
Octrooiraad



⑩ **A Terinzagelegging** ⑪ **8004877**

Nederland

⑲ **NL**

- ⑤④ **Farmaceutische preparaten met een anti-ulceractiviteit.**
- ⑤① Int.Cl³: A61K31/405// C07D209/18.
- ⑦① Aanvrager: Istituto Bilogico Chemioterapico 'ABC' S.p.A. te Turijn, Italië.
- ⑦④ Gem.: Ir. H.M. Urbanus c.s.
Vereenigde Octrooibureaux
Nieuwe Parklaan 107
2587 BP 's-Gravenhage.

-
- ②① Aanvraag Nr. 8004877.
- ②② Ingediend 28 augustus 1980.
- ③② Voorrang vanaf 26 september 1979.
- ③③ Land van voorrang: Italië (IT).
- ③① Nummer van de voorrangsaanvraag: 2601679 .
- ②③ --
- ⑥① --
- ⑥② --

-
- ④③ Ter inzage gelegd 30 maart 1981.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Betr.: Farmaceutische preparaten met een anti-ulceractiviteit.

De uitvinding betreft farmaceutische preparaten met een anti-ulceractiviteit. Meer in het bijzonder betreft de uitvinding preparaten met als actieve stof 5-methoxy-2-methyl-3-indolyl-acetohydroxaamzuur met de formule 1 van het formuleblad.

5 Deze verbinding met de formule 1 is reeds bekend en beschreven in het Amerikaanse octrooischrift 3.624.103. Voorts beschrijft de Italiaanse octrooiaanvraag 70.092 A/76 van 24 december 1976 een verdere werkwijze voor het bereiden van deze stof, welke methode als alternatief of boven en behalve de in het Amerikaanse octrooischrift weergegeven
10 methode kan worden gebruikt..

Amerikaans octrooischrift 3.624.103 beschrijft de ontstekingswerende, analgetische en anti-pyretische eigenschappen van de verbinding met de formule 1 vergeleken met andere acetohydroxamzuren en indomethacine.

15 Er werd nu verrassenderwijze gevonden, dat de onderhavige verbinding met de formule 1 een sterke anti-ulceractiviteit vertoont, die het mogelijk maakt deze stof te gebruiken bij de behandeling van maagaandoeningen en maagzweren en in het bijzonder zweren veroorzaakt door farmaceutica van het cortisontype en andere ontstekingswerende stoffen
20 anders dan die van het steroïde-type. Deze nieuwe therapeutische eigenschappen van de verbinding met de formule 1 waren verrassend, omdat de anti-ulceractiviteit reeds duidelijk optreedt bij doses die aanmerkelijk lager zijn, met name 5 tot 10 maal lager, dan de dosis, die een duidelijk anti-inflammatoir effect sorteert.

25 Er wordt op gewezen, dat de anti-ulceractiviteit van 5-methoxy-2-methyl-3-indolyl-acetohydroxamzuur reeds bij zeer lage doseringen van ca. 1 mg/kg lichaamsgewicht optreedt; zoals hieronder nader wordt toegelicht, maakt dit het mogelijk met de onderhavige verbinding resultaten te bereiken, die tenminste gelijk zijn en veelal beter dan de resultaten verkregen met reeds lang bekende farmaceutica, zoals sulpiride,
30 gefarnaat en cimetidine, welke stoffen gewoonlijk worden gebruikt in doseringen die 5-10 maal hoger zijn.

Behalve de zeer lage giftigheid maakt de therapeutische index van de verbinding met de formule 1 de laatste bijzonder gunstig.

35 De uitvinding betreft dus een toepassing van de verbinding met

de formule 1 tegen maagaandoeningen en maagzweren en in het bijzonder zweren veroorzaakt door farmaceutica van het cortisontype en niet-steroid-antiinflammatoire middelen. De uitvinding betreft tevens een werkwijze voor het bereiden van de stof, zijn zuivering en verwerking tot een vorm, die geschikt is voor toediening en/of verwerking van de stof in houders, die geschikt zijn voor toediening.

De verbinding, 5-methoxy-2-methyl-3-indolyl-acetohydroxamzuur is een kristallijne stof, wit, geurloos en met een smeltpunt van 168-170°C. Deze verbinding is nagenoeg onoplosbaar in water, in waterig zuur of waterige basische oplossingen; nagenoeg onoplosbaar in ethanol, diethylether en benzeen. De verbinding is enigszins oplosbaar in aceton en propyleenglycol en oplosbaar in dimethylformamide. Hij kan worden bereid als boven weergegeven, volgens een werkwijze volgens het Amerikaanse octrooischrift 3.624.103 of de Italiaanse octrooiaanvraag 70.092 A/76.

De toxicologische en farmacologische eigenschappen van de onderhavige verbindingen worden hieronder weergegeven. Korthedshalve wordt de verbinding aangeduid door ABC 8/5.

Acute giftigheid bij ratten na orale toediening

Een suspensie van ABC 8/5 in 0,5 % carboxymethylcellulose werd toegediend in een hoeveelheid van 1 cm³/100 g lichaamsgewicht en wel aan Sprague-Dawley-ratten met een gewicht van 100-150 g. Deze dieren had men tenminste 12 uren voor deze behandeling laten vasten. Het resultaat is weergegeven in tabel A. De cijfers daarvan tonen aan, dat ABC 8/5 zo weinig giftig is, dat geen LD₅₀-waarde langs orale weg kon worden bepaald.

Tabel A

Dosering mg/kg)	aantal behandelde dieren	aantal dieren gedood	mortaliteit %
40	10	0/10	0
80	10	0/10	0
120	10	0/10	0
200	10	0/10	0
320	10	0/10	0

8004877

vervolg tabel A

	520	10	0/10	0
	840	10	0/10	0
	1360	10	0/10	0
5	2200	10	0/10	0
	3560	10	0/10	0
	5760	10	0/10	0

Acute giftigheid bij ratten na intraperitoneale toediening

10 Een suspensie van de verbinding in 0,5% carboxymethylcellulose werd in een hoeveelheid van 1 cm³/100 g lichaamsgewicht intraperitoneaal toegediend aan Sprague-Dawley-ratten van 100-150 g. Ook in dit geval had men de dieren alvorens ze te behandelen 12 uren laten vasten. De resultaten zijn weergegeven in tabel B. De LD₅₀ langs intraperitoneale weg bedroeg 980 cm³/kg bepaald volgens de gebruikelijke methode.

15 De mortaliteit werd op de 7e dag na de toediening nagegaan.

Tabel B

	dosering mg/kg	aantal behandelde dieren	aantal dieren gedood	mortaliteit %
20	40	10	0/10	0
	80	9	0/10	0
	120	10	1/10	10
	200	10	2/10	20
	320	10	0/10	0
25	520	10	4/10	40
	840	10	4/10	40
	1360	10	6/10	60
	2200	10	10/10	100

30 Cumulatieve giftigheid bij ratten na orale toediening

In dit geval werden mannelijke Sprague-Dawley-ratten gebruikt met een gewicht van 200-250 g. ABC 8/5 werd gesuspenderd in 0,5% carboxymethylcellulose en in een hoeveelheid van 1 cm³/100 g lichaamsgewicht aan deze dieren toegediend. De ratten werden dagelijks behandeld met
35 toenemende doseringen van de verbinding. De resultaten zijn weergegeven

8004877

in tabel C. Deze resultaten tonen aan, dat de cumulatieve giftigheid zo laag lag, dat een LD₅₀ niet kon worden bepaald.

Tabel C

5	orale dosering mg/kg	aantal dieren	mortaliteit	mortaliteits- percentage
	840	50	0/50	0
	1360	50	0/50	0
	2200	50	0/50	0
10	3560	49	1/50	2
	5760	45	4/49	8,16

Cumulatieve toxiciteit bij ratten na intraperitoneale toediening

- 15 ABC 8/5 werd gesuspenderd in 0,5% carboxymethylcellulose en vervolgens toegediend aan mannelijke Sprague-Dawley-ratten met een gewicht van 200-250 g en wel in een hoeveelheid van 1 cm³/100 g lichaamsgewicht. De dieren werden hierbij dagelijks behandeld met toenemende doseringen van de verbinding. De resultaten zijn weergegeven in tabel D. De cumu-
- 20 latieve LD₅₀ bij intraperitoneale toediening is gelijk aan 1050 cm³/kg.

Tabel D

	intraperitoneale dosering mg/kg	aantal dieren	mortaliteit	mortaliteits- percentage
25	80	50	0/50	0
	120	50	0/50	0
	200	50	0/50	0
	320	49	1/50	2
	520	47	2/49	4,08
30	840	34	13/47	27,65
	1360	8	26/34	76,47
	2200	0	8/8	100

Anti-ulceractiviteit bij ratten

- 35 a) Ulcers door prikkelen van de pylorus.

8004877

Hierbij werd de methode volgens Shay met vrouwelijke Sprague-Dawley-ratten van 140-180 g toegepast. Deze ratten liet men 48 uur vasten alvorens tot behandeling over te gaan en vervolgens werden de dieren behandeld met ABC 8/5 en een aantal farmaceutica, die ter vergelijking eveneens in 0,5% carboxymethylcellulose gesuspenderd werden toegediend; de stoffen werden alle langs de intraperitoneale weg in een hoeveelheid van $1 \text{ cm}^3/100 \text{ g}$ lichaamsgewicht toegediend. 4 uren na de toediening werden de dieren gedood en de mate van maagzweren bepaald volgens de volgende maatstaven:

- 10 0 = is geen zweer of beschadiging,
 1 = hemorrhagiegebieden, maar minder dan 5 microulceraties,
 2 = meer dan 5 microulceraties of een verder gevordere ulceratie,
 3 = meer dan 1 gevordere ulceratie of perforatie.

De resultaten zijn weergegeven in tabel E, die aantoonst, dat een prikkeling van de pylorus wordt gevolgd door een vorming van maagzweren bij ratten die als controle werden gebruikt, en wel met een gemiddelde ulcerogene index van 2,92. Anders gezegd alle dieren vertoonden meer dan een zichtbare ulcer of perforatie volgens de bovenweergegeven maatstaf. Toenemende doseringen ABC 8/5 werden gevolgd door een duidelijke verlaging van de ulcerogene index met een maximale verlaging van -48,63% voor een dosis van $1 \text{ cm}^3/\text{kg}$ lichaamsgewicht. Een verdere verhoging van de dosering leverde geen correlatie meer op tussen dosering en het verkregen resultaat. Er wordt de nadruk op gelegd, dat deze proef aantoonst, dat ABC 8/5 actiever is dan gefarnaat of sulpiride en tenminste even actief als cimetidine.

Tabel E

behandelingen	aantal dieren	gemidd. ulcerogene index $\pm$ SD	% remming vergeleken met de controledieren
30 controledieren	19	2,92 $\pm$ 1,97	-
<u>8/5 i.p.</u>			
0,50 mg/kg	19	1,92 $\pm$ 1,70	-34,24%
1 " "	19	1,50 $\pm$ 1,09	-48,63%
35 10 " "	7	2,00 $\pm$ 0,58	-31,51%

8004877

<u>Cimetidine i.p.</u>				
	1 mg/kg	12	$1,71 \pm 0,49$	-41,44%
	10 mg/kg	7	$2,71 \pm 2,14$	- 7,19%
5	<u>Sulpiride i.p.</u>			
	10 mg/kg	20	$2,15 \pm 1,67$	-26,36%
	<u>Gefarnaat i.p.</u>			
	10 mg/kg	17	$2,25 \pm 1,81$	-22,94%
10	40 mg/kg	14	$2,57 \pm 1,15$	-11,99%

^{b)}Ulcers veroorzaakt door prednisolon

Wistarratten van 150-200 g werden subcutaan gedurende 3 dagen behandeld met prednisolon in een hoeveelheid van 8 mg/rat/dag, waarbij deze stof was gesuspenderd in 0,2 cm³ olijfolie, en oraal met ABC 8/5, gefarnaat of sulpiride in de volgende doseringen:

- ABC 8/5 0,5 - 1 -10 -20 mg/kg oraal, in CMC
- Gefarnaat 10-20 mg/kg oraal, in CMC
- Sulpiride 10-20 mg/kg oraal, in CMC.

De dieren liet men sinds de eerste dag van de behandeling vasten. De ulceraties werden bepaald volgens de volgende schaal:

- 0 = geen ulceratie of beschadiging
- 1 = lichte hemorrhagiegebieden
- 2 = minder dan 5 microulceraties
- 25 3 = meer dan 5 microulceraties of een meer uitgebreide ulceratie
- 4 = meer dan één uitgebreide ulceratie en
- 5 = perforaties.

De resultaten zijn weergegeven in tabel F. Er wordt op gewezen, dat een behandeling met prednisolon bij de controleratten maagzweren veroorzaakt met een gemiddelde ulcerogene index van 3,83. De simultane orale toediening van toenemende doses ABC 8/5 gedurende 3 dagen verhindert bij alle dieren de ulcerogene activiteit van prednisolon nage-
neeg volledig, zoals blijkt uit het feit, dat de ulcerogene index maximaal wordt verlaagd bij een dosis van 1 cm³/kg lichaamsgewicht. Er wordt
35 de nadruk op gelegd, dat met elke dosering van ABC 8/5 de verkregen

8004877

remming sterker was dan 50%.

Bij deze proef is gefarnaat bijzonderactief en ook sulpiride is hierbij duidelijk actief. Maar gefarnaat bereikt zijn maximale effect bij een dosis, die tienmaal hoger ligt dan de dosis van ABC 8/5 en sulpiride bereikt zijn maximale effect, maar nog altijd minder dan het effect van ABC 8/5 bij een dosis die liefst 20 maal hoger is.

Tabel F

10	behandeling	aantal beh. dieren	aantal dieren gedood	gemidd. % remming ver- ulcero- geleen met gene index controle- + SD dieren	
	controledieren	7	0	3,83 ± 1,47	1
	<u>8/5 oraal</u>				
15	0,50 mg/kg	7	0	1,83 ± 0,75	-53,0%
	1 mg/kg	7	0	0,71 ± 1,49	-81,4%
	10 mg/kg	7	0	1,42 ± 1,90	-62,8%
	20 mg/kg	7	0	1,14 ± 2,03	-70,2%
	<u>Gefarnaat oraal</u>				
20	10 mg/kg	7	1	0,33 ± 0,82	-91,4%
	20 mg/kg	7	0	1,14 ± 1,07	-70,2%
	<u>Sulpiride oraal</u>				
25	10 mg/kg	7	0	1,71 ± 1,49	-55,3%
	20 mg/kg	7	0	1,57 ± 2,15	-59,0%

c) Ulcers veroorzaakt door fenylbutazon

Mannelijke wistarratten met een gemiddeld gewicht van 230-400 g werden oraal behandeld met de volgende verbindingen, gesuspenderd in 0,5% CMC.

+ABC 8/5 0,5 - 1 - 5 mg/kg in een hoeveelheid van 1 ml/100

-Gefarnaat 10 - 20 mg/kg g lichaamsgewicht.

-Sulpiride 10 - 20 mg/kg

35 30 minuten na de orale behandeling werd 100 cm³/kg fenylbutazon

8004877

in een hoeveelheid van 1 cm³/100 g lichaamsgewicht intraperitoneaal toegediend. 6 uren na deze toediening werden alle dieren gedood.

De ulceraties werden geschat volgens de hierboven weergegeven schaal onder b). De resultaten zijn weergegeven in tabel G. Deze resultaten tonen aan, dat een behandeling met fenylobutazon bij de controledieren maagzweren veroorzaakt met een gemiddelde ulcerogene index van 3,42.

De simultane orale toediening van toenemende doses ABC 8/5 verhindert bij alle dieren de ulcerogene activiteit van fenylobutanon: de ulcerogene index werd verlaagd tot maximaal 56,68% bij een dosering van 0,5 mg/kg. Sulpiride en gefarnaat vertonen een beschermende activiteit, die duidelijk minder is dan de activiteit van ABC 8/5, zelfs wanneer ze in een duidelijk hogere dosering worden toegediend.

Tabel G

behandeling	aantal dieren	gemidd. ulcerogene index ± SD (SE)	% remming vergeleken met controledieren
controledieren	14	3,42 ± 1,64 (0,43)	-
8/5 0,5 mg/kg/oraal			
+FNB 100 mg/kg i.p.	9	1,55 ± 1,23 (0,40)	-56,68%
8/5 1 mg/kg/oraal			
+FNB 100 mg/kg/i.p.	10	2,00 ± 1,20 (0,36)	-41,50%
8/5 5 mg/kg/oraal			
+FNB 100 mg/kg/i.p.	10	2,30 ± 1,63 (0,50)	-32,75%
Sulpridide 10 mg/kg/oraal			
+FNB 100 mg/kg/i.p.	10	3,20 ± 1,51 (0,48)	-6,43%
sulpiride 20 mg/kg/oraal			
+FNB 100 mg/kg/i.p.	10	2,00 ± 1,15 (0,36)	-41,50%
Gefarnaat 10 mg/kg/oraal			
+FNB 100 mg/kg/i.p.	10	2,00 ± 1,41 (0,44)	-41,50%
Gefarnaat 20 mg/kg/oraal			
+FNB 100 mg/kg/i.p.	10	1,80 ± 1,13 (0,34)	-47,37%

8004877

d) Ulcers veroorzaakt door lage temperaturen en immobilisatie

Mannelijke wistarratten met een gemiddeld gewicht van 250-350 g liet men 24 uur vasten. Alle farmaceutica werden oraal toegediend in CMC. Onmiddellijk na de behandeling werden de dieren in kooien geplaatst en daarna 4 uren bij een temperatuur van 4°C bewaard. Vervolgens werden de ratten door decapiteren gedood en de maagzweren geschat volgens de schaal boven weergegeven onder b). De resultaten zijn weergegeven in tabel H. De cijfers tonen aan, dat bij de controledieren de ulcerogene index 1,86 bedroeg. De simultane orale toediening van ABC 8/5 in toenemende doses werd gevolgd door een maximale remming van de ulcerogene index corresponderend met een dosis van 2,5 mg/kg (-42,5%). Bij deze proef was de anti-ulcerogene activiteit van ABC 8/5 duidelijk gunstiger dan die van gefarnaat en cimetidine, terwijl hij vergelijkbaar was met die van sulpiride.

De activiteit van sulpiride bereikt evenwel zijn maximale effect bij een dosering die ongeveer acht maal hoger ligt.

Tabel H

behandeling	aant. dieren	gem. ulcero- gene index -SD	% remming, vergeleken met controledieren.
<u>controledieren</u>			
CMC 0,5% oraal	43	1,86 $\pm$ 1,24	-
<u>8/5 oraal</u>			
0,50 mg/kg	21	1,57 $\pm$ 1,36	-15,59%
1 mg/kg	21	1,43 $\pm$ 1,16	-23,12%
2,5 mg/kg	14	1,07 $\pm$ 1,21	-42,50%
5 mg/kg	21	1,52 $\pm$ 1,33	-18,28%
<u>Gefarnaat oraal</u>			
10 mg/kg	21	1,33 $\pm$ 1,35	-28,49%
20 mg/kg	21	1,57 $\pm$ 1,47	-15,59%
<u>Cimetidine oraal</u>			
10 mg/kg	14	1,43 $\pm$ 1,16	-23,1%

8004877

sulpiride oraal

10 mg/kg	21	1,24 ⁺	1,41	-33,30%
20 mg/kg	21	1,05 ⁺	1,20	-43,50%

Beschermende activiteit van ABC 8/5 jegens de acute orale giftigheid van oxamethacine en indomethacine bij ratten

Gevonden werd, dat een simultane orale toediening van ABC 8/5 in een dosering van 1 cm³/kg de LD₅₀ zowel van indomethacine als oxamethacine (1-(p-chloorbenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-3-indolyl-acetohydroxaamzuur) verhoogt en aldus de acute giftigheid van deze stoffen verlaagt. Uit tabel J volgt de toename van de LD₅₀, die in de orde ligt van 100%.

Tabel J

behandeling	LD ₅₀ bij ratten, mg/kg	
	4e dag	7e dag
indomethacine oraal	32,0	21,0
oxamethacine oraal	104,0	94,0
indomethacine oraal + ABC 8/5 1 mg/kg oraal	47,0	45,0
oxamethacine oraal + ABC 8/5 1 mg/kg oraal	220,0	191,0

Het is duidelijk, dat een verlaging van de giftigheid van farmaceutica, die ontstekingswerende middelen zijn, in de therapie een belangrijke waarde heeft en dit is speciaal het geval bij oxamethacine en indomethacine, bij gelijktijdige toediening van 5-methoxy-2-methyl-3-indolyl-acetohydroxaamzuur. Tevens wordt erop gewezen, dat de belangrijkste cijfers weergegeven in de voorgaande tabellen statistisch significant zijn.

Verbinding 1 kan in een reeks farmaceutische preparaten worden verwerkt, b.v.

- 1) tabletten, die 25 mg van de verbinding met formule 1 bevatten naast den gebruikelijke toeslagstoffen en excipiëntia en deze tabletten kunnen op gebruikelijke wijze worden geslagen,
- 2) capsules van harde gelatine, met daarin 5 mg van de verbinding met de formule 1, gedispergeerd in gebruikelijke excipiëntia,
- 3) omhulsels die een bruisende stof bevatten, en met daarin tevens 25 mg van een verbinding met de formule 1 en een excipiëns dat geschikt

8004877

is voor het produceren van een bruisende suspensie, wanneer de inhoud van de omhuller in water wordt gebracht.

De dagelijkse dosering kan als volgt zijn:

2-4 tabletten met daarin 25 mg van de verbinding met de formule 1, dagelijks tijdens de maaltijd;

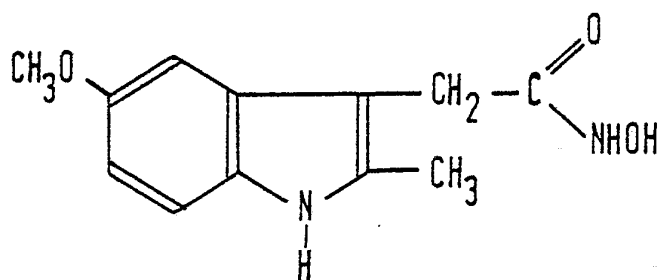
1-3 capsules met daarin 50 mg van een verbinding met de formule 1, dagelijks gedurende de maaltijd;

2-4 omhullers met daarin een materiaal, dat opbruist en tevens 25 mg van een verbinding met de formule 1 dagelijks tijdens de maaltijden.

10 Het is evenwel duidelijk, dat ook andere farmaceutische preparaten kunnen worden gebruikt, en dat de bovenweergegeven formuleringen zuiver bij wijze van voorbeeld zijn gegeven.

CONCLUSIES:

1. Farmaceutisch preparaat met een anti-ulceractiviteit, met het kenmerk, dat dit als actief bestanddeel een effectieve hoeveelheid 5-methoxy-2-methyl-3-indolyl-acetohydroxamzuur met de formule 1 van het formuleblad en inerte excipiëntia bevat.
- 5 2. Preparaat volgens conclusie 1 in doseringseenheidsvorm voor orale toediening.
3. Preparaat volgens conclusie 2, en wel in de vorm van een tablet.
4. Preparaat volgens conclusie 2, met het kenmerk, dat dit de vorm heeft van capsules.
- 10 5. Preparaat volgens conclusie 2, verwerkt in eenheidsdoseringsvormen tezamen met tenminste een stof die een bruiseffect geeft, wanneer het preparaat in water wordt gesuspenderd.
6. Werkwijze voor het behandelen van gastritis en maagzweren door aan deze patiënt een effectieve hoeveelheid 5-methoxy-2-methyl-3-indolyl-acetohydroxaamzuur met de formule 1 toe te dienen.
- 15 7. Werkwijze volgens conclusie 6, met het kenmerk, dat deze gastritis en maagzweren werden veroorzaakt door farmaceutica van het steroïde type.
8. Werkwijze volgens conclusie 6, met het kenmerk, dat de gastritis
- 20 en maagzweren werden veroorzaakt door tenminste een lid van de groep prednisolon, fenylbutazon, oxamethacine of indomethacine.
9. Werkwijze volgens conclusie 6, met het kenmerk, dat de gastritis of de maagzweer werd veroorzaakt door lage temperaturen.



8004877