susideda iš nepertraukiamo veikimo grįžtamo ar negrįžtamo monoamino oksidazės inhibitoriaus.
10
3. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji susideda iš nepertraukiamo veikimo absorbcijos inhibitoriaus.
15
4. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji susideda iš 5-95 masės % absorbcijos inhibitoriaus.
20
5. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji susideda iš monoamino oksidazės inhibitoriaus ir absorbcijos inhibitoriaus 1-19:1-19 santykiu.
25
6. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad absorbcijos inhibitorius naudojamas prailginto veikimo forma.
30
7. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji susideda iš monoamino oksidazės inhibitoriaus N-/1-fenil-izopropil/-N-metil-propinilamino hidrochlorido arba jo optiškai aktyvaus izomero.
35
8. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji susideda iš monoamino oksidazės inhibitoriaus N-/4-fluor-fenil/-izoprop-1-H-N-metil-propinilamino arba jo optiškai aktyvaus izomero.

9. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i
tuo, kad ji susideda iš prailginto veikimo absorbcijos
inhibitoriaus N-/1-fenil-izopropil/-N-metil-propinil-
amino hidrochlorido arba jo metabolito, arba jo
5 optiškai aktyvių izomerų arba metabolitų.

10. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i
tuo, kad ji susideda iš prailginto veikimo absorbcijos
inhibitoriaus N-/4-fluor-fenil/-izoprop-1-il-N-metil-
propilamino arba jo metabolito, arba jo optiškai
10 aktyvių izomerų arba metabolitų.

11. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i
tuo, kad ji susideda iš absorbcijos inhibitoriaus
15 bendros formulės I



kurioje R^1 yra tiesi ar šakota C_{1-8} alkilo grupė, C_{7-10}
fenilalkilo grupė arba fenilo grupė ar C_{3-8} cikloalkilo
25 grupė, R^2 yra tiesi ar šakota C_{1-8} alkilo grupė ar C_{1-8}
alkilo grupė, pakeista halogeno atomu, hidroksi-, C_{1-4}
alkoksi grupė arba su viena ar dviem fenilo grupėmis,
fenilo grupė arba C_{3-8} cikloalkilas su sąlyga, kad R^1 ir
 R^2 kartu turi mažiausiai 3 anglies atomus, -arba jų
30 druskos, pridėjus rūgšties arba jų metabolitai.

12. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i
tuo, kad susideda iš aktyvaus ingrediento, bendros
formulės I junginio, kurioje R^1 reiškia etilo, propilo,
35 butilo, heksilo, fenilo ar fenilmetilo grupę.

13. Kompozicija pagal 12 punktą, b e s i s k i r i a n-
t i t u o, kad ji susideda iš bendros formulės I junginio
N-propil-1-fenil-2-pentilamino ar jo druskos, pridėjus
rūgšties, N-propil-1-fenil-2-butilamino ar jo druskos,
5 pridėjus rūgšties, arba N-propil-1-fenil-2-heksilamino
arba jo druskos, pridėjus rūgšties.

14. Kompozicijos pagal 1 punktą paruošimo būdas b e-
s i s k i r i a n t i s t u o, kad monoamino oksidazės
10 inhibitorių ir absorbcijos inhibitorių sumaišo su
įprastais farmaciniais priedais ir sukomplektuoja į
terapinę kompoziciją, tinkamą klinikinių vaizdų,
atsiradusių dėl neurodegeneratyvių procesų, gydymui.

15. Būdas pagal 14 punktą, b e s i s k i r i a n t i s
15 t u o, kad kompoziciją suformuoja į dviejų fazių piliu-
les, tabletes ar transkutanines kompozicijos formas.

FIG. 1. Deprenilo lygis skirtingose smegenų srityse, praėjus 45" po 1,5mg/kg poveikio per burną, apskaičiuotas ^3H ir ^{14}C matavimų pagrindu

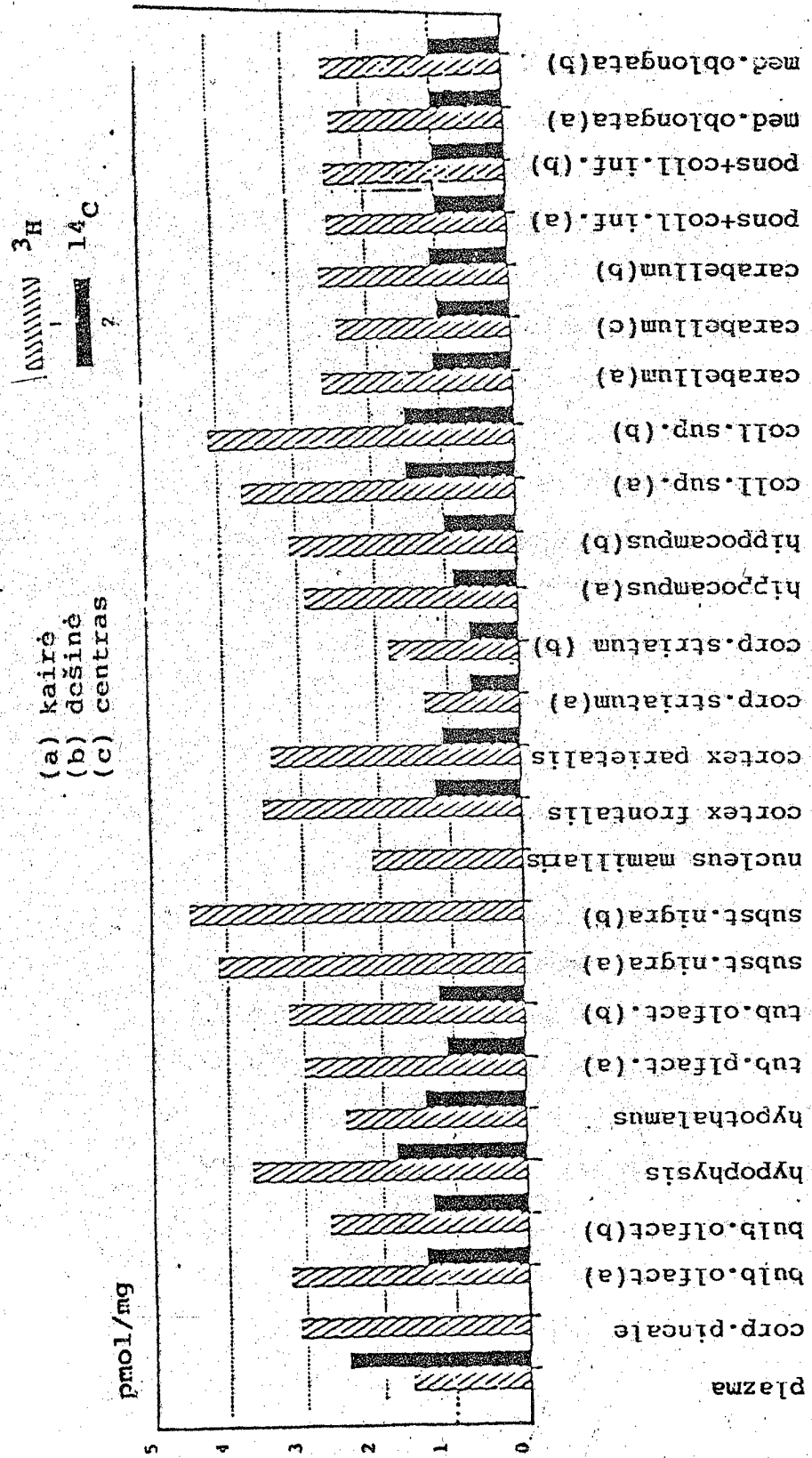


FIG.2. CH-175 lygis skirtingose smegenų srityse 1,5 po 1,5 mg/kg 3H ir 14C matavimų pagrindu.
poveikio per burną, apskaičiuotas 3H ir 14C matavimų pagrindu.

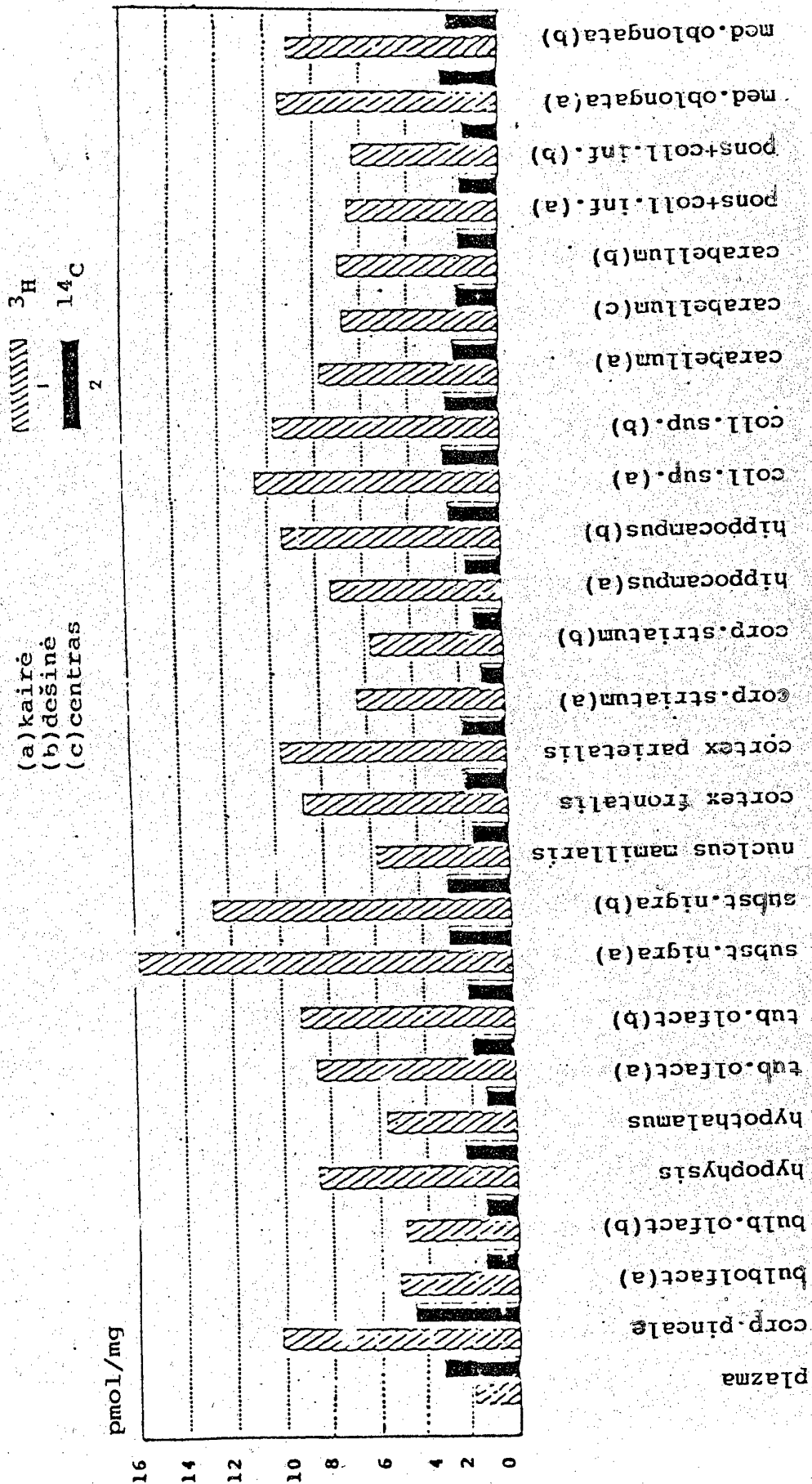


FIG. 3. Amfetamino lygis plazmoje po skirtingų selegilino dozių ir formų skyrimo

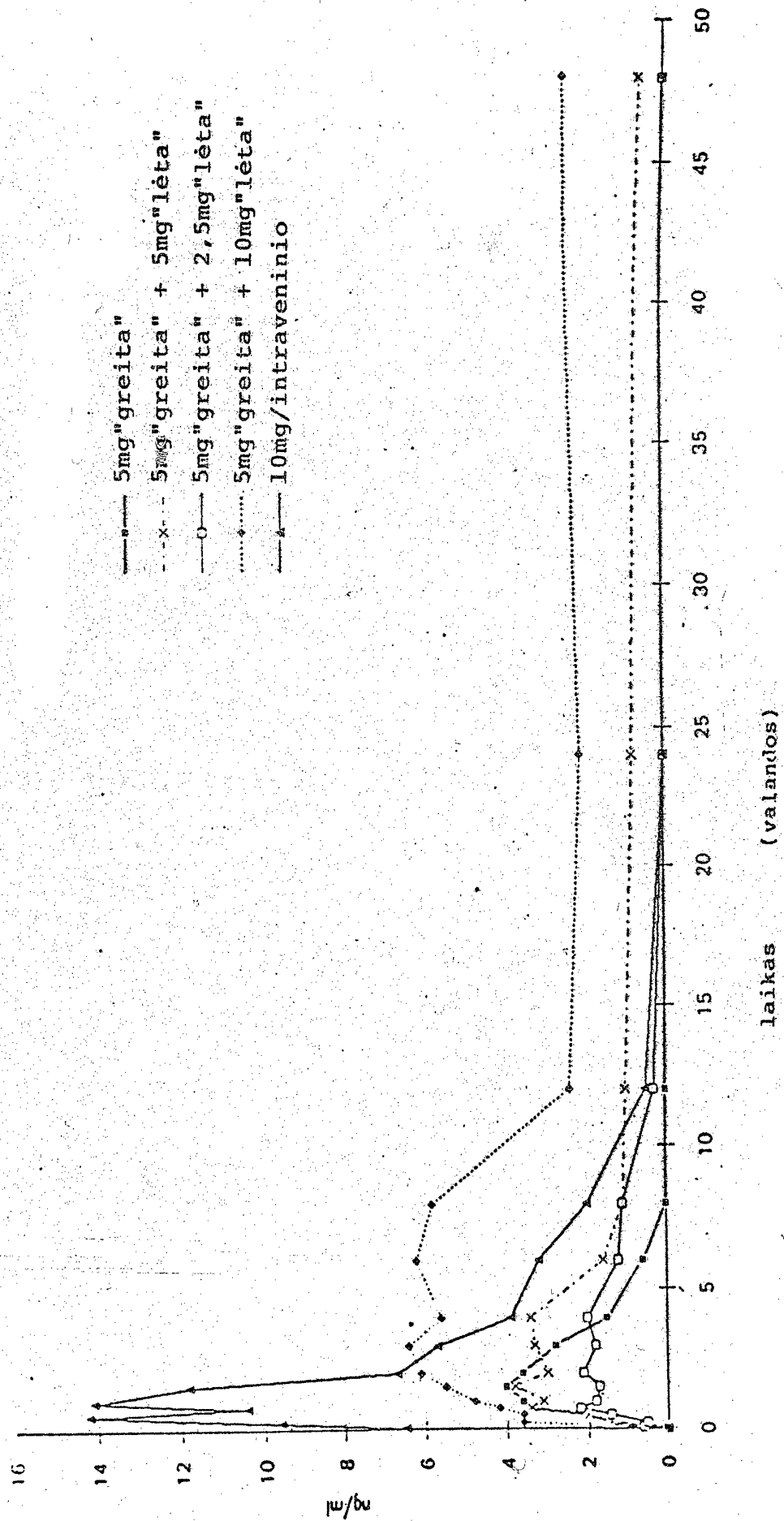


FIG 4. 3 mg/kg deprenilo veikimas į DSP-4
neurotoksiškumą žiurkėse.

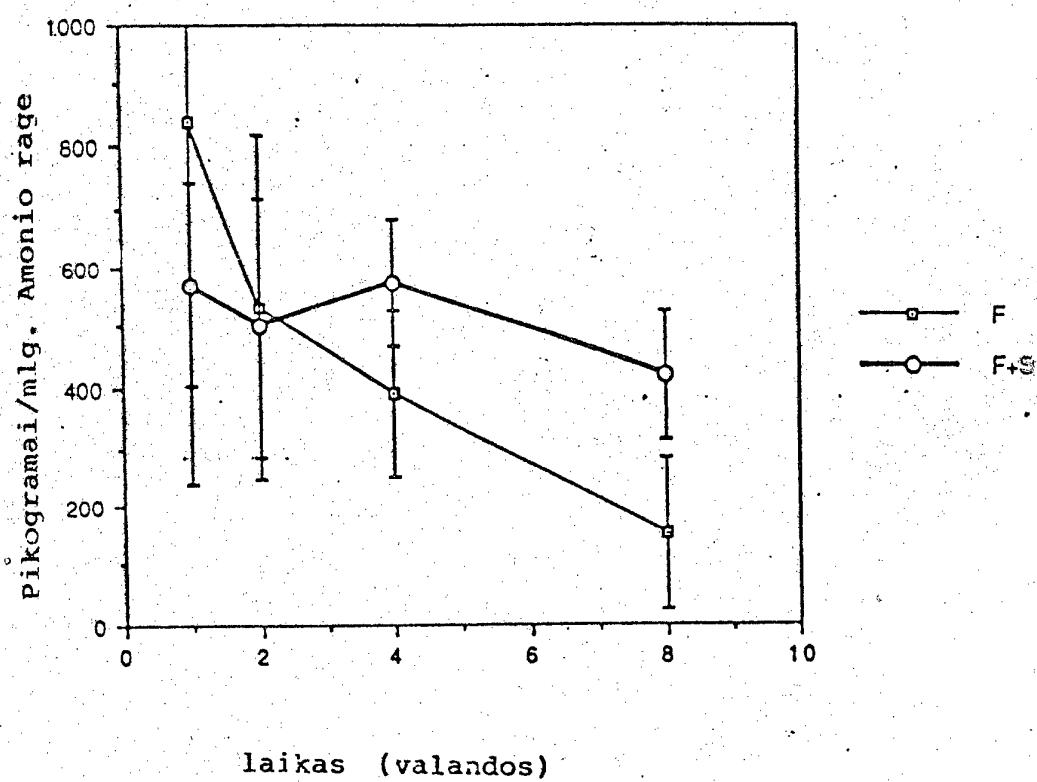


FIG. 5. 4mg/kg veikimas į 50 mg/kg DSP-4 neurotoksiškumą

