



УКРАЇНА

(19) UA (11) 39206 (13) C2

(51) 7 A61K31/57

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ПРЕЕКЛАМПСІЇ ТА ЗАГРОЗИ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГІВ У ВАГІТНОЇ САМКИ ССАВЦЯ ТА КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ ЙОГО ЗДІЙСНЕННЯ

(21) 96010200

(22) 18.07.1994

(24) 15.06.2001

(31) 08/092.426

(32) 16.07.1993

(33) US

(86) PCT/EP94/02368, 18.07.1994

(46) 15.06.2001, Бюл. № 5, 2001 р.

(72) Гарфілд Роберт, US, Яллампаллі Чандра, US, Хваліш Крістоф, DE, Буковські Радослав, DE

(73) ШЕРІНГ АКТІСНГЕЗЕЛЛШАФТ, DE, ГАРФІЛД РОБЕРТ, US, ЯЛЛАМПАЛЛІ ЧАНДРА, US

(56) 1. EРA, 0441119 A, 14.03.91.

2. SU 1297863 A1, 23.03.87.

(57) 1. Способ лечения по меньшей мере одного из проявлений преэклампсии и угрозы преждевременных родов у беременной млекопитающей, включающий применение (а) прогестина и (б) синтазы окиси азота, донора окиси азота или, по возможности, того и другого в дальнейшей комбинации с одним или несколькими ингибиторами циклооксигеназы, PGI₂ - миметиком, ингибитором тромбосана (TXA₂), соединением, обладающим TXA₂-агонистическими и TXA₂-тормозящими свойствами, соединением, обладающим TXA₂-антагонистической и PGI₂-миметической активностью, и TXA₂-антагонистом.

2. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что (а) используется в количестве, которое биоживалентно 50 - 300 мг введенного парентерально прогестерона и (б) в количестве, которое способно поднять уровень циркулирующего в крови L-аргинина по меньшей мере приблизительно на 1 мм выше нормальных уровней, равных 2 - 3 мм.

3. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что млекопитающей является женщина, страдающая преэклампсией.

4. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что млекопитающей является женщина, которая проявляет признаки или подвержена угрозе преждевременных родов.

5. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что млекопитающей является женщина и тем, что (б) представляет собой субстрат синтазы окиси азота.

6. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что субстратом является L-аргинин.

7. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что (б) представляет собой донор окиси азота.

8. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что донором окиси азота является нитропруссид натрия, нитроглицерин, глицерилтринитрит, SIN-1, изосорбидмононитрит или изосорбиддинитрит.

9. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что донор окиси азота предназначен для орального назначения.

10. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что беременной млекопитающей является женщина, и субстрат или донор окиси азота предназначен для назначения в комбинации с ингибитором циклооксигеназы.

11. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что ингибитором является аспирин.

12. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что беременной млекопитающей является женщина, и субстрат или донор окиси азота назначается в комбинации с PGI₂-миметиком.

13. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что PGI₂-миметиком является илопрост или цикапрост.

14. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что млекопитающей является женщина и прогестином - прогестерон.

15. Фармацевтическая композиция, содержащая смесь (а) прогестина и (б) субстрата синтазы окиси азота, донора окиси азота или того и другого и могущая содержать по меньшей мере один из ингибиторов циклооксигеназы, PGI₂-миметиков, ингибиторов тромбосана (TXA₂), PGI₂-миметик, ингибитор тромбосана (TXA₂), соединение, обладающее TXA₂-антагонистической и PGI₂-миметической активностью, и TXA₂ антагонист, в количествах, эффективных в снижении симптомов преэклампсии, токсикоза или угрозы преждевременных родов у беременной женщины при назначении ей прогестина в количестве, биоживалентном 50 - 300 мг введенного инъекцией прогестерона и субстрата синтазы окиси азота, донора окиси азота или того и другого в количестве, позволяющем поднять уровень циркулирующего в крови L-аргинина по меньшей мере приблизительно на 1 мм выше обычных уровней, равных 2 - 3 мм, или поднять уровни донора окиси азота приблизительно до 1-1000 нМ.

16. Композиция по п. 15, **отличающаяся** тем, что (б) представляет собой субстрат синтазы окиси азота.

17. Композиция по пп. 15-16, **отличающаяся** тем, что субстратом синтазы окиси азота является L-аргинин.

18. Композиция по пп. 15-17, **отличающаяся** тем, что (б) представляет собой донор окиси азота.

19. Композиция по пп. 15-18, **отличающаяся** тем, что донором окиси азота является нитропруссид натрия, нитроглицерин, глицерилтринитрит-

рит, SIN-1, изосорбидмонострит или изосорбиддинитрит.

20. Композиция по пп. 15-18, содержащая ингибитор циклооксигеназы.

21. Композиция по пп. 15-18, содержащая PGI₂-миметик.

22. Композиция по пп. 15-18, содержащая ингибитор тромбосана.

Изобретение относится к способу лечения преэклампсии и угрозы преждевременных родов композицией агента, способствующего сохранению беременности, и субстрата синтазы окиси азота, донора окиси азота или того и другого, в чистом виде или также в комбинации с одним или несколькими из ингибиторов циклооксигеназы, PGI₂ миметика, ингибиторов тромбосана (TXA₂), соединения, обладающего TXA₂-агонистическими и TXA₂-тормозящими свойствами, соединения, обладающего TXA₂-антагонистической и PGI₂-миметической активностью, и TXA₂ антагониста, а также к фармацевтическим композициям, содержащим такую комбинацию.

Преэклампсия, эклампсия или токсикоз беременности могут значительно осложнить состояние здоровья во время беременности и являются причинами задержки развития плода, его заболеваемости и смертности, материнской смертности и преждевременных родов. Этиология заболевания фактически неизвестна и эффективного лечения нет. Преэклампсия беременности характеризуется триадой гипертензии, водянки и протеинурии. Это заболевание имеет место у 6-10% беременных.

Недавно выявлено, что окись азота является релаксирующим фактором (EDRF), полученным из эндотелия кровеносных сосудов. Окись азота считается основным посредником в контроле реактивности сосудов. Окись азота синтезируют из L-аргинина синтазой окиси азота, находящейся в эндотелиальных клетках. Окись азота можно также получить использованием различных доноров окиси азота, таких, как нитропруссид натрия, нитроглицерин, глицерил тринитрит, SIN-1, изосорбиддинитрит и других.

Лечение беременных крыс ингибиторами синтазы окиси азота, которые являются аналогами L-аргинина (такими, как L-NAME, N-G нитро-L-аргинин метил эстер) приводит к повышенному кровяному давлению, задержке развития плода и протеинурии. Таким образом, торможение синтеза окиси азота приводит к состояниям и симптомам, идентичным преэклампсии беременности и говорит о том, что преэклампсия является прямым результатом снижения синтеза окиси азота и/или изменения в регуляции сосудистого тонуса. Эти состояния порождают повышенное кровяное давление, сокращают поток крови к плоду, способствуют задержке развития плода и протеинурии. Следовательно, агенты, которые повышают уровень окиси азота, полезны в лечении преэклампсии беременности. Поскольку доноры окиси азота также снижают сократительную способность матки во время беременности, они также полезны для

использования при угрозе преждевременных родов.

Действие окиси азота на гладкую мускулатуру зависит от активации гуанилатциклазы и образования cGMP для достижения релаксации и эта стадия зависит от прогестерона. Итак, комбинации доноров окиси азота и прогестерона особенно эффективны в лечении преэклампсии и преждевременных родов.

Европейский патент EP 0441119 A2 раскрывает использование L-аргинина в лечении гипертензии и других сосудистых нарушений. В заявке высказывается предположение, что L-аргинин эффективен, поскольку он может быть физиологическим предшественником "самого мощного высвобождающего фактора эндотелиального происхождения, окиси азота". Использование L-аргинина в комбинации с другими фармацевтически активными агентами не обсуждалось в этой публикации.

Цель изобретения - предложить способ профилактики и лечения преэклампсии композицией агента, способствующего сохранению беременности, и субстрата и/или донора окиси азота.

Другой целью изобретения является способ, в котором агент, способствующий сохранению беременности, используется в комбинации с субстратом и/или донором окиси азота для профилактики и лечения преэклампсии.

Следующая цель изобретения - способ профилактики и лечения угрозы преждевременных родов, использующий агент, способствующий сохранению беременности, в комбинации с субстратом и/или донором окиси азота.

И еще одна цель - получение фармацевтических композиций, полезных в осуществлении способов этого изобретения.

Другие цели будут очевидны специалистам данной области, к которой относится изобретение.

Это изобретение относится к способу лечения по меньшей мере одного из проявлений преэклампсии и преждевременных родов у беременной женщины, который включает назначение беременной женщине с проявлением таких симптомов, (а) агента, способствующего сохранению беременности и (б) одного из субстратов синтазы окиси азота и/или донора окиси азота, или обоих, в чистом виде или в комбинации с одним или несколькими из ингибиторов циклооксигеназы, PGI₂-миметика, ингибитора тромбосана (TXA₂), соединения, обладающего TXA₂-агонистическими и TXA₂-тормозящими свойствами, соединения, обладающего TXA₂-антагонистической и PGI₂-миметической активностью, и TXA₂ анта-

гониста, в количествах, снижающих эти симптомы, при этом количество назначаемого агента, способствующего сохранению беременности, биоэквивалентно 50-300 мг вводимого инъекцией прогестерона и количество субстрата синтазы окиси азота, донора окиси азота или того и другого, должно быть достаточным, чтобы соответственно поднять уровень циркулирующего в крови L-аргинина у беременной женщины, которой назначается композиция, по меньшей мере? до 1 ммоль выше нормального уровня, равного 2-3 ммоль, или поднять уровни донора окиси азота до 1-100 нМ (наномолей).

Другим аспектом изобретения является способ лечения угрозы преждевременных родов у беременной женщины, который включает назначение ей (а) агента, способствующего сохранению беременности, и (б) по меньшей мере одного из субстрата синтазы окиси азота и донора окиси азота, в количествах, эффективных для остановки преждевременных родов, в чистом виде или в комбинации с одним или несколькими из ингибиторов циклооксигеназы; PGI₂-миметика, ингибитора тромбосана (TXA₂), соединения, обладающего TXA₂-агонистическими и TXA₂-тормозящими свойствами, соединения, обладающего TXA₂-антагонистической и PGI₂-миметической активностью, и TXA₂-антагониста, при этом количество назначаемого агента, способствующего сохранению беременности, биоэквивалентно 50-300 мг вводимого инъекцией прогестерона и количество субстрата синтазы окиси азота, донора окиси азота или того и другого должно быть достаточным, чтобы соответственно поднять уровень циркулирующего в крови L-аргинина у беременной женщины, которой назначается композиция, по меньшей мере, на 1 мМ выше нормального уровня, равного 2-3 мМ, или поднять уровни донора окиси азота до около 1-1000 нМ.

Следующим объектом изобретения является фармацевтическая композиция, включающая (а) агент, способствующий сохранению беременности, и (б) по меньшей мере или субстрат синтазы окиси азота или донор окиси азота в чистом виде или в комбинации с одним или несколькими из ингибиторов циклооксигеназы, PGI₂-миметика, ингибитор тромбосана (TXA₂), соединение, обладающее TXA₂-агонистическими и TXA₂-тормозящими свойствами, соединение, обладающее TXA₂-антагонистической и PGI₂-миметической активностью, и TXA₂-антагонист, при этом количество агента, способствующего сохранению беременности, на однократную дозу биоэквивалентно 50-300 мг вводимого прогестерона и количество субстрата синтазы окиси азота, донора окиси азота или того и другого на однократную дозировку должно быть эффективным, чтобы, соответственно, поднять уровень циркулирующего в крови L-аргинина по меньшей мере на 1 мМ выше нормального уровня, равного 2-3 мМ, или поднять уровни донора окиси азота до около 1-1000 нМ. Следующим объектом изобретения является использование (а) прогестина и (б) субстрата синтазы окиси азота, донора окиси азота или того и другого, по выбору в комбинации с одним или несколькими из ингибиторов циклооксигеназы, PGI₂-миметика, ингибитора тромбосана (TXA₂), сое-

динения, обладающего TXA₂-агонистическими и TXA₂-тормозящими свойствами, соединения, обладающего TXA-антагонистической и PGI₂-миметической активностью, и TXA₂ антагониста, для приготовления лекарственного средства для лечения, по меньшей мере, одного из проявлений преэклампсии и преждевременных родов у беременной женской особи млекопитающего.

В предпочтительном варианте компонент (а) используется в количестве, которое биоэквивалентно 50-300 мг вводимого инъекцией прогестерона и компонент (б) в количестве, которое эффективно, чтобы поднять уровень циркулируемого в крови L-аргинина по меньшей мере приблизительно на 1 мМ выше нормального уровня, равного 2-3 мМ.

В другом варианте изобретения млекопитающим является женщина, страдающая преэклампсией.

Еще в одном варианте изобретения млекопитающим является женщина, у которой проявляются признаки преждевременных родов или которой угрожают преждевременные роды.

По другому аспекту изобретения млекопитающим является женщина и (б) представляет собой субстрат синтазы окиси азота.

В предпочтительном варианте субстратом является L-аргинин.

В соответствии с другим вариантом млекопитающим является женщина и (б) представляет собой донор окиси азота.

Желательно, чтобы донор окиси азота был нитропруссидом натрия, нитроглицерином, глицерилтринитритом, SIN-1, изосорбидмононитритом или изосорбиддинитритом.

В другом варианте донор окиси азота назначается орально. В еще одном варианте млекопитающим является женщина и субстрат или донор окиси азота назначается в комбинации с ингибитором циклооксигеназы.

В качестве ингибитора желательно использовать аспирин.

В следующем варианте изобретения млекопитающим является женщина и субстрат или донор окиси азота назначается в комбинации с PGI₂-миметиком. Из PGI₂-миметиков предпочтительны илопрост или цикапрост.

И в другом предпочтительном варианте млекопитающим является женщина, а прогестин - прогестерон.

Способы этого изобретения лечат одну или несколько форм преэклампсии и угрозы преждевременных родов у беременных млекопитающих, предпочтительно женщин, которые проявляют такие симптомы или которые подвержены их проявлению, как показывает развитие настоящей или предшествующей беременности.

Поскольку такие аномальные состояния беременности продиктованы снижением или ухудшением синтеза окиси азота, и субстраты синтазы окиси азота, например, L-аргинин, и доноры окиси азота, например, нитропруссид натрия, нитроглицерин, глицерил тринитрат, SIN-1, изосорбид мононитрат и изосорбид динитрат полезны в снижении этих симптомов, и в одном из вариантов метода этого изобретения используется комбинация обоих.

Синергитическое действие достигается, если агент, способствующий сохранению беременности, назначается одновременно с субстратом окиси азота и/или донором азотной кислоты.

Таким образом, по варианту метода и по варианту фармацевтической композиции изобретение использует комбинацию (а) агента, способствующего сохранению беременности, например, прогестерона, и (б) любого или обоих - донора и субстрата синтазы окиси азота, и возможно (в) одного или нескольких ингибиторов циклооксигеназы, например, аспирина; PGI₂-миметика, например, илопроста и цикапроста; ингибитора тромбосана (ТХА₂), например, дазоксiben гидрохлорида (бензойной кислоты, 4-[2-(1Н-имидазоли-ил)-этокси]-, моногидрохлорида; UK 37248), дазмерегеля (1Н-индол-1-пропановой кислоты, 3-(1Н-имидазол-1-илметил)-2-метил-, UK 3885), озареля (2-акриловой кислоты, 3-[4-(1-Н-имидазол-1-илметил) фенила]-; ОКУ-046 (и пирмагеля) имидазо-[1,5-а]пиридин-5-капроновой кислоты; CGS-13080); соединения, обладающего ТХА₂-агонистическими и ТХА₂-тормозящими свойствами, например, ридогреля (валериановой кислоты, 5-[[[3-пиридинил-3- (трифторметил)фенил] метил]-аминоокси]-; R-68070 (и лабогреля) 6-гептеновая кислота, 7-фенил-7-(3-пидридинил)-; соединения, обладающего ТХА₂-антагонистической и PGI₂-миметической активностью, например, 5-гептеновой кислоты, 7-[3-[[[(ди фенил-метокси)-имино]-бицикло- [2.2.1] гепт-2-ил]-; EP 035-рац) и 5-гептеновой кислоты, 7-[3-[[[(дифенилметокси)-имино] метил] бицикло- [2.2.2] окт-5-ен-2-ил]- (EP 157); и ТХА₂ антагониста, например, 5-гептеновой кислоты, 7-[3-[[2- (фениламино) карбонил]-гидразино] метил]-7-оксабицикло [2.2.1] гепт-2-ил]-, 1S[1.альфа., 2.альфа. (Z) , 3.альфа., 4.альфа.]]- (SQ 29548); бензолпропановой кислоты, 2- [[3-4[(пентил-амино)карбонил]-2-оксазолил]-7-оксабицикло[2.2.1] гепт-2-илметил (-)BMS 180291); уксусной кислоты, [4-[2- [(фенилсульфонил) амино]-этил] пеноксид]- (султробан, BM-13177); бензолуксусной кислоты, 4-[2-[[[4-хлорфенил(сульфонил - амино)этил]- (далтробан, BM-13505 (S-145 рац); 5-гексеновой кислоты, 6-[3-[[[4-бромфенил]сульфонил амино метил бицикло [2.2.1] геп-2-ил]-, децил эстер [1S[1. альфа. 2 альфа. - (Z) , - 3.бета., 4.альфа.]]- (ONO 8809); 9Н-карбазол-9-пропановой кислоты, 3-[[[4-фторфенил] сульфониламино]-1,2,3, 4-тетрагидро-, (R) - (бау-и-3405); и (4Z) -6- [(5S) -5- (4-хлорфенилсульфонил/аминометил/-циклоэнт-1-енил)4-гексеновая кислота (ZU) 154343.

Примеры комбинаций активных агентов, которые могут назначаться одновременно с субстратом и/или донором окиси азота и прогестероном (или другим агентом, способствующим сохранению беременности), включают небольшие дозы (например, 10-100 мг) аспирина (или другого ингибитора циклооксигеназы; PGI₂-миметика (например, илопроста, цикапроста); комбинации PGI₂-миметика и небольшие дозы аспирина.

Примерами дозирования типичных NO-субстратов и NO-доноров (причем NO - окись азота (per OS) являются:

	Общая доза:
L-аргинин	500 мг - 10 г.р.о.
Нитропруссид натрия	500-2000 мкг/кг/день

Нитроглицерин	0,5-10 мг
Изосорбид мононитрат	10-100 мг
Изосорбид динитрат	10-100 мг

Следующими типичными оральными дозировками активных агентов прогестина и возможных других активных агентов, которые назначаются одновременно с субстратом или донором окиси азота, являются следующие:

Прогестины: ежедневная доза, биоэквивалентная 50-300 мг прогестерона/день, например, суспензия медроксипрогестерона ацетата для инъекций, чтобы обеспечить недельную дозу в 100-1000 мг, или таблетки или драже с оральной дозой в 5-10 мг/день, раствор гидроксипрогестерона капроата для инъекций, с обеспечением недельной дозы в 250-500 мг; таблетки, капсулы или драже нортиндрона ацетата с обеспечением недельной дозы в 5-20 мг.

Цикапрост: 5-100 мкг/кг/день р.о.

Аспирин: 10-100 мг/кг/день р.о.

Фармакологически активные агенты, используемые в этом изобретении, можно назначать в смеси с традиционными наполнителями, т.е. фармацевтически приемлемой жидкостью, полужидкими или твердыми органическими или неорганическими носителями, приемлемыми, например, для парентерального или энтерального применения, которые не дают отрицательных реакций в смеси с активным соединением. Подходящие фармацевтически приемлемые носители включают, но не ограничиваются до воды, солевых растворов, спиртов, растительных масел, полиэтиленгликолей, желатина, лактозы, амилозы, стеарата манния, талька, кремневой кислоты, вязкого парафина, парфюмерного масла, пентаэритритоловых эстеров жирной кислоты, гидроксиметилцеллюлозы, поливинилпирролидона и т.п. Фармацевтические препараты могут стерилизоваться и при желании смешиваться с дополнительными агентами, например, смазывающими, смачивающими агентами, консервантами, стабилизаторами, эмульгаторами, солями для регулирования осмотического давления, буферами, красящими, ароматизирующими агентами, отдушками и другими веществами, которые не влияют отрицательно на действие активных соединений.

Для парентерального применения наиболее приемлемы растворы, особенно масляные или водные растворы, а также суспензии, эмульсии или вводимые внутрь формы, включая суппозитории. Для однократных дозировок приемлемы ампулы.

В предпочтительном варианте смесь согласно изобретению предназначена для приема внутрь.

При энтеральном применении наиболее приемлемыми являются формы однократных дозировок, например, таблетки, драже или капсулы с тальком и/или карбогидратным носителем или связующим веществом или другим веществом, при этом носитель предпочтительно является лактозой и/или кукурузным крахмалом и/или картофельным крахмалом; измельченные твердые вещества; например, гранулы; и жидкости и полужидкости, например, сиропы и эликсиры или другие жидкости, в которых используется подслащенный носитель. Можно приготовить композиции

с постепенным высвобождением, включая те, в которых активное соединение защищено различными способными разрушаться покрытиями, например, микрокапсуляцией, множественными покрытиями и пр.

Подходящими для орального назначения являются таблетки, драже, капсулы, пилюли, гранулы, суспензии и растворы. Каждая однократная дозировка, например, каждая чайная ложка жидкости или каждая таблетка или драже содержит, например, 5-5000 мг каждого активного агента.

Растворы для парентерального назначения содержат, например, 0,01-1% каждого активного агента в водном или спиртовом растворе.

Субстрат и/или донор окиси азота можно назначать в смеси с агентом, способствующим сохранению беременности, и любым другим активным агентом, или как отдельную форму дозировки, либо одновременно с ним, либо в разное время дня по отдельности.

Комбинация активных агентов предпочтительно назначается по меньшей мере один раз в день (если не назначено в дозированной форме, которая предполагает прием активных агентов непрерывно), и более предпочтительно несколько раз в день, например, от 2 раз до шести. Типичная доза составляет от около 0,5 до 1000 мг каждого активного агента, хотя некоторые менее активные агенты, например, L-аргинин, требуют более высоких оральных доз, например, 500-10000 мг, и другие, например, нитропруссид натрия, требуют меньших доз, например, 500-2000 $\mu\text{г/кг/день}$. Дозы для нитроглицерина орального назначения обычно составляют 2,5 мг 2 раза в день; подязычно - 0,8 мг 1-4 раза ежедневно; и трансдермально - 0,2-0,4 мг/час. Поскольку ЛД₅₀ большинства этих активных агентов известны из известного уровня техники, то можно начать со схемы лечения более низкой дозировки и увеличивать ее до достижения положительного эффекта, либо вначале использовать схему лечения с более высокой дозировкой, например, в кризисной ситуации и уменьшать ее по мере снятия симптомов.

Людям и L-аргинин, и прогестерон (или биоэквивалент другого прогестина) должны назначаться в соотношении, которое доводит уровень плазмы крови приблизительно до 1-5 мМол/мл и 300-1000 нг/мл (0,9 - 3 $\mu\text{Мол/л}$), соответственно, NO-донор, например, нитропруссид натрия должен назначаться с прогестероном (или биоэквивалентом другого прогестина) в соотношении, обеспечивающем их уровни в плазме крови порядка 1-10 $\mu\text{Мол/л}$ и 300-1000 мг/мл (0,9-3 $\mu\text{Мол/л}$), соответственно.

На фиг.1 показан график серии регистрации, демонстрирующий действие L-аргинина на непроизвольно сокращающиеся полоски мышц матки крысы на 18 день беременности; на фиг.2 - действие релаксации L-аргинина (0,1 мМ-10 мМ) в зависимости от дозы на непроизвольно сокращающиеся полоски матки крыс на разных стадиях беременности, во время родов и post partum. Ткани были получены на 17-22 дни (17,18,19 и 22 дни) беременности, на 22 день во время самопроизвольных родов (с рождением 1-3 детенышей), или на 1 и 2 дня после родов (post partum). Длитель-

ность полного торможения непроизвольных сокращений матки зависит от дозы. Данные анализируются повторными измерениями ANONA на семи группах. Действия L-аргинина от концентраций в 1 мМ значительно ($P < 0,01$) снижались во время самопроизвольных родов в срок и после родов в сравнении с другими периодами. Каждая точка данных представляет среднюю величину $\pm \text{S.E.M.}$ (РЭМ). Общее число исследуемых полосок в каждый временной период было 8-16 от 4-6 животных на группу.

Фиг.3. Действие L-аргинина в зависимости от дозы (0,6 мМ-10 мМ) на непроизвольное сокращение полосок матки от взрослых крыс после овариэктомии. Животные получали подкожно инъекцию эстр-радиола 1 $\mu\text{г}$ - 17b (OVX + E), 2 мг прогестерона (OVX + P), эстрадиол и прогестерон (OVZ + E + P) в кунжутном масле или только масло (OVX + масло) в течение 3 дней до измерений сократительной способности. Величины представляют собой средние РЭМ для 4 полосок от каждого животного от 4 крыс на группу. Данные анализируются повторными измерениями ANONA на четырех группах. * $P < 0,05$ OVX + PVS OVX + E.

Фиг.4. Кривые реакции релаксации на дозу 8-бром-сGMP для маточных тканей от крыс рожающих: самопроизвольно в срок (DEL), преждевременно с ZK299 (PPETEPM DEL) и нерожающих (NONDEL) на 18 день беременности. Каждая точка означает средние величины SEM (РЭМ) для 4 полосок от каждого животного на группу.

Фиг.5 представляет собой диаграмму действия на кровяное давление тестируемых животных 50 мг L-NAME, агента, повышающего артериальное давление, в чистом виде или в комбинации с одним L-аргонином или с L-аргонином и прогестероном (R-5020).

Фиг.6 представляет собой диаграмму действия этих соединений в тех же экспериментах на вес детенышей.

Графики регистраций фиг.1 показывают, что действие L-аргинина (1-3 мМ) (A,B,E), нитропруссида натрия (5 мМ) (C), окиси азота (0,1 мМ) (D) на мышцы в ванночках давало значительную релаксацию. Действия L-аргинина испытывалось противодействием L-NAME (3 мМ) (B) и метилена голубого (0 мМ) (E). Это типичные регистрации 8-16 полосок от 6 животных в каждой группе. Каждый удар от основной линии представляет собой сокращение.

График фиг.1C показывает, что применение нитропруссида натрия (SNP) вызывает устойчивую релаксацию в непроизвольно сокращающихся полосках матки после периода задержки, и что ткани в состоянии расслабления реагируют на хлорид калия. Аналогичные регистрации были получены от 12 полосок матки от 4 животных.

График регистрации полосы на фиг. 1D показывает релаксацию, производимую аутентичным газом окиси азота (0,1 мМ). Аналогичные регистрации были получены 8 полосок от 4 животных.

График регистрации на фиг.1E показывает, что L-аргинин (1 мМ) дает релаксацию непроизвольно сокращающихся тканей и эти действия повторяются в той же полоске (как на фиг.1A) и что действие релаксации L-аргинина (1 мМ) сни-

мается метиленом голубым (0,1 мМ) при добавлении его до применения L-аргинина (В).

В экспериментах, результаты которых показаны на графике фиг.2, ткани брались на 17-22 дни (17,18,19 и 22) беременности, на 22 день (роды) во время самопроизвольных родов (с рождением 1-3 детенышей), или на 1 и 2 дни после родов. Длительность полного торможения самопроизвольных сокращений матки зависит от дозы. Действия L-аргинина при концентрациях в 1 мМ значительно снижаются ($P < 0,01$) во время самопроизвольных родов в срок и в послеродовом периоде, в сравнении со всеми другими периодами. Каждая точка данных представляет среднюю величину РЭМ. Общее количество исследуемых полосок в каждый временной период составило 8-16 от 4-6 животных на группу.

В экспериментах, результаты которых показаны графиком фиг.3, небеременные крысы после овариэктомии получали п/к 1 мкг эстрадиола-17-

(OVX + E), 2 мг прогестерона (OVX + P), эстрадиола и прогестерона (OVX + E + P) в кунжутном масле или только масло (OVX + масло) в течение 3 дней до проведения измерений на сократительную способность. Величины представляют собой среднюю величину РЭМ для 4 полосок от каждого животного из 4 крыс на группу. * $P < 0,05$ OVX + PVS OVX + E.

На графике фиг. 4 показаны кривые реакции релаксации на дозу 8-бромо-сGMP для маточных тканей от крыс, рожающих самопроизвольно в срок (DEL), преждевременно с ZK299 (PPETERM DEL) и нерожающих (NONDEL) на 18 день беременности. Каждая точка представляет среднюю величину РЭМ для 4 полосок от каждого животного из 4 крыс на группу.

Данные в таблице 1 ниже показывают действие введения L-NAME на кровяное давление (мм рт.ст) у беременных крыс.

Таблица 1

Кровяное давление (мм рт.ст)

День беременности	Контрольные	L-NAME	
		25 мг/день	50 мг/день
15 день	121±3 ^a	119±2 ^a	123±3 ^a
18 день	119±3 ^a	144±4 ^b	166±2 ^c
22 день	120 ±5 ^a	146±2 ^b	168±3 ^c

Средние величины с разными буквенными обозначениями над строчкой существенно отличаются ($P < 0,05$).

Данные в таблице 2 ниже показывают данные родов и рожденных детенышей после введения L-NAME беременным крысам.

Таблица 2

	Контрольные	L-NAME	
		25 мг/день	50 мг/день
День родов	22,3 ± 0,2	22,4 ± 0,2	22,7 ± 0,2
Общее число детенышей	59	65	56
Число мертворожденных	2	5	10
Вес детенышей	6,32±0,06 ^a	5,06±0,08 ^B	4,56±0,10 ^c
Общее число животных	8	9	10

Средние величины с разными буквенными обозначениями над строкой существенно отличаются ($P < 0,05$).

Другой эксперимент, использующий "презлампию, индуцируемую L-NAME, показал, что лечение только одним -аргинином частично снижало кровяное давление (фиг.5). Аналогично, у животных, леченных L-NAME и R 5020 (промегестон), агентом, способствующим сохранению беременности без антиминокортикоидного действия или других антагонистических или агонистических свойств, также частично снижалась гипертензия, вызванная L-NAME. Как показано на фиг. 5, когда те же самые дозы L-аргинина и R 5020 давались одновременно, их комбинированное действие снижало кровяное давление до нормального уровня.

Кроме того, оценка веса плодов у животных, подвергшихся лечению, как описано выше, показала внутриутробную задержку в развитии плода (сниженный вес детенышей), типичные презлампиические эмбрионы (фиг.6). Лечение "през-

лампиических" групп животных только одним L-аргинином или только R 5020 не намного, но по статистике значительно повысило вес плодов. На фиг.6 также видно, что комбинированное действие двух соединений, назначенных вместе, значительно повысило вес плода в сравнении с тем, который наблюдался при назначении только одного из соединений, что является достаточно существенным преимуществом для выживания плода при этих условиях.

Из этих исследований можно сделать выводы, что комбинированное лечение L-аргинином с агентом, способствующим сохранению беременности, активность которого "чистая", как у R 5020, обеспечивает результаты, которых нельзя достичь любым типом лекарства без комбинации. Исследования показывают, что основа этой эффективности лежит в способности агента, способствующего сохранению беременности, повысить эффективность окиси азота (или L-аргинина, субстрата окиси азота) в действии расширения кровяных со-

судов и снижения, таким образом, кровяного давления, а также повысить обменный процесс между матерью и плодом с результатом повышения веса плода.

Комбинированное действие смеси этих агентов неожиданно, и, что более важно, оказывает значительное действие на мать и плод при лечении этой комбинацией. Известные случаи в медицине не предполагают такие преимущества, поскольку основой для них является не просто комбинация двух агонистических соединений, а сенсibilизация окиси азота, которую обеспечивает прогестин.

Исследования ясно указывают, что прогестины повышают систему эффектора для окиси азота (не повышают синтез окиси азота).

Способ лечения, используемый в этом изобретении, можно также применять для лечения гипертензии (у мужчин и женщин), климактерических расстройств (приливов, перепадов настроений) у женщин в менопаузе, нарушений, вызванных тромбозами, менструальных расстройств (дисменореи, функционального маточного кровотечения), и кровотечений и др., следуя схеме лечения, описанной здесь.

Без дальнейшего вхождения в детали специалист данной области, используя предшествующее описание, может применять настоящее изобретение в полном объеме. Поэтому предложенные здесь варианты следует рассматривать только в качестве иллюстрации и не ограничивает раскрытие никоим образом.

Полное раскрытие всех заявок, патентов и публикаций, указанных выше и далее, включено сюда ссылкой.

Пример 1.

Лечение преэклампсии.

Беременной женщине (возраст приблизительно 20-40 лет; вес 60-80 кг) обычно во второй половине беременности, проявляющей симптомы преэклампсии, включающие гипертензию (систолическое выше 140 мм и диастолическое выше 90 мм), отеки и протеинурию, назначают от 0,5 до 20 г L-аргинина и 200 мг измельченного до

микрон прогестерона орально ежедневно в трех дозах до снижения симптомов. После этого назначают 0,5-5 мг L-аргинина и 60 мг прогестерона *per os* ежедневно, если диастолическое давление поднимается выше 80 мм; с повышением доз L-аргинина от 5 до 20 мг ежедневно до ремиссии.

Пример 2.

Лечение преэклампсии.

Женщине, проявляющей такие же или похожие симптомы, как в первом примере, назначают ежедневно 2 x 2,5 мг нитроглицерина и 200 мг прогестерона с той же последующей схемой лечения до снижения симптомов.

Пример 3.

Лечение угрозы преждевременных родов.

Женщине на шестом месяце беременности, проявляющей симптомы угрозы преждевременного аборта, включающие кровяные выделения и периодические маточные схватки, назначают ежедневно 17 г L-аргинина и 50 мг прогестерона *per os* ежедневно в трех разделенных дозах до снижения интенсивности симптомов. После этого назначают 5 г L-аргинина и 50 мг прогестерона *per os* ежедневно с увеличением доз L-аргинина до 20 г ежедневно до ремиссии.

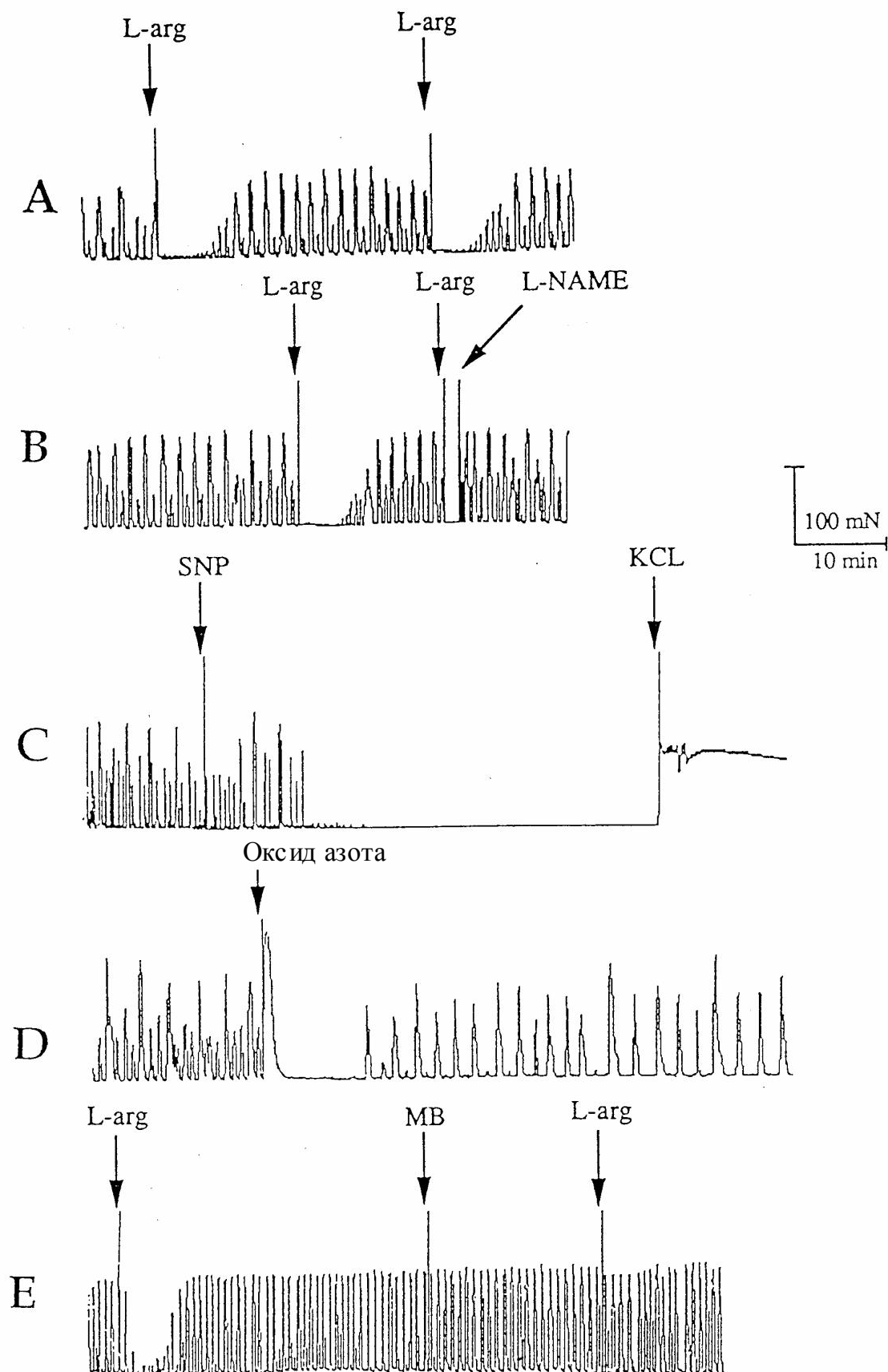
Пример 5.

Лечение угрозы преждевременных родов.

Беременной женщине, проявляющей такие же или схожие симптомы, как и в примере 3, назначают ежедневно 2 x 25 мг нитроглицерина и до 180 мг прогестерона с той же последующей схемой лечения до снижения симптомов.

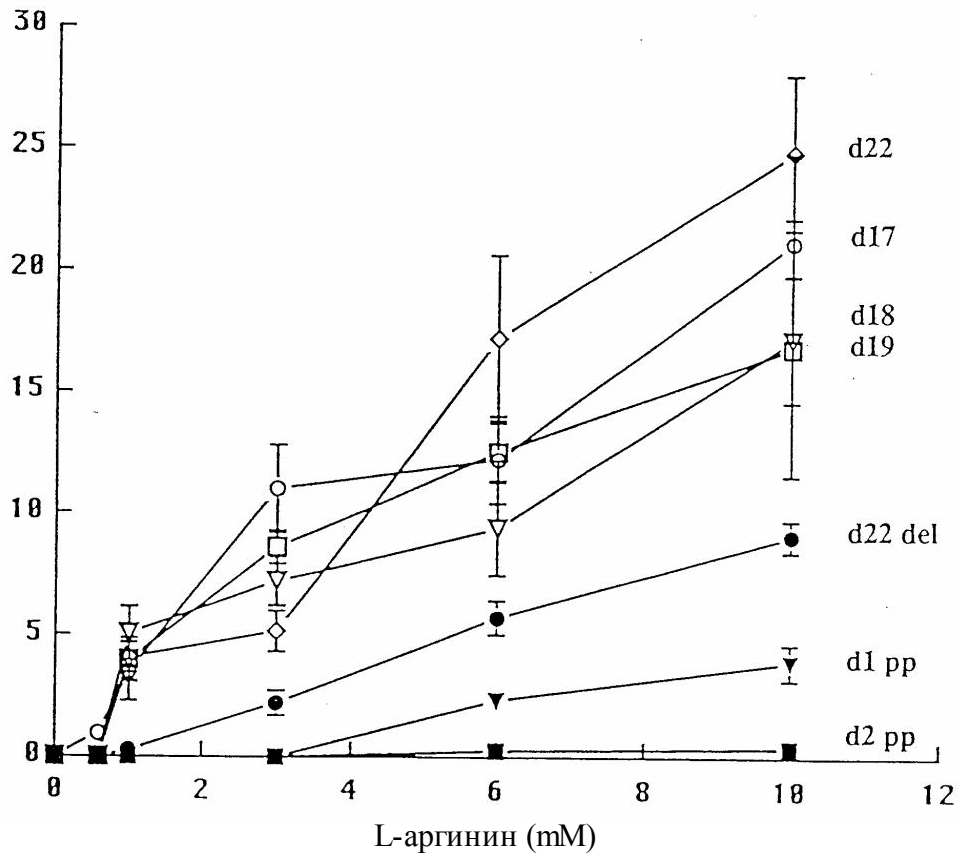
Предшествующие примеры можно повторить с подобным успехом, заменив обобщенно или конкретно описанные реагенты и/или рабочие условия этого изобретения, используемые в примерах.

Из данного описания специалисту легко понять основные характеристики данного изобретения и, не выходя за его рамки, ввести различные изменения и модификации с целью применить его к различным использованиям и условиям.

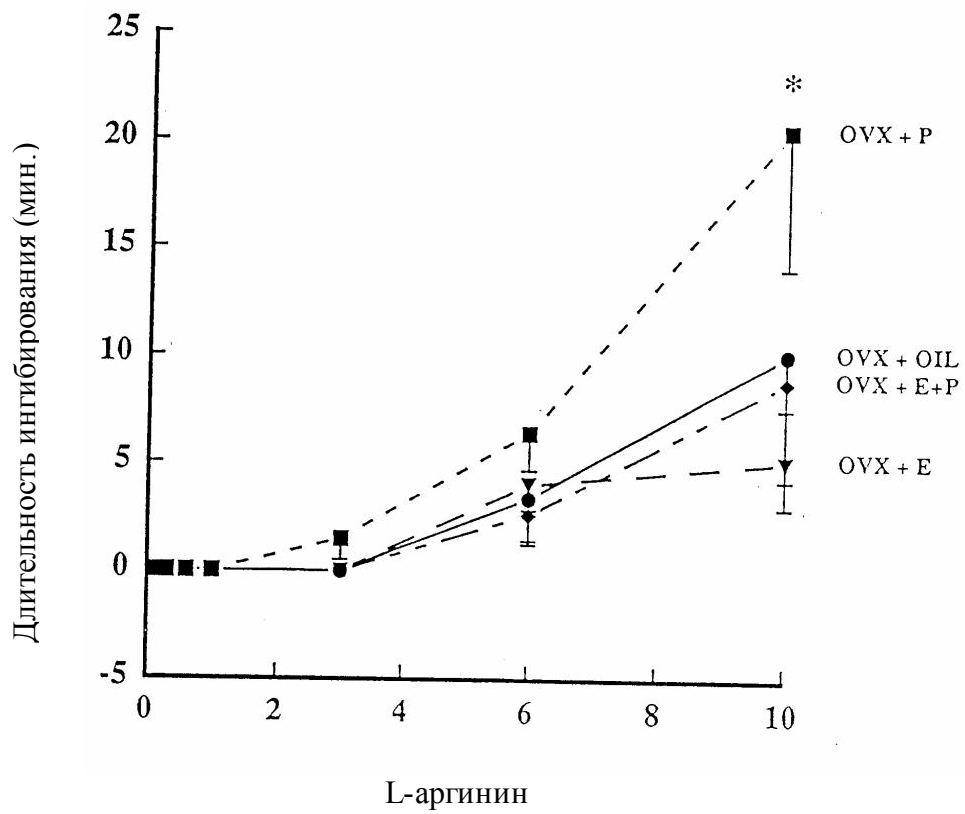


Фиг. 1

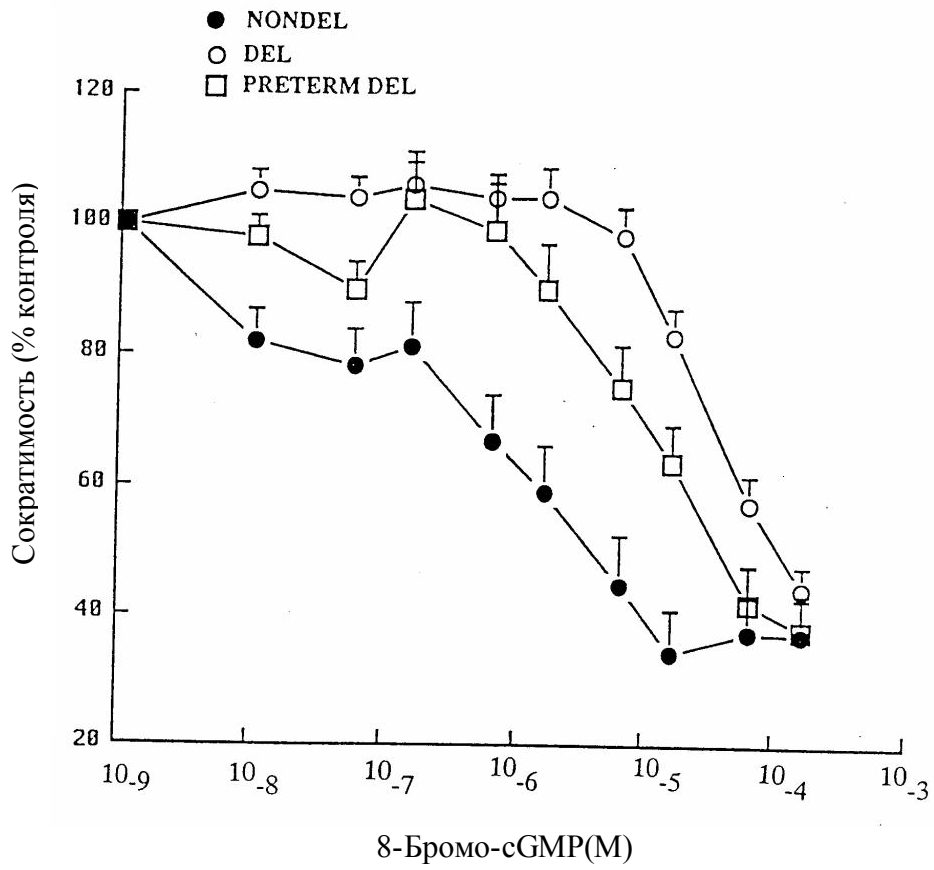
Длительность ингибирования (мин.)



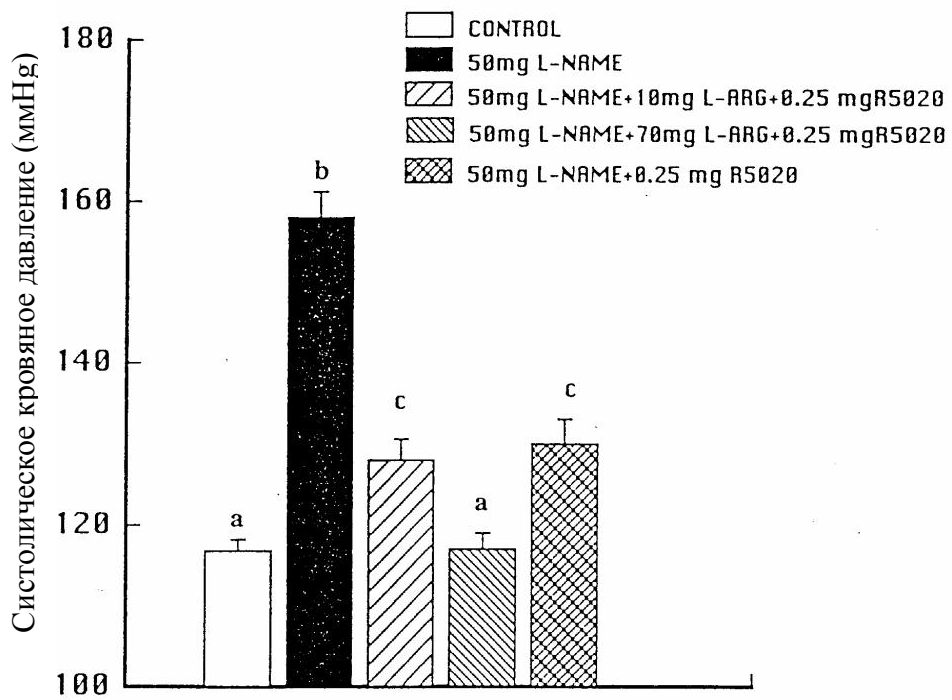
Фиг. 2



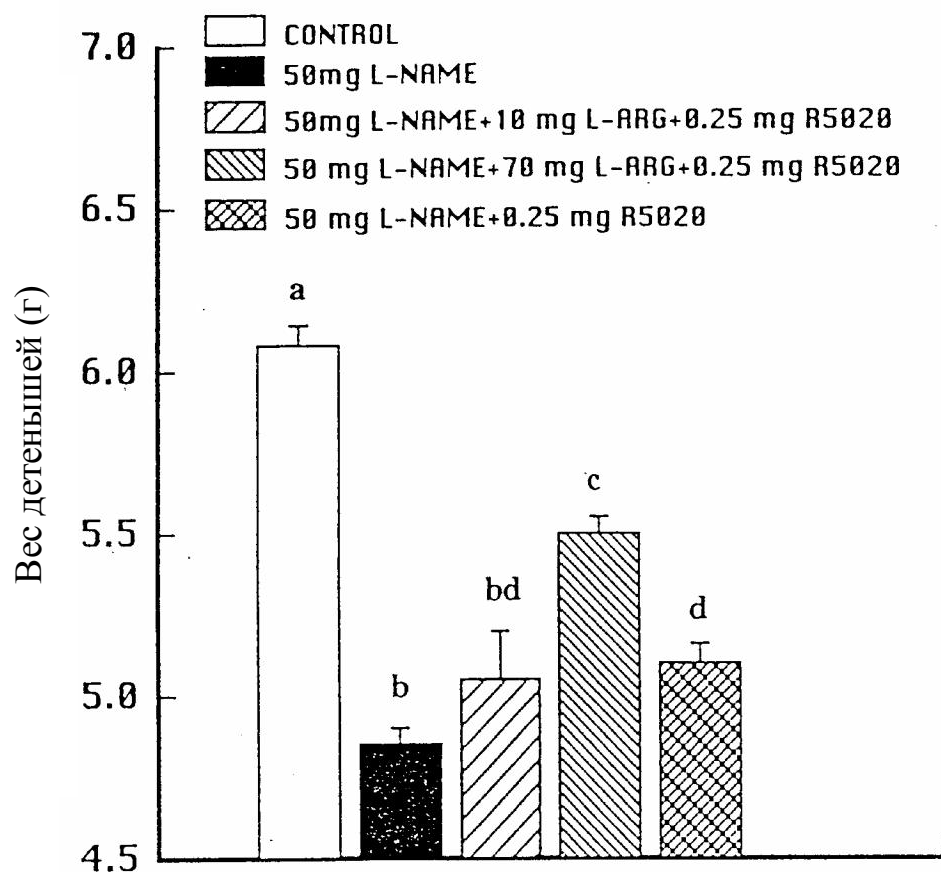
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03
