



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 365 426**

51 Int. Cl.:
A61K 31/4015 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07747831 .1**
96 Fecha de presentación : **27.02.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2011497**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.01.2009**

54 Título: **Fenotropilo para la profilaxis y el tratamiento de apoplejia hemorrágica y fase aguda de apoplejia isquémica.**

30 Prioridad: **28.03.2006 RU 2006109678**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
04.10.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
04.10.2011

73 Titular/es: **Valentina Ivanovna Akhapkina**
Ul. 5-Aya Parkovaya, 33-24
105264 Moscow, RU

72 Inventor/es: **Voronina, Tatiana Aleksandrovna y**
Akhapkin, Roman Vitalevich

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 365 426 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Fenotropilo para la profilaxis y el tratamiento de apoplejía hemorrágica y fase aguda de apoplejía isquémica

Campo de la invención

5 La presente invención se define en las reivindicaciones y se refiere al campo de la medicina, en particular a farmacología y se refiere a preparaciones medicinales que presentan acción compleja, multicomponente en el estado funcional del sistema nervioso central (SNC) y vasos cerebrales.

Técnica anterior

10 Un amplio intervalo de agentes medicinales neurotróficos y cerebrovasculares que se refieren a diversos grupos farmacéuticos, que se usan en terapia compleja de patologías del SNC en enfermedades cerebrovasculares entre las que asumen un papel central apoplejías de diversas etiologías. En este intervalo, cada preparación de diferente dirección farmacológica, que está incluida en un complejo terapéutico, está tomando resueltamente como objetivo eliminar específicamente la intensidad de algún que otro síntoma en complejos sintomáticos de síndromes psiconeurológicos y enfermedades psiconeurológicas. Polipragmasia tiene un número de limitaciones significativas asociadas tanto con la complejidad de hacer esquemas de dosis racional y esquemas de uso simultáneo de muchos
15 agentes medicinales como con pronosticar sus eficiencias y tolerancias así como la posible sinergia de efectos secundarios.

Campo de la invención

La invención se define en las reivindicaciones.

20 El objetivo de la presente invención es desarrollar un agente medicinal universal, desde el punto de vista de la neuropsicofarmacología.

Si este objetivo se logra, será posible conseguir un efecto técnico consistente en la capacidad del agente medicinal de tener, en monoterapia, un efecto complejo sobre el estado funcional del SNC y los vasos sanguíneos en las enfermedades neurocerebrales y cerebrovasculares y de poseer propiedades terapéuticas y profilácticas que prevengan el desarrollo patológico de enfermedades del SNC.

25 El efecto técnico anterior puede lograrse por el uso de N-carbomoil-metil-4-fenil-2-pirrolidón (Fenotropilo) como un agente que presenta actividad neurotrófica-neuromoduladora, cerebrovascular y anti-apoplejía, que se conoce como un agente antihipertensivo y anti-isquémico (en enfermedad cardiaca isquémica (IHD)) (Certificado de Inventor de la URSS N.º 797219, A61K 21/40, 3C07D 207/26; Patente RF N.º 2183117, C1, A61K 31/40; Patente Euroasiática N.º 002380, B1, A61K 31/4015); un agente y una composición farmacéutica que presenta actividad composición que muestran la actividad nootrópica (Patente RF N.º 2050851, C1, A61K 31/40; Patente RF N.º 2240783, C1, A61K 9/20, 31/40, A61P 25/28); y como un agente que presenta actividad antidepresiva (Patente RF N.º 2232578, C1, A61K 31/41, 52, A61P 25/24).

35 Los efectos de este agente sobre una patología cerebrovascular aguda no se han descrito. Se propone usar N-carbomoil-metil-4-fenil-2-pirrolidón (Fenotropilo) como un neuromodulador neurotrófico, cerebrovascular y como un agente anti-apoplejía, que tiene un número de ventajas comparado con el uso de agentes relacionados con diversos grupos farmacológicos, a saber:

40 eficiencia multicomponente pronunciada; simplicidad de la dosis y uso en cualquier forma medicinal; toxicidad relativamente baja ($DL_{30} = 800 \text{ mg/Kg}$); falta de efectos adversos pronunciados; en el curso del consumo no se desarrolla ninguna adicción, dependencia o tolerancia, el agente no se metaboliza en el organismo y sale de él en forma no cambiada.

Como el modelo para evaluar los efectos propuestos de Fenotropilo se ha elegido la forma más grave y más ampliamente dispersa de la patología cerebrovascular -apoplejía-, terapia para la que la terapia no ha obtenido resultados significativos hasta ahora.

45 En los países desarrollados las enfermedades vasculares cerebrales ocupan la tercera posición en las causas de muerte y conducen más frecuentemente a invalidez que las otras. La pérdida de grandes cantidades de población sana requiere los gastos económicos más grandes comparada con la mayoría de las otras enfermedades (véase: Ye.I. Gusev, V.I. Skvortsova y cols., 2003; N.V. Vereschagin, N.V. Varakin, 2001; T.R. Harrison y cols., 1997). Existen dos direcciones principales en el curso de la apoplejía: trombolisis, neuromodulación y neuroprotección. La eficiencia de trombolisis se demuestra por un pluralidad de estudios clínicos; en el momento actual se está
50 buscando activamente hasta que punto están implicados agentes medicinales. Los estudios se han llevado a cabo de acuerdo con el Manual en estudio experimental (preclínico) de nuevas sustancias farmacológicas provistas por el Ministerio de Sanidad de RF en el 2000. Los hallazgos de los estudios se han procesado estadísticamente. Se han calculado los valores promedio y las desviaciones estándar para cada grupo. La exactitud estadística de diferencias

entre los grupos experimentales y los grupos control se han evaluado con el uso de la prueba t de Student, la prueba de porcentajes cuadrados y la prueba de Mann-Whitney. Se han considerado diferencias como seguras a $p < 0,05$ (véase: V.P. Borovkov, 2001; S. Glanz, 1999).

5 **Ejemplo 1. Estudio de acción anti-apoplejía de Fenotropilo con un modelo de apoplejía hemorrágica (hematoma postraumático intracerebral).**

Se han llevado a cabo experimentos en ratas macho exogámicas blancas que tienen pesos desde 200 hasta 250 g. Las ratas se han mantenido en condiciones de vivero con acceso libre a comidas y agua, sometidas al cambio natural de días y noches. Para el propósito de generar apoplejía hemorrágica (HS) en ratas narcotizadas con hidrato de cloral (400 mg/Kg) se llevó a cabo craneotomía estereotáxica y después se destruyó tejido cerebral en el área de la *cápsula interna* con un cuchillo y se inyectó sangre (0,02 a 0,03 ml) bajo una lengua de rata en el lugar de la destrucción. Así, se generó apoplejía bilateral autohemorrágica local en la zona del área de la *cápsula interna* (diámetro 2 mm, profundidad 3 mm) sin dañar las formaciones cerebrales situadas encima y el neocórtex. Animales operados falsamente y animales con HS a los que se suministró una solución salina se usaron como los animales control. Se realizó administración intragástrica de Fenotropilo a una dosis de 100 mg/Kg con el uso de un tubo especial en 5 horas después de la operación y después diariamente durante 7 días en el mismo momento del día \pm 3 minutos.

20 Durante e inmediatamente después de la operación murió el 40% de las ratas. Las ratas sobrevivientes en las primeras horas después de HS se observaron durante 14 días. La influencia de Fenotropilo se evaluó con respecto a la supervivencia de los animales, con respecto al nivel de déficit neurológico sobre la escala de índice de apoplejía de McGrow en la modificación de I.V. Gannushkina (1977) y en el ensayo Rotarod, con respecto al mantenimiento del tono muscular en la prueba de resistir sobre una barra horizontal, con respecto al comportamiento en orientación y exploración en la prueba de campo abierto. El estudio de las funciones cognitivas se llevó a cabo en una unidad estándar para reflejos condicionados de evitación pasiva (CRPA). Se llevó a cabo una prueba de repetición de los CRPA (de mantenimiento de un rastro de memoria) a 24 horas después del entrenamiento así como en los días 25 tercero, séptimo y decimocuarto después de la operación. El tiempo latente de la primera entrada en una cámara oscura se registró cuando se evaluó el mantenimiento de reflejo de cavar.

30 En el primer día después de la operación neurológica se encontraron anomalías (del 90% al 100%) sobre la base de solución salina prácticamente en todos los animales con HS, que se manifiesta como fofez, lentitud de movimientos, debilidad de extremidades, mientras que tales trastornos se observaron en el 30% al 40% de las ratas operadas falsamente (véase Tabla 1). En los casos de HS sobre la base de Fenotropilo se observó déficit neurológico en el 40% al 50% de los animales y no fue prácticamente diferente del grupo de las ratas falsamente operadas. Los trastornos neurológicos manifestados como controlar movimientos en un círculo y parálisis de miembros estuvieron ausentes en animales con apoplejía, que recibieron Fenotropilo y en el grupo con HS + solución salina se observaron trastornos neurológicos en el 40%, 30% y 30% de los animales, respectivamente.

35 Así, en el periodo agudo de HS Fenotropilo manifiesta actividad neurotrópica y cerebrovascular patente y reduce los trastornos de estatus neurológico.

40 El registro de tono muscular en ratas con HS mostró que en el tercer día después de la apoplejía se observó debilitamiento de tono muscular, en un promedio del 40% al 50% de los animales y en los días setenta y cuarenta - en 38% al 36% de los animales (véase Tabla 2). En ratas que recibieron Fenotropilo se observó debilitamiento en 42% al 33% de los animales. En el séptimo día después de la introducción de Fenotropilo se observó debilitamiento del tono muscular en el 25% de los animales y por el día cuarenta esta figura se redujo al 16% y fue estadísticamente fiable comparada con tales figuras en animales con apoplejía (véase Tabla 2).

45 Un estudio de la dinámica de los trastornos de la coordinación del movimiento en ratas con HS mostraron que en los días primero a tercero la coordinación de los trastornos de movimiento en ratas se observó en 48% al 50% de los animales y en los días del diecisiete al cuarenta -en 38% al 45% de los animales sobrevivientes (véase Tabla 3). Fenotropilo en una dosis de 100 mg/Kg redujo trastornos de la coordinación del movimiento en ratas. Aparentemente y estadísticamente se obtuvieron resultados fiables en los días diecisiete al cuarenta después de la apoplejía (véase Tabla 3).

50 El reflejo de cavar de los roedores es una tendencia innata para un espacio ensombrecido restringido. El primer día después de la operación todos los animales mantuvieron el reflejo de cavar, pero en los grupos con HS y sobre la base de administración de de una sola vez de Fenotropilo se incrementó el tiempo latente de llevar a cabo el reflejo (véase Tabla 4).

55 Se encontró durante los estudios que el grupo control de ratas, que durante el tiempo completo del experimento recibió una solución salina (animales intactos), cuando el CRPA se repitió en 24 horas después de entrenamiento (estimulación de dolor en una sección oscura de una cámara), el 80% de los animales recordó una descarga eléctrica y no entró en una cámara "peligrosa" oscura durante el tiempo total de las observaciones. En un día después del entrenamiento las ratas control intactas y las ratas falsamente operadas recordaron bien una descarga

eléctrica en una cámara oscura y 70% al 80% de los animales no entraron en esa sección peligrosa. Las otras ratas entraron en la sección oscura con un periodo latente grande (véase Tabla 5a). Las ratas con apoplejía hemorrágica (HS) redujeron verdaderamente el tiempo latente de entrar en la cámara oscura después de un día después de entrenamiento. Sólo el 25% de los animales no entró en la cámara oscura en absoluto, es decir, recordaron una descarga eléctrica y la memoria en el 75% de las ratas se quebrantó (véase Tabla 5a).

Fenotropilo en una dosis de 100 mg/kg en administración de una sola vez en 5 horas después de la operación (repetición de la CRPA en un día después de la formación) aumentó el número de animales con memoria mantenida al 40% (animales con HS - 25%) y se incrementó el tiempo latente de entrar en una sección peligrosa oscura. Sin embargo, este efecto beneficioso del Fenotropilo después de la administración de una sola vez fue estadísticamente no fiable comparado con aquel en los animales intactos, pero en comparación con el grupo HS ello incrementó el tiempo latente de entrar en la cámara oscura en el 48% y el número de animales con memoria mantenida después de un día en el 60%. En tres días después de la operación en dañar la memoria en animales con HS las cifras estuvieron al mismo nivel (véase Tabla 5a). Después de 3 inyecciones de Fenotropilo se observó un aumento en el tiempo latente de entrar en la cámara oscura y el número de animales, que no entraron en la cámara oscura, también se incrementó, pero incluso estos efectos de Fenotropilo fueron estadísticamente poco fiables (véase Tabla 5a) comparado con aquellos operados falsamente, pero fueron significativamente pronunciados y fiables comparados con aquellos en el grupo de HS con una solución salina.

En los días 7 y 14 después de entrenamiento los animales intactos y los animales falsamente operados recordaron bien la situación negativa y llevaron a cabo CRPA (véase Tabla 5b). En comparación con ellos, en los días 7º a 14º después de HS y de entrenamiento la memoria del animal de estimulación de dolor en una cámara oscura se quebrantó de forma fiable. Y esa dificultad de memoria fue más pronunciada comparada con tales cifras en los días 1 y 3 después de la operación. Así, en 7 días sólo el 16% de los animales recordaron la estimulación negativa, y las otras ratas entraron en la sección peligrosa oscura ya en 28 segundos. Y en 14 días sólo el 9% de los animales preservaron CRPA (véase Tabla 5b).

Fenotropilo, que se inyecta a ratas en una dosis de 100 mg/Kg durante 7 días, reconstruyó trastornos de memoria en el periodo tras la apoplejía en los días 7º y 14º después de la operación de HS. Un aumento estadísticamente fiable (hasta 40%) en las ratas, que recordaron la situación negativa, se observó con la influencia del agente (para las ratas de HS -9%-). El tiempo latente de entrar en una cámara oscura peligrosa aumentó aparentemente 3 veces frente a aquel en las ratas con HS (véase Tabla 5b).

Así, Fenotropilo después de la segunda inyección es capaz de reconstruir memoria quebrantada en apoplejía hemorrágica sobre el modelo del reflejo condicionado de evitación pasiva.

Un estudio de orientación y comportamiento de exploración en las condiciones del procedimiento de campo abierto mostró que durante el primer día después de la operación se observó una reducción significativa (casi 2 veces) en los índices totales de actividad motora y comportamiento de exploración en las ratas HS. Se observaron índices similares del comportamiento de ratas en el día 14 después de HS también, aunque los animales fueron ligeramente más activos (véase Tabla 6). Fenotropilo, cuando se registró su efecto en 3 días después de HS, aumentó los índices totales de comportamiento a los niveles de índice del comportamiento para los animales intactos y operados falsamente (véase Tabla 6). Cuando el efecto de Fenotropilo se registró en 7 días después de la inyección el índice total de comportamiento de movimiento, comparado con aquel en ratas del grupo HS, se incrementó 2,7 veces (véase Tabla 6). En 14 días después de la operación el efecto activador de Fenotropilo sobre el comportamiento se mantuvo.

Se puede ver en la Tabla 7 que durante 14 días después de la operación un animal falleció en el grupo de ratas falsamente operadas. En el grupo con HS + una solución salina durante el primer día murieron el 23% de los animales y en el día 14 este coeficiente alcanzó el 57%. El fenotropilo en una dosis de 100 mg/Kg, cuando se inyectó una vez al día durante 7 días, evitó completamente la muerte de los animales.

Se ha mostrado en los resultados de los estudios que, en comparación con los animales falsamente operados, los siguientes eventos se observaron en ratas con apoplejía hemorrágica (hematoma postraumático intracerebral): déficit neurológico pronunciado, alteración de la coordinación del movimiento, debilidad de los procesos de entrenamiento y memoria e incremento en velocidad de muerte de los animales. Además, se observó profundización de la sintomatología patológica en el día 14º de las observaciones.

Fenotropilo, cuando se inyecta a los animales en una dosis de 100 mg/kg en 5 horas después de la operación, y después diariamente durante 7 días, da como resultado un incremento significativo de trastornos de apoplejía y de trastornos de post-apoplejía. Este agente mejora índices de déficit neurológico en la escala de McGrow ya en un día después de apoplejía y cuando se utiliza en un tratamiento, aumenta tono muscular y mejora coordinación del movimiento sobre los días 7º y 14º días después de la apoplejía. Fenotropilo, cuando se usa por segunda vez, reconstruye memoria quebrantada por apoplejía, mejorando repetición del reflejo condicionado de la evitación pasiva en los días 7º y 14º después de apoplejía. El efecto más pronunciado de Fenotropilo es su capacidad de evitar la muerte de animales con apoplejía hemorrágica completamente.

Así, Fenotropilo (100 mg/kg, internamente), cuando se inyecta como un tratamiento para 7 días, muestra acción anti-apoplejía pronunciada sobre ratas en un modelo de apoplejía hemorrágica (hematoma post-traumático intracerebral), que se manifiesta por sí mismo en incrementar el estatus neurológico, el comportamiento general, las funciones cognitivas y lo más importante, la prevención de muertes de animales.

5 Ejemplo 2. Evaluación de eficiencia de Fenotropilo en un modelo de apoplejía isquémica aguda

Para este estudio se usó un modelo de isquemia cerebral local para ratas con oclusión distal de arteria cerebral medial (OMCA), que se describió primero por S.T. Chen (1989). Las cabezas de los animales, que se narcotizaron con hidrato de cloral (300 mg/Kg, intraperitonealmente) se fijaron de forma rígida en una posición lateral, con el lado izquierdo hacia arriba. Después de cortar la piel por la mitad entre la aurícula izquierda y el ojo derecho las fibras musculares se movieron apartándose hacia arriba de la superficie del cráneo. Usando una máquina perforadora dental con una fresa de 0,5 mm de diámetro, se hizo un agujero de aproximadamente 3-4 mm de diámetro en la zona de la sutura entre el hueso escamoso y el hueso frontal, exponiendo así el lugar donde la arteria cerebral medial y la vena cerebral inferior se cruzan.

Con el uso de un microscopio (Olympus SZ-CTV), con una gran magnificación (14,0 x 3,3), se situó un gancho de metal especial bajo la arteria cerebral medial izquierda. La oclusión de la arteria cerebral medial se llevó a cabo mediante un procedimiento de electro-coagulación proximal al lugar de su bifurcación dentro de las ramificaciones frontal y parietal. En este momento podría observarse en el campo visual del microscopio la obstrucción del flujo sanguíneo a lo largo de la arteria cerebral medial anteriormente respecto al lugar de oclusión. Después de la operación la herida se cerró capa-por-capo y se llevó a cabo la oclusión ipsilateral de la arteria carótida común.

Con el fin de evaluar la influencia del agente en el área de isquemia se usó el procedimiento de tinción histoquímica del tejido cerebral con cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) (Bederson J.B. y cols., 1986).

Para lo cual, en 72 horas después de la OMCA los animales narcotizados se decapitaron, su cerebro se retiró del cráneo.

Se prepararon seis rebanadas frontales con grosor de 1 mm, que se tiñeron después con TTC. Entonces, cada rebanada teñida se exploró en dos lados y se llevó a cabo su planimetría computerizada con el uso del programa informático MOCHA (Jandel Scientific, versión 1.2.0.0). El área del hemisferio ipsilateral (IH) y el área del daño hepático (DA). El porcentaje del volumen focal con respecto al volumen del hemisferio ipsilateral se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula: $V_{(DA)}/V_{(IH)} = (S_{(DA)1} + S_{(DA)2} + \dots + S_{(DA)6}) / (S_{(IH)1} + S_{(IH)2} + \dots + S_{(IH)6})$, donde $S_{(DA)}$ y $S_{(IH)}$ son las áreas de DA y de IH para cada rebanada (Roda J.M. y cols., 1995).

Con el fin de evaluar dinámicas de quebrantos en comportamiento y de afección de los animales se aplicó un complejo de procedimientos usados en neuropsicofarmacología (T.A. Voronina, 2000). El entrenamiento y la memoria de las ratas se estudió en un modelo del reflejo condicionado de evitación pasiva (CRPA, una "Evitación pasiva" unitaria de Lafayette Instrument Co., EE.UU.). Se trataron los animales para CRPA en 24 horas después de la operación y se llevó a cabo repetición refleja en un día después de entrenar durante 3 minutos (180 segundos).

El estado neurológico de los animales se determinó en la escala de índice de Apoplejía de McGrow para jerbos mongoles (McGrow, 1977) en la de modificación por I.V. Gannushkina (1996). La evaluación se llevó a cabo por valoraciones. Si varios síntomas de déficit neurológicos estuvieron presentes en animales, la gravedad del estatus se determinó como una suma de las puntuaciones correspondientes. Se contaron los números de ratas con sintomatología neurológica ligera (Índice de apoplejía desde 0,5 hasta 2,5) y grave (Índice de apoplejía desde 3 hasta 10).

Los estudios se llevaron a cabo en ratas macho de la línea Vistar (250-300 g) mantenidas en un vivero con acceso libre a comidas y agua y en un modo de cambio de día y noche de 12 horas.

En el curso del estudio los animales se distribuyeron al azar en 11 grupos. Se inyectó intraperitonealmente fenotropilo en dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 300 mg/kg en tres grupos de animales 60 minutos antes de la operación y en tres grupos de animales en 5 minutos después de la operación. Una solución salina se inyectó en animales operados falsamente. Después las soluciones se inyectaron una vez en los días 2º y 3º. Las soluciones se inyectaron estrictamente al mismo tiempo en los días ± 3 minutos.

Un análisis del estatus neurológico de los animales, que se registró en la escala del Índice de Apoplejía de McGrow, mostró que en todos los animales operados se observó ligera alteración del estado neurológico en las formas de temblor, disminución de irritabilidad, lentitud de movimientos, semiptosis unilateral. La dinámica de desarrollo para alteración del estado neurológico durante 72 horas después de la operación se muestra en la Tabla 8.

Se debería tener en cuenta que ya está en el primer día se observan menos frecuentemente temblor y lentitud de movimientos en los animales que recibieron Fenotropilo antes de proceder a la operación (véase Tabla 8). Si la fofez, la lentitud de movimientos, el temblor en el grupo de animales de control con oclusión de la arteria cerebral medial, que no recibió el agente, se identificaron en los días 2º y 3º, después los animales, que recibieron

Fenotropilo en el periodo tras la operación, mostraron dinámica positiva más rápida: el número de animales con temblor y lentitud de movimientos bajó significativamente en el 2º día. El pronunciamiento y el crecimiento de la semiptosis en animales puede ser evidencia de un edema post-operación.

5 En el curso de estudio de procedimientos de entrenamiento y memoria en un modelo de los CRPA se obtuvieron los hallazgos mostrados en la Tabla 9. Tuvo lugar alteración de memoria pronunciada en animales con OMCA. Sobre la base de Fenotropilo el tiempo latente de entrar en la sección oscura de una cámara se incrementó significativamente para todos los grupos de animales con OMCA comparados con aquel para el Grupo 5. Cuando se usó Fenotropilo para la profilaxis 60 minutos hasta OMCA, estos índices no tuvieron diferencias fiables con los Grupos 1 y 2, que indicaron efecto neurotrófico alto del agente.

10 En 72 horas después de la operación el área de daños en animales control (Grupo 5) fue de $11,5 \pm 0,98\%$ del volumen del hemisferio ipsilateral (la fórmula de cálculo se da anteriormente). Las siguientes figuras se registraron para animales, que recibieron Fenotropilo en dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg 60 minutos antes de la operación: $7,4 \pm 0,72\%$ (Grupo 6); $6,52 \pm 0,58\%$ (Grupo 7); $6,03 \pm 0,75\%$ (Grupo 8). La inyección post-operación de Fenotropilo (en 5 minutos después de la oclusión de la arteria cerebral medial) en dosis de 100 mg/Kg, 200 mg/Kg, 300 mg/Kg dio los siguientes resultados: $11 \pm 0,87\%$ (Grupo 9); $10,79 \pm 0,97\%$ (Grupo 10); $9,5 \pm 0,94\%$ (Grupo 11) (véase Tabla 10).

20 Los hallazgos de trabajo muestran que Fenotropilo preserva las funciones de memoria, mejora el estatus neurológico de los animales en los periodos tras la operación, lo que se evidencia por un incremento en el tiempo latente de la primera entrada en la sección oscura de una cámara en el CRPA, por el comportamiento más activo de los animales, por menos frecuencia de temblor comparada con aquella en el grupo control 5. Inyecciones profilácticas del agente (60 minutos antes de la operación) dieron como resultado una reducción significativa en el área de daño focal: a 100 mg/Kg - del 36%; 200 mg/Kg - del 43%; 300 mg/Kg - del 48% comparados con los resultados en el grupo control de animales. La inyección de fenotropilo en dosis de 100 mg/Kg, 200 mg/Kg y 300 mg/Kg en los 5 minutos después de la operación produjo reducciones en el área de daño cerebral del 4%, 6% y 17%, respectivamente.

Se ha mostrado que la dependencia "dosis-efecto" en apoplejía isquémica fue la más importante en el periodo de manifestación aguda de la apoplejía, cuando se requirieron dosis más altas. El Fenotropilo presenta su eficiencia más alta a una dosis de 300 mg/Kg y especialmente en uso profiláctico.

30 **Ejemplo 3. Evaluación de la actividad anti-apoplejía de Fenotropilo en inyecciones de tratamiento durante 10 días.**

Se llevó a cabo un estudio de acuerdo con la metodología descrita en el Ejemplo 2 en dos grupos de animales (20 ratas en cada grupo). El Fenotropilo (300 mg/kg) y una solución salina en volúmenes equivalentes se inyectan intraperitonealmente durante 10 días (a la misma hora del día ± 3 minutos), empezando a partir del 1º día en 5 minutos después de la operación. Las ratas para los estudios experimentales se seleccionaron de tal forma que 35 tuvieran peso corporal similar ($270 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$).

Se determinaron volúmenes de los hemisferios ipsilaterales en el 3º y el 10º días del experimento, así como se estudiaron el estatus patológico-morfológico del hemisferio y del área de daño cerebral.

40 Se observó en ambos grupos en el día 10 cicatrización del área de daño. Se observó en el grupo control encogimiento del hemisferio (contracción hacia el área de daño) a diferencia del grupo de ratas que recibieron Fenotropilo y no se identificó ningún encogimiento del hemisferio en el grupo en Fenotropilo en el día 10º. El volumen del hemisferio ipsilateral en el primer grupo de animales se redujo en un 10% en promedio (véase Tabla 11). Se identificaron cambios no fiables en el volumen del hemisferio en el segundo grupo, que eran evidencia de un efecto terapéutico incluso después de tratamiento a corto plazo de uso de Fenotropilo.

45 Los estudios realizados muestran que Fenotropilo muestra actividad neurotrófica y cerebrovascular pronunciada, que tiene acción anti-apoplejía en las condiciones de apoplejías hemorrágicas experimentales e isquémicas como formas de patología del SNC.

50 Sobre la base de usar Fenotropilo en un periodo agudo de trastornos del SNC en patología cerebrovascular de diversas etiología la pauta de memoria funcional, las reacciones de comportamiento y el tono muscular se reconstruyen, y los déficits neurológicos pronunciados se eliminan con total restauración del estatus psiconeurológico después de inyecciones de tratamiento del agente en estadios suficientemente tempranos de la enfermedad.

En una apoplejía cerebral la inyección de una dosis terapéutica prácticamente mínima del agente (100 mg/Kg) previno la muerte de los animales en el 100% de casos. Al mismo tiempo, el 57% de las ratas murió en el grupo control.

55 En una apoplejía cerebral Fenotropilo, que se inyectó 60 minutos antes de la operación y una vez al día durante tres

días, redujo un área de daño cerebral el 42% en promedio (el 48% cuando utilizando una dosis de 300 mg/Kg), lo que evidencia su eficiencia y sus posibilidades de uso para el propósito de profilaxis y tratamiento de trastornos cerebrovasculares y desarrollo de enfermedades del SNC. Las inyecciones de Fenotropilo en dosis de 100, 200 y 300 mg/kg en 5 minutos después de las operaciones y de acuerdo con el esquema de 3 días presentaron un efecto menos pronunciado (17% a una dosis de 300 mg/kg) para este índice durante un período de manifestación aguda de apoplejía, pero la prolongación del curso del tratamiento hasta 10 días contribuyó a la prevención de cambios destructivos en el cerebro.

La eficiencia de Fenotropilo según se encuentra para apoplejías de diversas etiologías va más allá de sus propiedades farmacéuticas, que se describen en el documento RU 2 050 851 C1; Selyanina y Shutov "Experience in applying phenotropyl in patients with initial manifestations of insufficient blood circulation in the brain" *Nervous Diseases*, n.º 4, 2005; Gerasimova: "Clinical and immunological effects of phenotropyl on the effects of cerebral stroke", *Journal of Neurology and Psychiatry*, n.º 5, 2005; Atrapkina y Voronina: "The spectrum of pharmacological effects of phenotropyl" *Pharmatetra*, N.º 13, 2005 y muestra que Fenotropilo es un agente parental para medicinas de una nueva generación, que presenta actividad neurotrófica universal y puede asegurar reestructuración (neuromoduladora) conmensurable del estado funcional del SNC, que, a su vez, conduce a diversos efectos multicomponentes, incluyendo propiedades cerebrovasculares-neuroprotectoras, dependiendo de algunos u otros trastornos o enfermedades del SNC.

Bibliografía

1. N.V. Vereschagin, Yu.Ya. Varakin. Stroke registers in Russia: results and methodological aspects of the problem // *Journ. of neurol. and psychiatr.*, llamada después S.S. Korsakov (Suplemento "Stroke"). - M., 2001. N.º 1, p. 34-40. 2. *Internal diseases*, ed. por T.R. Harrison y cols. M.: Meditsina, 1997. V. 10, 494 páginas.
3. T.A. Voronina, R.U. Ostrovskaya. Methodical Guidance on studying nootropic activity of pharmacological substances // En el libro: *Manual on experimental (preclinical) studies of new pharmacological substances*. M., 2000. p. 153-158.
4. T.A. Voronina, S.B. Seredenin. Methodical Guidance on studying tranquilizing (anxiolytic) action of pharmacological substances // En el libro: *Manual on experimental (preclinical) studies of new pharmacological substances*. M., 2000. p. 126-130.
5. I.V. Gannushkina. Pathophysiological mechanisms of cerebral blood flow and new directions in their prophylaxis and treatment // *J. of neuropathol. and psychiatr.* M. 1996. N.º 1, p. 14-18.
6. I.V. Gannushkina. *Functional angioarchitecture of brain*. M., Meditsina, 1977, p. 224.
7. Ye.I. Gusev. The problem of stroke in Russia. // *Journ. de neurol. y psychiatr.*, llamada después S.S. Korsakov (Suplemento "Stroke"). M., 2003. N.º 9, p. 3-7.
8. Ye.I. Gusev, V.I. Skvortsova. *Cerebral ischemia*. M., Meditsina, 2001.
9. Ye.I. Gusev, V.I. Skvortsova, L.V. Stakhovskaya. Epidemiology of stroke in Russia. // *Journ. de neurol. y psychiatr.*, llamada después S.S. Korsakov (Suplemento "Stroke"). M., 2003. N.º 8, p. 4-9.
10. A.N. Makarenko, N.S. Kositsin, S.V. Karpenko, V.A. Mishina. Certificado de Inventor N.º 1767518 de 3-11-1990.
11. *Manual on experimental (preclinical) studies of new pharmacological substances*. M., 2000, p. 159-161.
12. Bederson J.B., Pitts L.H., Germano S.M., Nishimura M.C., Davis R.L., Bartkowski H.M. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rat // *Stroke*. - 1986. - V.17. - P. 1304-1308.
13. Chen S.T., Hsu C.Y., Hogan E.L., Maricq H., Balentine J.D. A model of focal ischemic stroke in the rat reproducible extensive cortical infarction // *Stroke*. - 1989. - V.17, N.º 4. - P. 738-743.
14. Jackowski A., Crockard A., Burnstock G., Ross Russell R., Kristek F. The time course of intracranial pathophysiological changes following experimental subarachnoid haemorrhage in the rat // *Journal of cerebral blood flow and metabolism*. - 1990. - V. 10. - P. 835-849.
15. Roda J.M., Carceller F., Diez-Tejedor E., Avendano C. Reduction of infarct size by intra-arterial nimodipine administered at reperfusion in a rat model of partially reversible brain focal ischemia // *Stroke*. - 1995. - V.26, N.º 10, p. 1888-1892.
16. Smith S., Hodges H., Sowinski P. Long-Term beneficial effects of BW619C89 on neurological deficit, cognitive deficit and brain damage after middle cerebral artery occlusion in the rat // *Neuroscience*. - 1997. - V. 77, N.º 4, p. 1123-1135.

Tabla 1. Influencia de Fenotropilo (100 mg/kg, internamente) sobre déficit neurológico en ratas en el 1º día de apoplejía hemorrágica (en escala de McGrow)

Síntomas neurológicos	Número de animales con diversa sintomatología neurológica, %		
	1 día después de la operación		
	Grupos de animales		
	Falsamente operados + solución salina	Apoplejía + solución salina	Apoplejía + Fenotropilo
Flojera, lentitud de movimientos	40	100	50
Debilitamiento de miembros	30	90	40*
Control de movimientos	0	40	0*
Paresia de 1-4 extremidades	0	30	30
Parálisis de 1-4 extremidades	0	30	0*

* - fiabilidad de diferencias de ratas con apoplejía a $p < 0,05$ (χ^2)

5 Tabla 2. Influencia de Fenotropilo sobre tono muscular de animales en la prueba de barras horizontales después de apoplejía hemorrágica

Grupo de animales	Número de animales incapaces de subirse en una barra horizontal, en unidades absolutas y %							
	1º día		3º día		7º día		14º día	
	unidades absolutas	%	unidades absolutas	%	unidades absolutas	%	unidades absolutas	%
Intactos (sin operación)	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
Falsamente operados	1/10	10	2/10	20	1/10	10	0/9	0
Apoplejía	10/23	43*	9/18	50*	5/13	38*	4/11	36*
Apoplejía + Fenotropilo	5/12	42	4/12	33	3/12	25	2/12	16**

* - fiabilidad de diferencias de ratas falsamente operadas a $p < 0,05$ (χ^2) ** - fiabilidad de diferencias de ratas de HS a $p < 0,05$ (χ^2)

Tabla 3. Influencia de Fenotropilo sobre la coordinación del movimiento en animales en la prueba de Rotarod después de apoplejía hemorrágica

Grupo de animales	Número de animales incapaces de mantenerse debidamente sobre una varilla rotatoria (3 rpm) durante 2 minutos, en unidades absolutas y %							
	1º día		3º día		7º día		14º día	
	unidades absolutas	%	unidades absolutas	%	unidades absolutas	%	unidades absolutas	%
Intactos (sin operación)	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
Falsamente operados	2/10	20	3/10	30	1/10	10	1/9	10
Apoplejía	11/23	48*	9/18	50	5/13	38*	5/11	45*
Apoplejía + Fenotropilo	5/12	42	4/12	33	0/12	0**	0/12	0**
* - fiabilidad de diferencias de ratas falsamente operadas a $p < 0,05$ (χ^2) ** - fiabilidad de diferencias de ratas de HS a $p < 0,05$ (χ^2)								

5

Tabla 4. Influencia de Fenotropilo en llevar a cabo el reflejo de cavar.

Grupos de animales	Tiempo latente de entrada en una cámara oscura durante el entrenamiento en el reflejo de cavar
	1 día después de la operación
Animales intactos (sin operación)	12,8 1,2
Animales falsamente operados	13,03±0,9
Animales con apoplejía	35,2±10,1
Fenotropilo	30,6±8,8

Tabla 5a. Influencia de Fenotropilo sobre repetición de los CRPA en ratas con hematoma intracerebral post-traumático.

Grupos de animales	Repetición de los CRPA en:			
	24 horas después de entrenamiento		3 días	
	Tiempo latente de entrada en una cámara oscura, en segundos	Número de ratas que no entraron en una cámara oscura, %	Tiempo latente de entrada en una cámara oscura, en segundos	Número de ratas que no entraron en una cámara oscura, %
Intactos (sin operación)	156,0±24,0	80	152,5±14,3	80
Falsamente operados	143,7±16,3	70	137,6±17,4	65
Apoplejía	68,3±26,4	25*	71,4±39,3*	28
Apoplejía + Fenotropilo	101,1 ±24,2**	40**	98,3±18,7	40**

* - fiabilidad de diferencias de ratas falsamente operadas a $p < 0,05$ (χ^2) ** - fiabilidad de diferencias de ratas de HS a $p < 0,05$ (χ^2)

Tabla 5b.

Grupos de animales	Repetición de los CRPA en:			
	7 días		14 días	
	Tiempo latente de entrada en una cámara oscura, en segundos	Número de ratas que no entraron en una cámara oscura, %	Tiempo latente de entrada en una cámara oscura, en segundos	Número de ratas que no entraron en una cámara oscura, %
Intactos (sin operación)	143,1 ±16,5	75	133,6±25,1	60
Falsamente operados	124,3±22,0	60	114,2±20,6	55
Apoplejía	28,0±2,9*	16*	23,7±11,2*	9*
Apoplejía + Fenotropilo	75,2±24,1**	30**	83,2±26,7**	40**

* - fiabilidad de diferencias de ratas falsamente operadas a $p < 0,05$ (χ^2) ** - fiabilidad de diferencias de ratas de HS a $p < 0,05$ (χ^2)

Tabla 6. Influencia de Fenotropilo sobre comportamiento de orientación y explorador y actividad motora de animales en las condiciones de la metodología después de apoplejía hemorrágica

Grupos de animales	Actividad motora horizontal	Actividad motora vertical	Exploración de agujeros	Índice total
1º día después de la operación				
Intactos	15,6±2,3	5,6±1,4	3,3±0,9	24,5±5,4
Falsamente operados	14,7% 1,9	2,9±0,6	3,2±0,7	20,8±2,6
HS + solución salina	7,3± 1,1*	2,7±0,8	1,8±0,3	11,8±2,0*
HS + Fenotropilo	8,8±3,5	4,4±2,1	1,3±0,5	14,5±5,5
3º día después de la operación				
Intactos	14,0±1,2	5,1 ±1,1	3,2±0,8	22,3±2,5
Falsamente operados	13,7±2,3	3,2±0,8	3,1 ±0,5	20,0±2,3
HS + solución salina	6,2±1,2*	2,7±0,4	1,7±0,5	10,6± 1,5
HS + Fenotropilo	15,2±5,4	4,5±1,5	1,9±0,7	21,6 ± 6,1**
7º día después de la operación				
Intactos	13,6±2,3	5,3±1,4	4,1 ±1,2	23,0±5,7
Falsamente operados	13,4±2,1	4,1 ±2,8	2,9±0,6	20,4±3,5
HS + solución salina	7,8±1,9	3,2±1,3	2,4±0,5	13,4±2,9
HS + Fenotropilo	20,9±4,1**	10,9±3,2	4,6±1,3	36,4±5,6
14º día después de la operación				
Intactos	12,4±2,5	5,6±1,3	3,5±1,2	21,5±5,9
Falsamente operados	13,4±2,2	6,2±1,4	3,3±0,6	22,9±3,5
HS + solución salina	8,1 ±2,4*	3,7±1,4	3,2±1,3	15,0±3,7*
HS + Fenotropilo	12,2±2,8	6,9±1,9	3,0±0,7	22,1 ±3,5**
* - fiabilidad de diferencias de ratas falsamente operadas a $p < 0,05$ (prueba t de Student; χ^2) ** - fiabilidad de diferencias de ratas de HS a $p < 0,05$ (prueba t de Student; χ^2)				

Tabla 7. Influencia de Fenotropilo sobre la supervivencia de animales después de HS.

Grupo de animales	Número de animales fallecidos en el plazo de 14 días después de apoplejía hemorrágica							
	1º día		3º día		7º día		14º día	
	uni- dades ab- solu- tas	%	uni- dades ab- solu- tas	%	uni- dades ab- solu- tas	%	uni- dades ab- solu- tas	%
Falsamente operados	0/10	0	0/10	0	0/10	0	1/10	10
HS + solución salina	7/30	23*	5/23	22*	5/18	28*	2/13	15*
Apoplejía + Fenotropilo	0/12	0**	0/12	0**	0/12	0**	0/12	0**
* - fiabilidad de diferencias de ratas falsamente operadas a $p < 0,05$ (χ^2) ** - fiabilidad de diferencias de ratas de HS a $p < 0,05$ (χ^2)								

Tabla 8. Trastornos neurológicos en animales con OMCA.

Número de animales por grupo	1 día				2 días				3 días			
	Fiebra, lentitud de movimientos	Temblor	Semiptosis unilateral	Control de movimientos	Fiebra, lentitud de movimientos	Temblor	Semiptosis unilateral	Control de movimientos	Fiebra, lentitud de Temblor	Semiptosis unilateral	Control de movimientos	
n.º 3: solución salina - falsamente operados	6	3	2	0	1	0	3	0	1	0	1	0
n.º 4: 200 mg/kg de Fenotropilo falsamente operados	4	2	3	0	0	0	4	0	0	0	0	0
n.º 5: solución salina + OMCA	8	5	4	3	5	2	5	1	5	0	3	1
n.º 6: 100 mg/kg de Fenotropilo + OMCA	2	2	4	0	1	0	5	0	1	0	3	0
n.º 7: 200 mg/Kg de Fenotropilo + OMCA	3	3	4	0	1	0	5	0	1	0	3	0
n.º 8: 300 mg/Kg de Fenotropilo + OMCA	2	2	4	0	1	0	5	0	0	0	3	0
n.º 9: OMCA + 100 mg/kg de Fenotropilo	5	3	4	0	3	0	5	0	2	0	3	0
n.º 10: OMCA + 200 mg/kg de Fenotropilo	5	3	3	0	3	0	4	0	1	0	3	0
# 11: OMCA + 300 mg/Kg de Fenotropilo	4	3	4	0	2	0	5	0	1	0	3	0

Nota: Las figuras muestran el número de animales en cada grupo, que presentan los signos enumerados.

Tabla 9. Influencia de Fenotropilo en entrenamiento (CRPA) de ratas durante un periodo agudo de apoplejía isquémica (OMCA) en 24 horas después de la operación y durante la repetición de pruebas en mantenimiento de CRPA en 24 horas después de entrenamiento

N.º	Grupos de animales	Tiempo latente de entrada en una sección de cámara oscura
1.	Control: solución salina	101,2 ± 19,0
2	Control: Fenotropilo sin OMCA	105,9±25,7
3	Solución salina, falsamente operados	69,7±20,7
4	200 mg/kg de Fenotropilo, falsamente operados	95,9±24,9
5	Solución salina + OMCA	48,5±17,5*
6	100 mg/kg de Fenotropilo + OMCA	93,6±22,3**
7	200 mg/kg de Fenotropilo + OMCA	104,6±18,8**
8	300 mg/kg de Fenotropilo + OMCA	90,6±22,6**
9	100 mg/kg de Fenotropilo + OMCA	83,3±26,1**
10	200 mg/kg de Fenotropilo + OMCA	84,5±19,6**
11	300 mg/kg de Fenotropilo + OMCA	67,6±18,4**

* - fiabilidad de las diferencias en relación con el Grupo 1 a $p < 0,05$ ** - fiabilidad de las diferencias en relación con el Grupo 5 a $p < 0,05$

5

Tabla 10. Tamaño de un área de daño cerebral en OMCA.

Grupos de animales	Volumen de hemisferio ipsilateral (IH), mm ³	Volumen del área de daños (DA), mm ³	relación DA/IH, %
Grupo 5	765,6±3,77	88±7,57	11,5 ± 0,98
Grupo 6	786,6±4,74	58,2 ± 5,71	7,39 ± 0,72*
Grupo 7	739,77±4,8	49,2 ± 6,13	6,52 ± 0,58 *
Grupo 8	797±4,33	48,1 ± 5,99	6,03 ± 0,75
Grupo 9	787,9±5,24	86,5±6,53	11 ± 0,87
Grupo 10	794,8±4,27	85,9±7,78	10,8 ± 0,97
Grupo 11	801,2 ± 3,63	76,2±7,59	9,5 ± 0,94

* $p < 0,01$ en comparación con el Grupo 5 (animales de control con OMCA sin el agente).

Tabla 11. Cambio en el volumen del hemisferio ipsilateral en OMCA.

N.º	Grupos de animales	Volumen de hemisferio ipsilateral, mm ³ , en el tercer día	Volumen de hemisferio ipsilateral, mm ³ , en el 10º día
1	OMCA + solución salina	770,74 ± 72	693,53 ± 4,12*
	OMCA + 300 mg/kg de Fenotropilo	772,4±4,5	773,17 ± 3,83
* - fiabilidad de las diferencias en relación con el control en el tercer día para el Grupo 1 a p < 0,01.			

REIVINDICACIONES

1. El uso de N-carbomoil-metil-4-fenil-2-pirrolidón para la fabricación de un medicamento para la profilaxis y el tratamiento de la apoplejía hemorrágica y la fase aguda de apoplejía isquémica.
 2. N-carbomoil-metil-4-fenil-2-pirrolidón para su uso en la profilaxis y tratamiento de la apoplejía hemorrágica y la fase aguda de apoplejía isquémica.
- 5