

(19)



(10)

LT 4455 B

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patento numeris: **4455**

(51) Int. Cl.⁶: **A61K 31/135**

(21) Paraiškos numeris: **97-200**

(22) Paraiškos padavimo data: **1997 12 22**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1998 09 25**

(45) Patento paskelbimo data: **1999 01 25**

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/US96/07465**

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **1996 05 22**

(85) Nacionalinės procedūros pradžia: **1997 12 22**

(31, 32, 33) Prioritetas: **446439, 1995 05 22, US**

(72) Išradėjas:

**Moussa B. Youdim, IL
John P. M. Finberg, IL
Ruth Levy, IL
Jeffrey Sterling, IL
David Lerner, IL
Haim Yellin, IL
Alex Veinberg, IL**

(73) Patento savininkas:

**TEVA PHARMACEUTICAL INDUSTRIES, LTD.,
Science Based Industries Campus, Ha' Hotzvim,
P. O. Box 1142, 91010 Jerusalem, IL
TECHNION RESEARCH AND DEVELOPMENT FOUNDATION LTD.,
Senate House, Technion City, 32000 Haifa, IL**

(74) Patentinis patikėtinis:

Reda Žabolienė, 7, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

**N-propargil-1-aminoindano R-entantiomero, jo druskų ir jo kompozicijų
panaudojimas**

Šiame išradime pateikiamas R(+)-N-propargil-1-aminoindanas ir jo farmaciškai tinkamos druskos, bei farmacinės kompozicijos, į kurias įeina šie junginiai, skirti subjekto, sergančio Parkinsono liga, atminties sutrikimais, demencija, depresija, turinčio padidėjusio aktyvumo sindromą, sergančio afektine psichoze, neurodegeneracine liga, neurotoksiniais pažeidimais, insultu, smegenų išemija, galvos trauminiais pažeidimais, nugaros smegenų trauminiais pažeidimais, neurotrauma, šizofrenija, dėmesio stoka, išsėtine skleroze ir kenčiančio nuo abstinencijos, gydymui ir profilaktikai.

I.

Šis išradimas yra iš monoamino oksidazės (toliau vadinamos MAO) fermento selektyvių negrįžtamų inhibitorių srities, ir jame pateikiamas N-propargil-1-aminoindano (toliau vadinamo PAI) R(+) enantiomeras, kuris yra selektyvus negrįžtamas monoamino oksidazės fermento B-formos (toliau vadinamos MAO-B) inhibitorius. Šiame išradime taip pat pateikiamos farmacinės kompozicijos, turinčios R(+)PAI, kurios ypač tinka Parkinsono ligos, atminties sutrikimų, demencijos, depresijos, padidėjusio aktyvumo sindromo, afektinės psichozės, neurodegeneracinės ligos, neurotoksinių pažeidimų, insulto, smegenų išemijos, galvos trauminių pažeidimų, nugaros smegenų trauminių pažeidimų, neurotraumos, šizofrenijos, dėmesio stokos, išsėtinės sklerozės ir abstinencijos simptomų gydymui.

II.

Yra plačiai paplitusi nuomonė, kad Parkinsono liga atsiranda dėl smegenų presinaptinių dopaminerginių neuronų degradacijos, dėl kurios atsiranda neuronų signalą perduodančio išsiskiriančio dopamino kiekio sumažėjimas. Toks neadekvatus dopamino išsiskyrimas sukelia savaiminės raumenų kontrolės sutrikimus, kurie yra būdingi Parkinsono ligai.

Buvo sukurti ir dabar yra plačiai paplitę įvairūs Parkinsono ligos gydymo būdai, įskaitant, pavyzdžiui, L-DOPA vartojimą kartu su dekarboksilazės inhibitoriumi, tokiu kaip L-karbidopá arba benzerazidu. Dekarboksilazės inhibitorius apsaugo L-DOPA molekulę nuo periferinio dekarboksilinimo ir tokiu būdu užtikrina, kad L-DOPA įsisavina smegenų dryžuotojo kūno likusieji neuronai. Čia L-DOPA yra paverčiamas į dopaminą, ir gaunamas padidėjęs dopamino kiekis šiuose neuronuose. Todėl, atsakydami į fiziologinius impulsus, šie neuronai gali išskirti didesnius

dopamino kiekius, kurie yra artimi normaliems reikiamiems kiekiams. Tokiu būdu gydymas L-DOPA palengvina ligos simptomus ir pagerina paciento savijautą.

Tačiau gydymas L-DOPA turi trūkumų, ir pagrindinis trūkumas yra tas, kad jo efektyvumas yra optimalus tik keliais pirmaisiais gydymo metais. Praėjus šiam laikotarpiui, klinikinis atsakas sumažėja, ir jį lydi kenksmingi pašaliniai efektai, tokie kaip diskinezija, poveikio svyravimai dienos bėgyje ("daugiau-mažiau efektas") ir psichiniai simptomai, tokie kaip konfūzinės būsenos, paranoja ir haliucinacijos. Šis L-DOPA gydomojo poveikio sumažėjimas yra priskiriamas keletui faktorių, įskaitant natūralų ligos progresavimą, pokyčius dopamino receptoriuose, atsirandančius dėl dopamino gaminimo padidėjimo arba padidintų dopamino metabolitų kiekių, ir L-DOPA absorbcijos farmakokinetines problemas (jų apžvalgą padarė Youdim, et al., *Progress in Medicinal Chemistry*, 21, 138-167 (1984)).

Norint išvengti gydymo L-DOPA trūkumų, buvo sugalvoti įvairūs gydymo būdai, kuriuose L-DOPA derinamas su MAO inhibitoriais, turint tikslą sumažinti tik ką susidariusio dopamino metabolinį skilimą (žr. pavyzdžiui, Chiese, P., US patentas Nr. 4826875, publikuotas 1989 m. gegužės 2 d.).

MAO egzistuoja dviejose formose, žinomose kaip MAO-A ir MAO-B, kurios yra selektyvios skirtingiems substratams ir inhibitoriams. Pavyzdžiui, MAO-B veiksmingiau metabolizuoja substratus, tokius kaip 2-feniletilaminas, ir ją selektyviai ir negrįžtamai inhibuoja (-)-deprenilas, kaip aprašyta toliau.

Tačiau reikia pažymėti, kad gydymas, derinant L-DOPA su MAO-A ir MAO-B inhibitoriumi, yra nepageidautinas, nes jis duoda kenksmingus pašalinius efektus, susijusius su padidintu katecholaminų kiekiu visoje smegenų ašyje. Be to, visiškas MAO inhibavimas taip pat yra nepageidautinas, nes jis skatina simpatinio veikimo aminų, tokių kaip tiraminas, poveikį, kuris duoda taip vadinamą "sūrio efektą" (apžvalgą padarė Youdim et al., *Handbook of Experimental Pharmacology*, ed. by Trendelenburg and Weiner, Springer-Verlag, 90, ch. 3 (1988)). Kadangi buvo parodyta, kad MAO-B yra vyraujanti MAO forma smegenyse, manoma, kad selektyvūs šios formos inhibitoriai gali būti priemonė dopamino skilimui

sumažinti, ir kita vertus, kartu minimizuoti bendros MAO inhibavimo sisteminius efektus.

Dauguma MAO inhibitorių yra chiralinės molekulės. Nors dažnai vienas enantiomeras turi tam tikrą stereoselektyvumą santykinio poveikio MAO-A ir -B atžvilgiu, duota enantiomerinė konfigūracija nevisada yra labiau selektyvi už jos veidrodinio atspindžio izomerą, pasirenkant tarp MAO-A ir MAO-B.

I lentelėje duotos propargilaminų enantiomerinių porų IC₅₀ (mmol/l) reikšmės MAO preparatui iš žiurkės smegenų. Šie rezultatai rodo nedidelius MAO-B inhibicijos skirtumus tarp R ir S enantiomerų. (B. Hazelhoff, et al., *Naunyn-Schmeideberg's Arch. Pharmacol.*, **330**, 50 (1985)). Abu enantiomerai yra selektyvūs MAO-B. 1967 m. Magyar ir kt. paskelbė, kad R-(-)-deprenilas 500 kartų labiau inhibuoja tiramino oksidacinį deamininimą žiurkių smegenų homogenatu, negu S-(+)-enantiomeras. (K. Magyar, et al., *Act. Physiol. Acad. Sci. Hung.*, **32**, 377 (1967)).

Žiurkių kepenų homogenato atveju R-deprenilas veikia tik 15 kartų stipriau už S-enantiomerą. Kituose farmakologinio aktyvumo bandymuose, tokiuose kaip tiramino padidėjimo inhibicija, deprenilas rodo skirtingus stereoselektyvumus. Tam tikrais atvejais S forma yra veiksmingesnis epimeras. (J. Knoll and K. Magyar, *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, **5**, 393 (1972)).

Artimas deprenilo struktūrinis analogas yra N-metil-N-propargil-1-aminotetralinas (2-MPAT). Absoliuti 2-MPAT stereochemija nebuvo nustatyta, tačiau (+) izomeras yra selektyvus MAO-B, o (-) izomeras yra selektyvus MAO-A. 2-MPAT enantiomerų veiksmingumas skiriasi mažiau nei 5 kartus. (B. Hazelhoff, et al., *id.*). N-propargil-1-aminotetralino (1-PAT) enantiomerų aktyvumas taip pat yra panašus. I lentelėje duotų duomenų, kurie rodytų aiškų struktūros-aktyvumo ryšį tarp atskirtų (+) arba (-)-2-MPAT, stoka neleidžia daryti prielaidų apie jo absoliučią stereochemiją.

Atlikęs plačios apimties kompiuterinį modeliavimą, Polymeropoulos neseniai padarė prielaidą, kad kaip MAO-B inhibitorius (R)-N-metil-N-propargil-1-aminoindanas (R-1-MPAI) turėtų būti veiksmingesnis nei jo (S) enantiomeras. (E. Polymeropoulos, *Inhibitors of Monoamine Oxidase B*, I.

Szelenyi, ed., Birkhauser Verlag, p. 110 (1993)). Tačiau aprašyti eksperimentai rodo, kad R-1-MPAI yra tik šiek tiek veiksmingesnis MAO-B inhibitorius nei S-1-MPAI, bet jis yra daug labiau veiksmingas MAO-A inhibitorius. Ir selektyvumas tarp MAO-A ir -B, ir santykinis R ir S epimerų veiksmingumas yra mažas. Taigi, mažiau negu tikėtasi šioje srityje, kaip farmacinis agentas, 1-MPAI nėra tinkamas.

Žemiau pateikti duomenys rodo, kad vieno enantiomero didelio selektyvumo MAO atžvilgiu, lyginant su kitu enantiomeru, negalima numatyti. MAO aktyviosios vietos struktūra nėra pakankamai išaiškinta, kad būtų galima numatyti konkretaus junginio arba jo enantiomerų poros santykinį veiksmingumą arba selektyvumą.

III.

Insultas yra trečioji vyraujanti mirties priežastis išsivysčiusiose šalyse. Išlikę gyvi žmonės dažnai kenčia nuo neurologinių ir motorinių negalių. Laikoma, kad dauguma CNS paralyžių yra susiję su lokalizuota audinių anemija, atsiradusia dėl arterinės kraujotakos obstrukcijos, kuri sukelia deguonies ir gliukozės trūkumą. Vidurinės smegenų arterijos okliuzija (MCAO) žiurkėse yra įprasta eksperimentinė metodika, kuri, kaip manoma, atitinka insultą žmonėse. Buvo pasiūlyta, kad šios arterijos proksimalios okliuzijos sukelti neurologiniai pažeidimai žiurkėse atitinka plačiajam centriniam smegenų infarktui žmonėse (Yamori et al., 1976). Šis teiginys paremtas cirkuliacijos panašumais šių abiejų rūšių kaukolėse. Kitus insulto gyvūnų modelius aprašė Stefanovich (1983):

Tamura ir kt. (1981), kurie pirmieji įvedė MCAO metodiką, aprašyti histologiniai pokyčiai paprastai matomi kaktos (100 %), sensorinėje (75 %) ir klausos (75 %) smegenų žievės srityse ir mažesniu laipsniu pakaušinėje smegenų skiltyje (25 %). Be to, pažeidimas stebimas šoniniame uodeguotų nervinių centrų segmente (100 %), ir kintamu laipsniu jo vidurinėje dalyje (38 %). Tuo pačiu metu, MCAO gyvuliukuose aprašyti ir tokie sutrikimai: neurologiniai nepakankamumai (Menzies et al., 1992), suvokimo sutrikimai (Yamamoto et al., 1988), smegenų edema (Young et al., 1993; Matsui et al.,

1993; Saur et al., 1993), sumažinta smegenų kraujotaka (Teasdale et al., 1983), katecholamino kiekio svyravimai (Cechetto et al., 1989). Bet kuris iš šių sutrikimų gali būti smegenų pakenkimo, kuris lydi žiurkių MCAO, aštrumo ir laipsnio rodikliu. Atvirkščiai, vaistas, kuris apriboja arba panaikina nurodytą sutrikimą, gali būti laikomas vaisto žmonių insultui gydyti kandidatu.

I lentelė
Žiurkių smegenų MAO inhibicijos propargilaminais IC₅₀ (mmol/l) duomenys

Junginys	Lit. šaltinis	Epimeras	Inhibicija		Santykinis veiksmingumas		
			A	B	A/B	+/-	
						A	B
2-MPAI	a	+	140	16	8,8	3	0,2
			46	88	0,5		
Deprenilas	a	S R	3600	16	120	80	2,6
			450	6	75		
1-MPAI	b	S R	70	50	1,4	23	5
			3	10	0,3		
1-PAT	c	S R	3800	50	76	4	0,5
			900	90	10		

a. B. Hazelhoff, et al., *Naunyn-Schmeideberg's Arch. Pharmacol.*, **330**, 50 (1985).

b. European Patent Application 436,492 A2, published July 10, 1991.

c. Šis išradimas.

Vienas selektyvus MAO-B inhibitorius - (-)-deprenilas - buvo plačiai tyrinėtas ir panaudotas kaip MAO-B inhibitorius L-DOPA gydomajam poveikiui padidinti. Šis gydymas su (-)-deprenilu bendru atveju yra tinkamas ir nesukelia "sūrio efekto", vartojant dozes, sukeliančias beveik visišką MAO-B inhibiciją (Elsworth, et al., *Psychopharmacology*, **57**, 33 (1978)). Be to, pridėjus (-)-deprenilo į L-DOPA ir dekarboksilazės inhibitoriaus kombinaciją, skiriamą Parkinsono liga sergantiems pacientams, gaunamas akinezijos ir bendrojo funkcinio pajėgumo pagerėjimas bei "daugiau-mažiau" tipo fliuktuacijų išnykimas (apžvalgą padarė Birkmayer and Riederer in "*Parkinson's Disease*" Springer-Verlag, pp. 138-149 (1983)). Taigi, (-)-deprenilas (a) sustiprina ir pailgina L-DOPA poveikį ir (b) nedidina gydymo L-DOPA žalingų efektų.

Tačiau pats (-)-deprenilas turi savo žalingus pašalinius efektus, kurie apima jau atsiradusių skrandžio opų suaktyvinimą ir atsitiktinius hipertenzinius epizodus. Be to, (-)-deprenilas yra amfetamino darinys ir jis metabolizuojamas į amfetaminą ir metamfetaminus, o šios medžiagos gali duoti nepageidaujamus pašalinius efektus, tokius kaip širdies ritmo padidėjimas (Simpson, *Biochemical Pharmacology*, 27, 1951 (1978); Finberg, et al., in *"Monoamine Oxidase Inhibitors - The State of the Art"*, Youdim and Paykel, eds., Wiley, pp. 31-43 (1981)).

Buvo aprašyti kiti junginiai, kurie yra selektyvūs negrįžtami MAO-B inhibitoriai, bet kurie neturi nepageidautinų efektų, būdingų (-)-deprenilui. Vienas toks junginys, būtent N-propargil-1-aminoindano-HCl (raceminis PAI-HCl), buvo aprašytas GB 1003686 ir GB 1037014, ir US patente No. 3513244, publikuotame 1970 m. gegužės 19 d. Raceminis PAI-HCl yra veiksmingas, selektyvus, negrįžtamas MAO-B inhibitorius, jis nėra metabolizuojamas iki amfetaminų ir neduoda nepageidautinų simpatinio veikimo efektų.

Palyginamaisiais gyvuliukų testais parodyta, kad raceminis PAI turi daug privalumų, lyginant su (-)-deprenilu. Pavyzdžiui, raceminis PAI nesukelia žymios tachikardijos, nedidina kraujo spaudimo (šį poveikį turi 5 mg/kg (-)-deprenilo dozės) ir nesukelia nikitacinės membranos kontrakcijos arba širdies ritmo padidėjimo, vartojant dozes iki 5 mg/kg (šį poveikį turi didesnės nei 0,5 mg/kg (-)-deprenilo dozės). Be to, raceminis PAI-HCl nestiprina tiramino kardiovaskuliarinių efektų (Finberg, et al., in *"Enzymes and Neurotransmitters in Mental Disease"*, pp. 205-219 (1980), Usdin, et al., Eds., Wiley, New York; Finberg, et al. (1981), in *"Monoamine Oxidase Inhibitors - The State of the Art"*, ibid.; Finberg and Youdin, *British Journal Pharmacol.*, 85, 451 (1985)).

Vienas pagrindinis šio išradimo objektas yra atskirti raceminius PAI junginius ir gauti enantiomera, turintį MAO-B inhibicinį aktyvumą, kuris neturėtų jokių nepageidautinų pašalinių efektų, susijusių su kitu enantiomeru.

Kadangi deprenilas turi panašią stuktūrą kaip ir PAI, ir kadangi yra žinoma, kad deprenilo (-)-enantiomeras, t.y. (-)-deprenilas, yra farmaciškai

daug aktyvesnis nei (+)-enantiomeras, galima laukti, kad PAI (-)-enantiomeras bus aktyvesnis MAO-B inhibitorius.

Tačiau, priešingai negu tikimasi, atskyrus enantiomeras, buvo rasta, kad (+)-PAI enantiomeras faktiškai yra aktyvus MAO-B inhibitorius, tuo tarpu kai (-)-enantiomeras turi labai mažą MAO-B inhibicijos aktyvumą. Be to, (+)-PAI enantiomeras taip pat turi nelauktai didesnį MAO-B inhibicijos selektyvumo laipsnį nei atitinkama raceminė forma, ir todėl nurodytų ligų gydyme turėtų turėti mažiau nepageidautinų šalutinių efektų nei raceminis mišinys. Šie duomenys yra paremti ir *in vitro*, ir *in vivo* eksperimentais, kas smulkiau aptariama infra.

Vėliau buvo parodyta, kad (+)-PAI turi absoliučią R konfigūraciją. Šis faktas buvo netikėtai paremtas lauktu (+)-PAI analogijos struktūriniu panašumu su deprenilu ir amfetaminais.

Didelis farmakologinio aktyvumo stereoselektyvumo laipsnis tarp R(+)-PAI ir S(-) enantiomerų, kaip aptariama žemiau, taip pat yra labai didelis. MAO-B inhibicijos atveju junginys R(+)-PAI yra beveik keturis kartus aktyvesnis nei S(-) enantiomeras. Šis santykis yra daug didesnis, nei santykis, stebimas tarp abiejų deprenilo enantiomerų (Knoll and Magyar, *Adv. Biochem. Psychopharmacol.*, 5, 393 (1972); Magyar, et al., *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, 32, 377 (1967)). Be to, buvo paskelbta, kad kai kuriuose fiziologiniuose testuose (+)-deprenilo aktyvumas yra lygus arba netgi didesnis, nei (-) enantiomero aktyvumas (Tekes, et al., *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, 40, 653 (1988)).

MPAI yra veiksmingesnis MAO aktyvumo inhibitorius, bet jo selektyvumas MAO-B, lyginant su -A, yra mažesnis (Tripton, et al., *Biochem. Pharmacol.*, 31, 1250 (1982)). Kadangi MPAI atveju abiejų išskirtų enantiomerų santykinis aktyvumas netikėtai skiriasi labai mažai, tuo labiau reikia pažymėti šią nuostabią R(+)-PAI elgseną (žr. 1B lentelę).

Šiame išradime taip pateikiami vieno (be L-DOPA) farmaciškai aktyvaus PAI-enantiomero panaudojimo būdai Parkinsono ligos, atminties sutrikimų, demencijos, depresijos, padidėjusio aktyvumo sindromo, afekto psichozės, neurodegeneracinės ligos, neurotoksinių pažeidimų, smegenų

išemijos, galvos trauminių pažeidimų, nugaros smegenų trauminių pažeidimų, neurotraumos, šizofrenijos, dėmesio stokos, išsėtinės sklerozės ir abstinencijos simptomų gydymui (žr. Youdim, et al., in *Handbook of Experimental Pharmacology*, Trendelenberg and Wiener, eds., 90/1, ch. 3 (1988) apžvalgą).

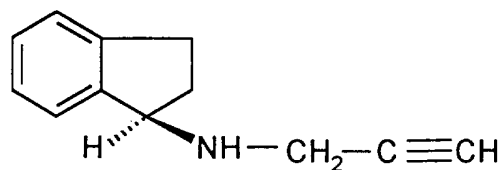
Šiame išradime taip pat siūlomas vieno farmaciškai aktyvaus PAI-enantiomero panaudojimo būdas Parkinsono ligos preliminariam gydymui. Šiame išradime taip pat pateikiamos farmacinės kompozicijos, kuriose yra R(+)-PAI ir sinergetiniai agentai, tokie kaip levodopa. Tokių agentų panaudojimas buvo tirtas (-)-deprenilo atveju, ir buvo parodyta, kad (-)-deprenilas yra veiksmingas, skiriant jį vieną pacientams, sergantiems ankstyvosios stadijos Parkinsono liga, ir taip pat gali turėti sinergetinį poveikį tokiems pacientams, kai jis yra skiriamas kartu su α -tokoferoliu (vitamino E dariniu) (The Parkinson's Study Group, *New England J. Med.*, 321(20), 1364-1371 (1989)).

Apart jo tinkamumo Parkinsono ligos gydymui, taip pat buvo parodyta, kad (-)-deprenilas yra tinkamas Alchaimerio tipo demencija (DAT) sergančių pacientų gydymui (Tariot, et al., *Psychopharmacology*, 91, 489-495 (1987)) ir depresijos gydymui (Mendelewicz and Youdim, *Brit. J. Psychiat.* 142, 508-511 (1983)). Buvo parodyta, kad šio išradimo R(+)-PAI junginys ir ypač jo metansulfonato druska atstato atmintį. Taigi, R(+)-PAI tinka atminties sutrikimų, demencijos, ypač Alchaimerio tipo demencijos, ir vaikų padidinto aktyvumo sindromo gydymui.

Pagaliau šiame išradime pateikiamos labai stabilios R(+)-PAI druskos, turinčios geriausias farmacines savybes. Ypatingai stabilus yra metansulfonatas, jis turi nelauktai didelį selektyvumą ir duoda daug mažiau pašalinių efektų nei atitinkamos raceminės druskos.

Išradimo santrauka

Šiame išradime pateikiamas R(+)-N-propargil-1-aminoindanas, kurio struktūrinė formulė yra:



Šiame išradime taip pat yra pateikiama farmaciškai tinkama R(+)-N-propargil-1-aminoindano druska.

Šiame išradime taip pat yra pateikiama farmacinė kompozicija, į kurią įeina terapiškai efektyvus R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekis ir farmaciškai tinkamas nešiklis.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio Parkinsono liga, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio Parkinsono ligą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio atminties sutrikimu, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio atminties sutrikimą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio demencija, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio demenciją, skyrimą tokiam subjektui. Viena įgyvendinimo variante demencija yra Alchaimerio tipo demencija (DAT).

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio depresija, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio depresiją, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, turinčio padidinto aktyvumo sindromą, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio padidinto aktyvumo sindromą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio afektine psichoze, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-

aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio afektinę psichozę, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio neurodegeneracine liga, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio neurodegeneracinę ligą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, turinčio neurotoksinį pažeidimą, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio neurotoksinį pažeidimą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio smegenų išemija, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio smegenų išemiją, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, turinčio galvos trauminį pažeidimą, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio galvos trauminį pažeidimą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, turinčio nugaros smegenų trauminį pažeidimą, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio nugaros smegenų trauminį pažeidimą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio šizofrenija, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio šizofreniją, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio dėmesio stoka, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio dėmesio stoką, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio išsėtine skleroze, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio išsėtinę sklerozę, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto nervų pakenkimų profilaktikos būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai apsaugančio nuo nervų pakenkimų, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, kenčiančio nuo abstinencijos simptomų, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio abstinencijos simptomus, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas R(+)-N-propargil-1-aminoindano gavimo būdas, kuris apima R(-)-aminoindano sąveiką su propargilbromidu arba propargilchloridu, dalyvaujant organinei arba neorganinei bazei, kurioje susidaro R(+)-N-propargil-1-aminoindanas, ir susidariusio R(+)-N-propargil-1-aminoindano išskyrimą.

Šiame išradime taip pat pateikiamas raceminio N-propargil-1-aminoindano gavimo būdas, kuris apima raceminio 1-aminoindano sąveiką su propargilbromidu arba propargilchloridu, dalyvaujant organinei arba neorganinei bazei, kurioje susidaro raceminis N-propargil-1-aminoindanas, ir susidariusio raceminio N-propargil-1-aminoindano išskyrimą.

Pagaliau šiame išradime taip pat pateikiamas R(+)-N-propargil-1-aminoindano druskos gavimo būdas, kuris apima raceminio N-propargil-1-aminoindano sąveiką su optiškai aktyvia rūgštimi, kurioje susidaro dvi diastereomerinės N-propargil-1-aminoindano druskos, ir R(+)-N-propargil-1-aminoindano druskos išskyrimą iš susidariusių diastereomerinių N-propargil-1-aminoindano druskų.

Trumpas figūrų aprašymas

1 figūra yra 22 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis MAO-A inhibicijos aktyvumą *in vitro*.

2 figūra yra 22 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis MAO-B inhibicijos aktyvumą *in vitro*.

3 figūra yra 22 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis MAO aktyvumą žmogaus galvos smegenų žievės audinyje

4 figūra yra 23 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis ūmią MAO-A inhibiciją (i.p.) smegenyse.

5 figūra yra 23 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis ūmią MAO-B inhibiciją (i.p.) smegenyse.

6 figūra yra 23 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis ūmią MAO-A inhibiciją (i.p.) kepenyse.

7 figūra yra 23 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis ūmią MAO-B inhibiciją (i.p.) kepenyse.

8 figūra yra 23 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis ūmią MAO-A inhibiciją (per gerklę) smegenyse.

9 figūra yra 23 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis ūmią MAO-B inhibiciją (per gerklę) smegenyse.

10 figūra yra 23 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis ūmią MAO-A inhibiciją (per gerklę) kepenyse.

11 figūra yra 23 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis ūmią MAO-B inhibiciją (per gerklę) kepenyse.

12 figūra yra 24 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis chronišką MAO-A inhibiciją smegenyse.

13 figūra yra 24 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis chronišką MAO-B inhibiciją smegenyse.

14 figūra yra 24 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis chronišką MAO-A inhibiciją kepenyse.

15 figūra yra 24 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis chronišką MAO-B inhibiciją kepenyse.

16 figūra yra 25 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis MAO-B aktyvumo žiurkių smegenyse priklausomybę nuo nuo laiko po R(+)PAI i.p. įvedimo.

17 figūra yra 32 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis normokinezijos atstatymą pelėse, kurios gavo 6 mg/kg haloperidolio s.c. būdu. Pelėms i.p. būdu buvo suleisti tiriamieji vaistai nurodytomis dozėmis. Po 2 val. jos gavo haloperidolį. Kinetiniai rodikliai buvo nustatyti praėjus 3 valandoms po haloperidolio įvedimo. Šie rodikliai susidėjo iš sugebėjimo judėti horizontaliai išilgai strypo, sugebėjimo nusileisti vertikaliu strypu ir katalepsijos sutrumpėjimo. Be haloperidolio maksimalus rodiklis buvo 12, esant vien tik haloperidoliui $6,6 \pm 0,03$. Statistinis reikšmingumas buvo skaičiuojamas pagal Stjudento "t" testą: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ vieno haloperidolio atžvilgiu. (R)-PAI rodikliai labai skiriasi nuo raceminio PAI rodiklių, esant 5 mg/kg ($p \leq 0,05$), 10 mg/kg ($p \leq 0,01$) ir 15 mg/kg ($p \leq 0,05$) dozėms, ($n=5,6$). Nurodytos dozės yra PAI laisvos bazės (o ne metansulfonato druskos) dozės.

18 figūra yra 32 pavyzdžio rezultatų grafinis atvaizdavimas, rodantis motorinio aktyvumo atstatymą žiurkėse, paveiktose α -metil-p-tirozino (α -Mpt) 100 mg/kg doze i.p. Žiurkėms i.p. būdu buvo suleistas tiriamas vaistas nurodytomis dozėmis. Po 2 val. jos gavo α -Mpt ir tuo pat metu buvo patalpintos į aktyvumo matavimo narvus. Bendras motorinis aktyvumas buvo matuojamas 10 val. bėgyje. Kontrolinės žiurkės, gavusios fiziologinį tirpalą, turėjo tik 15862 ± 1424 rodiklį. Statistinis reikšmingumas pagal Stjudento "t" testą: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ vieno α -Mpt atžvilgiu. (R)-PAI rodikliai labai skiriasi nuo raceminio PAI rodiklių, esant 2 mg/kg ($p \leq 0,01$) dozei, ($n=6$). Nurodyta dozė yra PAI laisvos bazės (o ne metansulfonato druskos) dozė.

19 figūra yra grafikas, rodantis NADH atsaką į 2 min. anoksijos, išmatuotą praėjus 30 min. po pažeidimo, ir po to kas pusę valandos.

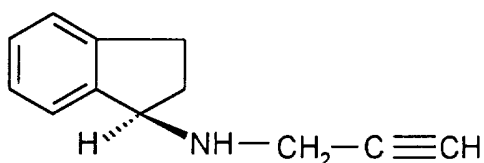
20 figūra: Išeminiai smegenų pažeidimai, įvertinti MRI T2-skeneriu, praėjus 48 valandoms po MCA-Ū ir gydymo [R](+)PAI metansulfonatu bandyme su žiurkėmis: vidurinė smegenų arterija buvo užkimšta chirurginiu būdu, kaip aprašyta 38 pavyzdyje. [R](+)PAI metansulfonatas buvo vartojamas taip: 1,0 mg/kg i.p. būdu tuo pat metu po chirurginės operacijos; 0,5 mg/kg i.p. būdu praėjus 2 val. po chirurginės operacijos; 1,0 mg/kg i.p. būdu

praėjus 24 val. po chirurginės operacijos. Infarkto tūris (mm^3) buvo nustatytas MRI metodu, praėjus 48 val. po chirurginės operacijos.

21 figūra: Wistar žiurkių, kurioms padaryta MCA-O ir kurios buvo gydytos [R](+)PAI metansulfonatu, neurologinis įvertinimas: vidurinė smegenų arterija buvo užkimšta chirurginiu būdu, ir [R](+)PAI metansulfonatas buvo vartojamas taip kaip aprašyta 20 figūroje. Praėjus 24 val. po chirurginės operacijos, buvo išmatuoti neurologiniai rodikliai kaip aprašyta 38 pavyzdyje.

Smulkus išradimo aprašymas

Šiame išradime pateikiamas R(+)-N-propargil-1-aminoindanas, kurio struktūrinė formulė yra:



Kaip parodyta žemiau aprašytuose eksperimentiniuose pavyzdžiuose, R(+)-PAI yra beveik 7000 kartų aktyvesnis MAO-B inhibitorius nei S(-)-PAI. Žinomų MAO-B inhibitorių, kurie yra mažai selektyvūs MAO-A ir MAO-B atžvilgiu, ir kurie neturi prognozuojamos veiksmingumo priklausomybės nuo R arba S konfigūracijos tendencijos, požiūriu toks R(+)-PAI selektyvumas yra netikėtas.

R(+)-PAI gali būti gautas optinių izomerų atskyrimo iš PAI R- ir S-enantiomerų raceminių mišinių būdu. Tokį atskyrimą galima atlikti, panaudojant bet kokią įprastą, šios srities specialistams žinomą atskyrimo metodą, tokį kaip aprašytą J. Jacques, A. Collet and S. Wilen, *"Enantiomers, Racemates and Resolutions"*, Wiley, New York (1981). Pavyzdžiui, atskirti galima preparatinės chromatografijos per chiralinę kolonėlę būdu. Kitas tinkamo atskyrimo metodo pavyzdys yra diastereomerinių druskų sudarymas su chiralinėmis rūgštimis, tokiomis kaip vyno, obuolių, migdolų rūgštys, arba su aminorūgščių N-acetildariniais, tokiais kaip N-acetilleucinas, o po to

norimo R enantiomero diastereomerinės druskos atskyrimas perkristalinimo būdu.

PAI R ir S enantiomerų raceminis mišinys gali būti pagamintas, pavyzdžiui, taip kaip aprašyta GB 1003676 ir GB 1037014. PAI raceminis mišinys taip pat gali būti pagamintas, veikiant 1-chlorindaną propargilaminu. Kitu būdu, šis racematas gali būti pagamintas, veikiant propargilaminą 1-indanonu, susidarant atitinkamam iminui, o po to redukuojant šio imino C=N dvigubą jungtį tinkamu agentu, tokiu kaip natrio borhidridas.

Pagal šį išradimą, PAI R enantiomeras taip pat gali būti pagamintas tiesiogiai iš 1-aminoindano optiškai aktyvaus R enantiomero, veikiant propargilbromidu arba propargilchloridu, dalyvaujant organinei arba neorganinei bazei, ir, jeigu reikia, esant tinkamam tirpikliui.

Tinkamos organinės arba neorganinės bazės, kurias galima naudoti aukščiau minėtoje reakcijoje, pavyzdžiui, yra trietilaminas, piridinas, šarminių metalų karbonatai ir rūgštieji karbonatai. Jeigu reakcija yra vykdoma tirpiklyje, tirpiklis gali būti pasirenkamas iš, pavyzdžiui, tolueno, metileno chlorido ir acetonitrilo. Vienas iš R(+)PAI gavimo būdų yra R-1-aminoindano sąveika su propargilchloridu, naudojant kalio rūgštųjų karbonatą kaip bazę ir acetonitrilą kaip tirpiklį.

Aukščiau aprašytoje 1-aminoindano reakcijoje paprastai gaunamas nesureagavusio pirminio amino, norimo antrinio amino ir tretinio amino N,N-bispropargilamino produkto mišinys. Norimą antrinį aminą, t.y. N-propargil-1-aminoindaną, galima išskirti iš šio mišinio įprastais išskyrimo metodais, tokiais kaip, pavyzdžiui, chromatografija, distilacija ir selektyvi ekstrakcija.

Pradinė medžiaga - R-1-aminoindanas - gali būti pagaminta žinomais būdais, tokiais kaip, pavyzdžiui, Lawson and Rao, *Biochemistry*, **19**, 2133 (1980) (ir šiame darbe cituojami literatūros šaltiniai) ir Europos patente Nr. 235590 aprašyti būdai.

R-1-aminoindaną taip pat galima pagaminti, išskirstant R ir S enantiomerų raceminį mišinį, pavyzdžiui, sudarant diastereomerines druskas su chiralinėmis rūgštimis, arba bet koku kitu žinomu būdu, tokiu kaip būdas, kurį aprašė J. Jacques et al., *ibid.* Kitu būdu, R-1-aminoindaną galima

pagaminti, veikiant 1-indanoną optiškai aktyviu aminu, o po to redukuojant gauto imino $C=N$ dvigubą jungtį, hidrinant su tinkamu katalizatoriumi, tokiu kaip paladis ant anglies, platinos oksidas arba Renėjaus nikelis. Tinkami optiškai aktyvūs aminai yra, pavyzdžiui, vienas iš fenetilamino arba aminorūgšties, tokios kaip valinas arba fenilalaninas, esterio antipodų. Po to, benzilinė $N-C$ jungtis gali būti suskaldoma hidrinant negriežtose sąlygose.

Dar vienas R-1-aminoindano gavimo būdas yra indan-1-ono oksimo eterių, kurių alkilo dalyje yra optiškai grynas chiralinis centras, hidrinimas, kaip aprašyta aukščiau. Kitu būdu, nechiralinis indan-1-ono darinys, turintis $C=N$ dvigubą jungtį, toks kaip iminas arba oksimas, gali būti redukuojamas chiraliniu redukcijos agentu, pvz., ličio-aluminio hidrido ir efedrino kompleksu.

Šiame išradime taip pat pateikiama R(+)-N-propargil-1-aminoindano farmaciškai tinkama druska.

Šio išradimo praktikoje farmaciškai tinkamos druskos apima (bet jomis neapsiribojama) metansulfonatą, maleatą, fumaratą, tartratą, vandenilio chloridą, vandenilio bromidą, etansulfonatą, p-toluensulfonatą, benzoatą, acetatą, fosfatą ir sulfatą.

Viename įgyvendinimo variante druska yra pasirinkta iš grupės, susidedančios iš R(+)-N-propargil-1-aminoindano metansulfonato, R(+)-N-propargil-1-aminoindano etansulfonato ir R(+)-N-propargil-1-aminoindano sulfato.

Kaip parodyta žemiau aprašytuose eksperimentiniuose pavyzdžiuose, metansulfonato druska yra labai atspari terminei degradacijai ir turi nelauktai daug didesnį selektyvumą MAO-B nei raceminė druska.

R(+)-PAI junginio farmaciškai tinkamoms adityvinėms druskoms su rūgštimis gauti laisva bazė veikiama norimomis rūgštimis, esant tinkamam tirpikliui įprastais būdais. Panašiai, adityvinė druska su rūgštimi gali būti paversta laisva baze žinomu būdu.

Tinkamiausias (R)-PAI metansulfonato gavimo būdas susideda iš (a) 15 % natrio hidroksido vandeninio tirpalo pridėjimo į propargilbenzensulfonato (arba tozilato, arba metansulfonato) tirpalą toluene;

(b) 5 val. trunkančio maišymo; (c) papildomo kiekio tolueno ir vandens pridėjimo; (d) fazių atskyrimo ir organinės fazės perplovimo 10 % vandeniniu natrio hidroksidu, o po to praskiedimo vandeniu; (e) mišinio parūgštinimo iki pH 3,2, pridedant 10 % vandeninio sieros rūgšties tirpalo; (f) vandeninės fazės atskyrimo ir pH sureguliuavimo iki 7,3 10 % natrio hidroksidu; (g) išekstrahavimo tris kartus toluenu, palaikant pastovų pH; (h) sumaišytų organinių sluoksnių sukonzentravimo vakuume, gaunant geltoną alyvą; (i) šios alyvos ir L-vyno rūgšties ištirpinimo izopropanolyje; (j) 1 val. trunkančio pavirinimo su grįžtamu šaldytuvu; (k) atšaldymo iki kambario temperatūros ir išsiskyrusių nuosėdų nufiltravimo; (l) negryno di-propargilaminoindano tartrato perkristalinimo iš metanolio/izopropanolio (1:1), gaunant di(R(+)-N-propargil-1-aminoindano) tartrata; (m) tartrato druskos ir metansulfonrūgšties ištirpinimo izopropanolyje ir pavirinimo su grįžtamu šaldytuvu 30 min; ir (n) atšaldymo iki kambario temperatūros ir išsikristalinusio R(+)-N-propargil-1-aminoindano surinkimo.

Šiame išradime taip pat pateikiamos farmacinės kompozicijos, į kurias įeina R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos terapiškai efektyvus kiekis ir farmaciškai tinkamas nešiklis. R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos "terapiškai efektyvus kiekis" gali būti nustatomas šios srities specialistams žinomais metodais.

Galimos druskos, kurios tinka tokioms kompozicijoms, yra hidrochloridas, fosfatas, maleatas, fumaratas, tartratas, metansulfonatas, etansulfonatas ir sulfatas.

Šios kompozicijos gali būti pagamintos kaip vaistai, kuriuos galima vartoti peroraliniu, parenteriniu, rektaliniu arba transderminiu būdu.

Viename įgyvendinimo variante farmaciškai tinkamas nešiklis yra kieta medžiaga, ir farmacinė kompozicija yra tabletė. Terapiškai efektyvus kiekis gali būti kiekis nuo maždaug 0,1 mg iki maždaug 100 mg. Terapiškai efektyvus kiekis taip pat gali būti nuo maždaug 1 mg iki maždaug 10 mg.

Tinkamos peroralinio vartojimo formos apima tabletes, presuotas arba padengas piliules, dražė, kapsules, kietas arba minkštas želatinos kapsules, poliežuvinio vartojimo tabletes, sirupus ir suspensijas.

Kitame įgyvendinimo variante farmaciškai tinkamas nešiklis yra skystis, ir farmacinė kompozicija yra tirpalas injekcijoms. Terapiškai efektyvus kiekis gali būti kiekis nuo maždaug 0,1 mg/ml iki maždaug 100 mg/ml. Terapiškai efektyvus kiekis taip pat gali būti nuo maždaug 1 mg/ml iki maždaug 10 mg/ml. Viename variante skiriama dozė yra maždaug 0,5-1,0 ml.

Dar kitame realizavimo variante nešiklis yra gelis, o farmacinė kompozicija yra žvakutė.

Parenteriniam vartojimui šiame išradime pateikiamos ampulės arba buteliukai, kuriuose yra vandeninis arba nevandeninis tirpalas arba emulsija. Rektaliniam vartojimui pateikiamos žvakutės su hidrofiliniais arba hidrofobiniais tirpikliais. Topiniam vartojimui pateikiami tepalai ir transderminės kompozicijos su šioje srityje žinomomis įvedimo sistemomis.

Tinkamiausiame įgyvendinimo variante farmaciškai tinkama druska yra metansulfonatas.

Šios kompozicijos gali būti vartojamos vienos išvardintų sutrikimų gydymui arba, kitu atveju, kaip Parkinsono ligos atveju, jos gali būti vartojamos kaip pagalbinė priemonė prie įprasto gydymo L-DOPA.

Tinkamiausios veikliojo ingrediento, t.y. R-PAI, dozės aukščiau aprašytose kompozicijose yra tokiuose intervaluose: peroralinio vartojimo arba žvakučių kompozicijose - 0,1-100 mg dozuotame vienete per dieną, geriau - 1-10 mg dozuotame vienete per dieną; injekcijų kompozicijose - 0,1-100 mg/ml dozuotame vienete per dieną, geriau 1-10 mg/ml dozuotame vienete per dieną.

Viename įgyvendinimo variante į farmacinę kompoziciją įeina dar ir terapiškai efektyvus levodopa kiekis. Kitame įgyvendinimo variante į farmacinę kompoziciją įeina dar ir efektyvus kiekis dekarboksilazės inhibitoriaus.

Dekarboksilazės inhibitoriaus, vartojamo derinyje su (R)-PAI arba jo farmaciškai tinkama druska, kiekis yra kiekis, kuris gali užtikrinti subjekto L-DOPA įsisavinimą.

Dekarboksilazės inhibitorius gali būti L-karbidopa. Viename įgyvendinimo variante terapiškai efektyvus R(+)-N-propargil-1-aminoindano

kiekis yra maždaug 0,1-100 mg, terapiškai efektyvus levodopa kiekis yra maždaug 50-250 mg ir terapiškai efektyvus L-karbidopa kiekis yra maždaug 10-25 mg ribose.

Dekarboksilazės inhibitorius taip pat gali būti benzerazidas. Viename įgyvendinimo variante terapiškai efektyvus R(+)-N-propargil-1-aminoindano kiekis yra maždaug 0,1-100 mg, terapiškai efektyvus levodopa kiekis yra maždaug 50-200 mg ir terapiškai efektyvus benzerazido kiekis yra maždaug 12,5-50 mg ribose.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio Parkinsono liga, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio Parkinsono ligą, skyrimą tokiam subjektui.

Parkinsono ligos gydymo būdai, kuriuose (R)-PAI panaudojimas derinamas su kitais vaistais, tokiais kaip dopamino agonistai, bromkriptinas, pergolidinas, lizuridas, o taip pat ir katecholamino oksidazės metiltransferazės inhibitoriai, taip pat įeina į šį išradimą.

Tinkamiausiame įgyvendinimo variante farmaciškai tinkama druska yra metansulfonatas.

Vaisto vartojimas gali būti peroralinis, rektalinis, transderminis arba parenterinis.

Viename įgyvendinimo variante šio išradimo būdas apima dar ir terapiškai efektyvaus levodopa kiekio skyrimą subjektui. Kitame įgyvendinimo variante šio išradimo būdas apima dar ir terapiškai efektyvaus dekarboksilazės inhibitoriaus kiekio skyrimą subjektui.

Dekarboksilazės inhibitorius gali būti L-karbidopa. Kitu atveju, dekarboksilazės inhibitorius gali būti benzerazidas.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio atminties sutrikimu, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio atminties sutrikimą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio demencija, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano

arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio demenciją, skyrimą tokiam subjektui. Viename įgyvendinimo variante demencija yra Alchaimerio tipo demencija (DAT).

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio depresija, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio depresiją, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, turinčio padidinto aktyvumo sindromą, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio padidinto aktyvumo sindromą, skyrimą tokiam subjektui.

Vaisto vartojimas gali būti peroralinis, rektalinis, transderminis arba parenterinis.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio afektine psichoze, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio afektinę psichozę, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio neurodegeneracine liga, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio neurodegeneracinę ligą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, turinčio neurotoksinį pažeidimą, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio neurotoksinį pažeidimą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio smegenų išemija, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio smegenų išemiją, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio smegenų išemija arba insultu, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-

propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio smegenų išemiją arba insultą, skyrimą tokiam subjektui.

Smegenų išemijos arba insulto gydymo būdo įgyvendinimo variante farmaciškai tinkama R(+)-N-propargil-1-aminoindano druska yra pasirenkama iš grupės, kurią sudaro: metansulfonatas, etansulfonatas, sulfatas ir hidrochloridas. Geriausia iš farmaciškai tinkamų R(+)-N-propargil-1-aminoindano druskų yra metansulfonatas.

Efektyvus kiekis gali būti nustatomas, naudojant įprastas šioje srityje žinomas metodikas, tokias kaip titravimas. Šio išradimo įgyvendinimo variante efektyvus kiekis yra nuo maždaug 0,5 mg kilogramui subjekto kūno svorio iki maždaug 2,5 mg kilogramui subjekto kūno svorio. R(+)-N-propargil-1-aminoindanas arba jo farmaciškai tinkama druska yra vartojama patyrusiems šios srities specialistams žinomais būdais. Pavyzdžiui, jis gali būti vartojamas intraveniniu, peroraliniu, rektaliniu, transderminiu arba parenteriniu būdu.

Pageidautina, kad subjektas būtų žinduolis, toks kaip šuo, katė, pelė, žiurkė, triušis, kiaulė, arklys, ožka, avis, karvė arba beždžionė. Atskirame įgyvendinimo variante subjektas yra žmogus.

Šio išradimo įgyvendinimo variante efektyvus kiekis yra nuo maždaug 0,01 mg iki 50,0 mg per dieną. Specifiniame įgyvendinimo variante efektyvus kiekis yra nuo 0,1 iki 10,0 mg per dieną.

Viename aukščiau aprašyto būdo įgyvendinimo variante smegenų išemijos plotas yra sumažinamas maždaug trisdešimt penkiais procentais.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, turinčio galvos trauminį pažeidimą, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio galvos trauminį pažeidimą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, turinčio nugaros smegenų trauminį pažeidimą, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio nugaros smegenų trauminį pažeidimą, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, turinčio neurotrauminį pažeidimą, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio neurotrauminį pažeidimą, skyrimą tokiam subjektui.

Gydant galvos trauminį pažeidimą, nugaros smegenų trauminį pažeidimą arba neurotrauminį pažeidimą, farmaciškai tinkama R(+)-N-propargil-1-aminoindano druska yra pasirenkama iš grupės, kurią sudaro: metansulfonatas, etansulfonatas, sulfatas ir hidrochloridas. Geriausia iš farmaciškai tinkamų R(+)-N-propargil-1-aminoindano druskų yra metansulfonatas.

Efektyvus kiekis gali būti nustatomas, naudojant įprastas šioje srityje žinomas metodikas, tokias kaip titravimas. Šio išradimo įgyvendinimo variante efektyvus kiekis yra nuo maždaug 0,5 mg kilogramui subjekto kūno svorio iki maždaug 2,5 mg kilogramui subjekto kūno svorio. R(+)-N-propargil-1-aminoindanas arba jo farmaciškai tinkama druska yra vartojama patyrusiems šios srities specialistams žinomais būdais. Pavyzdžiui, jis gali būti vartojamas intraveniniu, peroraliniu, rektaliniu, transderminiu arba parenteriniu būdu.

Pageidautina, kad subjektas būtų žinduolis, toks kaip šuo, katė, pelė, žiurkė, triušis, kiaulė, arklys, ožka, avis, karvė arba beždžionė. Atskirame įgyvendinimo variante subjektas yra žmogus.

Šio išradimo įgyvendinimo variante efektyvus kiekis yra nuo maždaug 0,01 mg iki 50,0 mg per dieną. Specifiniame įgyvendinimo variante efektyvus kiekis yra nuo 0,1 iki 10,0 mg per dieną.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio šizofrenija, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio šizofreniją, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio dėmesio stoka, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio dėmesio stoką, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, sergančio išsėtine skleroze, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio išsėtinę sklerozę, skyrimą tokiam subjektui.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto nervų pakenkimų profilaktikos būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai apsaugančio nuo nervų pakenkimų, skyrimą tokiam subjektui.

Viename įgyvendinimo variante nervo pakenkimas yra struktūrinis nervo pakenkimas. Kitame įgyvendinimo variante struktūrinis nervo pakenkimas yra optinio nervo pakenkimas.

Šiame išradime taip pat pateikiamas subjekto, kenčiančio nuo narkotinių medžiagų abstinencijos simptomų, gydymo būdas, kuris apima šio išradimo R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos kiekio, efektyviai gydančio abstinencijos simptomus, skyrimą tokiam subjektui.

Čia vartojamas terminas "abstinencijos simptomai" reiškia fizinius ir arba psichologinius simptomus, įskaitant narkotiko geidimą, depresiją, irzlumą, išglebimą, amotyvaciją, apetito pasikeitimą, šleikštulį, drebulį ir miego sutrikimą.

Čia vartojamas terminas "narkotinės medžiagos" apima, pavyzdžiui, (a) narkotinius opiatus, tokius kaip opijus, heroinas ir morfinas, (b) psichostimuliuojančius, tokius kaip kokainas, amfetaminai ir metamfetaminai, (c) alkoholį, (d) nikotiną, (e) barbitūratų ir (f) narkotikų, tokių kaip fentanilas, kodeinas, difenoksilatas ir tebainas.

Viename įgyvendinimo variante narkotinė medžiaga yra kokainas. Kitame įgyvendinimo variante narkotinė medžiaga yra alkoholis.

Šiame išradime taip pat pateikiamas R(+)-N-propargil-1-aminoindano gavimo būdas, kuris apima R(-)-aminoindano sąveiką su propargilbromidu arba propargilchloridu, dalyvaujant organinei arba neorganinei bazei, kurioje susidaro R(+)-N-propargil-1-aminoindanas, ir susidariusio R(+)-N-propargil-1-aminoindano išskyrimą.

Šiame išradime taip pat pateikiamas raceminio N-propargil-1-aminoindano gavimo būdas, kuris apima raceminio 1-aminoindano sąveiką su propargilbromidu arba propargilchloridu, dalyvaujant organinei arba neorganinei bazei, kurioje susidaro raceminis N-propargil-1-aminoindanas, ir susidariusio raceminio N-propargil-1-aminoindano išskyrimą.

Pagaliau šiame išradime taip pat pateikiamas R(+)-N-propargil-1-aminoindano druskos gavimo būdas, kuris apima raceminio N-propargil-1-aminoindano sąveiką su optiškai aktyvia rūgštimi, kurioje susidaro dvi diastereomerinės N-propargil-1-aminoindano druskos, ir R(+)-N-propargil-1-aminoindano druskos išskyrimą iš susidariusių diastereomerinių N-propargil-1-aminoindano druskų.

Viename įgyvendinimo variante šis išskyrimas apima išskyrimą frakcinės kristalizacijos būdu.

Toliau duodama eksperimentinė dalis yra skirta išradimo supratimui palengvinti, ir nėra laikoma bei neturi būti aiškinama kaip šio išradimo apimties apribojimas; išradimo apimtį nusako po eksperimentinės dalies einanti apibrėžtis.

EKSPERIMENTINĖ DALIS

1 pavyzdys

Raceminio N-propargil-1-aminoindano hidrochloridas

Į 75 ml acetonitrilo įdedama 10,0 g raceminio 1-aminoindano ir 10,4 g kalio karbonato. Gausta suspensija pašildoma iki 60 °C ir į ją sulašinama 4,5 g propargilo chlorido.

Mišinys maišomas 60 °C temperatūroje 16 valandų, ir po to didžioji dalis lakių medžiagų pašalinama distiliuojant vakuume. Liekana paskirstoma tarp 10 % vandeninio natrio hidroksido ir metileno chlorido.

Organinė fazė išdžiovinama ir nudistiliuojamas tirpiklis. Liekana gryninama sparčiosios chromatografijos metodu per silikagelį, eliuuojant 40 % etilacetatu/heksanu (40%/60%). Frakcijos, kuriose yra norimas bazės

formos junginys, sumaišomos, ir eliuentas pakeičiamas eteriu. Eteriniai tirpalai veikiami dujiniu HCl, susidariusios nuosėdos nusiurbiamos ir perkristalinas iš propanolio, gaunama 7,3 g norimo junginio. Lyd. temp.: 182-4 °C.

Chromatografiniai ir spektriniai duomenys sutampa su US patento Nr. 3513244, publikuoto 1970 m. gegužės 19 d., duomenimis ir su autentišku mėginiu. Jie yra tokie: BMR δ (CDCl₃): 2,45 (2H, m), 2,60 (1H, t), 2,90 (1H, m), 3,45 (1H, m), 3,70 (2H, d), 4,95 (1H, t), 7,5 (4H, m) m.d.

2 pavyzdys

S(-)-N-propargil-1-aminoindano hidrochloridas

Norimo junginio laisvos bazės forma išskiriama, skirstant 1 pavyzdyje aprašytą laisvos bazės raceminį mišinį per Chiracel OJ (celiuliozės tris[p-metilbenzoato]) preparatinę didelio slėgio skysčių chromatografijos kolonėlę, eliuuojant izopropanoliu/heksanu (10%/90%) ir surenkant pirmąjį pagrindinį maksimumą. Gauta alyva paverčiama norimu junginiu (hidrochloridu), veikiant šios alyvos 10 % tirpalą dietilo eteryje dujiniu HCl, ir gautos nuosėdos nusiurbiamos. $[\alpha]_D -29,2^\circ$ (1 %, etanolis), lyd. temp.: 182-184 °C. Kitos chromatografinės ir spektrinės savybės yra identiškos 1 pavyzdžio vandenilio chlorido savybėms.

3 pavyzdys

R-(+)-N-propargil-1-aminoindano hidrochloridas

Šis junginys gaunamas taip pat kaip ir aukščiau duotame 2 pavyzdyje, išskyrus tai, kad preparatinėje didelio slėgio chromatografijoje surenkamas antrasis maksimumas: $[\alpha]_D +29,1^\circ$ (0,8 %, etanolis), lyd. temp.: 179-181 °C. Kitos chromatografinės ir spektrinės savybės yra identiškos 1 pavyzdžio hidrochlorido savybėms.

4 pavyzdys

R-(+)-N-propargil-1-aminoindano hidrochloridas

Į 95 ml acetonitrilo įdedama 12,4 g R-(-)-1-aminoindano ir 12,9 g kalio karbonato. Gauta suspensija pašildoma iki 60 °C ir į ją sulašinama 5,6 g propargilo chlorido. Mišinys maišomas 60 °C temperatūroje 16 valandų, ir po to didžioji dalis lakių medžiagų pašalinama distiliuojant vakuume. Liekana paskirstoma tarp 10 % vandeninio natrio hidroksido ir metileno chlorido.

Organinė fazė išdžiovinama ir vakuume nudistiliuojamas tirpiklis. Liekana gryninama sparčiosios chromatografijos metodu per silikagelį, eliuuojant 40 % etilacetatu/heksanu (40%/60%). Frakcijos, kuriose yra norimo junginio laisva bazė, sumaišomos, ir tirpiklis pakeičiamas eteriu. Eteriniai tirpalai veikiami dujiniu HCl, susidariusios nuosėdos nusiurbiamos ir perkristalinus iš propanolio, gaunama 6,8 g norimo junginio. Lyd. temp.: 183-5 °C, $[\alpha]_D^{20} +30,90^\circ$ (2 %, etanolis). Spektrinės savybės yra identiškos 1 pavyzdyje aprašyto junginio savybėms.

5 pavyzdys**S-(-)-N-propargil-1-aminoindano hidrochloridas**

Šis junginys buvo pagamintas 4 pavyzdyje aprašytu būdu, išskyrus tai, kad pradine medžiaga buvo naudotas S-(+)-1-aminoindanas. Šis produktas turėjo $[\alpha]_D^{20} -30,3^\circ$ (2 %, etanolis), lyd. temp.: 183-5 °C. Spektrinės savybės yra identiškos 1 pavyzdyje aprašyto junginio savybėms.

6A pavyzdys**Di(R-(+)-N-propargil-1-aminoindano) L-tartratas**

Į vyno rūgšties (4,4 g) tirpalą 48 ml verdančio metanolio supilamas R-(+)-N-propargil-1-aminoindano laisvos bazės (5,0 g) tirpalas metanolyje 48 ml). Tirpalas virinamas su grįžtamu šaldytuvu, ir per 20 min. supilama 284 ml t-butilmetileterio. Mišinys pavirinamas dar 30 min., atšaldomas ir susidariusios nuosėdos nusiurbiamos. Gaunama 6,7 g norimo junginio; lyd.

temp.: 175-177 °C; $[\alpha]_D$ (1,5, H₂O) = +34,3. Analizė: išskaičiuota pagal C₂₈H₃₂O₆N₂: C 68,26, H 6,56, N 5,69; rasta: C 68,76, H 6,57, N 5,61.

6B pavyzdys

R-(+)-N-propargil-1-aminoindano metansulfonatas

(a) Į propargilbenzensulfonato (78,4 g) ir raceminio aminoindano (63,2 g) tirpalą toluene (240 ml) 20 °C temperatūroje sulašinamas 15 % vandeninis natrio hidroksido tirpalas (108 ml). Pamašius 5 val., maišant dar pridedama tolueno (80 ml) ir vandens (200 ml). Organinis sluoksnis atskiriamas, perplaunamas 10 % vandeniniu natrio hidroksidu ir po to praskiedžiamas vandeniu. Pilant 10 % vandeninį sieros rūgšties tirpalą, mišinys parūgštinamas iki pH 3,2. Vandeninis sluoksnis atskiriamas, pilant 10 % natrio hidroksido tirpalą, jo pH nustatomas 7,3 ir palaikant pastovų pH, tris kartus ekstrahuojama toluenu. Sukoncentravus sumaišytus organinius sluoksnius vakuume, gaunama 40,7 g geltonos alyvos.

(b) Aukščiau aprašytas negrynintas raceminis propargilaminoindanas ir L-vyno rūgštis (10 g) ištirpinama izopropanolyje (1 l) ir virinama su grįžtamu šaldytuvu 1 val. Tada maišant reakcijos mišiniui leidžiama atvėsti iki kambario temperatūros, ir nuosėdos nufiltruojamos. Nevalytas dipropargilaminoindano tartratas perkristalinamas iš 1 l metanolio/izopropanolio (1:1), ir gaunamas di(R-(+)-N-propargil-1-aminoindano) L-tartratas, kurio fizikinės ir spektrinės savybės yra identiškos 6A pavyzdyje aprašyto junginio savybėms.

(c) Di(R-(+)-N-propargil-1-aminoindano) L-tartrato (15 g) ir metansulfonrūgšties (6 g) tirpalas izopropanolyje (150 ml) pavirinamas su grįžtamu šaldytuvu 30 min. Reakcijos mišiniui leidžiama atvėsti iki kambario temperatūros ir nusiurbus gautas nuosėdas, gaunamas norimas junginys (11,1 g), kurio lyd. temp. 157 °C ir $[\alpha]_D = 22^\circ$.

7 pavyzdys

R-(+)-N-metil-N-propargil-1-aminoindano hidrochloridas

Į 15 ml acetono pridedama 4 pavyzdyje aprašyto R-(+)-N-propargil-1-aminoindano laisvos bazės (1,2 g), kalio karbonato (0,97 g) ir metilo jodido (1 g), ir gauta suspensija virinama su grįžtamu šaldytuvu azoto atmosferoje 8 val. Po to lakios medžiagos nugarinamos sumažintame slėgyje, o liekana paskirstoma tarp 10 % vandeninio natrio hidroksido (30 ml) ir metileno chlorido (30 ml). Organinis sluoksnius išdžiovinamas, ir vakuume nugarinamas tirpiklis. Liekana gryninama sparčiosios chromatografijos per silikagelį metodu, eliuuojant etilacetatu/heksanu (40%/60%). Frakcijos, kuriose yra norimo junginio laisva bazė, supilamos kartu, ir tirpiklis pakeičiamas dietilo eteriu. Eterinis tirpalas veikiamas dujiniu HCl. Lakios medžiagos nugarinamos vakuume, ir perkristalinius liekaną iš izopropanolio, gaunama 400 mg norimo junginio, kuris yra balta kristalinė kieta medžiaga. Lyd. temp.: 134-136 °C, $[\alpha]_D +31,4^\circ$ (etanolis). BMR δ (CDCl₃): 2,55 (2H, m); 2,7 (1H, pl.s); 2,8 (3H, s); 3,0 (1H, m); 3,4 (1H, m); 3,9 (2H, pl.s); 5,05 (1H, m); 7,7 (4H, m) m.d.

8 pavyzdys

S-(-)-N-metil-N-propargil-1-aminoindano hidrochloridas

Šis junginys pagaminamas pagal aukščiau duotame 7 pavyzdyje aprašytą metodiką, išskyrus tai, kad pradine medžiaga vartojamas 5 pavyzdyje aprašytas S-(-)-N-propargil-1-aminoindanas (laisva bazė). Visos šio junginio fizikinės ir spektrinės savybės yra identiškos 7 pavyzdyje aprašyto junginio savybėms, išskyrus tai, kad $[\alpha]_D -34,9^\circ$ (etanolis).

9 pavyzdys

Tabletės sudėtis

N-propargil-1(R)-aminoindano hidrochloridas	7,81 mg*
Preželatinintas krakmolas NF	47,0 mg
Laktozė NF (hidro)	66,0 mg

LT 4455 B

Mikrokristalinė celiuliozė NF	20,0 mg
Natrio krakmolo glikoliatas NF	2,99 mg
Talkas USP	1,5 mg
Magnio stearatas NF	0,7 mg

* Atitinka 5,0 mg N-propargilaminoindano bazės.

10 pavyzdys**Tabletės sudėtis**

N-propargil-1(R)-aminoindano hidrochloridas	1,56 mg*
Laktozė (hidro)	50,0 mg
Preželatinintas krakmolas	36,0 mg
Mikrokristalinė celiuliozė	14,0 mg
Natrio krakmolo glikoliatas	2,14 mg
Talkas USP	1,0 mg
Magnio stearatas NF	0,5 mg

* Atitinka 1,0 mg N-propargilaminoindano bazės.

11 pavyzdys**Kapsulės sudėtis**

N-propargil-1(R)-aminoindano hidrochloridas	5,0 mg
Preželatinintas krakmolas	10,0 mg
Krakmolas	44,0 mg
Mikrokristalinė celiuliozė	25,0 mg
Etilceliuliozė	1,0 mg
Talkas	1,5 mg

Gryninto vandens pridedama tiek, kiek reikia granuliavimui.

12 pavyzdys**Injekcijų tirpalo sudėtis**

N-propargil-1(R)-aminoindano hidrochloridas	5,0 mg
Dekstrozė (bevandenė)	44,0 mg
HCl iki pH 5	
Gryninto vandens pridedama tiek, kiek reikia iki 1 ml.	

13 pavyzdys**Injekcijų tirpalo sudėtis**

N-propargil-1(R)-aminoindano hidrochloridas	1,0 mg
Natrio chloridas	8,9 mg
HCl iki pH 5	
Gryninto vandens pridedama tiek, kiek reikia iki 1 ml.	

14 pavyzdys**Injekcijų tirpalo sudėtis**

N-propargil-1(R)-aminoindano hidrochloridas	2,0 mg
Natrio chloridas	8,9 mg
HCl iki pH 5	
Gryninto vandens pridedama tiek, kiek reikia iki 1 ml.	

15 pavyzdys**Sirupo sudėtis**

N-propargil-1(R)-aminoindano hidrochloridas	5,0 mg
Sacharozė	2250,0 mg
Sacharino Na druska	5,0 mg
Metilparabenas	6,0 mg
Propilparabenas	1,0 mg
Kvapniosios medžiagos	20,0 mg

Glicerinas USP	500 mg
Alkoholis 95 % USP	200 mg
Gryninto vandens pridedama tiek, kiek reikia iki 5,0 ml.	

16 pavyzdys**Poliežuvinės tabletės**

N-propargil-1(R)-aminoindano hidrochloridas	2,5 mg
Mikrokristalinė celiuliozė	20,0 mg
Laktozė (hidro)	5,0 mg

Preželatinintas krakmolas	3,0 mg
Providonas	0,3 mg
Spalvą suteikiantis agentas	pagal reikalą
Kvapniosios medžiagos	pagal reikalą
Saldiklis	pagal reikalą
Talkas	0,3 mg

Sumaišomos pagalbinės medžiagos ir veiklusis ingredientas ir granuliuojama su providono etanoliniu tirpalu. Išdžiovinus ir pasvėrus, sumaišoma su talku ir presuojama.

16 pavyzdys**PAI poliežuvinės tabletės**

N-propargil-1(R)-aminoindano hidrochloridas	5,0 mg
Mikrokristalinė celiuliozė	15,0 m
Preželatinintas krakmolas	12,0 mg
Etilceliuliozė	0,3 mg
Talkas	0,3 mg

Gryninto vandens pridedama tiek, kiek reikia granuliavimui.

18 pavyzdys**Tabletės sudėtis**

N-propargil-1(R)-aminoindano hidrochloridas	5,0 mg
Levodopa	100,0 mg
Karbidopa	25,0 mg
Preželatinintas krakmolas	36,0 mg
Krakmolas	40,0 mg
Mikrokristalinė celiuliozė	49,5 mg
Kol. D ir C geltonasis Nr.10	0,5 mg
Kol. D ir C geltonasis Nr.6	0,02 mg
Alkoholio USP pridedama tiek, kiek reikia granuliavimui.	

19 pavyzdys**Tabletės sudėtis**

N-propargil-1(R)-aminoindano metansulfonatas	7,81 mg*
Preželatinintas krakmolas NF	47,0 mg
Laktozė NF (hidro)	66,0 mg
Mikrokristalinė celiuliozė NF	20,0 mg
Natrio krakmolo glikoliatas NF	2,99 mg
Talkas USP	1,5 mg
Magnio stearatas NF	0,7 mg

* Atitinka 5,0 mg N-propargilaminoindano bazės.

20 pavyzdys**Tabletės sudėtis**

N-propargil-1(R)-aminoindano metansulfonatas	1,56 mg*
Laktozė (hidro)	50,0 mg
Preželatinintas krakmolas	36,0 mg

LT 4455 B

Mikrokristalinė celiuliozė	14,0 mg
Natrio krakmolo glikoliatas	2,14 mg
Talkas USP	1,0 mg
Magnio stearatas NF	0,5 mg

* Atitinka 1,0 mg N-propargilaminoindano bazės.

11 pavyzdys**Kapsulės sudėtis**

N-propargil-1(R)-aminoindano metansulfonatas	5,0 mg
Preželatinintas krakmolas	10,0 mg
Krakmolas	44,0 mg
Mikrokristalinė celiuliozė	25,0 mg
Etilceliuliozė	1,0 mg
Talkas	1,5 mg

Gryninto vandens pridedama tiek, kiek reikia granuliavimui.

Toliau duodami pavyzdžiai ir pridedamos lentelės bei figūros yra susiję su biologiniais eksperimentais, atliktais pagal šį išradimą.

22 pavyzdys**MAO aktyvumo inhibicija *in vitro*****Eksperimento metodika**

MAO fermento šaltiniu buvo žiurkių smegenų homogenatas 0,3 M sacharozės tirpale, kuris buvo centrifuguotas esant 600g 15 minučių. Nuopilas buvo reikiamai praskiestas 0,05 M fosfatinio buferiu ir inkubuotas 20

min. 37 °C temperatūroje su junginių R(+)-PAI, S(-)-PAI ir raceminio PAI laipsniškai praskiestais tirpalais. Po to pridedama ¹⁴C-žymėtų substratų (2-feniletilamino, toliau PEA; 5-hidroksitriptamino, toliau 5-HT) ir inkubavimas tęsiamas dar 20 min. (PEA) arba 30-45 min (5-HT). Naudotos substratų koncentracijos buvo 50 μM (PEA) ir 1 mM (5-HT). PEA atveju fermento koncentracija buvo pasirinkta taip, kad reakcijos eigoje būtų metabolizuojama ne daugiau nei 10 % substrato. Tada reakcija buvo sustabdoma, pridedant tranilcipromino (iki 1 mM galutinės koncentracijos), ir inkubatas filtruojamas per mažą amberlito CG-50 kolonėlę, apdorotą buferiu, esant pH 6,3. Kolonėlė buvo plaunama 1,5 ml vandens, eliuatai sumaišyti, ir skysčių scintiliacijos spektrometrijos metodu nustatytas radioaktyvumo kiekis. Kadangi kolonėlė pilnai sulaiko amino substratus, eliuato radioaktyvumas rodo neutralių ir rūgštinių metabolitų susidarymą, atsirandantį dėl MAO aktyvumo. MAO aktyvumas mėginyje buvo išreikštas procentais nuo kontrolės aktyvumo nesant inhibitorių, atėmus atitinkamas tuščiojo bandymo reikšmes. Aktyvumas, nustatytas substratu naudojant PEA, priskiriamas MAO-B, o aktyvumas, nustatytas substratu naudojant 5-HT, priskiriamas MAO-A.

Rezultatai

R(+)-PAI, S(-)-PAI ir raceminio PAI inhibicinis aktyvumas buvo tirtas atskirai *in vitro*, ir būdingų eksperimentų rezultatai parodyti fig.1 ir 2. Visas eksperimentas buvo pakartotas tris kartus. Inhibitoriaus koncentracijos, sukeliančios 50 % substrato metabolizmo inhibiciją (IC-50), buvo išskaičiuotos iš inhibicijos kreivių ir jos parodytos 1A lentelėje. Iš šių duomenų matyti, kad:

(a) R(+)-PAI yra du kartus aktyvesnis nei racematas MAO-B inhibicijos atveju;

(b) R(+)-PAI yra 29 kartus aktyvesnis MAO-B inhibicijoje nei MAO-A inhibicijoje;

(c) S(-)-PAI aktyvumas sudaro tik 1/6800 dalį R(+)-PAI aktyvumo MAO-B inhibicijos atveju ir turi labai mažą selektyvumą, arba iš viso nėra selektyvus MAO-B ir MAO-A atžvilgiu.

1A lentelė

MAO-A ir MAO-B inhibicijos raceminiu PAI ir jo R(+) bei S(-) enantiomerais
IC-50 (nM) reikšmės žiurkių smegenų homogenate *in vitro*

IC-50 (nM)					
MAO-A			MAO-B		
S(-)-PAI	R(+)-PAI	Rac	S(-)-PAI	R(+)-PAI	Rac
26000	73	140	17000	2.5	5

Tokių pačių eksperimentų, naudojant R(+) ir S(-) MPAL (N-metil-N-propargil-1-aminoindaną), rezultatai pateikti 1B lentelėje. Kiekvienas iš MPAL enantiomerų MAO-A ir MAO-B inhibicijoje yra mažiau aktyvus, nei R(+) PAL. Be to, R(+)-MPAL yra tik penkis kartus aktyvesnis už S(-)-MPAL MAO-B inhibicijoje, palyginus su R(+)-PAL, kuris šiame bandyme yra apie 7000 kartų aktyvesnis už S(-)-PAL.

1B lentelė

MAO-A ir MAO-B inhibicijos raceminiu MPAL R(+) bei S(-) enantiomerais
IC-50 (nM) reikšmės žiurkių smegenų homogenate *in vitro*

IC-50 (nM)			
MAO-A		MAO-B	
S(-)-MPAL	R(+)-MPAL	S(-)-MPAL	R(+)-MPAL
70	3	50	10

Buvo atlikta keletas eksperimentų su žmogaus smegenų žievės audiniais, paimtais praėjus 6 val. po mirties, ir apdorotais taip, kaip aprašyta aukščiau. Tokių eksperimentų rezultatai parodyti fig.3, kurioje R(+)-PAL, S(-)-PAL ir raceminis PAL yra tokie kaip buvo nurodyta.

23 pavyzdys

MAO aktyvumo inhibicija *in vivo*: ūmus poveikis

Eksperimento metodika

Žiurkės (išvestų iš Sprague-Dawley patinėliai), sveriančios 250 ± 20 g, buvo paveiktos vienu iš PAI enantiomerų arba jo racemine forma, suleidžiant į pilvaplėvę (i.p.) arba per skranžio zondą (p.o.), ir atitinkamai po 1 val. arba 2 val. nupjaunamos galvos. Kiekvienai inhibitoriaus dozei buvo imamos grupės po tris žiurkes ir nustatomas MAO aktyvumas smegenyse ir kepenyse, naudojant bendrą aukščiau aprašytą metodiką. Baltymo kiekis kiekvienoje inkubacijoje buvo nustatomas naudojant Folin-Lowry metodą, o fermento aktyvumas įvertinamas kaip nmol metabolizuoto substrato per inkubacijos valandą vienam mg baltymo. MAO aktyvumas paveiktų inhibitoriais gyvuliukų audiniuose buvo išreiškiamas procentais nuo fermento aktyvumo kontrolinių gyvuliukų, gavusių tirpiklį (vandenį peroralinio įvedimo atveju arba 0,9 % natrio chlorido tirpalą i.p. injekcijų atveju), grupėje, kurie buvo užmušti aukščiau aprašytu būdu.

Rezultatai

Nei viena iš naudotų inhibitorinių vaistų dozių nesukėlė pastebimų elgsenos pakitimų. Rezultatai yra pavaizduoti fig. 4-11. Suleidus preparatą i.p. būdu, R(+)-PAI davė 90 % smegenų MAO-B aktyvumo inhibiciją, esant 0,5 mg/kg dozei. Ta pati dozė davė tik 20 % MAO-A aktyvumo inhibiciją. Peroralinio įvedimo atveju, ta pati R(+)-PAI dozė davė 80 % MAO-B inhibiciją, o pastebimos MAO-A inhibicijos nebuvo. Iš esmės panašūs į smegenų MAO inhibicijos rezultatus buvo gauti ir kepenų MAO inhibicijos rezultatai. Dozės, sukeliančios 50 % MAO-A ir MAO-B inhibiciją (IC-50), buvo išskaičiuotos iš inhibicijos kreivių; jos parodytos 2 lentelėje. Šie duomenys rodo, kad: (a) R(+)-PAI inhibicijos aktyvumas MAO atžvilgiu išlieka žiurkėse *in vivo*; (b) R(+)-PAI sukeltos MAO-B inhibicijos, lyginant su MAO-A, selektyvumas išlieka *in vivo*; (c) (+)-enantiomero, lyginant su (-)-enantiomeru, daug didesnis aktyvumas išlieka *in vivo*; (d) šie junginiai yra efektyviai absorbuojami peroralinio vartojimo atveju; ir (e) šie junginiai efektyviai pereina kraujo-smegenų barjerą ir efektyviai inhibuoja smegenų MAO. Tas faktas, kad R(+)-PAI maždaug du kartus labiau inhibuoja MAO-B nei

raceminis junginys, atspindi ypatingai mažą S(-)-PAI junginio MAO-B inhibicijos aktyvumą.

2 lentelė

MAO-A ir MAO-B inhibicijos R(+)-PAI, S(-)-PAI arba raceminiu PAI IC-50 reikšmės žiurkėms, suleidus junginius į pilvaplėvę (i.p.) arba įvedus juos peroraliniu būdu (p.o.)

IC-50 (mg/kg)						
Junginys:	MAO-A			MAO-B		
	S(-)-PAI	R(+)-PAI	Rac	S(-)-PAI	R(+)-PAI	Rac
Smegenys, i.p.:	>10	1,2	2,5	>10	0,07	0,22
Kepenys, i.p.:	>10	5	5	>10	0,06	0,11
Smegenys, p.o.:	>10	>5	>5	>10	0,17	0,29
Kepenys, p.o.:	>10	>5	>5	>10	0,05	0,09

(Rac = raceminis PAI)

24 pavyzdys

MAO aktyvumo inhibicija *in vivo*: chroniškas poveikis

Eksperimento metodika

Žiurkės (tokios kaip 23 pavyzdyje, 4 gyvuliukai kiekvienai dozei) buvo paveikiamos trimis R(+)-PAI arba raceminio mišinio dozėmis (0,05, 0,1 ir 0,5 mg/kg), duodant vieną dozę per dieną, iš viso 21 dieną, ir praėjus 2 val. po paskutinės dozės joms nupjaunamos galvos. MAO-A ir MAO-B aktyvumai buvo nustatomi smegenyse ir kepenyse pagal 23 pavyzdyje aprašytą metodiką.

Rezultatai

R(+)-PAI junginio 0,1 mg/kg per dieną dozė davė gerą selektyvios inhibicijos laipsnį, t.y. daugiau nei 80 % smegenų MAO-B inhibicijos ir 20 arba mažiau % smegenų MAO-A inhibicijos. Esant didesnei 0,5 mg/kg per dieną dozei, MAO-A buvo vis dar inhibuojama mažiau nei 50 % (fig. 12 ir 13). Kepenų MAO parodė panašų selektyvios inhibicijos laipsnį (fig.14 ir 15). R(+)-PAI junginys vėlgi buvo apie du kartus veiksmingesnis už raceminį

mišinį. Smegenų MAO atveju R(+)-PAI turėjo geresnį MAO-B inhibicijos selektyvumo laipsnį nei raceminis mišinys.

Šie rezultatai rodo, kad MAO-B inhibicijos selektyvumas gali išsilaikyti ir chroniško junginių poveikio atveju. Kaip ir kitų negrįžtamų inhibitorių atveju, fermento inhibicijos laipsnis yra didesnis, kai naudojamas chroniškas poveikis, lyginant su vienkartinio vaisto dozės panaudojimu. R(+)-PAI junginys rodo geresnį smegenų MAO-B inhibicijos selektyvumo laipsnį nei raceminis mišinys.

25 pavyzdys

Negrįžtama MAO inhibicijos prigimtis

Eksperimento metodika

Grupėms po 4 žiurkės i.p. būdu buvo suleista R(+)-PAI junginio vienkartinė dozė (1 mg/kg), ir gyvuliukai užmušti praėjus 2, 6, 18, 24, 48 ir 78 valandoms. MAO-B aktyvumas buvo nustatomas visų smegenų audiniuose pagal aukščiau aprašytą metodiką.

Rezultatai

Rezultatai parodyti fig.16. Maksimali MAO-B inhibicija buvo pasiekta, praėjus 6 val. po injekcijos. MAO aktyvumas grįžo tik iki 30 % aktyvumo, lyginant su kontrole, praėjus 72 val. po injekcijos. Šis eksperimentas rodo MAO inhibicijos R(+)-PAI junginiu negrįžtamą prigimtį.

26 pavyzdys

Tiramino presorinio efekto skatinimas sąmonę turinčiose žiurkėse

Eksperimento metodika

Žiurkės buvo anestezuojamos pentobarbitalio (30 mg/kg) ir chloralio hidrato (120 mg/kg) mišiniu, suleidžiant jį į pilvaplėvę. Į kairiąją miego arteriją ir jungo veną įleidžiamos kanulės su plonu polietileniniu vamzdeliu (arterijai) arba su plonu silikoniniu vamzdeliu, sujungtu su polietileniniu vamzdeliu

(venai), kurių periferiniai galai išvedami po oda prie fiksavimo vietos po kaklu. Vamzdeliai užpildomi heparinizuotu fiziologiniu tirpalu ir užkemšami plonais plieniniais strypeliais. Gyvuliukams į raumenis suleidžiama 2,0 mg chloramfenikolio, ir jiems leidžiama atsigauti po operacijos per naktį. Kitą dieną žiurkės patalpinamos į aukštasienę dėžę, kurioje jos gali laisvai judėti. Arterinis kateteris prijungiamas prie slėgio perdavimo įtaiso 100 cm ilgio mažo skersmens skylutę turinčiu polietileniniu vamzdeliu, užpildytu fiziologiniu tirpalu, o veninis kateteris prijungiamas prie 1 ml švirkšto panašaus ilgio vamzdeliu, kuriame, o taip pat ir švirkšte, yra tiramino hidrochlorido tirpalas fiziologiniame tirpale (1 mg/ml). Praėjus 30-40 min. pusiausvyros laikotarpiui, duodamos tiramino injekcijos (50 arba 100 µg) ir registruojamas kraujo spaudimas. Kai kraujo spaudimas pasiekia kontrolines reikšmes, išlaikomi mažiausiai 15 min. tarpai tarp injekcijų. Nustatomi kontroliniai presorinio atsakai, po to į pilvaplėvę suleidžiamas vienas iš vaistų, ir sekancias 4 valandas kartojami tiramino atsakai. Išmatuojamas plotas po kraujo spaudimo atsako kreive ir nustatomas santykis plotų po poveikio vaistu ir prieš poveikį, bei praėjus 1 ir 3 val. po junginių injekcijos, panaudojant vidutiniškai 3-4 reikšmes, gautas kontroliniu laikotarpiu.

Rezultatai

Rezultatai parodyti 3 lentelėje. R(+)-PAI junginio 1 mg/kg dozė (kuri sukelia pilną MAO-B inhibiciją smegenyse ir kepenyse ir 40-50 % MAO-A inhibiciją šiuose audiniuose) nesukėlė pastebimo tiramino presorinio atsako skatinimo. Esant didesnei (5 mg/kg) R(+)-PAI dozei (kuri sukelia didesnę MAO-A inhibiciją smegenyse ir periferijoje), nustatytas didelis tiramino presorinio atsako skatinimas, kurio dydis yra panašus į tos pačios deprenilo dozės sukeltą skatinimą, bet mažesnis už klorgilino sukeltą skatinimą (esant dozei, kuri inhibuoja kepenų MAO-A aktyvumą daugiau nei 85 %).

3 lentelė

Tiramino presorinio efekto skatinimas samonę turinčiose žiurkėse MAO inhibitoriais

Inhibitorius	Dozė (mg/kg)	Žiurkių skaičius (n)	Plotų po presorinio atsako kreive santykis	SVP *
--------------	--------------	----------------------	--	-------

			(po/prieš)	
Fiziolog. tirpalas		12	1,25	0,28
Klorgilinas	2	6	10,39	2,13
(-)-Deprenilas	1	2	1,15	
(+)-Deprenilas	5	3	2,36	0,16
R(+)-PAI	1	3	1,38	0,7
R(+)-PAI	5	3	3,49	0,98

*SVP = standartinė vidurkio paklaida

Iš šio eksperimento galima padaryti išvadą, kad R(+)-PAI nesukelia tiramino presorinio efekto skatinimo, esant dozėms, kurios efektyviai inhibuoja MAO-B.

27 pavyzdys

MPTP indukuoto dopaminerginio toksiškumo slopinimas R(+)-PAI

1-Metil-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinas (MPTP) yra neurotoksinas, kuris pažeidžia kai kurių žinduolių, įskaitant peles, juodojo dryžuotojo kūno dopaminerginius neuronus ir sukelia Parkinsono sindromą žmonėms ir primatams. Jo neurotoksiškumo mechanizmo lemiamą pradinę stadiją yra MPTP virtimas į jo toksišką metabolitą - 1-metil-4-fenilpiridinio joną (MPP⁺). Šią reakciją katalizuoja MAO-B fermentas, ir ji tikriausiai vyksta dopaminerginių neuronų išorėje pagrindinai paraminiame nerviniame audinyje. Yra žinoma, kad MPTP yra MAO-B ir substratas, ir negrįžtamas inhibitorius. Paveikus eksperimentinius gyvuliukus MAO-B inhibitoriais, tokiais kaip deprenilas arba pargilinas, apsaugoma nuo MPTP sukulto dryžuotojo kūno neuronų pakenkimo, kadangi blokuojamas MPTP oksidacinis virsmas į MPP⁺. Progresuojantis dryžuotojo kūno išsigimimas Parkinsono ligos atveju gali būti dėl neapsisaugojimo nuo aplinkoje susidariusių egzogeninių, panašių į MPTP, neurotoksinų. Tokiais atvejais yra papildoma aiški indikacija, kad reikia pradėti palaikomąjį gydymą MAO-B inhibitoriumi, pradedant nuo ankstyvųjų Parkinsono ligos stadijų, tikintis, kad jis neutralizuos galimų MPTP tipo toksinų žalojančius poveikius ir tokiu būdu sustabdys arba sulėtins ligos progresavimą. Apie MAO-B inhibitorinio vaisto veiksmingumą dabartiniu metu sprendžiama pagal jo sugebėjimą blokuoti MPTP sukeltą dryžuotojo kūno

dopaminerginių neuronų pakenkimą *in vivo*. Išeinant iš to, buvo tiriamas PAI (+) ir (-) enantiomerų sugebėjimas apsaugoti arba sumažinti MPTP sukulto dryžuotojo kūno dopamino kiekio sumažėjimą pelėse.

Eksperimento metodika

Juodųjų pelių C57 patinėliams (20-25 g svorio) buvo (a) suleista su MPTP-HCl (30 mg/kg, ištirpintu distiliuotame vandenyje, s.c.) arba vien tik tirpiklio, arba praėjus 1 val. po preliminarinio apdorojimo su PAI (-) arba (+) izomerais (2,5 mg/kg, i.p.) arba su deprenilu (5 mg/kg, i.p.) ir (b) po 5 dienų nupjautos galvos. Buvo išimtos smegenys, ant ledu šaldomos stiklinės plokštės atskirtas dryžuotasis kūnas ir užšaldytas sausame lede. Dryžuotojo kūno audiniai buvo homogenizuoti 0,1 M perchlorato rūgštyje ir didelio slėgio skysčių chromatografijos su elektrochemine detekcija metodu tiriamos tirpalo, iš kurio pašalintas baltymas, alikvotinės dalys, kuriose yra dihidroksibenzilamino, kaip vidinio standarto, norint nustatyti dopamino ir jo pagrindinio metabolito - 3,4-dihidroksifenilacto rūgšties (DOPAC) - kieki.

Rezultatai

Šio eksperimento rezultatai parodyti 4 lentelėje. Poveikis vien tik MPTP davė žymų dryžuotojo kūno dopamino (DA) ir DOPAC kiekio sumažėjimą. Poveikis PAI (-) arba (+) enantiomerais, arba (-) deprenilu neturėjo įtakos dryžuotojo kūno DA koncentracijoms. Preliminarinis apdorojimas PAI (-) izomeru nepaveikė MPTP sukeltų DA ir DOPAC kiekių dryžuotajame kūne. PAI (+) izomeras, įvestas prieš MPTP, pilnai panaikino toksino sukeltų dryžuotojo kūno DA ir DOPAC kiekių sumažėjimą. Pagal apsauginį efektą 2,5 mg/kg (+)PAI dozė prilygsta (-) deprenilui (5 mg/kg).

4 lentelė

Preliminarinio apdorojimo MAO-B inhibitoriaus PAI (-) ir (+) enantiomerais poveikis į dryžuotojo kūno DA ir DOPAC kiekio sumažėjimą, sukeltą MPTP pelėse *in vivo*

	ng/mg baltymo	
	DA	DOPAC
Kontrolė	162,8±7,2	8,4±0,5
MPTP	53,1±6,2	3,2±0,3

(-)PAI	174,0±4,8	7,5±0,2
(-)PAI + MPTP	53,4±6,9	7,0±0,6
(+)PAI	185,0±6,9	3,3±0,3
(+)PAI + MPTP	177,8±14,4	6,0±0,3
(-)Deprenilas	170,6±7,1	5,6±0,3
(-)Deprenilas+ MPTP	197,0±8,0	6,4±0,5

Aukščiau duotos DA ir DOPAC reikšmės yra vidurkis±standartinė vidurkio paklaida, o pelių skaičius n = 7-11 kiekvienoje grupėje.

Šie rezultatai rodo, kad R(+)PAI yra puikus MAO-B inhibitorius *in vivo* ir yra labai potencialus vaistas Parkinsono ligai gydyti.

Nors šis išradimas yra aprašytas, remiantis aukščiau minėtais pavyzdžiais, juos lydinčiomis lentelėmis ir brėžiniais, jis tuo neapsiriboja. Yra galimos įvairios šio išradimo modifikacijos. Pavyzdžiui, Parkinsono ligos gydymui (R)-PAI gali būti derinamas (sinergetiniu atžvilgiu) su α -tokoferoliu (vitamino E dariniu).

28 pavyzdys

PAI enantiomerų poveikis į amfetamino sukeltą senstančių žiurkių stereotipinį elgesį

Yra žinoma, kad amfetaminas sukelia stereotipinį elgesį, atpalaiduodamas endogeninį dopaminą (Sulser, F., and Sanders-Bush, E., *Ann. Rev. Pharmacol.*, 11, 209-230 (1971)). Amfetamino nemetabolizuoja MAO-B. MAO-B inhibavimas efektyviu inhibitoriumi ir amfetamino vartojimas sukelia dopamino atpalaidavimą, kurio neskaldo inhibuota MAO-B. Taigi, įvedus amfetamino ir efektyvaus MAO-B inhibitoriaus, galima laukti sinaptinio dopamino kiekio padidėjimo, kuris skatina amfetamino sukulto stereotipinio elgesio sustiprinimą. Šio elgesio laipsnis įvertinamas pagal galvos judinimų į šonus skaičių per 1 minutę.

Eksperimento metodika

Tiriamas junginys buvo įvedamas 0,5 mg/kg/per dieną dozėmis geriamajame vandenyje 24 valandas prieš hipoksijos sukėlimą (92 % azoto +

8 % deguonies, 6 valandos). Po to, po oda buvo suleista 0,5 mg/kg amfetamino dozė. Praėjus 45 min., pradėti skaičiuoti galvos judinimai į šonus.

Rezultatai

Šių eksperimentų rezultatai parodyti 5 lentelėje.

5 lentelė

PAI izomerų poveikis į senstančių žiurkių (kontrolinių ir pažeistų hipoksija) amfetamino sukeltą stereotipinį elgesį

Grupė	Poveikis	Stereotipinio elgesio įvertinimas
Kontrolė (6)	-	87±10
Kontrolė (5)	(+)PAI	126±16*
Kontrolė (4)	(-)PAI	94±18
Pažeistos hipoksija (5)	-	93±12
Pažeistos hipoksija (6)	(+)PAI	143±6*

Skaičiai skliausteliuose yra tirtų gyvuliukų skaičius. *P<0,001 nepažeistos hipoksija grupės arba atitinkamai nepaveiktos kontrolinės grupės atžvilgiu.

5 lentelės rezultatai rodo, kad (+)PAI sukelia ir pažeistų hipoksija, ir kontrolinių žiurkių amfetamino sukeltą stereotipinio elgesio aiškų sustiprinimą. (-)PAI šiuo požiūriu buvo visai neaktyvus. Šie elgesio tyrimo *in vivo* rezultatai paremia ankstesnius biocheminius duomenis, kad (+)PAI yra aktyvus MAO-B inhibitorius smegenyse, o (-)PAI šiuo požiūriu yra neaktyvus.

29 pavyzdys

R(+)-PAI poveikis atminties pagerinimui arba atstatymui

Tik ką gimusiems žiurkiukams padaromas trumpas anoksijos laikotarpis, o po to jie auginami normaliu būdu, besivystant ilgai trunkančiam atminties pablogėjimui. (Speiser, et al., *Behav. Brain Res.*, 30, 89-94 (1988)). Šis atminties pablogėjimas yra išreiškiamas sumažėjusia reakcija pasyvaus vengimo teste.

R(+)-PAI ir S(-)-PAI poveikis atminties pagerinimui arba atstatymui buvo tirtas panaudojant pasyvaus vengimo testą. Jeigu vaistas yra veiksmingas, jis didina atsako į tamsų skyrelį arba kamerą, kurioje

tiriamoji žiurkė anksčiau buvo gavusi elektrošoką, latenciją. Didžiausio atsako latencija yra 300 sekundžių.

Eksperimento metodika

Jaunoms žiurkėms buvo atlikta postnatalinė anoksija pagal 27 pavyzdyje aprašytą metodiką. R(+)-PAI arba S(-)-PAI buvo įvedami pagal vieną iš toliau duodamų metodikų.

A metodika. Žindančioms motininėms žiurkėms buvo duodama vieno iš izomerų 1 - 1,5 mg/kg/per dieną dozė geriamajame vandenyje iki nujunkymo (21 dieną). Po to nujunkyti jaunikliai buvo tiesiogiai apdorojami ta pačia doze 20 dienų. Apdorojimas buvo baigtas po 40 dienų, o testas buvo atliktas po 60 dienų, t.y. praėjus 20 dienų po paskutinės vaisto dozės.

B metodika. Dozė, skirta žindančiai motininei žiurkei, buvo sumažinta iki 0,5 mg/kg/per dieną iki nujunkymo (21 dieną), o po to šia doze buvo tiesiogiai apdorojamos jaunos žiurkės iki 60 dienų ir tada atliekamas testas.

Pasyvus vengimo testas

Prietaisas susidėjo iš apšviestos kameros, sujungtos su tamsia kamera, ir abi kametas skiriančių slankiojančių durelių. Paruošimo metu žiurkė buvo patalpinama į apšviestą kamerą 30 sekundžių ir po to atidaromos durys. Žiurkė bėgo į tamsią kamerą su tam tikru uždelsimu (latencija), kuris buvo registruojamas. Įėjus žiurkei į tamsią kamerą, durys buvo uždarytos ir 3 sekundes buvo paduodama 0,3 mA srovė, kaip šokas į koją.

Buvo nustatomas išlaikymas atmintyje po 48 valandų, pakartojant testą ir nustatant uždesimą pereiti iš šviesos į tamsą pagal sutartinį 300 sek. maksimumą.

Rezultatai

Šių eksperimentų rezultatai parodyti 6 lentelėje

6 lentelė

PAI izomerų poveikis į jaunų žiurkių (60 dienų amžiaus) pasyvaus vengimo atsaką

A metodika

Grupė	Poveikis	Prieš elektrošoką	Po elektrošoko
Kontrolė	-	49±13	201±111
Kontrolė	(+)PAI	49±19	220±100 (+9%)*
Kontrolė	(-)PAI	48±13	192±116
Pažeistos anoksija	-	45±11	183±109
Pažeistos anoksija	(+)PAI	49±10	239±99 (19%)*
Pažeistos anoksija	(-)PAI	55±27	179±123

B metodika

Grupė	Poveikis	Prieš elektrošoką	Po elektrošoko
Kontrolė	-	53±20	104±101
Kontrolė	(+)PAI	48±11	128±119 (+23%)*
Pažeistos anoksija	-	45±8	119±105
Pažeistos anoksija	(+)PAI	52±12	137±126 (+15%)*
Pažeistos anoksija	(-)PAI	48±19	112±112

Skaitmenys vaizduoja įėjimo į tamsią patalpą, kurioje tiriamosios žiurkės anksčiau buvo gavusios elektrošoką, uždelsimą sekundėmis.

*Nurodyti procentiniai padidėjimai yra išskaičiuoti atitinkamai pažeistos anoksija grupės arba kontrolinės grupės atžvilgiu.

Šie eksperimentiniai rezultatai rodo, kad (+)PAI, o ne (-)PAI, pagerina pažeistų anoksija ir kontrolinių žiurkių atmintį. Laikoma, kad vaistai, kurie yra aktyvūs šiame teste, gali tikti įvairių atminties pablogėjimo sutrikimų, demencijos ir ypač Alchaimerio tipo senatvinės demencijos, gydymui.

30 pavyzdys

R(+)-PAI poveikis į jaunų žiurkių anoksijos sukeltą hiperaktyvumo sindromą

Žiurkės, kurioms buvo atlikta postnatalinė anoksija, ir toliau augintos normaliose sąlygose, kai jos yra 10-42 dienų amžiaus, rodo padidintą motorinį aktyvumą atvirame lauke (Hertshkowitz, et al., *Dev. Brain Res.*, 7, 145-155 (1983)). Buvo tirtas R(+)-PAI ir S(-)-PAI poveikis į tokį hiperaktyvumo sindromą.

Eksperimento metodika

Žiurkių naujagimiams buvo atlikta anoksija pirmąją dieną po gimimo. Jie buvo patalpinti į stiklinę kamerą ir palaikyti 100 % azoto atmosferoje 25 minutes. Žiurkiukai buvo atgaivinti panaudojant protarpiais atliekamą masažą krūtinės srityje ir sugrąžinti jų pačių motinoms. Kontrolinės žiurkės buvo apdorotos tuo pačiu būdu tik vietoj azoto buvo oras.

R(+)-PAI arba S(-)-PAI (0,5 mg/kg/per dieną) buvo duodama žindančioms motinoms geriamajame vandenyje, ir taip jie buvo perduoti žindomiems žiurkiukams per pieną.

Lokomocija buvo matuojama šešiuose pilnai kompiuterizuotuose narvuose (28 x 28 cm), registruojant perbėgimų skaičių per laiko vienetą. Perbėgimai per infraraudonųjų spindulių, esančių 4 cm atstumais vienas nuo kito, tinklą sukėlė elektrinius signalus, kurie maitino skaičiuoklį. Buvo išmatuotas 15 ir 20 dienų amžiaus žiurkių motorinis aktyvumas 15 min. laikotarpyje.

Rezultatai

Šio eksperimento rezultatai duoti 7 lentelėje.

7 lentelė

Atskirų PAI enantiomerų poveikis į anoksijos sukeltą hiperaktyvumo sindromą

Grupė	Poveikis	15 dienų amžiaus žiurkės	20 dienų amžiaus žiurkės
Kontrolė	-	414±192 (11)	808±212 (12)
Kontrolė	(+)PAI	254±149 (11) c	719±110 (13)
Pažeistos anoksija	-	482±119 (7)	858±96 (9)
Pažeistos anoksija	(+)PAI	276±186 (15) a	737±150 (16) c
Pažeistos anoksija	(-)PAI	334±196 (5)	778±232 (6)

Skaičiai skliausteliuose yra tirtų gyvuliukų skaičius. Duoti skaičiai reiškia infraraudonųjų spindulių tinklo perbėgimų aktyvumo narve skaičių per 15 min. laikotarpį.

- a P<0,001 lyginant su anoksija nepažeista grupe.
- b P<0,05 lyginant su anoksija nepažeista grupe.
- c P<0,05 lyginant su kontroline grupe.

Šie rezultatai rodo, kad chroniškas apdorojimas R(+)-PAI 0,5 mg/kg doze peroraliniu būdu, kai šis vaistas yra duodamas žindančiai motininei

žiurkei ir pasiekia žindomą jauniklį per pieną, žymiai pagerina hiperaktyvumo sindromą. Iš to seka, kad R(+)-PAI gali būti potencialus vaistas vaikų hiperaktyvumo sindromui gydyti.

31 pavyzdys

Dešimties PAI druskų stabilumo skirtumai

Pasirenkant optimalią druską kaip terapinį vaistą, svarbus faktorius yra jos stabilumas. Įvairios druskos gali pakeisti vaisto fizikines-chemines ir biologines charakteristikas ir gali turėti lemiamą įtaką jo bendrosioms savybėms (Berge, S.M., et al., *J. Pharm. Sci.* **66**, 1 (1977); Gould, P.L., *Int. J. Pharmaceutics*, **33**, 201 (1986)).

Eksperimentinė dalis

PAI druskų sintezė

Atitinkamos rūgšties (1 mol. ekv.) tirpalas 2-propanolyje maišant supilamas į PAI (1 mol. ekv.) tirpalą 2-propanolyje (Ar, BHT). Susidariusi druska nufiltruojama, perplaunama 2-propanoliu ir eteriu ir džiovinama žemame slėgyje. Išėigos yra 70-90 % ribose. Išimtis yra PAI acetatas, kurio gavimui tirpikliu yra naudojamas eteris.

Analizės metodai

Chromatografinis skirstymas buvo atliktas naudojant Lichrosphere 60 RP select B 5 μ 125x4 mm (Merck) kolonėlę, didelio slėgio skysčių chromatografą HPLC (Jasco BIP-1) su L-4200 UV-Vis detektoriumi (Merck-Hitachi), kurio nustatytas bangos ilgis yra 210 nm, ir D-2500 chromatointegratoriumi (Merck-Hitachi). Eliuentas ir skiediklis susidėjo iš 80 % distiliuoto vandens / 20 % acetonitrilo (HPLC grynumo) ir 0,07 M perchlorato rūgšties, kurio pH buvo sureguliuotas su vandeniniu amoniaku iki 2,5. Naudotas 1 ml/min srauto greitis, atitinkamos PAI druskos tirpalo koncentracija buvo 250 μ g/ml, o į chromatografijos sistemą buvo suleidžiama 20 μ l tirpalo.

Lydimosi temperatūrų intervalas buvo matuojamas automatinio prietaisu (Mettler FP 80), o termogravimetrinė analizė buvo atliekama Mettler TA 3000 sistema, naudojant 10 °C/min greitį tinkamame intervale. Tirpumas buvo nustatomas, reikiamai praskiedžiant prisotinto PAI druskos tirpalo vandenyje nuopilą ir matuojant UVIKON 941 (Kontron) UV ir matomos srities spektrofotometru. Druskos forma (mono- ar di-druska) buvo nustatoma iš elementinės analizės duomenų, naudojant standartinę C, H, N ir S nustatymo įrangą. pH buvo matuojamas 1 % vandeniniame PAI druskos tirpale.

Rezultatai

Įvairių druskų charakteristikos duotos 8 lentelėje.

8 lentelė

PAI druskų fizikinės-cheminės savybės

PAI druska Mol. masė	pH	Tirpumas, mg/ml	Lyd. temp. (°C)	Svorio netekimas, %	Druskos forma
tartratas 492	5,5	33	176,2- 177,3	LT 0,1	di
metansulfonatas 267	4,3	635	156,8- 157,6	0,1	mono
maleatas 287	4,0	NLT 1000	87,2-87,8	0,1	mono
sulfatas 440	3,9	485	159,4- 161,1	3,2	di
chloridas 207	4,2	238	177,0- 180,0	LT 0,5	mono
4-metilbenzen- sulfonatas 343	4,4	60-70	129,3- 129,9	LT 0,1	mono
fumaratas 287	3,5	95	125,4- 126,2	0,2	mono
fosfatas n.a.	7,0	NTL 720	109,5- 110,4	n.a.	n.a.
etansulfonatas 279	2,4	NTL 300	n.a.	n.a.	mono
acetatas 231	6,1	NTL 720	69,2-69,7	0,4	mono

n.a. = nenustatyta

Palyginamieji stabilumo tyrimai buvo atlikti, panaudojant keletą greitinančių sąlygų: I) kaitinimas 80 °C temperatūroje 72, 96 arba 144

valandas; ir II) virinimas su grįžtamu šaldytuvu izopropanolyje 30 valandų. Atsiradę degradacijos produktai buvo matuojami didelio slėgio skysčių chromatografijos metodu ir patvirtinti plonasluoksnės chromatografijos metodu. Rezultatai pateikti 9 lentelėje kartu su santykinio sulaikymo laiku (pagal PAI smailę; RRT) kaip ploto procentai, skaičiuojant nuo bendro integralinio piko ploto.

9 lentelė

Degradacijos produktai, atsiradę PAI druskose pagreitinto skaldymo sąlygomis

Druska	80 °C/72 val.		80 °C/144 val.		Virinimas i-PrOH/30 val	
	RRT ^a	% ^b	RRT	%	RRT	%
Sulfatas	ND ^c	ND	ND	ND	0,47 0,60	0,22 0,72
Fosfatas	0,60	0,22	0,60	0,57	0,60 0,74 1,84 1,98	2,62 0,21 0,20 0,73
Chloridas	ND	ND	ND	ND	2,23	0,71
Metansulfonata s	ND	ND	ND	ND	0,60	0,08
Maleatas	0,60 1,27 1,48 1,81 3,07 4,16 4,84	0,41 0,50 0,33 0,10 1,44 0,10 7,76	n.a.		0,60 0,65 1,29 1,42 1,50 1,83 1,98 4,09	2,17 1,35 0,59 1,30 0,16 0,18 0,23 0,65
Acetatas	0,44 0,60 0,73 1,29 1,55 1,75 1,96 2,15 2,32 2,83 3,54	0,10 2,56 0,13 0,71 1,06 21,85 3,33 0,08 0,15 0,15 1,82	n.a.		0,60 0,74 1,76 1,84 1,99 3,60	6,74 0,35 0,33 0,16 4,17 0,27
Ezilas ^d	ND	ND	0,85 1,96	0,26 0,31	ND	ND

Kiekybinio nustatymo riba = 0,08 %

n.a. = nenustatyta

^a Santykinis sulaikymo laikas (lyginant su PAI smaile).

^b Ploto procentai, skaičiuojant nuo bendro integralinio smailės ploto.

^c Priemaišų nerasta

^d Etansulfonato druska

Druskos buvo tirtos vizualiai, nustatant spalvą ir formą. Duomenys parodyti 10 lentelėje.

10 lentelė

PAI druskų išvaizda, palaikius jas destrukcinėse sąlygose

Druska	80 °C/72 val.	80 °C/72 val.	80 °C/72 val.	Virinimas iPrOH/30 val
Sulfatas	nelabai balti milteliai	n.a.	nelabai balti milteliai	rudi milteliai
Fosfatas	rusvi milteliai	n.a.	rudi milteliai	rudi milteliai
Chloridas	balti milteliai	n.a.	balti milteliai	nelabai balti milteliai
Metansulfonatas	balti milteliai	n.a.	balti milteliai	balti milteliai
Maleatas	rudas lydalas	rudas	n.a.	rudas lydalas
Ezilas	rusvas lydalas	n.a.	tamsiai rudas lydalas	tamsiai rudas lydalas

n.a. = nenustatyta

Šie tyrimai rodo, kad sulfatas, ezilas ir metansulfonatas turi daug privalumų, lyginant su kitomis druskomis dėl gero jų tirpumo ir cheminio stabilumo. Iš šių trijų druskų labiausiai tinkamas yra metansulfonatas dėl jo puikaus stabilumo net ir destrukcinėse sąlygose.

32 pavyzdys

Haloperidolio sukeltos katalepsijos panaikinimas pelėse

ICR pelių patinėliai, sveriantys 25-30 g, buvo iš pradžių apdoroti kuriuo nors iš šių vaistų: fiziologiniu druskos tirpalu, (R)-PAI metansulfonatu arba raceminiu PAI metansulfonatu. Visi vaistai buvo vartoti i.p. būdu, suleidžiant 0,2 ml. Po 2 valandų buvo suleista s.c. būdu 6 mg/kg haloperidolio dozė,

esanti 0,1-0,2 ml tūryje. Praėjus 3 val. po haloperidolio suleidimo, t.y. praėjus 5 val. po tiriamojo vaisto suleidimo, buvo atlikti judesių koordinacijos testai.

Judesių koordinacijos testai ir rigidiškumas buvo kiekybiškai įvertinami pagal tris skirtingus parametrus: (a) sugebėjimas eiti išilgai horizontalaus 80 cm ilgio strypo; (b) sugebėjimas lipti žemyn (žemyn galva) vertikaliu 80 cm ilgio strypo; (c) nejudrumo trukmė nenatūralioje sėdėjimo padėtyje, kai pelės pilvas yra prispaustas prie "sienos". Pelių, negavusių haloperidolio, pilnas užduoties įvykdymas kiekviename teste vertinamas 4 balais, arba iš viso 12 balų visuose testuose. Blogas užduoties įvykdymas vertinamas nuo 1 iki 3 balų. Raktas balų įvertinimui duotas 11A lentelėje. Įvairių agentų poveikiai į haloperidolio sukeltos katalepsijos sumažinimą duoti 11 lentelėje. Praėjus 3 val. po haloperidolio suleidimo, (R)-PAI metansulfonatas apsaugojo nuo haloperidolio poveikio, esant 5-15 mg/kg dozėms, ir efekto maksimumas pasiekiamas, esant 7,5-10 mg/kg dozei (aktyvumo balas $\approx$ 94 % pagal fiziologinio tirpalo kontrolę). Raceminis PAI metansulfonatas suteikė dalinį apsaugojimą nuo haloperidolio poveikio, esant 7,5-15 mg/kg dozėms, o 5 mg/kg dozė buvo neaktyvi. Iš fig.17 galima matyti, kad ir (R)-PAI, ir raceminio PAI metansulfonato dozės-poveikio kreivės vaizdas yra toks, kad dozės didinimas už 10 mg/kg ribos sukelia poveikio mažėjimą, bet raceminis mišinys yra mažiau veiksmingas visame intervale. Tai reiškia, kad raceminis PAI metansulfonatas, imant jo dvigubai didesnę už (R)-PAI metansulfonato dozę, visada bus mažiau aktyvus, nei R enantiomeras.

α -MpT sukeltos hipokinezijos panaikinimas žiurkėse

Laikoma, kad α -MpT vaistas inhibuoja L-DOPA susidarymą iš tirozino, taigi ir paties dopamino susidarymą. CNS dopamino trūkumas pasireškia hipoaktyvumu. Šešių mėnesių amžiaus Wistar žiurkių patinėliai (iš Harlan Orkack, UK) buvo iš pradžių paveikti fiziologiniu tirpalu, (R)-PAI metansulfonatu arba raceminiu PAI metansulfonatu nurodytomis dozėmis. Po dviejų valandų jie gavo i.p. būdu 100 mg/kg α -MpT dozę 0,3-0,5 ml tūryje. Kontroliniai gyvuliukai gavo fiziologinį tirpalą. Po to, kompiuterizuotame aktyvumo narve buvo registruojamas jų motorinis aktyvumas 10 val. bėgyje.

Rezultatai duoti 12 lentelėje ir fig.18. Esant 2 mg/kg dozei, (R)-PAI metansulfonatas atstatė maždaug 90 % aktyvumo lygį, skaičiuojant pagal fiziologiniu tirpalu paveiktas žiurkes. Abiem atvejais dozės-poveikio kreivės buvo varpo formos, ir iš to seka, kad didėjant dozei už maksimalų poveikį rodančios 2-5 mg/kg ribos, poveikis mažėja. Raceminio PAI metansulfonato 5 mg/kg dozė negali išgauti aktyvumo, artimo 2 mg/kg (R)-PAI dozės aktyvumui.

Iš šių rezultatų matyti, kad (R)-PAI metansulfonato ir raceminio PAI metansulfonato aktyvumo haloperidoliu paveiktose pelėse ir α -Mpt paveiktose žiurkėse normokinezijos atstatymo vaizdas nėra panašus. Visų tirtųjų dozių atveju, (R)-PAI metansulfonatas visada yra veiksmingesnis nei atitinkama raceminio PAI metansulfonato dozė. Be to, maksimalus raceminio PAI metansulfonato aktyvumas visada yra mažesnis už maksimalų (R)-PAI metansulfonato aktyvumą. Taigi, raceminio PAI metansulfonato tam tikra dozė visada yra mažiau veiksminga nei pusė šios dozės (R)-PAI. Padvigubinus raceminio PAI metansulfonato dozę (R)-PAI atžvilgiu, poveikio, lygiaverčio (R)-PAI, negaunama.

Farmakologiniu požiūriu, raceminio PAI metansulfonato negalima laikyti susidedančiu iš 50 % veikliojo ingrediento, kuris yra (R)-PAI metansulfonatas, ir 50 % inertinės medžiagos, kaip skiediklio. (S)-PAI raceminiame PAI metansulfonate turi priešingą poveikį (R)-PAI aktyvumą, ir tai duoda veiksmingumo sumažėjimą daugiau nei du kartus. Šis sumažėjimas gali būti dėl tiesioginio priešingo (S)-PAI poveikio į elgsenos parametrus.

11 lentelė

Haloperidoliu sukeltos katalepsijos pelėse atstatymas (R)-PAI metansulfonatu ir raceminiu metansulfonatu

Pelės gavo kiekvieno vaisto nurodytą dozę i.p. būdu. Po 2 val. jos gavo haloperidolio kaip aprašyta tekste. Nurodytos dozės yra laisvos bazės dozės.

Dozė, mg/kg	R-PAI metansulfonatas			Raceminis PAI metansulfonatas		
	Balai $\pm$ sp	n	% nuo kontrolės	Balai $\pm$ sp	n	% nuo kontrolės
1,8	7,2 $\pm$ 1	6	60	7,0 $\pm$ 0,6	6	59
3,0	6,4 $\pm$ 0,5	6	60	5,9 $\pm$ 0,7	6	49

5,0	8,7±0,9*	6	73	6,4±0,4	6	53
7,5	11,0±0,4***	5	92	9,4±0,8**	6	78
10	11,3±0,3***	6	94	9,2±0,6***	6	77
15	10,8±0,5***	5	90	8,8±0,8*	6	73
Fiziologinis tirp.	12±0	12	100			
Tik haloperidolis	6,6±0,3	16	59			

Statistinis reikšmingumas vieno haloperidolio atžvilgiu: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ pagal Stjudento "t" testą. (R)-PAI balai labai skiriasi nuo raceminio PAI balų, esant 5 mg/kg, $p \leq 0,05$; 10 mg/kg, $p \leq 0,01$; ir 15 mg/kg, $p \leq 0,05$, dozėms.

11A lentelė

Raktas haloperidolio sukeltos katalepsijos ir jos atstatymo įvairiais agentais
balų įvertinimui

Vertikalus strypas:

Negali sugriebti strypo galūnėmis	1
Gali sugriebti, bet slysta žemyn	2
Gali sugriebti, dalinai slysta, dalinai lipa žemyn	3
Gali sugriebti, lipa žemyn, naudodama visas galūnes	4

Horizontalus strypas:

Negali sugriebti, krenta nuo strypo	1
Gali sugriebti, negali paeiti daugiau nei 2 žingsnius	2
Gali sugriebti, nueina pusę strypo ilgio	3
Gali sugriebti, nueina visą strypo ilgį	4

Nejudrumas sėdint prieš sieną:

Nejuda >5 min.	1
Nejuda 3-5 min.	2
Nejuda 1-3 min.	3
Nejuda 0,1min.	4

Priskirti ir daliniai balai, tokie kaip 2,5, jeigu elgsena patenka tarp dviejų kategorijų, pvz. tarp 2 ir 3.

12 lentelė

Žiurkių, paveiktų 100 mg/kg α -metil-p-tirozino (α -MpT) doze i.p. būdu, motorinio aktyvumo atstatymas

Žiurkės gavo tiriamuosius vaistus i.p. būdu nurodytomis dozėmis. Po 2 val. jos gavo α -MpT ir tuoju pat buvo patalpintos į aktyvumo narvus. Bendras motorinis aktyvumas buvo automatiškai registruojamas 10 val. kaip aprašyta tekste.

Dozė, mg/kg	R-PAI metansulfonatas			Raceminis PAI metansulfonatas		
	Balai $\pm$ sp	n	% nuo kontrolės	Balai $\pm$ sp	n	% nuo kontrolės
2	14132 $\pm$ 1457**	7	89	9035 $\pm$ 829	6	57
5	12893 $\pm$ 1869*	7	81	10926 $\pm$ 820*	8	69
7,5	6679 $\pm$ 414	4	42	9698 $\pm$ 557	4	61
Fiziolog. tirpalas	15862 $\pm$ 1424	5	100			
Tik α -Mpt	8108 $\pm$ 810***	6	51			

Statistinis reikšmingumas pagal Stjudento "t" testą: * $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ tiriamajam vaistui + α -Mpt, lyginant su vienu α -Mpt. Vienas α -Mpt lyginant su kontroliniu fiziologiniu tirpalu. (R)-PAI balai labai skiriasi nuo raceminio PAI balų, esant 2 mg/kg, $p \leq 0,01$, dozei.

33 pavyzdys

(R)-PAI metansulfonato poveikis po uždaro galvos sužeidimo žiurkėse

Metodikos

1. Traumos padarymas

Anestezuotiems eteriu žiurkių patinėliams buvo padaryta galvos trauma, panaudojant gerai sukalibruotą krentančio svorio įtaisą, kuriame svoris krenta ant užfiksuotos kaukolės, ir apima kairįjį smegenų pusrutulį (1-2 mm į šoną nuo vidurio linijos) tarpinėje koronarinėje plokštumoje.

2. Motorinės funkcijos įvertinimas

Praėjus vienai valandai po traumos padarymo, žiurkės buvo testuojamos pagal eilę kriterijų, kurie įvertina jų neurologinį stavį (šiuos

kriterijus aprašė Shohami, et al., *J. Neurotrauma*, **10**, 113 (1993)). Šie kriterijai, vadinami neurologinio pažeidimo aštrumo rodikliu (NSS), susideda iš eilės refleksų ir motorinių funkcijų. Taškai skiriami remiantis šių kriterijų trūkumu. Po 24 valandų žiurkių testavimas buvo pakartotas.

3. Smegenų edemos įvertinimas

Po antrojo motorinės funkcijos testavimo (po 24 val.) buvo išimtos smegenys. Audinio gabaliukas (~20 mg) buvo pasvertas, norint gauti šlapią svorį (WW). Išdžiovinus džioviniomo krosnyje 24 val. 95 °C temperatūroje, jis buvo vėl pasvertas ir gautas jo sausas svoris (DW). Vandens procentinis kiekis audinyje išskaičiuotas pagal formulę: $(WW-DW) \times 100 / WW$.

4. Apdorojimas vaistais

(R)-PAI metansulfonatas buvo ištirpintas vandenyje. Praėjus 0, 4, 8 ir 12 valandų po traumos padarymo, žiurkėms buvo suleista 0,1 mg/kg dozė i.p. būdu. Kontrolinėms žiurkėms tokiais pat laiko intervalais buvo suleistas vanduo.

Rezultatai

NSS, kurie matuoja žiurkių "klinikinį" stovį, buvo beveik vienodi paveiktose ir nepaveiktose grupėse, praėjus 1 valandai po galvos sužeidimo, bet jie buvo daug mažesni po 24 valandų (R)-PAI metansulfonatu paveiktose žiurkėse (13 lentelė). Šie rezultatai rodo, kad PAI metansulfonatas yra veiksmingas, pagerinant motorinės funkcijos atsistatymą po žiurkių uždaro galvos sužeidimo.

Praėjus 24 val. po traumos, didžiausia edema buvo rasta smegenų pusrutulyje (85,4 % vandens kontrolinėse žiurkėse, lyginant su 78,5 % nepažeistame smegenų audinyje). PAI metansulfonatas mažino edemą; tai patvirtina jo poveikis į vandens procentinį kiekį.

Apibendrinant čia pateiktus rezultatus, galima teigti, kad (R)-PAI metansulfonatas turi neuroapsauginių savybių modelyje, imituojančiame žmogaus nervinius pakenkimus ir uždara kaukolės traumą.

13 lentelė

	NSS		Δ NSS (1 val - 24 val.)	H ₂ O % smegenyse
	1 val.	24 val		
Kontrolė	15,6	12,3	4,3±0,5	85,4±0,4

(n=6) (R)-PAI metansulfonatas (n=6)	16,7	10,2	6,5±0,7*	82,1±0,6**
--	------	------	----------	------------

* P < 0,05 (Mann Whitney U-testas); ** P < 0,005 (t-testas).

34 pavyzdys

PAI metansulfonato poveikis apsaugojimui nuo smegenėlių ląstelių kultūrų NMDA sukulto ląstelių žuvimo

Bandymų *in vitro* rezultatai

Metodikos: Žiurkių naujagimių mechaniškai išskirstytų smegenėlių kultūros.

6 arba 7 dienų amžiaus žiurkių jauniklių smegenėlės buvo aseptiškai atskirtos ir sudėtos į 15 ml talpos sterilų plastikinį kūginį mėgintuvėlį, kuriame buvo praturtinta terpė (terpė buvo pagaminta iš Dulbeccoo modifikuotos Eagle terpės (DMEM) su didele gliukozės koncentracija (1 g/l), 2mM (tūris/tūris) L-glutamino, antibiotinio antimitozinio mišinio ir praturtinta 15 % (tūris/tūris) šiluma inanktyvuoto veršiuko fetalinio serumo). Po to smegenėlės buvo išskirstytos, 20-25 kartus praleidžiant per sterilią 13 kalibro 10 cm ilgio nerūdijančio plieno adatą, sujungtą su 5 ml švirkštu, kuriame buvo įdėtas 45 µm porų dydžio nailono sietelis. Mechaniškai išskirstytos ląstelės buvo centrifuguojamos 5 min., esant 200g, atmetamas nuopilas, o ląstelės vėl suspenduojamos praturtintoje terpėje. Ląstelių gyvybingumas nustatomas pagal tripano mėlio pašalinimo testą. Po to, 200/mm² tankiu ląstelės paskleidžiamos ant poli-L-lizinu padengtų paviršių (poli-L-lizinu padengti dengiamieji stiklai pagaminami bent vieną valandą prieš padengimą ląstelėmis, panardinant juos į 15 µg/ml poli-L-lizino turintį tirpalą steriliame distiliuotame vandenyje, ir prieš pat naudojimą šie stiklai perplaunami steriliu distiliuotu vandeniu ir išdžiovinami), uždengtų praturtinta terpe, ir inkubuojami 37 °C temperatūroje 5 % CO₂ ore ir 100 % drėgmės atmosferoje. Po 4 dienų kultivavimo, terpė pakeičiama terpe, kurioje yra norimų tiriamųjų junginių. Atliekami du lygiagretūs eksperimentai ir pakartojama 2 arba 3 kartus. Nustačius tiriamojo junginio toksinę dozę-atsaką, lyginamos keturios grupės: (I) kontrolinė (vien tik praturtinta terpė), (II) tiriamojo junginio (viena pogrūpė

kiekvienai koncentracijai (tirtos 2 koncentracijos)), (III) N-metil-D-aspartato (NMDA, palaikyta su 1 mM koncentracija 3 val.), kaip citotoksinio agento, (IV) tiriamojo junginio plius NMDA (viena pogrupė kiekvienai iš 2 tiriamojo junginio koncentracijų), (V) kontrolinė grupė tirpiklio (kuriame ištirpintas tiriamasis junginys) poveikio ištyrimui ir (VI) papildoma spermino (0,01 μM, ištirpintas kultūrinėje terpėje) plius NMDA "teigiamos kontrolės" grupė. Nervinių ląstelių išlikimas įvertinamas fazių kontrastine mikroskopija ir nusidažymu tripano mėliu po 24 val.

Rezultatai

Gera žinoma, kad glutamo rūgštis (Glu) pasižymi neurotoksinėmis savybėmis, kurios pasireiškia kai kuriuose neurologiniuose sutrikimuose, įskaitant epilepsiją ir insultą, ir labai panašu, kad jos pasireiškia taip pat ir smegenų neurodegeneracinėse ligose, tokiose kaip Parkinsono liga, Alchaimerio liga ir trauminis smegenų pažeidimas. Neurotoksinuose Glu poveikiuose tarpininkais yra sujungti su membranomis Glu receptoriai, tokie kaip N-metil-D-aspartato (NMDA) receptoriai.

Rezultatai, pateikti 14 lentelėje, rodo, kad 10 μM (R)-PAI metansulfonato 27 procentais padidina smegenėlių ląstelių išlikimą po poveikio 1 μM NMDA. Šie *in vitro* rezultatai patvirtina (R)-PAI metansulfonato poveikį *in vivo*, pateiktą 33 ir 35 pavyzdžiuose, rodantį, kad šis vaistas pasižymi neuroapsauginėmis savybėmis prieš neurotoksines NMDA koncentracijas.

14 lentelė

(R)-PAI metansulfonato neuroapsauginis poveikis nuo NMDA sukulto smegenėlių ląstelių žuvimo

Eksperimentinė grupė	Išlikusios ląstelės	Apsaugojimo procentai
<u>Smegenėlių kultūros</u>		
(Toksiškumas $TD_{25} = 30 \mu M$; $TD_{50} = 85 \mu M$; $TD_{100} = 320 \mu M$)		
Kontrolė	100	
Tirpiklis	97	
NMDA	10	
Tirpiklis + NMDA	10	0
Junginys + NMDA:		
1) 0,01 μM + "	12	2

2) 1,00 μM + "	22	12
3) 10,00 μM + "	37	27
Sperminas + NMDA	75	65

Reikšmės, išreikštos procentais nuo neapdorotos kontrolės, rodo 2 eksperimentų, atliktų dubliuotuose kultūros eksperimentuose, vidurkį ir 4 gyvuliukų su išemija vidurkio $\pm$ st.vid.p. reikšmę. Apsaugojimo procentų reikšmė yra tiriamojo junginio poveikis, atėmus tirpiklio poveikį.

35 pavyzdys

(R)-PAI metansulfonato poveikis po žiurkės optinio nervo dalinės traumos

Buvo nustatytas (R)-PAI metansulfonato neuroapsauginis poveikis jo pritaikymui tuoj pat po suaugusių žiurkių optinio nervo trauminio pažeidimo. Trumpalaikis poveikis buvo matuotas metaboliniu būdu, o ilgalaikis poveikis - elektrofiziologiniu būdu.

METODIKOS

1. Metabolizmo matavimai

a) *Bendroji dalis*. Šį metodą aprašė Yoles, et al., *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **33**, 3586-91 (1992). Trumpai tariant, metabolizmo matavimai buvo atliekami kontroliuojant mitochondrinio NADH/NAD santykį, kuris priklauso nuo elektronų transporto sistemos aktyvumo, ir tokiu būdu atspindi energijos pagaminimo kiekius. Nervo gebos produkuoti energiją pokyčiai, atsiradę dėl pažeidimo, buvo nustatomi, lyginant NADH kiekius kaip atsaką į dirbtinį trumpalaikį anoksinį insultą prieš ir po pažeidimo.

b) *Paviršiaus fluorometrija-reflektometrija*. Intramitochondrinio NADH redoks-būsenos kontrolė remiasi faktu, kad NADH, priešingai jo oksiduotai formai NAD^+ , apšvietus fluorescuoja ties 450 nm. Šviesos perdavimui į optinį nervą ir iš jo buvo panaudotas lankstus Y formos šviesolaidis iš optinio pluošto. Nervo išspinduliuojama šviesa matuojama imant du bangų ilgius: 366 nm (atspindėta šviesa) ir 450 nm (fluorescencijos šviesa). Atspindėtos šviesos pokyčiai buvo koreliuojami su audinių absorbcijos pokyčiais, kuriuos sukelia hemodinaminiai poveikiai, ir su optinio nervo judesiais, pasikeitus arteriniam

kraujo spaudimui ir nervo tūriui. Buvo rasta, kad fluorescencijos matavimus galima pritaikyti NADH redoks-būsenos matavimui, atimant atspindėtą šviesą (366 nm) iš fluorescencijos šviesos (1:1 santykiu) ir gaunant koreguotą fluorescencijos signalą.

c) *Gyvuliukų paruošimas.* Gyvuliukai buvo panaudoti pagal gyvuliukų naudojimo tyrimuose ARVO rezoliuciją. Sprague-Dawley (SPD) žiurkių patinėliai, sveriantys 300-400 g buvo anestezuojami natrio pentobarbitonu (50 mg/kg i.p.). Fiksuojant gyvuliuko galvą galvos laikikliu, po binokuliariniu operaciniu mikroskopu atliekama šoninė kantotomija ir išpjauinama konjunktyva šalia ragenos. Atskyrus retraktoriaus stormens raumenis, surandamas optinis nervas ir apnuoginama jo 3-3,5 mm ilgio dalis ties akies obuoliu, panaudojant bukąją disekciją. Kietasis dangalas paliekamas neliestas ir stengiamasi nepažeisti nervo. Apie optinį nervą implantuojamas specialus šviesolaidžio laikiklis taip, kad šviesolaidis atsidurtų ant optinio nervo paviršiaus 1 mm atstumu nuo pažeidimo vietos. Gyvuliukams, kurie vis dar yra anestezuoti, leidžiama atsigauti 30 min. nuo chirurginių procedūrų, ir tada jie paveikiami anoksinėmis sąlygomis. Anoksinė būseną sukurama, paliekant žiurkę kvėpuoti 100 % azoto atmosferoje 2 minutes, o po to ji grąžinama į oro atmosferą. Norint įvertinti optinio nervo metabolinį aktyvumą, matuojami atspindėtos ir fluorescencijos šviesos santykiniai pokyčiai, kaip atsakas į anoksiją, prieš ir po trauminio pažeidimo.

d) *Trauminio pažeidimo ir metabolizmo matavimų eksperimento metodika.* Kalibruotomis skerspjuvinėmis žnyplėmis sukeliamas nervo tarp akies ir šviesolaidžio laikiklio vidutinio dydžio trauminis pažeidimas, 30 sekundžių laikant slėgį, atitinkantį 120 g. Tuo pat po pažeidimo gyvuliukai gavo vandens su (R)-PAI (2 mg/kg) ir šio junginio i.p. injekcijas. Norint nustatyti energijos produkcijos sistemos aktyvumą, buvo matuojamas NADH atsakas į 2 minutes anoksijos prieš pažeidimą, praėjus 30 min. po pažeidimo ir po to valandos intervalais iki 4 val. (Žr. fig.19).

2. Elektrofiziologiniai matavimai

Šį metodą aprašė Assia, et al., *Brain Res.*, 476, 205-212 (1989). Gyvuliukų paruošimas ir optinio nervo pažeidimas atliekamas taip pat, kaip ir

metabolizmo tyrimuose. Tuoj pat po pažeidimo gyvuliukai gavo vienkartinę vandens arba vandens su (R)-PAI metansulfonatu (0,5 mg/kg) injekciją. Praėjus 14 dienų po pažeidimo ir gydymo, buvo išpjauti optiniai nervai ir matuoti elektrofiziologiniu būdu. Prieš išimant optinius nervus elektrofiziologiniams matavimams, žiurkės buvo giliai anestezuotos 70 mg/kg pentobarbitono. Nuo kaukolės buvo nulupta oda ir iš akių obuolių ištraukti optiniai nervai. Po to buvo visai nupjauta galva ir su kaulų žnyplėmis atidaryta kaukolė. Didžiosios smegenys buvo pastumtos į šoną, apnuoginant intrakranialinę optinio nervo dalį. Disekcija buvo nervo lygyje, kuris buvo perkeltas į indus su šviežiu druskų tirpalu, susidedančiu iš NaCl (126 mM), KCl (3 mM), NaH_2PO_4 (1,25 mM), NaHCO_3 (26 mM), MgSO_4 (2 mM), CaCl_2 (2 mM) ir D-gliukozės (10 mM), aerotu 95 % O_2 ir 5 % CO_2 kambario temperatūroje. Nervai buvo laikomi šiame tirpale, ir jų elektrinis aktyvumas išliko stabilus mažiausiai 3-4 valandas. Palaikius 0,5 val kambario temperatūroje, kad nervai atsigautų, buvo atlikti nervo, nutolusio nuo pažeidimo vietos, elektrofiziologiniai matavimai. Po to nervo galai buvo prijungti prie dviejų įsiurbiamų Ag-AgCl elektrodų, įmerktų į plovimo tirpalą 37 °C temperatūroje. Stimuliuojanti pulsuojanči srovė buvo prijungta per elektrodą artimesniame gale, ir periferiniu elektrodu matuojamas veiksmo potencialas. Stipriausiam elektriniam stimuliavimui (0,5 imp/sek) buvo naudojamas Grass SD9 stimulatorius. Matuojamas signalas buvo perduodamas į Medelec PA36 pirminį stiprintuvą, o po to į elektromiografą (Medelec MS7, AA7T stiprintuvas). Tirpalas, stimulatorius ir stiprintuvas turi bendrą įžeminimą. Buvo registruota aštuonių suvidurkintų junginio poveikio potencialų (CAP) maksimali amplitudė ir nufotografuota Polaroid kamera. Standartu buvo priimta CAP reikšmės, išmatuotos kontralateraliniuose nepažeistuose nervuose.

Rezultatai

Rezultatai rodo, kad (R)-PAI metansulfonatas, panaudotas tuoj pat po optinio nervo pažeidimo, blokuoja pažeidimo sukeltą energijos produkavimo

sumažėjimą. (R)-PAI metansulfonatas taip pat turi ilgalaikį poveikį, matuojamą elektrofiziologinės kontrolės būdu.

CAP (junginio poveikio potencialų) amplitudė yra tiesiogiai koreliuojama su laidžių pluoštų skaičiumi tiriamajame nervo segmente.

(R)-PAI metansulfonatas labai smarkiai susilpnina pažeidimo sukeltą aktyvumo paradigmą pažeisto nervo tolimesniame segmente, ir tai rodo, kad (R)-PAI metansulfonatas yra neuroapsaugantis agentas arba bent jau sulėtina degeneraciją.

15 lentelė

Elektrofiziologiniai matavimai

Grupė	CAP amplitudė (μV) (Vidurkis ± stand. paklaida)
Tirpiklis, N = 13	441 ± 95
(R)-PAI metansulfonatas, N = 7	2104 ± 313*

36 pavyzdys

R-PAI ir S-PAI druskų prieškonvulsinių savybių palyginimas

Ir (R)-PAI, ir (S)-PAI HCl druskos pasižymi dideliu prieškonvulsiniu aktyvumu. Bandyme su pelėmis (i.p. vartojimo būdas) maksimalaus elektrošoko teste (MES testas) (S)-PAI HCl turi didesnę prieškonvulsinį aktyvumą ($ED_{50} = 57$ mg/kg) nei (R)-PAI HCl ($ED_{50} = 79$ mg/kg). Analogiški rezultatai buvo pastebėti ir bandymuose su žiurkėmis (p.o. vartojimo būdas). Keturios iš keturių žiurkių buvo apsaugotos nuo apopleksijos smūgio MES teste, kai buvo panaudota 50 mg/kg (S)-PAI, tuo tarpu kai panaudojus tą pačią (R)-PAI HCl dozę, buvo apsaugotos trys iš keturių pelių. Veiksmingumo prieš Parkinsono ligą atžvilgiu, padidintas antikonvulsinis aktyvumas yra labai žalingas pašalinis efektas. Ta pati tendencija stebima ir su metansulfonatais. (S)-PAI metansulfonatas turi didesnę antikonvulsinį aktyvumą, nei (R)-PAI metansulfonatas MES teste. Panaudojus 100 mg/kg dozes, (S)-PAI metansulfonatas apsaugojo tris iš trijų pelių, o (R)-PAI metansulfonatas - tik vieną iš trijų.

MES testas yra klasikinis modelis nustatant vaisto veiksmingumą prieš dalinius arba generalizuotus apopleksijos smūgius žmonėms. Agentų veikimas pasireiškia per jų sugebėjimą sutrukdyti apopleksijos smūgių plitimą. Tačiau kai kurie agentai, kurie trukdo apopleksijos smūgių plitimą, turi pašalinį efektą; jie mažina apopleksijos smūgio slenkstį. Todėl šie agentai turi ir prokonvulsinius, ir prieškonvulsinius pašalinius poveikius.

Čia pateikti rezultatai rodo, kad (S)-PAI metansulfonatas turi prokonvulsinį aktyvumą. Laikiniame metrazolio intraveninės infuzijos teste 141 mg/kg (S)-PAI metansulfonato sumažino laiką, o tuo pačiu ir metrazolio, reikalingo sukelti tiek pirmojo židininio apopleksijos smūgio, tiek ir klonuso pradžią, kiekį. Kiti agentai, kurie paprastai yra vartojami prieš dalinius ir generalizuotus apopleksijos smūgius, tokie kaip fenitoinas ir karbamazepinas, tokio poveikio nerodo. (H.J. Kupferberg, *Epilepsia*, **30**, s51-s56 (1989)). Panašiai, (S)-PAI metansulfonatas rodo daug didesnę ūmų neurotoksiškumą nei (R)-PAI metansulfonatas. Esant 300 mg/kg dozei, (R)-PAI metansulfonatas nerodė jokio neurotoksiškumo bandyme su pelėmis sukamo strypo ataksijos teste. Naudojant (S)-PAI, keturioms iš keturių pelių stebėtas neurotoksiškumas ir spazmų atsiradimas.

Metodikos

TD₅₀ (vidurinė toksinė dozė). Šiame teste matuojamas neurologinis nepakankamumas, panaudojant sukamo strypo ataksijos testą. Pelė padedama ant gumbuoto strypo, sukamo 6 aps./min greičiu. Nustatoma, ar pelė gali išlaikyti pusiausvyrą ir išsilaikyti ant strypo vieną minutę kiekviename iš trijų bandymų.

Laikinis metrazolio intraveninės infuzijos testas. Šiame teste matuojamas minimalus apopleksijos smūgio slenkstis kiekvienam gyvuliukui. Metrazolis (0,185 mg/ml) leidžiamas į pelės uodegos veną. Registruojamas laikas (sek.) nuo infuzijos pradžios iki pirmosios konvulsijos (pirmojo židininio apopleksijos smūgio) pasirodymo ir klonuso (kloninio apopleksinio smūgio) pradžios. Prokonvulsiniams agentams reikia mažiau metrazolio šiems simptomams sukelti, ir todėl šie rezultatai gaunami po trumpesnio laiko.

37 pavyzdys**(R)-PAI ir (S)-PAI periferiniai efektai į žarnų lygiųjų raumenų preparatų susitraukiamumą**

PAI enantiomerų hidrochloridų periferiniai efektai buvo nustatyti, panaudojant izoliuotas triušių ir jūrų kiaulyčių plonąsias žarnas. Šie stebėjimai suteikia naudingą informaciją apie jų santykinius periferinius pašalinius efektus žmonėms. Pirmoji subjekto kontakto su peroraliniu būdu vartojamu vaistu vieta yra virškinimo traktas, kuriame vaisto koncentracijos yra daug didesnės nei po jo absorbcijos ir pasiskirstymo. PAI hidrochlorido (mol. masė = 208) atveju, 10 mg peroralinė dozė, esanti maždaug 100 ml skysčio tūryje, būtų ekvivalentiška maždaug 1,5 mM koncentracijai. Priešingai, (R)-PAI hidrochlorido koncentracija plazmoje yra nanomolių eilės.

Buvo nustatytas PAI enantiomerų poveikis į izoliuotą triušio tuščiąją žarną ir jūrų kiaulytės klubinę žarną, norint išsiaiškinti, ar (S)-PAI panaudojimas kartu su (R)-PAI (kaip kad yra raceminiame mišinyje) sukels pašalinius efektus, kurių nėra vartojant gryną (R)-PAI. (R)-PAI yra labiau tinkamas MAO-B inhibavimui smegenyse dėl jo veiksmingumo ir didelio selektyvumo šiai fermento formai. Šiuo požiūriu (S)-PAI yra daug mažiau veiksmingas nei (R)-PAI, ir jis yra neselektyvus MAO-B. Iš principo jo buvimas PAI racemate galėtų būti toleruojamas arba nekreipiamas į jį dėmesio, jeigu (S)-PAI būtų inertinis, esant rekomenduojamoms (R)-PAI dozėms. Rezultatai, pateikti 16-19 lentelėse rodo, kad (S)-PAI nėra inertinė medžiaga. Priešingai, jūrų kiaulyčių klubinės žarnos tyrimuose, jis yra veiksmingesnis relaksantas už (R)-PAI. Taigi jo periferinių efektų negalima laikyti nežymiais. Šie duomenys rodo, kad turėtų būti mažiau periferinių pašalinių efektų vartojant gryną (R)-PAI, nei raceminį mišinį, turintį ekvivalentinę (R)-PAI dozę.

16 lentelė

Tiramino veiksmingumo skatinimas atskirais PAI HCl enantiomerais triušio tuščiosios žarnos preparate

Ištempta triušio tuščiosioji žarna, įtaisyta organų vonelėje, duoda ritminius susitraukimus, kuriuos inhibuoja norepinefrinas, bet neinhibuoja tiraminas. Tačiau, jeigu tuščioji žarna buvo prieš tai apdorota monoamino oksidazės inhibitoriumi, tokiu kaip PAI, tada tiraminas sukelia spontaninių susitraukimų susilpnėjimą. Šis susilpnėjimo laipsnis gali būti koreliuojamas su santykinio inhibitoriaus veiksmingumu.

Vaistas ir jo koncentracija (μM)	Susilpnėjimo procentai
Tik tiraminas 40	0
Norepinefrinas 0.002	100
Tik (R)-PAI 0,2-4,0	0
Tik (S)-PAI 0,2-4,0	0
Tiraminas 40	
po (R)-PAI 0,2	67
2	88
40	85-90
po (S)-PAI 0,2	0
2	35
40	35-50

Rezultatai

Kaip smegenų MAO-B inhibitorius (S)-PAI yra daug mažiau veiksmingas nei (R)-PAI. Todėl (S)-PAI nėra tinkamas agentas apsaugoti nuo smegenų dopamino degradacijos, bet jis gali skatinti tiramino sukeltą norepinefrino atpalaidavimą plonosiose žarnose. Jo aktyvumas plonosiose žarnose yra nepageidautinas pašalinis poveikis, nes galima laukti, kad jis didins nesuskilusio tiramino absorbciją ir poveikį. Taigi, (S)-PAI nėra inertinė medžiaga, kai jis vartojamas kartu su (R)-PAI, kaip yra raceminiame PAI.

17 lentelė

Priešinimasis jūrų kiaulytės klubinės žarnos preparatų betanecholio sukeltiems susitraukimams, esant 400 μM atskirų PAI HCl enantiomerų

Ištempta jūrų kiaulytės klubinė žarna, įtaisyta organų vonioje fiziologiniame tirpale, susitraukinėja priklausomai nuo dozės, kai ji paveikiama betanecholiu, kuris yra fermentiškai stabilus gamtinio virškinimo

trakto neuropernešimo agento acetilcholino analogas. Šie susitraukimai susilpnėja esant PAI. Duomenys yra išreikšti įtempimu gramais.

Betanecholis (μM)	Įtempimas gramais			
	kontrolė	(R)-PAI	kontrolė	(S)-PAI
0,8	0,5	0,2	0,6	0
2	1,5	0,3	2,2	0
4	2,2	0,7	3,0	0
8	4,0	1,0	3,8	0,6
20	5,6	2,0	3,8	1,2
40	6,2	2,8	3,8	1,7
80	6,2	3,1	3,8	2,6
200	6,2	4,3	3,8	2,6

Kaip MAO-B inhibitorius (S)-PAI yra beveik neaktyvus, lyginant su (R)-PAI ir todėl jis nėra efektyvus apsaugant nuo smegenų dopamino degradacijos. Tačiau jis yra efektyvesnis už (R)-PAI, apsaugant nuo betanecholio sukeltų susitraukimų plonosiose žarnos. Taigi, (S)-PAI nėra inertinė medžiaga, kai jis vartojamas kartu su (R)-PAI, kaip yra raceminiame PAI.

18 lentelė

Priešinimasis jūrų kiaulytės klubinės žarnos preparatų histamino sukeltiems susitraukimams, panaudojus atskirus PAI HCl enantiomerus

Fiksuota histamino dozė (40 nM) sukelia nepertraukiamą jūrų kiaulytės klubinės ištemptos žarnos, įtaisytos organų vonioje fiziologiniame tirpale, susitraukimą. Pridedant atskiro PAI HCl enantiomero inkrementines dozes, sukeliamas priklausantis nuo dozės raumens atpalaidavimas. Rezultatai yra išreikšti atpalaidavimo procentais bazinės linijos prieš histamino (jo atpalaidavimas priimamas 100 %) pridėjimą atžvilgiu.

PAI koncentracija (μM)	Atpalaidavimo procentai	
	(R)-PAI	(S)-PAI
2	0	11
4	0	15
10	0	30
20		20
30	31	33
40	37	36
100	81	71
200		90
300	92	

400	100	98
700	100	
1000		100

Rezultatai

(S)-PAI, lyginant su (R)-PAI, yra neaktyvus kaip MAO-B inhibitorius smegenyse, ir todėl jis yra netinkamas apsaugoti nuo smegenų dopamino degradavimo, bet jis yra aktyvesnis už (R)-izomerą sukeliant žarnų lygiųjų raumenų atpalaidavimą. Taigi, (S)-PAI nėra inertinė medžiaga, kai jis imamas kartu su (R)-izomeru, kaip yra raceminiame PAI.

19 lentelė

Priešinimasis jūrų kiaulytės klubinės žarnos preparatų betanecholio sukeltiems susitraukimams, panaudojus atskirus PAI HCl enantiomerus

Fiksuota betanecholio dozė (0,8 μ M) sukelia nepertraukiamą jūrų kiaulytės ištemptos klubinės žarnos, įtaisytos organų vonioje fiziologiniame tirpale, susitraukimą. Pridedant atskiro PAI HCl enantiomero inkrementines dozes, sukeliamas priklausantis nuo dozės preparato raumens atpalaidavimas. Rezultatai yra išreikšti atpalaidavimo procentais bazinės linijos prieš histamino (jo atpalaidavimas priimamas 100 %) pridėjimą atžvilgiu.

PAI koncentracija (μ M)	Atpalaidavimo procentai	
	(R)-PAI	(S)-PAI
20	25	40-50
60	25-50	60-70
100	50-70	100
300	100	100

Rezultatai

(S)-PAI, lyginant su (R)-PAI, yra neaktyvus kaip MAO-B inhibitorius smegenyse, ir todėl jis yra netinkamas apsaugoti nuo smegenų dopamino degradavimo, bet jis yra aktyvesnis už (R)-izomerą sukeliant žarnų lygiųjų raumenų atpalaidavimą. Taigi, (S)-PAI nėra inertinė medžiaga, kai jis imamas kartu su (R)-izomeru, kaip yra raceminiame PAI.

38 pavyzdys

Kai kurie (R)-PAI metansulfonato efektai, stebimi žiurkių vidurinės smegenų arterijos okliuzijos, kaip insulto modelio, bandyme

1. Metodikos

1.1 Žiurkių vidurinės smegenų arterijos okliuzija (MCAO)

Buvo panaudota modifikuota Tamura et al. (1981) aprašyta metodika. Wistar žiurkių patinėliai, sveriantys po 300-400 g, buvo anestezuojami ekvitezino tirpalu, i.p. būdu suleidžiant 3 ml/kg dozę. Ekvitezinas susideda iš 13,5 ml natrio pentotalio tirpalo (60 mg/ml), 3,5 g chloralio hidrato, 1,75 g MgSO₄, 33 ml propilenglikolio, 8,3 ml absoliutaus alkoholio, praskiesto iki 83 ml distiliuotu vandeniu. Chirurginė operacija atlikta, panaudojant didelį padidinimą turintį operacinį mikroskopą (SMZ-2B modelis, 102 tipas, Nikon, Japonija). Norint apnuoginti kairiąją vidurinę smegenų arteriją, buvo padarytas pjūvis smilkinio raumenyje. Taip pat buvo nupjautas apatinio žandikaulio vainikinės ataugos galiukas ir pašalintas plonomis kaulų žnyplėmis. Kraniotomija buvo atlikta dantų gražtu prie sujungimo tarp vidurinės sienelės ir posmilkininės duobutės viršutinės sienelės. Kietasis smegenų dangalas buvo kruopščiai atidarytas, panaudojant 27 dydžio adatą. MCA buvo pastoviai užkimšta mikrobipolinės elektrokoaguliacijos būdu, esant mažam galingumui, pradedant nuo 2-3 mm į vidurį prie uoslės trakto tarp jos kortikalinės šakos į rinalinę žievę ir šoninės dryžuotojo kūno arterijos.

Po koaguliacijos, MCA buvo perkirpta mikrožirkklėmis ir padalinta, norint užtikrinti pilną okliuziją. Po to, smilkinio raumuo buvo susiūtas ir uždėtas ant kraniotomijos vietos. Oda buvo susiūta nepertraukiama 3-0 šilko siūle. Kitai žiurkių grupei buvo atlikta apgaulinga kraniotomijos operacija, tik be MCA kauterizacijos. Visos chirurginės operacijos metu (20-25 min) abiejose grupėse buvo palaikoma 37-38 °C kūno temperatūra, panaudojant kūno temperatūros reguliatorių (Kyoritsu, Japonija), susidedantį iš besireguliuojančio šildomojo minkšto padėklo, sujungto su rektaliniu termistoriumi. Praėjus 24 val. po operacijos, buvo nustatytas neurologinis rodiklis, norint nustatyti pažeidimo stiprumą vaistais paveiktose žiurkėse,

lyginant su nepaveiktomis kontrolinėmis žiurkėmis. Po 48 val. gyvuliukai buvo anestezuoti ekvitezinu ir buvo nustatytas pažeidimo stiprumas pagal MRI metodiką. Buvo įvertintas smegenų audinio negrįžtamo pažeidimo po išemijos tūris.

1.2. Vaistų įvedimas

[R](+)-PAI metansulfonatas buvo įvedamas i.p. injekcijos būdu 0,3-0,4 ml distiliuoto vandens pagal tokį grafiką:

1 mg/kg tuoj pat po operacijos,

0,5 mg/kg praėjus 2 val. po operacijos,

1 mg/kg praėjus 20-24 val. po operacijos.

1.3. Išeminių smegenų žaizdų MRI vaizdo išklotinė

Visi eksperimentai buvo atlikti panaudojant 4.7T BIOSPEC sistemą (BRUKER) (Žr. T. Back, et al., "Diffusion Nuclear Magnetic Resonance Imaging in Experimental Stroke: Correlation with Cerebral Metabolites," *Stroke* (February 1994) 25:494-500). Praėjus 48 valandoms po MCAO arba apgaulingos operacijos, kiekvienam gyvuliukui buvo atliekamas greitas daugiasluoksnis T1 įvertintas vizualizavimas (TR/TE) (500/25) padėties nustatymui. Tada buvo renkami daugiasluoksnių T2 įvertintų atvaizdų matavimai (3000/80) (5 gretimi sluoksniai, 3 mm storio).

Infarkto apimto ploto dydis ir jo aštrumas buvo įvertintas, panaudojant hiperintensyvumą, stebimą T2 įvertintame MRI, praėjus 48 valandoms po okliuzijos arba po apgaulingos operacijos. Kiekvienai žiurkių grupei nustatyti tokie parametrai:

c. Išemijos plotas (mm^2),

d. Išemijos pusrutulio plotas (mm^2),

e. Nepaveikto pusrutulio plotas (mm^2).

Gretimų sluoksnių panaudojimas leidžia ploto vienetus paversti į tūrio vienetus, paprasčiausiai padauginant ploto reikšmę iš sluoksnio storio.

1.4. Neurologinis rodiklis

Neurologinis rodiklis susideda iš bendros sumos duotos žiurkės būdingų lokomotorinių veiksmų atlikimo įvertinimų. Skalė prasideda nuo 0 (pilnai normalios žiurkės) ir tęsiasi iki 13 (nieko negalinčios žiurkės). Dauguma parametrų įvertinami arba 0 (normalios) arba 1 (negalinčios); kiti parametrai yra laipsniuoti. Šiame darbe buvo naudoti tokie testai:

Bendrojo stebėjimo testai: hipoaktyvumas, sedacija, piloerektija.

Motorinis refleksas. Žiurkės buvo pakeltos už uodegos maždaug 15 cm nuo grindų. Normalios žiurkės priima pozą, kurioje jos tiesia abi priekines galūnes į grindis, o užpakalines galūnes ištiesia į šonus panašiai kaip trapecijoje. MCAO, jeigu atvejis sunkus, sukelia pastovų priešingoje pusėje esančios galūnės sulenkimą.

Motoriniai sugebėjimai. Jie vertinami kaip sugebėjimas sugriebti 1 cm skersmens strypą priešingoje pusėje esančia galūne per 5-15 sek., kai žiurkė pakabinta ant strypo už pažasties.

Motorinė koordinacija. Normalios žiurkės gali vaikščioti aukštyn ir žemyn 5 cm pločio vidutiniško nuožulnumo rąstu. Nesugebėjimas vaikščioti tokiu rąstu abiem kryptimis parodo tam tikrą motorinės koordinacijos sutrikimą, pusiausvyros trūkumą ir galūnių silpnumą.

Eisena. Sugebėjimas išlaikyti normalią padėtį bet kurios priešingos galūnės, jeigu ji tyčia perstatoma į kitą vietą esant ant siauro strypo.

Pusiausvyra. Sugebėjimas pagriebti ir išlaikyti pusiausvyrą ant siauro 2 cm pločio strypo.

Lokomotorinis aktyvumas. Bendras judėjimas 15 min. laikotarpyje automatizuotame aktyvumo narve.

Įvertinimai, priskirti kiekvienam iš aukščiau aprašytų parametrų, duoti 20 lentelėje.

20 lentelė

Neurologiniai rodikliai, priskirti kiekvienam iš 10 pozos ir judėjimo parametrų

Parametras	Rodiklis
a. Aktyvumas gyvenamajame narve	normalus = 0 hipoaktyvumas = 1
b. Sedacija	nėra = 0 pastebima = 1
c. Piloerektija	nėra = 0

	pastebima = 1
d. Priešingoje pusėje esančios priekinės galūnės ištiesimas į grindis, kai žiurkė yra pakelta už uodegos	geras = 0 sulenkta galūnė = 1
e. Priešingoje pusėje esančių galūnių ištiesimas į šonus, kai žiurkė yra pakelta už uodegos (trapecijos padėtis)	geras = 0 sulenkta galūnė = 1
f. Strypo sugriebimas priešingoje pusėje esančia galūne per 5-15 sek., kai žiurkė pakabinta už pažasties	geras = 0 blogas = 1
g. Ėjimas per 5 cm pločio rąstą	geras = 0 blogas = 1
h. Priešingoje pusėje esančios galūnės ir/arba priekinės galūnės gražinimas į pradinę padėtį, kai jos padėtis buvo tyčia pakeista	geras = 0 blogas = 1 (viena galūnė) 2 (dvi galūnės)
i. Sugriebimas ir pusiausvyros išlaikymas ant 2 cm pločio strypo	geras = 0 blogas = 1
j. Motorinis aktyvumas kontrolės atžvilgiu (per 15 min automatizuotame aktyvumo narve)	≤ 25 % nuo kontrolės 3 26-50 % nuo kontrolės 2 51-75 % nuo kontrolės 1 76-100 % nuo kontrolės 0

2. Rezultatai

2.1. Infarkto dydis

MRI tyrimo rezultatai susumuoti 21 lentelėje ir fig.20. Infarkto dydis buvo daug mažesnis [R](+)PAI metansulfonatu paveiktose žiurkėse (n = 9) nei nepaveiktose žiurkėse (n = 10). Pirmu atveju infarkto dydis buvo maždaug 60 % neapdorotų gyvuliukų infarkto dydžio.

21 lentelė

Wistar žiurkių išeminės smegenų žaizdos, įvertintos pagal MRI T2-SCAN, praėjus 48 val. po MCA okliuzijos ir apdorojimo [R](+)PAI metansulfonatu

MCA-Q		MCA-O + [R](+)PAI metansulfonatas*	
Gyvuliuko Nr.	Infarkto dydis (mm ³)	Gyvuliuko Nr.	Infarkto dydis (mm ³)
1	252	1	94,4
2	272	2	139
3	314	3	240
4	273	4	137
5	201	5	137
6	221	6	174
7	358	7	164
8	265	8	171
9	341	9	215

10 Vidurkis±st. nukrypimas	236 273,3±50,9	Vidurkis±st. nukrypimas	163,5±43,9
----------------------------------	-------------------	----------------------------	------------

$$t = 5,0475$$

$$f = 17$$

$$p < 0,001$$

[R](+)PAI metansulfonatas sumažina infarkto dydį 40 %.

* [R](+)PAI metansulfonato vartojimas:

Laikas po MCA okliuzijos:

0 - 1,0 mg/kg i.p.;

2 val. - 0,5 mg/kg i.p.;

24 val. - 1,0 mg/kg i.p.

2.2. Neurologinis rodiklis

Nepriklausomas stebėtojas nustatė penkių [R](+)PAI metansulfonatu apdorotų žiurkių ir šešių neapdorotų žiurkių neurologinį rodiklį. Rezultatai duoti 22 lentelėje, kurioje jie yra palyginti su kiekvieno gyvuliuko infarkto dydžiu, nustatytu MRI testu, ir taip pat parodyti fig.21. Galima pastebėti, kad gyvuliukai, kurie turi mažiausią neurologinį rodiklį, yra tie, kurie buvo paveikti [R](+)PAI metansulfonatu. Neurologinis rodiklis buvo sumažintas 54 %, o infarkto dydis 36 % [R](+)PAI metansulfonatu apdorotose MCAO žiurkėse, lyginant su neapdorotomis žiurkėmis.

22 lentelė

Žiurkių, kurioms buvo padaryta MCA okliuzija ir kurios buvo paveiktos [R](+)PAI metansulfonatu, neurologinis rodiklis ir jų išeminio infarkto dydis

MCAO			MCA-O + [R](+)PAI metansulfonatas***		
Gyvuliuko Nr.	Neurologinis* rodiklis	Infarkto dydis** (mm ³)	Gyvuliuko Nr.	Neurologinis* rodiklis	Infarkto dydis** (mm ³)
1	5,0	201	1	1,0	137
2	5,0	221	2	2,0	174
3	6,0	358	3	4,0	164
4	6,0	265	4	4,0	171
5	8,25	341	5	2,88	215
6	5,75	236			
Vidurkis±st. nukryp.	6,0±1,19	270±65	Vidurkis±st. nukryp.	2,78±1,3	172±28

Neurologinis rodiklis

$t = 4,25$

$f = 9$

$p < 0,01$

Infarkto dydis

$t = 3,34$

$f = 9$

$p < 0,01$

[R](+)PAI metansulfonatas sumažina neurologinį rodiklį 53,7 %, o infarkto dydį 36,3 %.

* Tirta praėjus 24 val. po MCA okliuzijos.

** Įvertinta pagal MRI T2 SCAN, praėjus 48 val. po MCA okliuzijos.

*** [R](+)PAI metansulfonato vartojimas:

Laikas po MCA okliuzijos:

0 - 1,0 mg/kg i.p.;

2 val. - 0,5 mg/kg i.p.;

24 val. - 1,0 mg/kg i.p.

Literatūra 38 pavyzdžiui:

Cechetto DF, Wilson JX, Smith KE, Wolski D, Silver MD, Hachinski VC (1989). Autonomic and myocardial changes in middle cerebral artery occlusion: stroke models in the rat. *Brain Res.*, 502:296-305.

Kolb B, Sutherland RJ, Whishaw IQ (1983). A comparison of the contributions of the frontal and parietal association cortex to spacial localizations in the rat. *Behav. Neurosci.* 97:13-27.

Menzies SA, Hoff JT, Betz AL (1992). Middle cerebral artery occlusion in rats: A neurological and pathological evaluation of a reproducible model. *Neurosurgery* 31:100-106.

Sauer D, Allegrini PR, Cosenti A, Pataki A, Amaceker H, Fagg GE (1993). Characterization of the cerebroprotective efficacy of the competitive NMDA receptor antagonist CGP40116 in a rat model of focal cerebral ischemia: An *in vivo* magnetic resonance imaging study. *J. Cerebr. Blood Flow and Metabol.* 13:595-602.

Stepanovich C, Editor, *Stroke: Animal Models*, Pergamon Press, 1983.

Tamura A, Graham DI, McCulloch J, Teasdale GH (1981). Focal cerebral ischemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following MCA occlusion. *J. Cerebr. Blood Flow and Metab.* 1:53-60.

Teasdale G, Tyson G, Tamura A, Graham DI, McCulloch J. Focal cerebral ischemia in the rat: Neuropathology, local cerebral blood flow and cerebrovascular permeability. In *Stroke: Animal Models*, Stepanovich C, Editor, Pergamon Press, 1983, pp. 83-97.

Yamamoto M, Tamura A, Kirino T, Shimitzu M, Sano K (1988). Behavioral changes after focal cerebral ischemia by left middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Res*, 452:323-328.

Yamori et al. (1976). Pathogenic similarity of strokes in stroke prone spontaneously hypertensive rats and humans. *Stroke* 7:46-53.

Young W, DeCrescito V, Flamm ES, Hadani M, Rappaport H, Cornu P (1986). Tissue Na, K, and Ca changes in regional cerebral ischemia: Their measurement and interpretation. *Central Nervous System Trauma*, 3:215-234.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos panaudojimas farmacinės kompozicijos, skirtos subjekto smegenų išemijos, insulto, galvos trauminio pažeidimo, nugaros smegenų trauminio pažeidimo, neurotraumos, neurodegeneracinės ligos arba neurotoksinio pažeidimo gydymui arba nervų pakenkimų profilaktikai, gamyboje.

2. Panaudojimas pagal 1 punktą, *b e s i s k i r i a n t i s* tuo, kad gydant smegenų išemiją arba insultą, smegenų išemijos plotas yra sumažinamas maždaug 35 procentais.

3. Panaudojimas pagal 1 punktą, *b e s i s k i r i a n t i s* tuo, kad nervo pakenkimas yra struktūrinis nervo pakenkimas arba optinio nervo pakenkimas.

4. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-3 punktų, *b e s i s k i r i a n t i s* tuo, kad R(+)-N-propargil-1-aminoindano farmaciškai tinkamą druską pasirenka iš grupės, kurią sudaro: metansulfonato, sulfato ir hidrochlorido druskos.

5. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-4 punktų, *b e s i s k i r i a n t i s* tuo, kad subjektui skiriamas R(+)-N-propargil-1-aminoindano arba jo farmaciškai tinkamos druskos efektyvus kiekis yra nuo 0,5 iki 2,5 miligramų kilogramui subjekto kūno masės.

6. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-5 punktų, *b e s i s k i r i a n t i s* tuo, kad R(+)-N-propargil-1-aminoindaną arba jo farmaciškai tinkamą druską vartoja intraveniniu, peroraliniu, rektaliniu, transderminiu arba parenteriniu būdu.

7. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-4 punktų, *b e s i s k i r i a n t i s* tuo, kad subjektas yra žmogus, o efektyvus kiekis yra nuo 0,01 iki 50,0 mg per dieną.

8. Panaudojimas pagal 7 punktą, *b e s i s k i r i a n t i s* tuo, kad efektyvus kiekis yra nuo 0,1 iki 10,0 mg per dieną.

9. Panaudojimas pagal 7 arba 8 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad R(+)-N-propargil-1-aminoindaną arba jo farmaciškai tinkamą druską vartoja intraveniniu būdu.

Fig.1

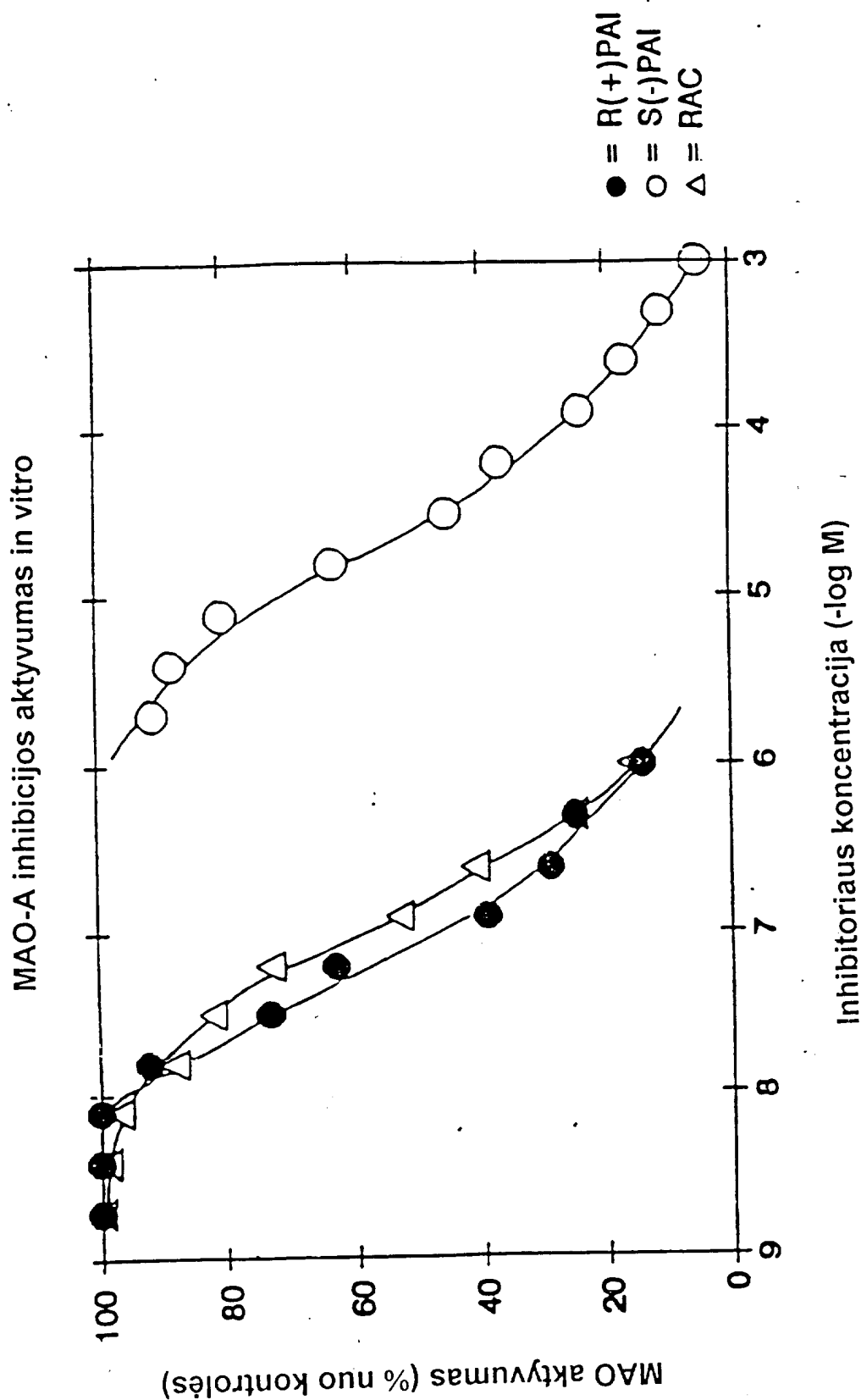


Fig.2

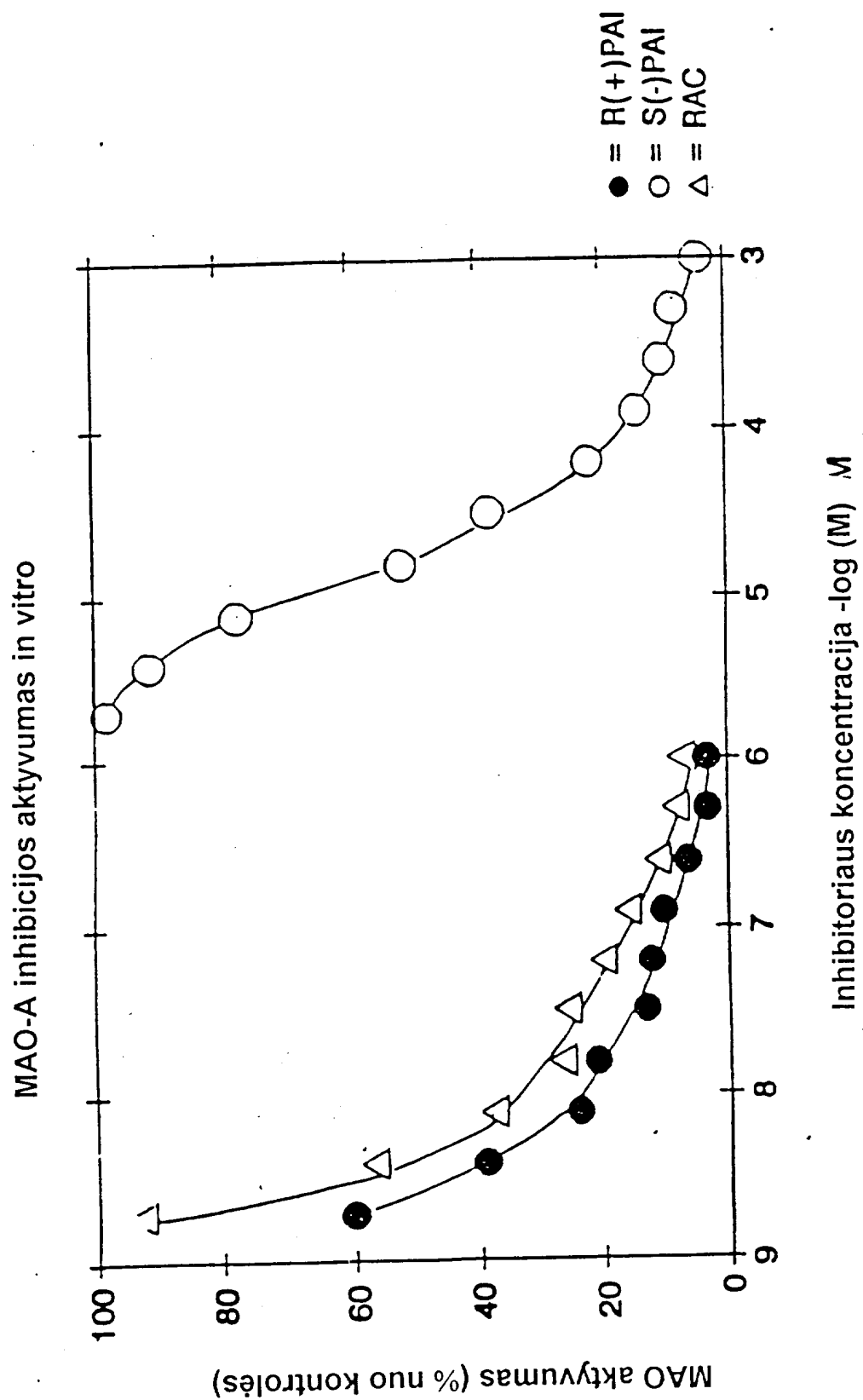


Fig.3A

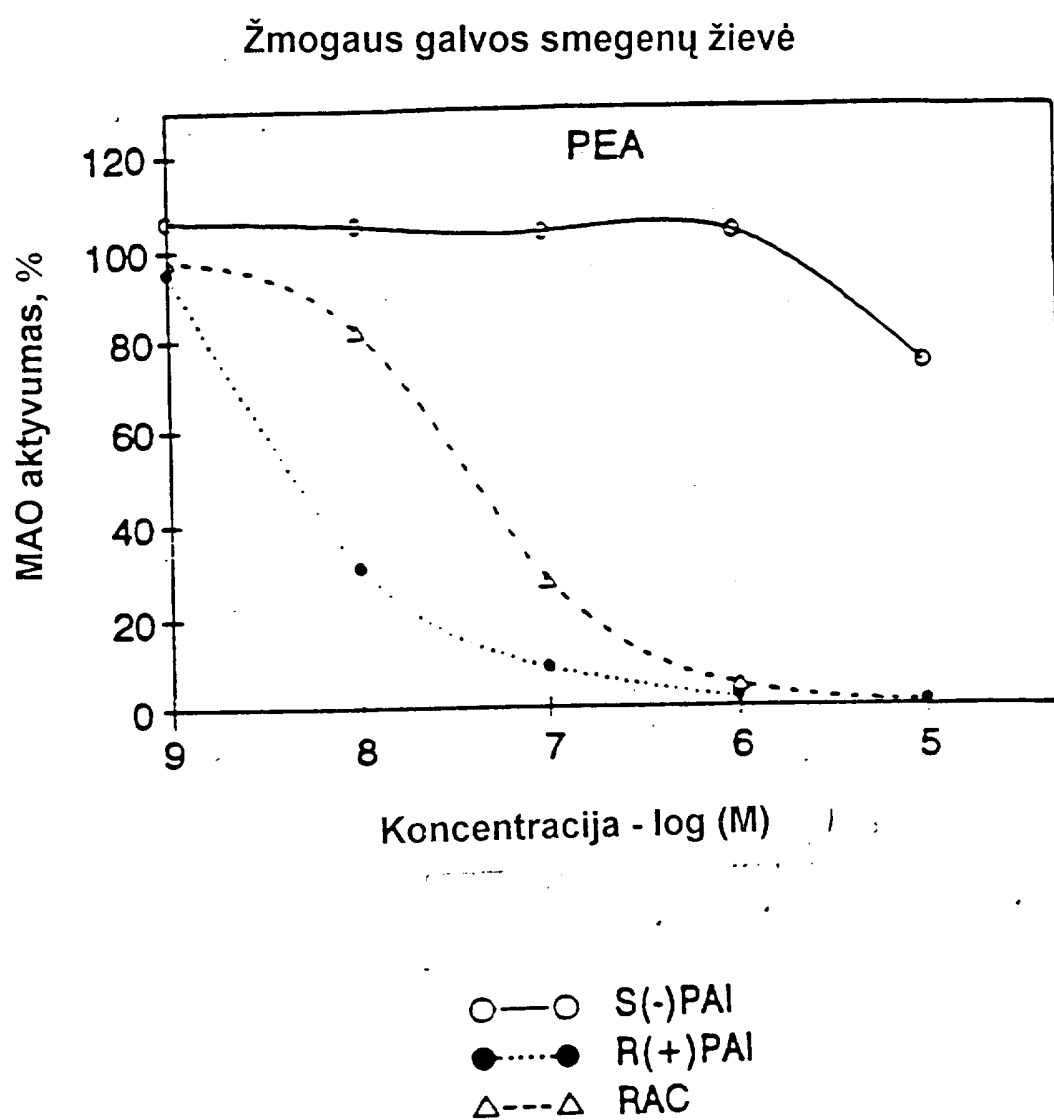


Fig.3B

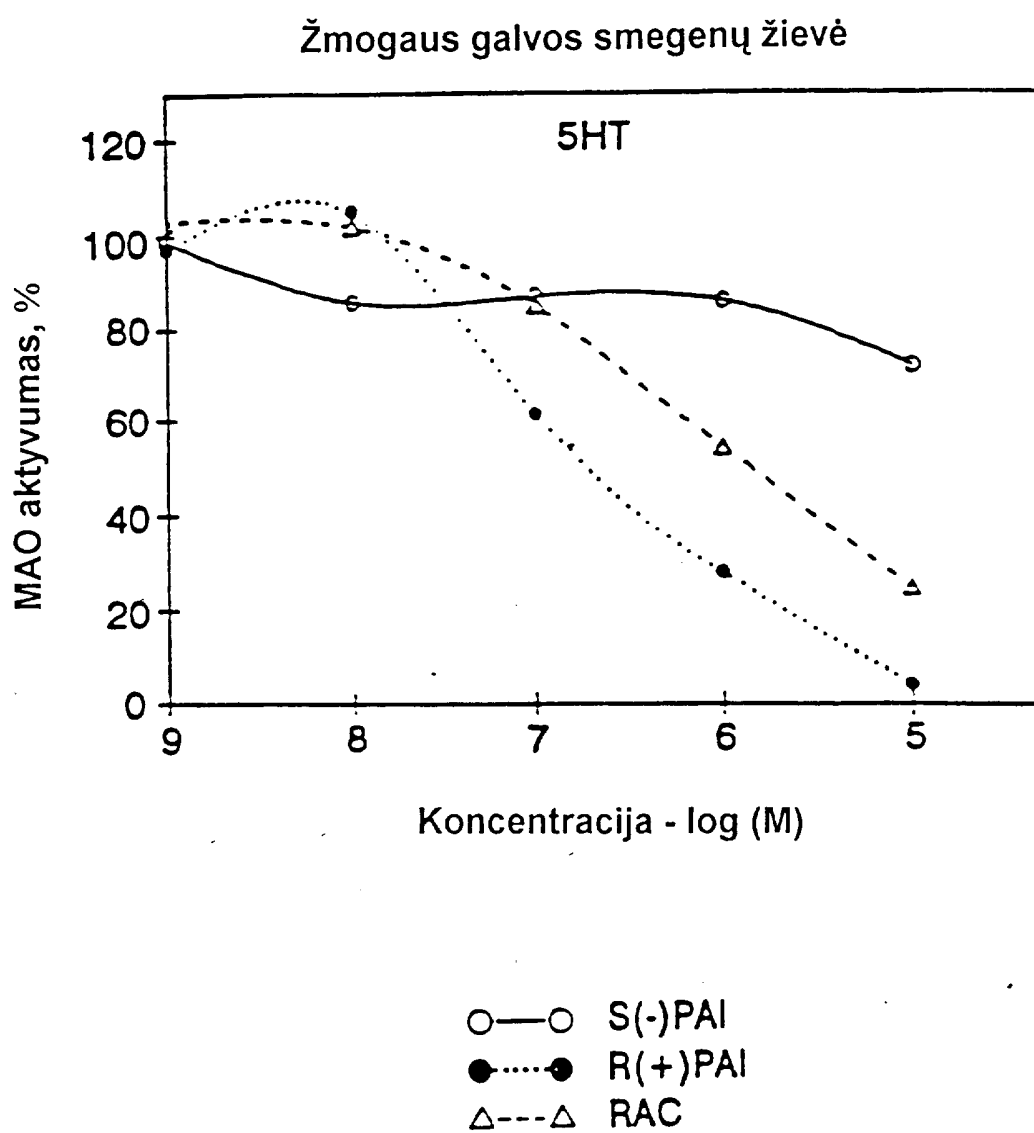


Fig.4

Ūmi MAO-A inhibicija in vivo; ip/smegens

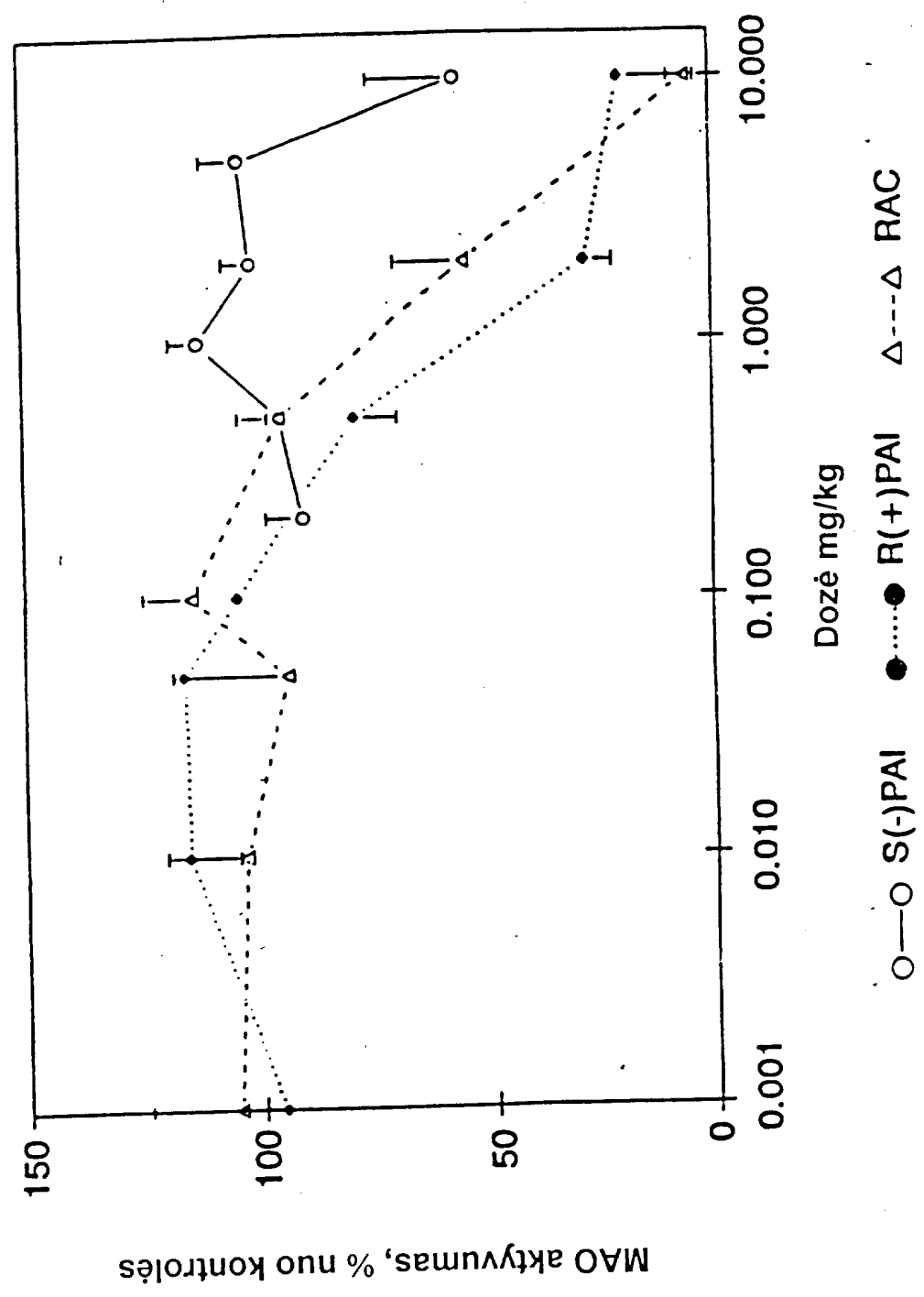


Fig.5

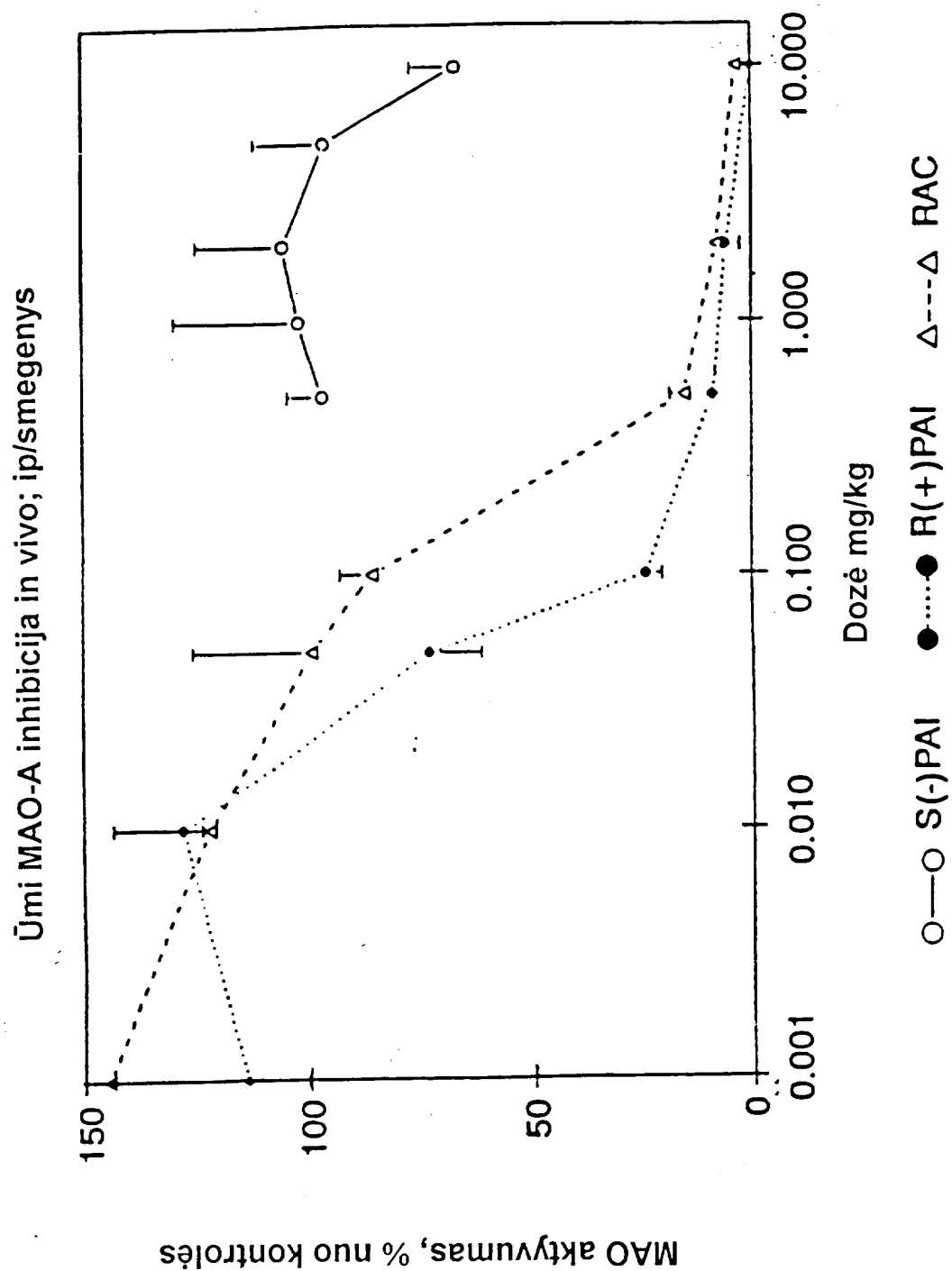


Fig.6

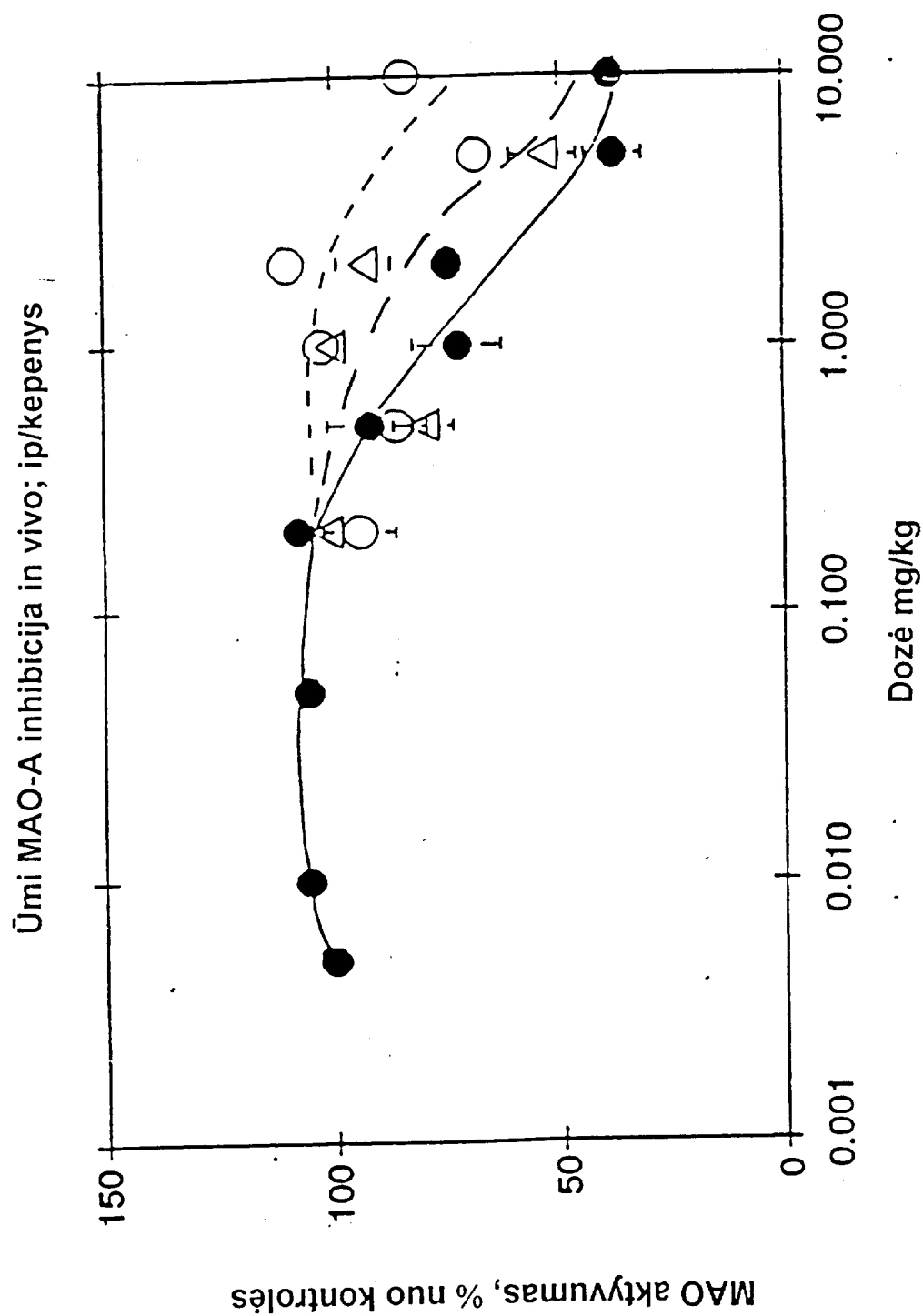


Fig.7

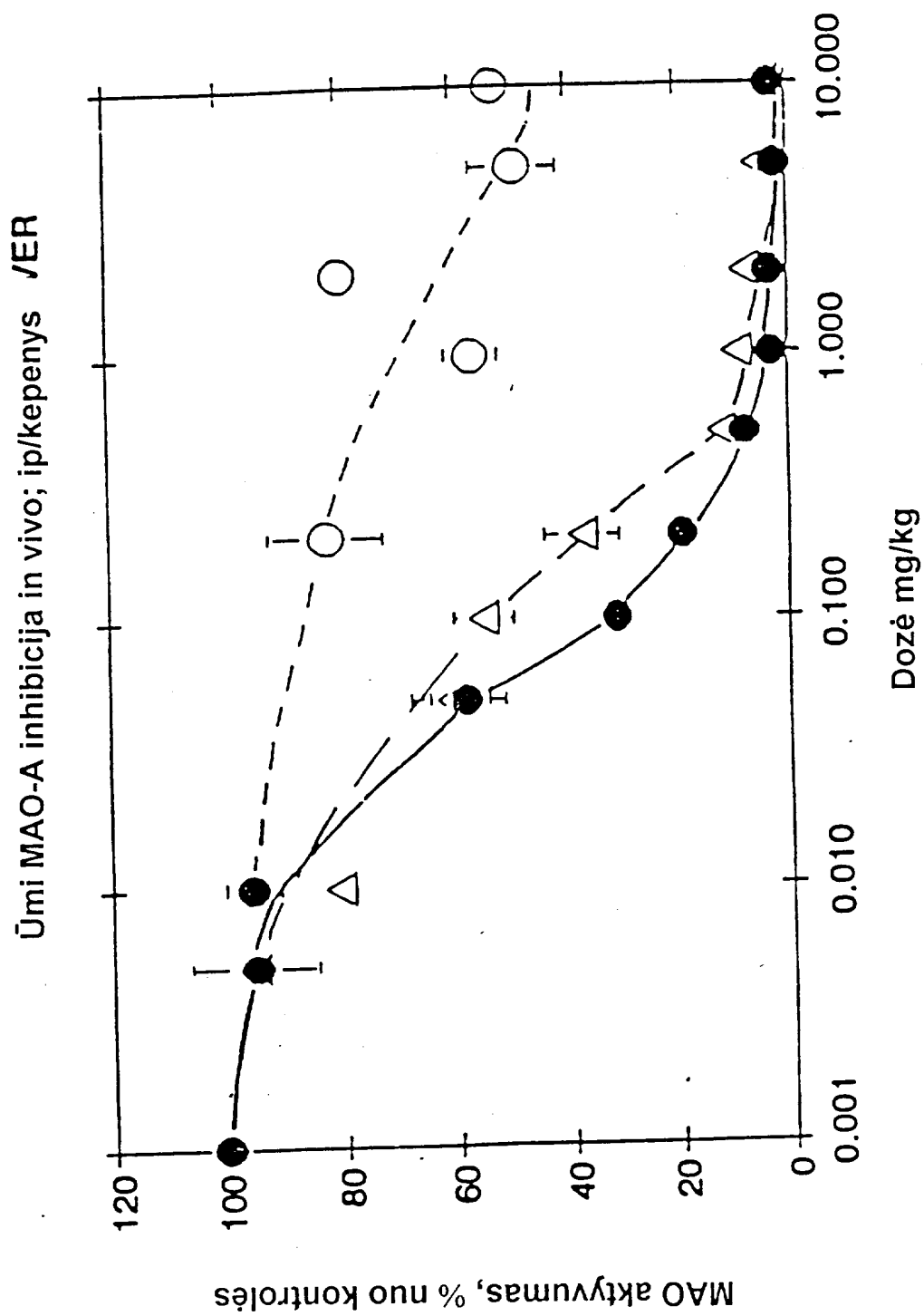


Fig.8

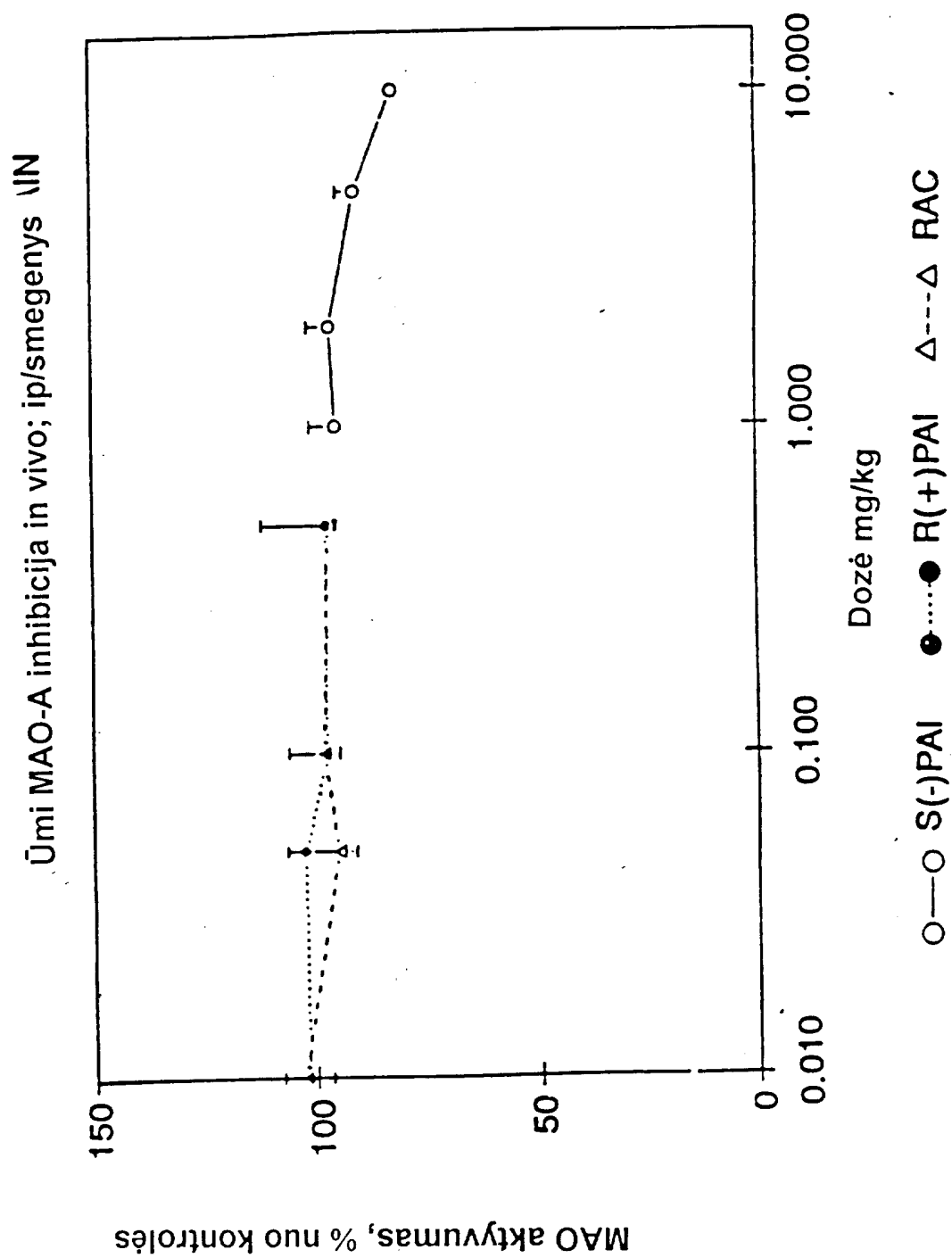


Fig.9

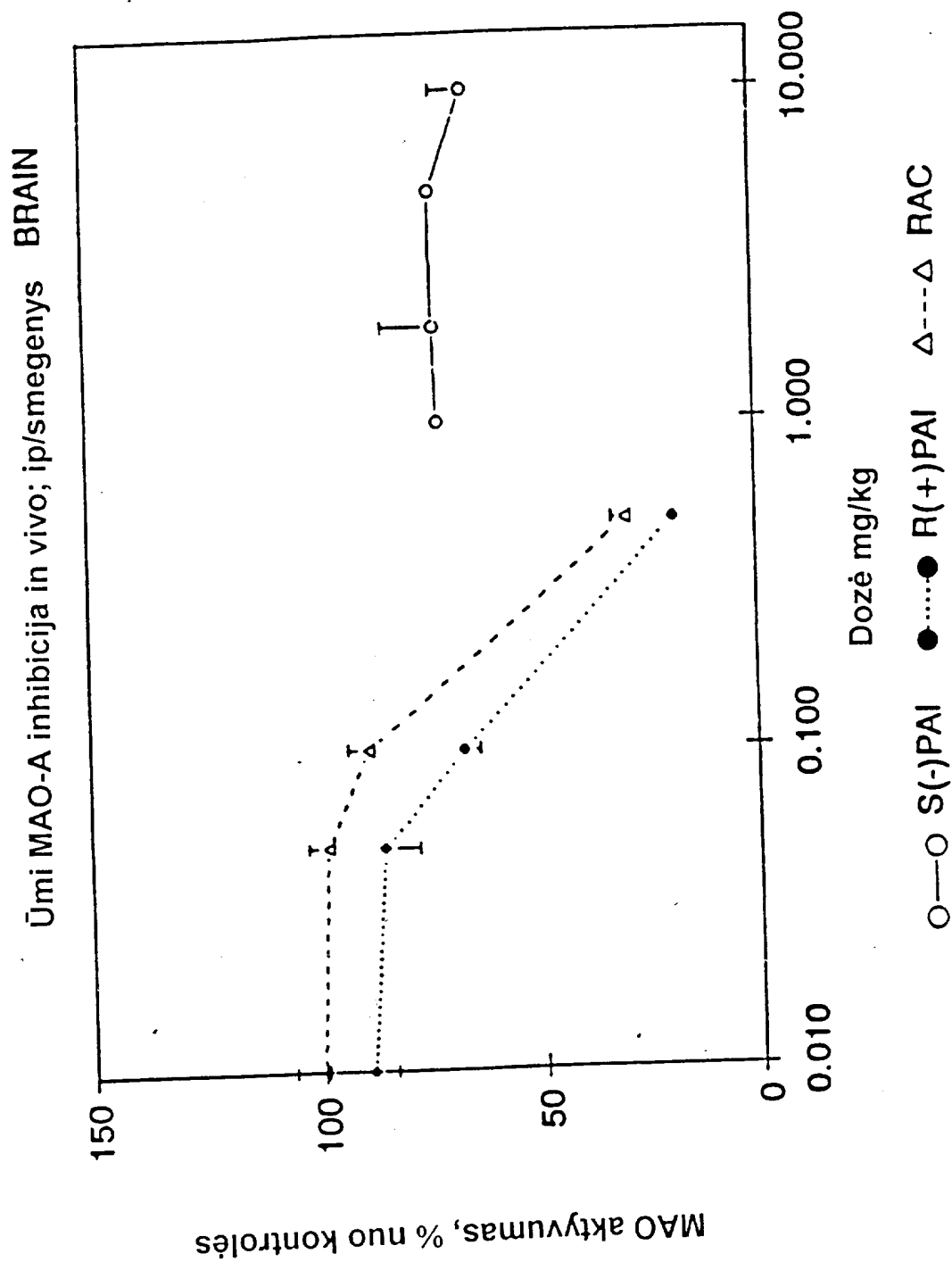


Fig.10

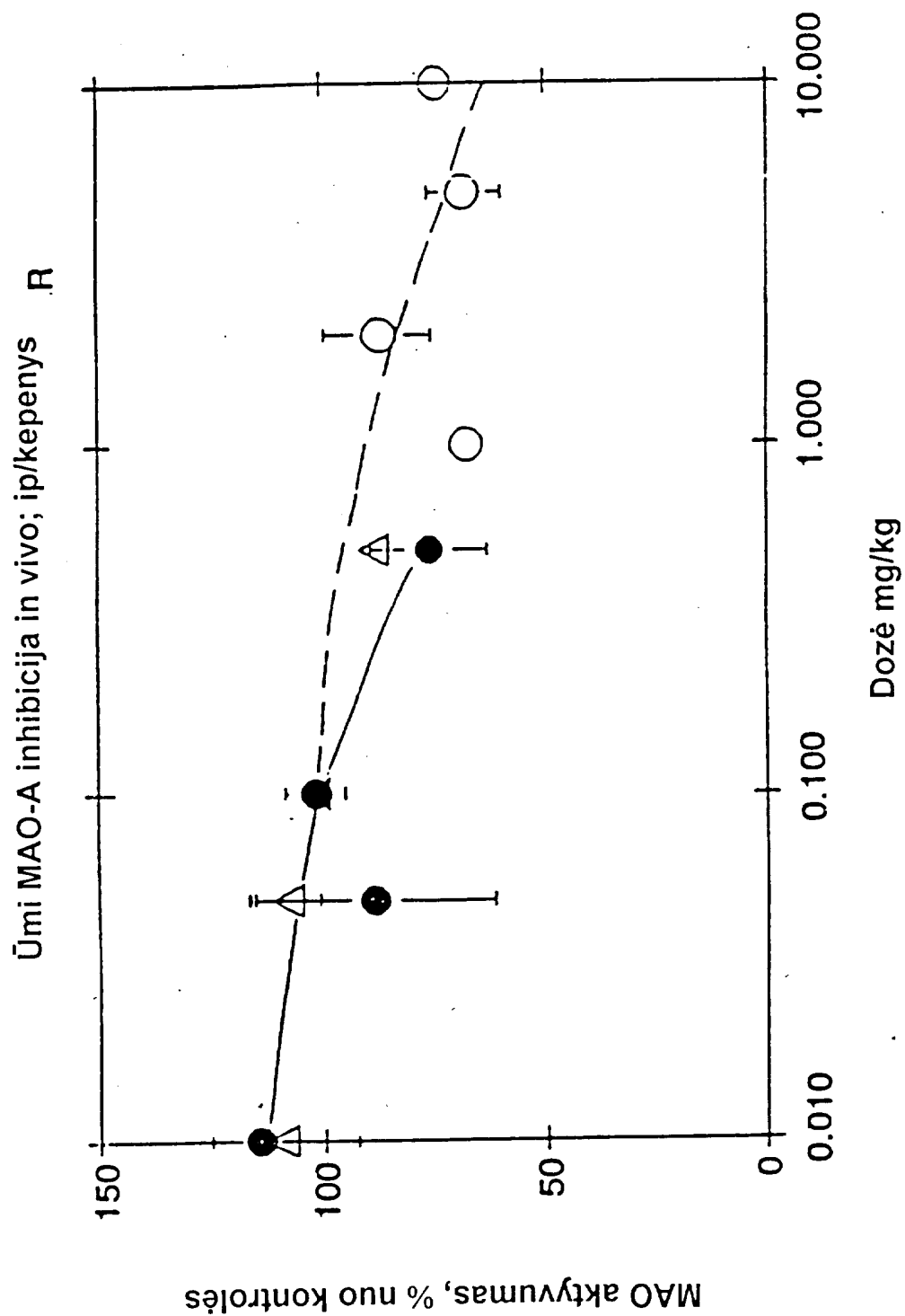


Fig.11

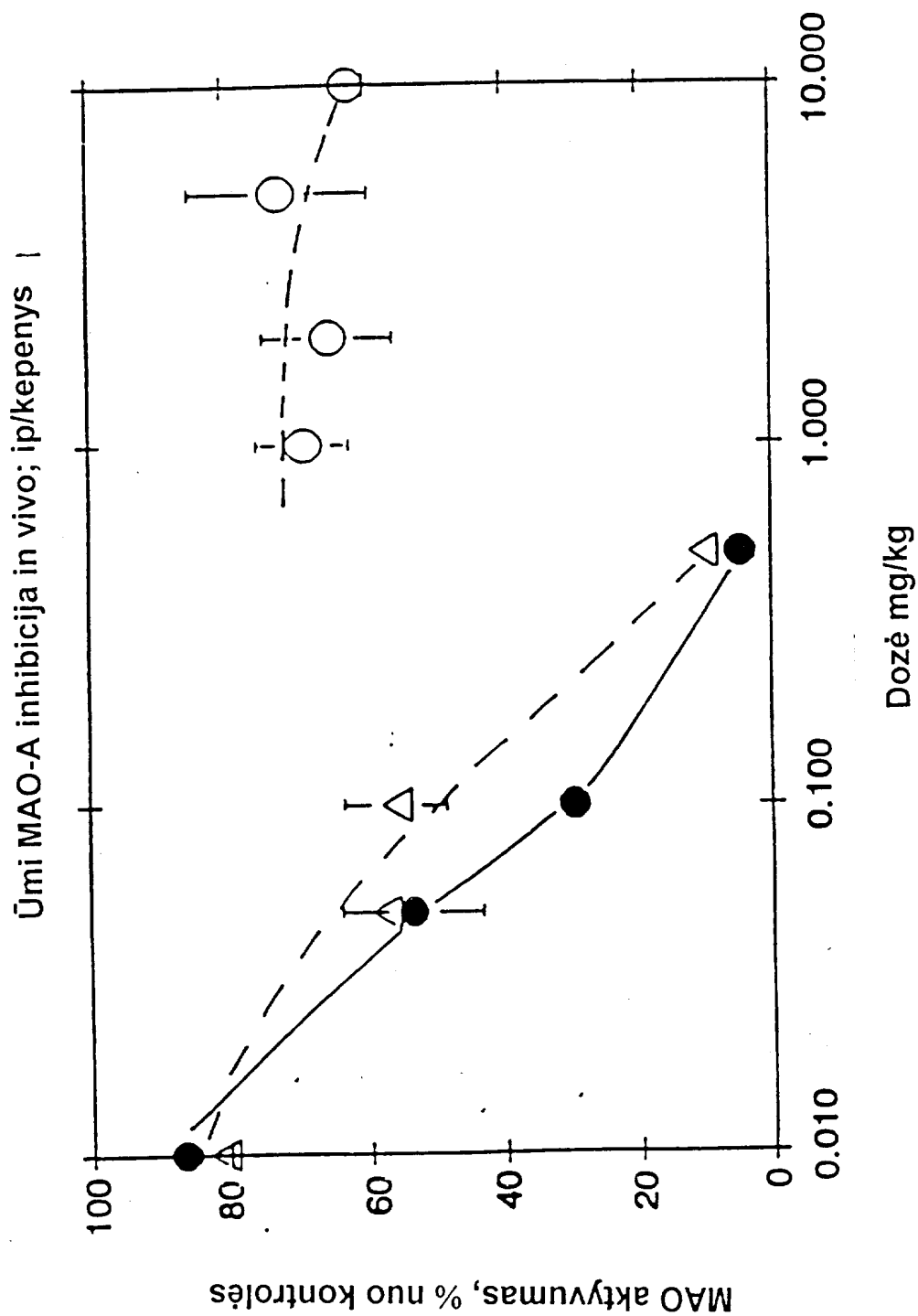


Fig.12

Chroniška MAO-A inhibicija smegenyse in vivo

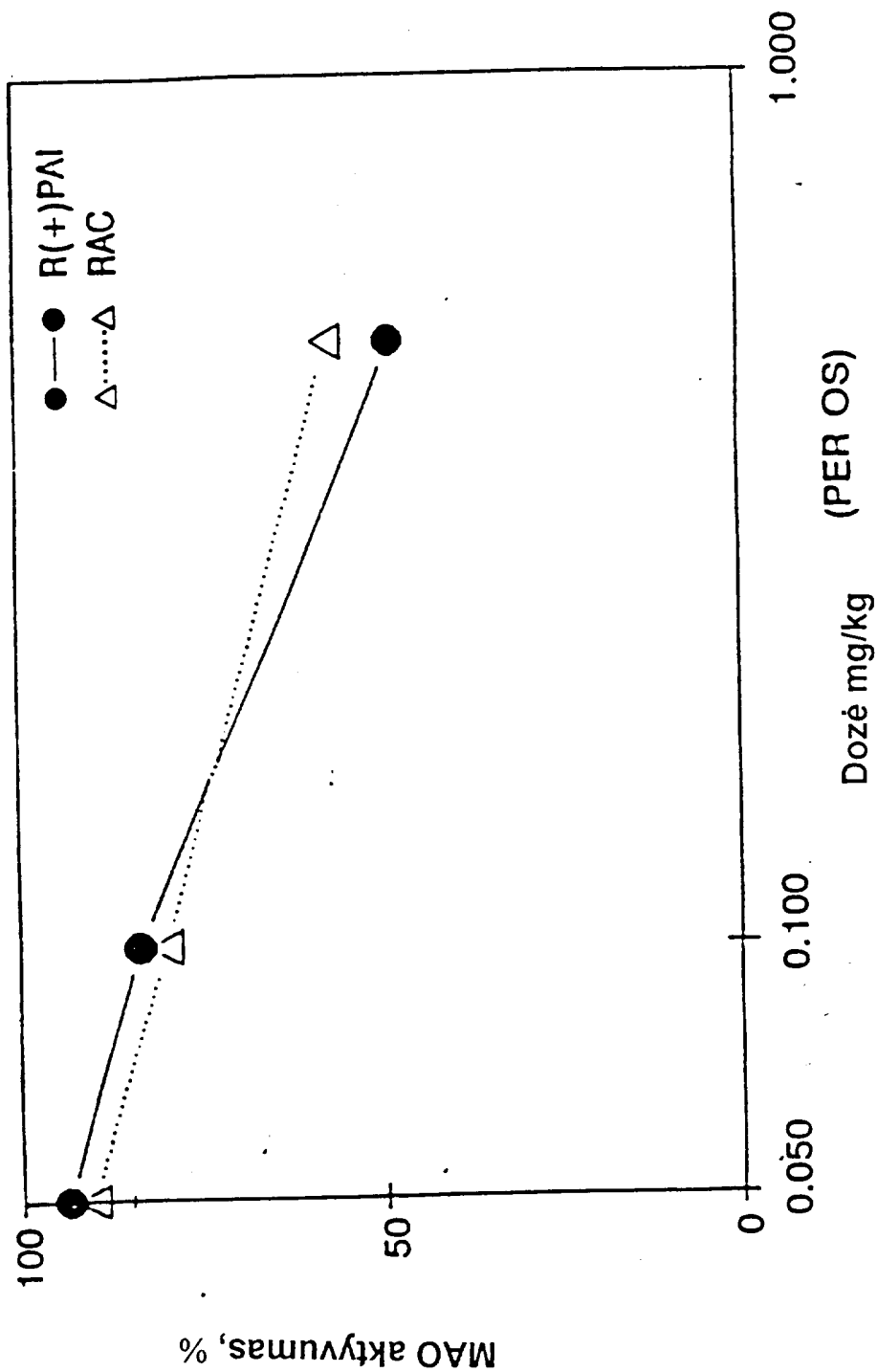


Fig.13

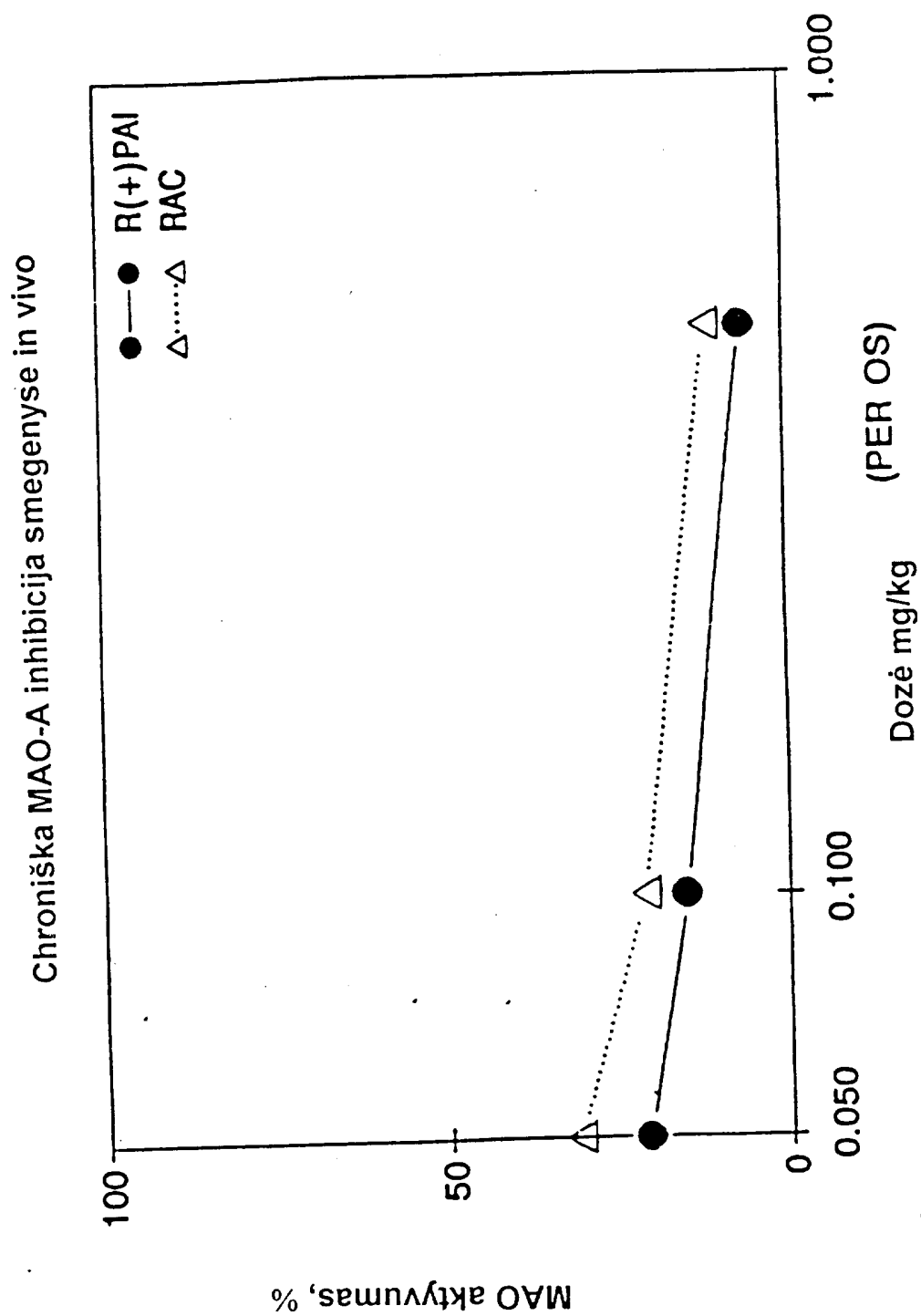


Fig.14

Chroniška MAO-A inhibicija kepenyse in vivo

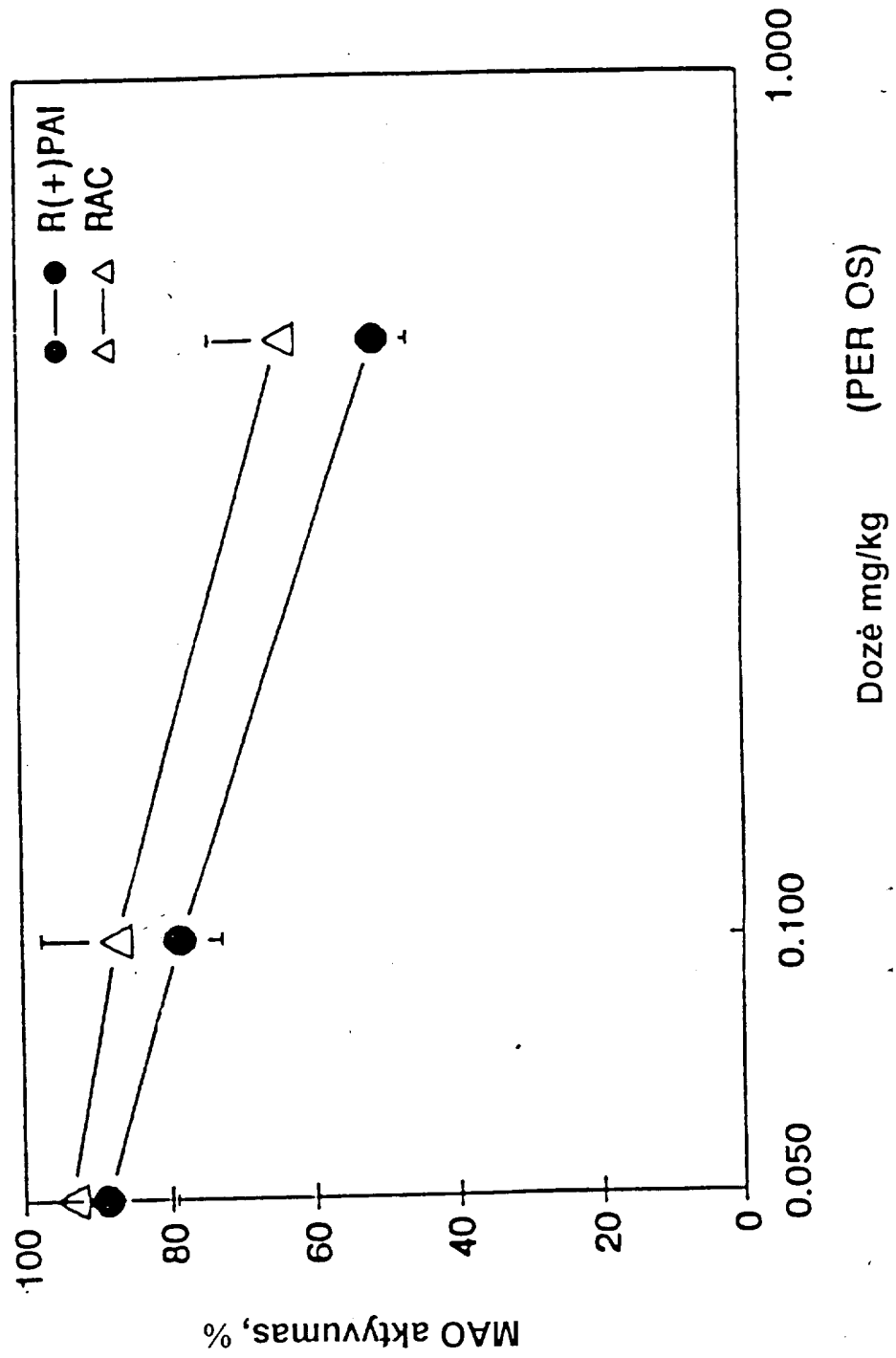


Fig.15

Chroniška MAO-B inhibicija kepenyse in vivo

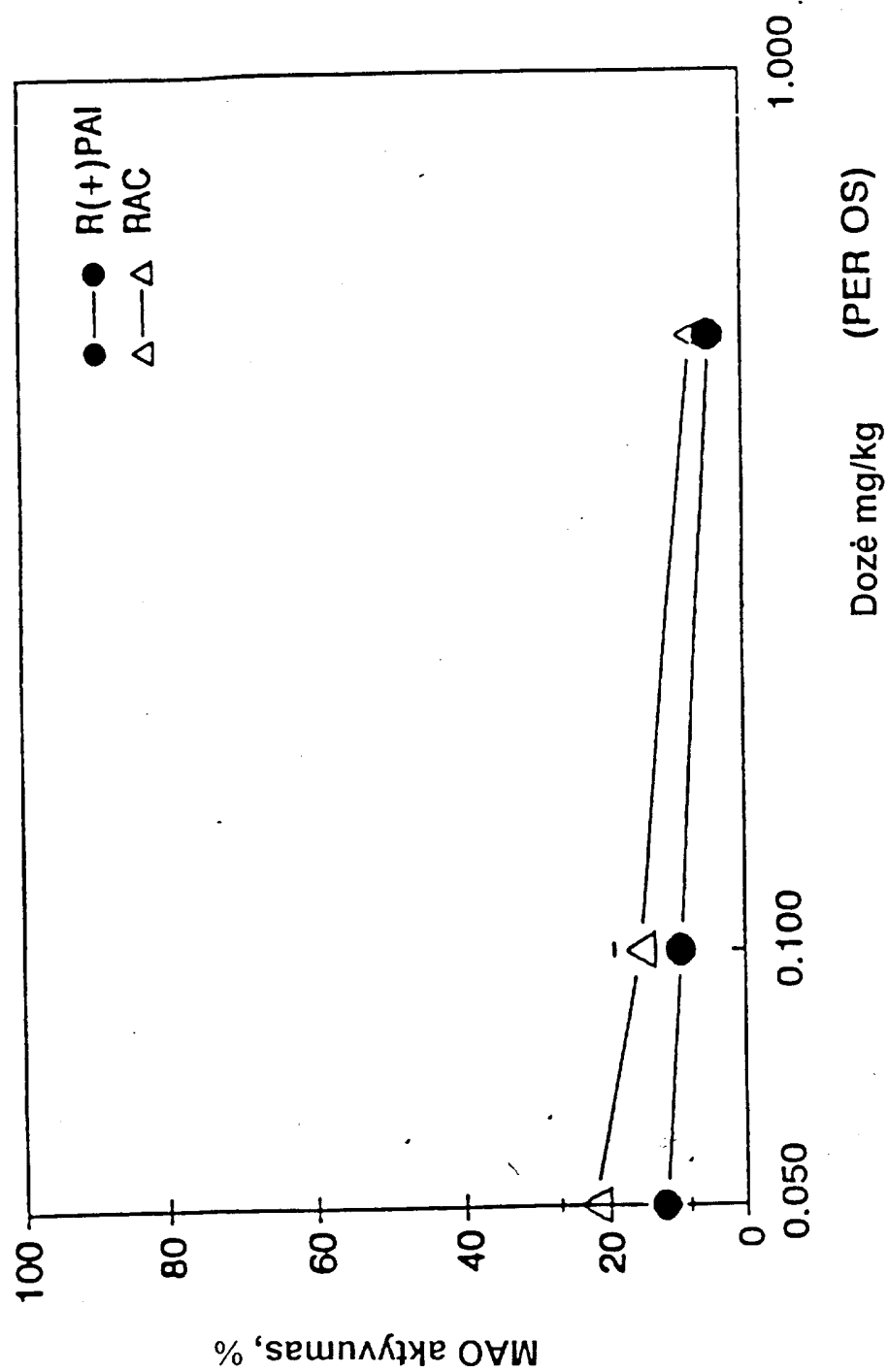


Fig.16

MAO-B aktyvumas žiurkių smegenyse, praėjus
įvairiam laikui po R(+) PAI (1mg/kg)

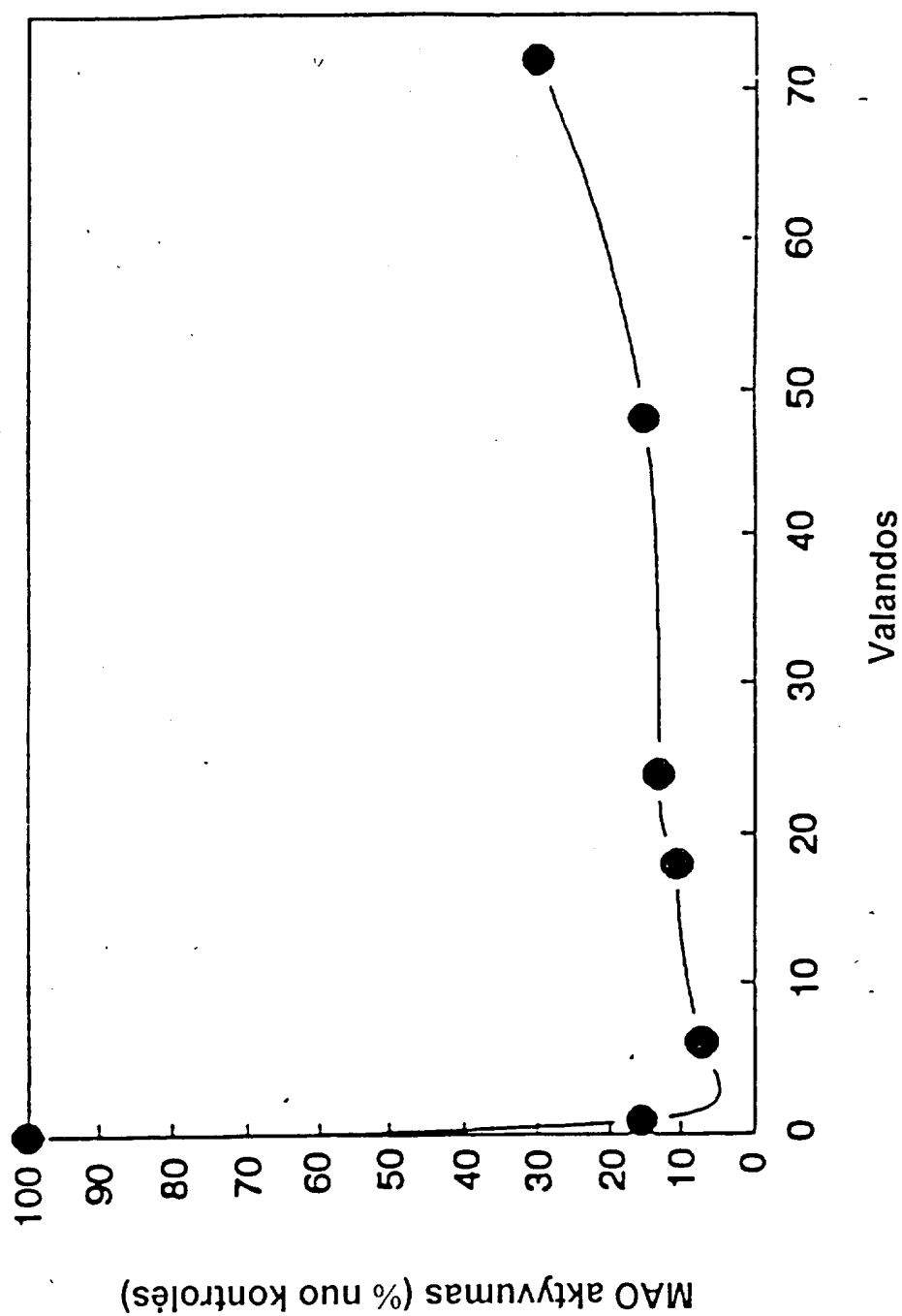


Fig.17

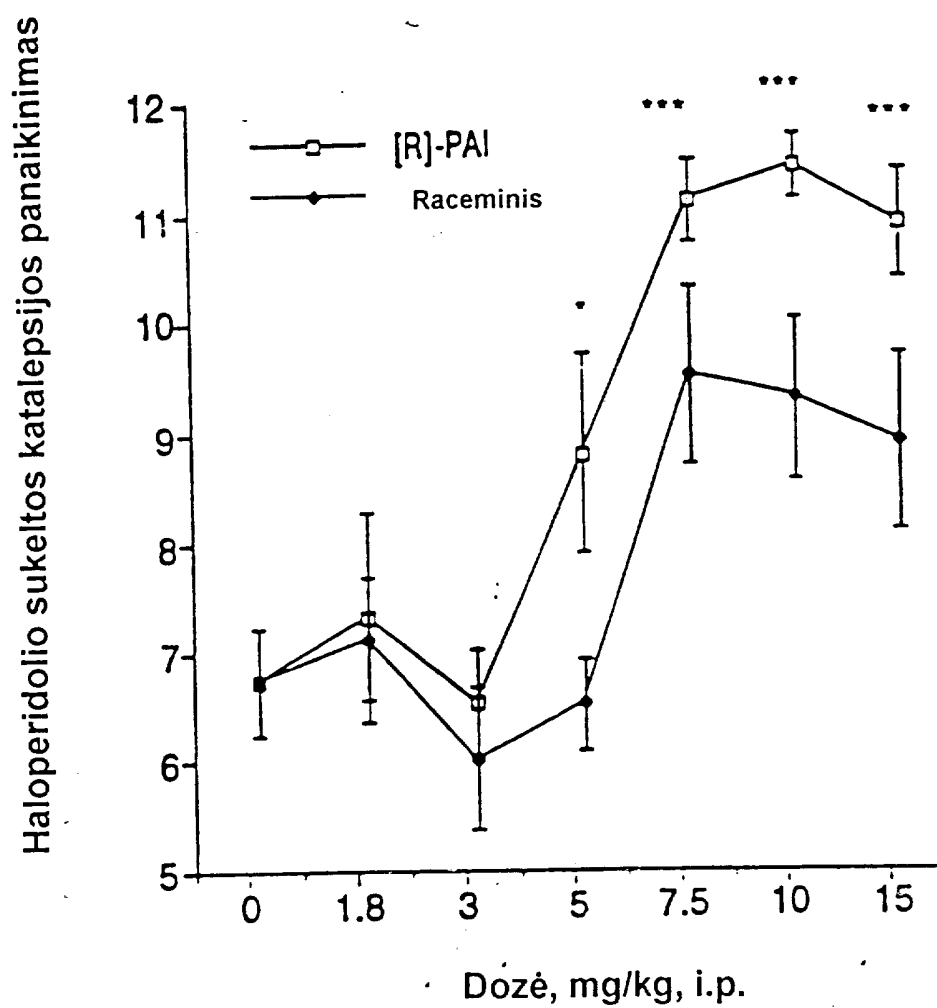


Fig.18

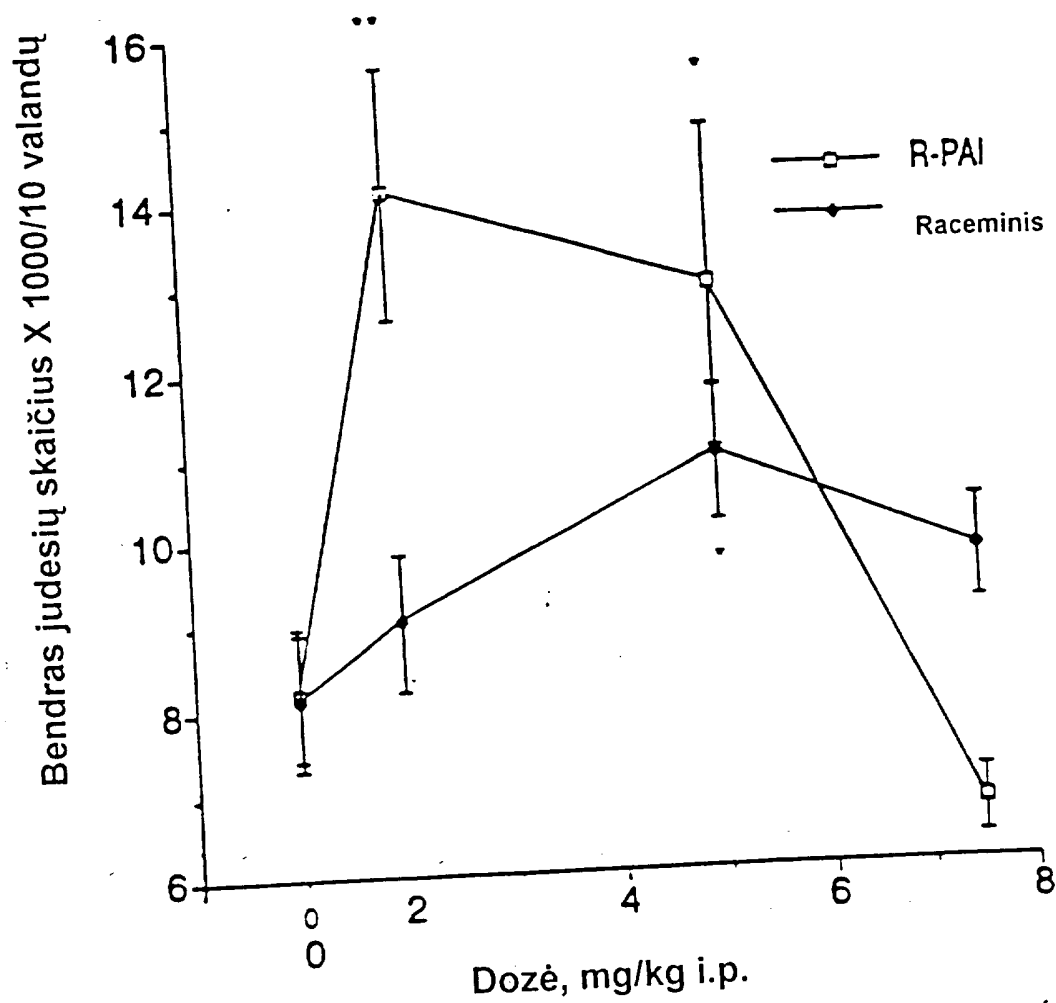


Fig.19

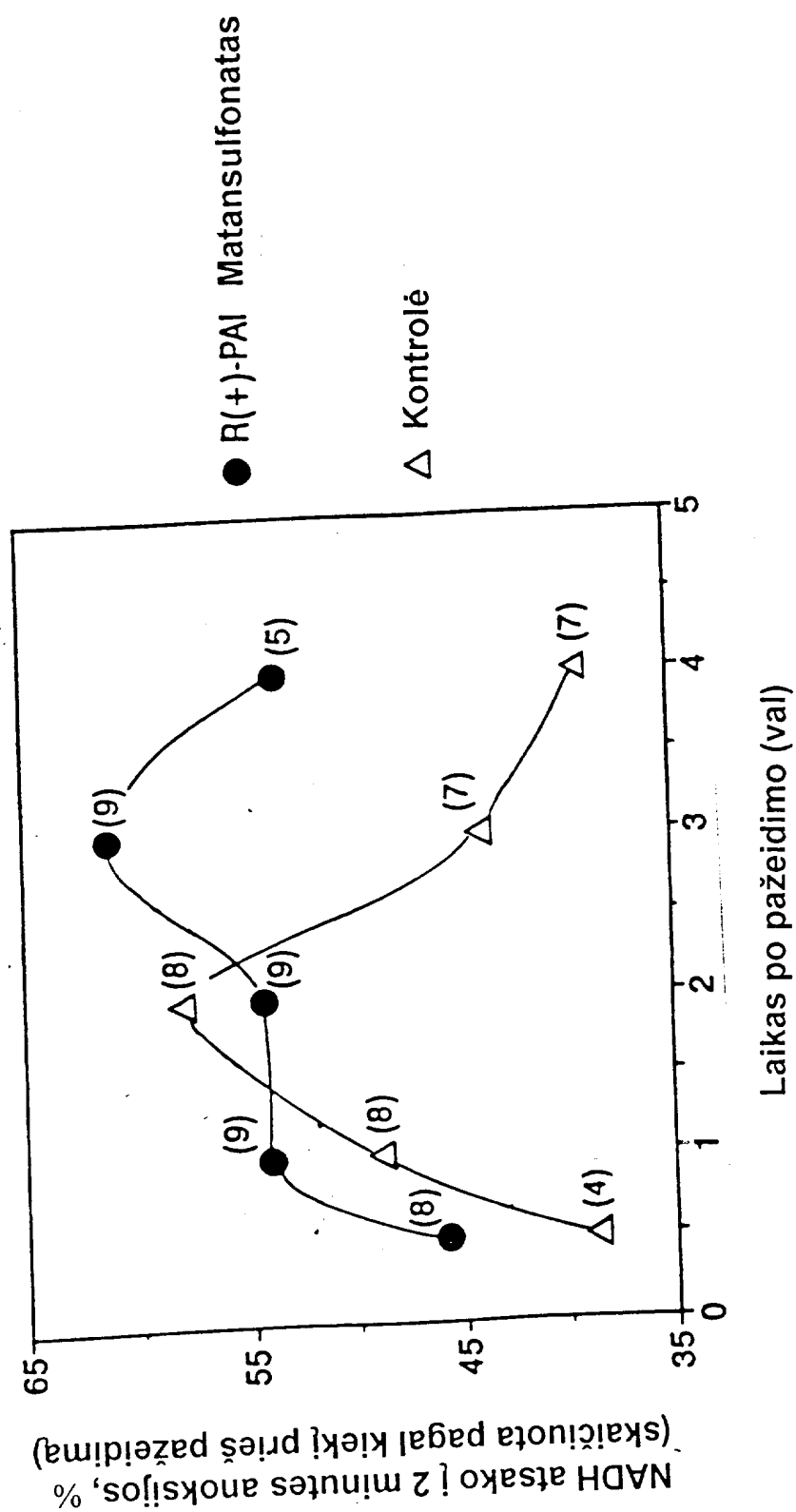


Fig.20

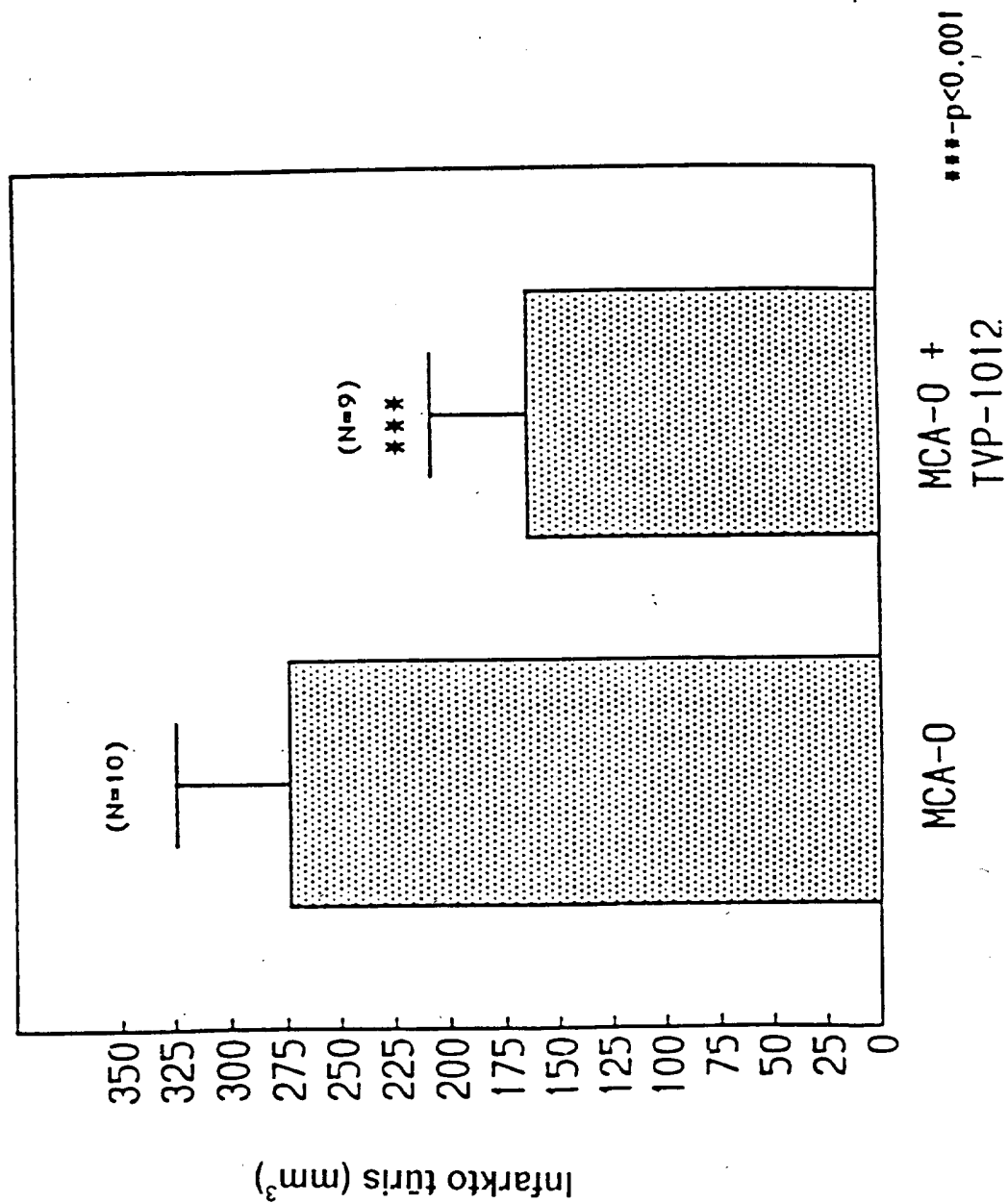


Fig.21

