



CONFÉDÉRATION SUISSE

OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

⑪ CH 655 007 A5

⑤① Int. Cl.4: A 61 K 31/40
A 61 K 31/38

Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein
Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

// C 07 D 209/10, 335/06

⑫ FASCICULE DU BREVET A5

⑲ Numéro de la demande: 3786/83	⑦③ Titulaire(s): ADIR, Neuilly-sur-Seine (FR)
⑳ Date de dépôt: 08.07.1983	
③① Priorité(s): 09.07.1982 FR 82 12058	⑦② Inventeur(s): Labeyrie, Etienne, Paris (FR) Molle, Daniel, Boulogne (FR)
㉔ Brevet délivré le: 27.03.1986	
④⑤ Fascicule du brevet publié le: 27.03.1986	⑦④ Mandataire: A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG, Patentanwälte, Basel

⑤④ Composition pharmaceutique antihypertensive synergétique.

⑤⑦ Composition pharmaceutique contenant une association d'indapamide et de 8-(3-tert-butylamino-2-hydroxypropoxy)-thiochromanne ou un de ses sels d'addition pharmaceutiquement acceptables, chacun de ces deux composés pouvant se trouver sous forme racémique ou d'isomère optique ainsi qu'un excipient ou véhicule thérapeutiquement compatible. Les deux constituants de cette composition agissent synergiquement.

Cette composition est utilisable dans le traitement de l'hypertension.

REVENDECATIONS

1. Composition pharmaceutique contenant une association d'indapamide et de 8-(3-tert.-butylamino-2-hydroxypropoxy)thiochromanne, ou un de ses sels d'addition pharmaceutiquement acceptables, chacun de ces deux composés pouvant se trouver sous forme racémique ou d'isomère optique, ainsi qu'un excipient ou véhicule thérapeutiquement compatible.

2. Composition pharmaceutique selon la revendication 1, caractérisée par le fait qu'elle contient de 0,8 à 3 mg d'indapamide et de 3 à 12 mg de 8-(3-tert.-butylamino-2-hydroxypropoxy)thiochromanne ou un de ses sels d'addition.

3. Composition pharmaceutique destinée pour l'administration par voie orale selon la revendication 2, caractérisée par le fait qu'elle contient 1,25 mg d'indapamide et 5 mg de chlorhydrate de 8-(3-tert.-butylamino-2-hydroxypropoxy)thiochromanne.

La présente invention a pour objet une composition pharmaceutique contenant une association de deux substances actives, l'indapamide et le 8-(3-tert.-butylamino-2-hydroxypropoxy)thiochromanne.

L'indapamide, ou N-(3-sulfamoyl-4-chlorobenzamido)-2-méthylindoline, ou encore 4-chloro-N-(2-méthyl-1-indoliny)-3-sulfamoylbenzamide, a été décrit dans l'exemple 1 du brevet français N° 69.06023 (publié sous le N° 2003311), comme diurétique utilisable en particulier dans le traitement de l'hypertension artérielle.

Le 8-(3-tert.-butylamino-2-hydroxypropoxy)thiochromanne (ou ses sels d'addition) est décrit dans l'exemple 2 du brevet français N° 71.11445 (publié sous le N° 2092004), qui indique des propriétés cardio-vasculaires, en particulier bêtabloquantes.

Or, on a maintenant trouvé que les deux composés précédents associés ont des propriétés synergétiques inattendues, permettant de prévoir leur utilisation thérapeutique simultanée.

L'invention concerne donc une composition pharmaceutique contenant une association d'indapamide et de 8-(3-tert.-butylamino-2-hydroxypropoxy)thiochromanne, ou un de ses sels d'addition pharmaceutiquement acceptables, chacun de ces deux composés pouvant se trouver sous forme racémique ou d'isomère optique, ainsi qu'un excipient ou véhicule thérapeutiquement compatible.

Pour la commodité, le 8-(3-tert.-butylamino-2-hydroxypropoxy)thiochromanne sera désigné «THPT» ci-après.

Etude pharmacologique

Les composés étudiés selon l'invention ont été testés sur l'inhibition fonctionnelle de l'adénylate cyclase membranaire, seuls et en association.

Le globule rouge de pigeon est connu pour sa grande activité adénylate cyclase depuis les travaux de Sutherland et coll. («Adenyl cyclase 1. Distribution, preparation and properties», in «J. Biol. Chem.» (1962), 237: 1220-1227). Les expériences ont été réalisées sur des fantômes d'érythrocytes (cellules ouvertes) préparés à partir de sang de pigeons Strasser selon la technique de Salesse R. et Garnier J., «Effects of drugs on pigeon erythrocyte membrane and asymmetric control of adenylate cyclase by the lipid bilayer» (Biochem. Biophys. Acta (1979), 554: 102-103).

Les suspensions obtenues ont été incubées 20 min en tampon hypotonique avec un volume de produit testé à la concentration finale désirée. Les dosages de l'activité adénylate cyclase ont été effectués selon la méthode de Birnbaumer L. et coll. (J. Biol. Chem. (1969), 244: 3468-3476) et de Ramachandran J. et Lee V. (Biochem. Biophys. Res. Commun. (1970), 41: 358-366).

Les concentrations finales de réactifs étaient ATP 2mM dont 1 μ Ci de $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]$ ATP, théophylline 4mM, phosphocréatine 10mM, créatine kinase 0,5 g/l, MgCl_2 7,5 mM, trométhamine, HCl (Tris, HCl) 10mM, pH = 7,4.

Le volume total était de 75 μ l et le nombre de cellules par tube environ 10^8 .

La production d'AMP cyclique (AMPC) était stimulée soit par l'isoprotérénol 0,05mM en présence de 0,1mM de GTP, soit par le fluorure de sodium 10mM. On ajoutait le composé à la concentration finale requise.

La réaction était arrêtée après 15 min à 37 °C par l'ajout de 300 μ l d'acide chlorhydrique 0,5 N et un passage de 3 min au bain-marie bouillant. On retirait ensuite les tubes du bain-marie en neutralisant le contenu par 300 μ l d'imidazole 1,65 N.

Après centrifugation (10 min, 4000 g). 500 μ l du surnageant étaient versés sur une colonne d'alumine neutre activée et éluée par 2,6 ml d'imidazole 10mM, pH = 7,5. Ces colonnes ont un rendement en AMPC de 95%.

La radio-activité des échantillons était mesurée dans un compteur à scintillations «Packard Tricarb», en utilisant l'effet Cerenkov après addition à l'éluat de 10 ml d'une solution aqueuse à 1% d'acide 7-amino-1,3-naphtalènesulfonique (rendement de comptage 65%).

On a établi, selon une échelle logarithmique, trois concentrations au-dessus et trois concentrations au-dessous de la concentration pour laquelle on observe *in vitro*, sur l'artère mésentérique de rat, une inhibition de moitié de la vasoconstriction induite par la noradrénaline.

Les résultats sont donnés comme la moyenne de trois essais en pmol d'AMP cyclique produites par min et par mg de phospholipides membranaires.

On constate que l'indapamide et le THPT soumis à ce test inhibent l'activation de l'adénylate cyclase stimulée par l'isoprotérénol ou par le fluorure de sodium: la quantité d'AMPC produit décroît. La nature de l'effet observé sur la production de l'AMPC dépend de la concentration du composé utilisé. On a déterminé graphiquement la concentration active de chaque composé produisant une inhibition de 25% (CA_{25}) et 50% (CA_{50}), puis celle de leurs mélanges à ces concentrations:

Indapamide (P.M. = 365,89): $\text{CA}_{25} = 9 \times 10^{-5}$ mol/l

$\text{CA}_{50} = 3 \times 10^{-4}$ mol/l

THPT, HCl (P.M. = 331,90): $\text{CA}_{25} = 1,2 \times 10^{-5}$ mol/l

$\text{CA}_{50} = 7 \times 10^{-5}$ mol/l

On a rassemblé dans le tableau suivant les pourcentages d'inhibition obtenus avec chacun des 4 mélanges des deux composés à ces concentrations:

TABLEAU

	Indapamide 25%	Indapamide 50%
THPT 25%	45%	62%
THPT 50%	62%	75%

On constate que l'inhibition obtenue avec le mélange des deux composés est nettement supérieure à celle obtenue avec chacun séparément. Par exemple, avec un mélange aux concentrations de 9×10^{-5} mol/l d'indapamide et de $1,2 \times 10^{-5}$ mol/l de THPT, on obtient 45% d'inhibition, qui n'est atteint que par $2,5 \times 10^{-4}$ mol/l d'indapamide ou par 5×10^{-5} mol/l de THPT, c'est-à-dire environ 3 à 4 fois la quantité nécessaire de chacun des composés pris séparément. Les deux effets correspondant à 25% d'inhibition se multiplient donc au niveau de l'effet global et aboutissent à une inhibition de 45% de l'activité de l'enzyme.

Discussion

Le THPT étant connu comme bêtabloquant, son activité inhibitrice sur l'adényl cyclase associée à un récepteur bêta extracellulaire était prévisible. Par contre, il était inattendu qu'un diurétique anti-hypertenseur tel que l'indapamide possède une activité similaire, et surtout que l'activité de ces deux composés soit conjuguée: en effet,

la courbe dose/activité de ces composés, et en particulier leurs CA_{25} et CA_{50} , montrent qu'ils agissent en synergie multiplicatrice.

L'AMPc est un second messenger intracellulaire déclenchant la mise en route des fonctions cellulaires. En inhibant l'adényl cyclase, on freine donc tous les états d'hyperactivité cellulaire, tels qu'ils existent dans l'hyperthyroïdie, l'hypertension, l'hypersensibilité, etc. En conséquence, l'association des deux composés agissant en synergie selon l'invention est particulièrement indiquée pour le traitement des hyperactivités bêta-dépendantes, telles qu'on en rencontre dans l'hypertension, en particulier dans les cas d'hypertension artérielle sévère avec insuffisance rénale, ou bien dans des maladies telles que l'hyperthyroïdie.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention sont de préférence administrées par voie orale, et peuvent être sous forme de comprimés, comprimés enrobés, gélules, suspensions, etc. Elles peuvent contenir en particulier de 0,8 à 3 mg d'indapamide, et de 3 à

12 mg de THPT, ou un de ses sels d'addition pharmaceutiquement acceptables, ainsi que les excipients ou véhicules usuels pour la forme orale, et peuvent être administrées en une ou deux prises journalières.

Exemple: Comprimé de 90 mg (pouvant être enrobé)

Indapamide	1,25 mg
Chlorhydrate de 8-(3-tert.-butylamino-2-hydroxypropoxy)thiochromanne	5,00 mg
Acide stéarique	0,90 mg
Carboxyméthylamidon sodique	3,00 mg
Cellulose microcristalline	33,38 mg
Lactose	35,75 mg
Hydrogénophosphate de calcium	10,00 mg
Silice colloïdale	0,27 mg
Stéarate de magnésium	0,45 mg