



⑫ A **Terinzagelegging** ⑪ **8702280**

Nederland

⑲ NL

- ⑤4 **Farmaceutische preparaten met activiteit op het centrale zenuwstelsel.**
- ⑤1 Int.Cl.: C07H 19/10, A61K31/735.
- ⑦1 Aanvrager: Vecchi & C. Piam di G. Assereto - E. Maragliano & C. S.A.P.A. te Genua, Italië.
- ⑦4 Gem.: Ir. Th.A.H.J. Smulders c.s.
Vereenigde Octroobureaux
Nieuwe Parklaan 107
2587 BP 's-Gravenhage.

-
- ②1 Aanvraag Nr. 8702280.
- ②2 Ingediend 24 september 1987.
- ③2 Voorrang vanaf 26 september 1986.
- ③3 Land van voorrang: Italië (IT).
- ③1 Nummer van de voorrangsaanvraag: 2184086 .
- ⑥2 - -

-
- ④3 Ter inzage gelegd 18 april 1988.

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

Titel: Farmaceutische preparaten met aktiviteit op het centrale zenuwstelsel.

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op farmaceutische preparaten die als actieve ingrediënt cytidine-difosfo-dimethylethanolamine, ook wel bekend als CDP-deanol met formule 1 bevatten, alsmede op een werkwijze voor het bereiden daarvan.

5 CDP-deanol is een bekende verbinding die een rol speelt in de cholinebiosynthese in de zenuwcellen.

Het is bekend dat CNS choline vereist, zowel voor de biosynthese van acetylcholine als voor die van fosfatidylcholine (lecithine).

10 In veel aspecten van geriatrische pathologie, neemt de choline-behoefte van de zenuwcellen toe en is het derhalve belangrijk dat die mechanismen worden geactiveerd welke een hogere produktie daarvan mogelijk maken.

Momenteel zijn drie metabolische routen op neuronaal niveau bekend, die tot de fosfatidylcholinebiosynthese leiden (J.K. BLUSZTAJN et al. 15 Brain Research 179, 319-327, (1979); N. CHIDA en T. ARAKAWA Tohoky J. Exp. Med. 104, 359, (1971), en K. DROSS en H. KEWITZ NAUNYN - Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 274, 91, (1972)); het is bekend dat fosfatidylcholine de gemakkelijkst toegankelijke bewaarsvorm van choline is (J.K. BLUSZTAIN en R.J. WURTMAN Science, 221, 614-620, (1983)).

20 Het fosfatidylcholine kan in feite gemakkelijk tot vrij choline worden gehydrolyseerd met behulp van een basisch fosfatase (G.B. ANSELL en SPANNER Biochem. J. 110, 201 (1968), en G.B. ANSELL en SPANNER Cholinergic Mechanism e Psychopharmacology (Plenum, New York, 1978)).

25 Twee van de genoemde metabolische routen, waarvan de ene bekend staat als de "CDP-choline route" en de andere die van de "basenuitwisseling" is, leiden niet tot een werkelijke cholinesynthese omdat ze alleen reeds bestaande cholinemoleculen herverdelen.

Alleen de in de laatste paar jaren door BLUSZTAIN ontdekte "Transmethyleringsroute" maakt een biosynthese van nieuwe fosfatidyl- 30 cholinemoleculen mogelijk uitgaande van ethanolamine, met behulp van een enzymatisch systeem dat de verschillende methyleringsstappen katalyseert onder toepassing van S-adenosylmethionine als methyl donor.

Het enzymatisch systeem dat aan deze transformatie gewijd is, staat bekend als fosfatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT). De PEMT aktiviteit is hoofdzakelijk aangetroffen in de membraanfractie van ratten en runderhersen en vertoont zijn maximumwaarden op het niveau
5 van de neuronuiteinden (synaptosomen) (J.K. BLUSZTAJN et al, Brain Research 179, 319-327 (1979) en F.T. CREWS - F. HIRATA - J. AXELROD J. Neurochem. 34, 1494, (1980)).

Voor de PEMT aktiviteit op neuronaal niveau spelen de aktiviteit van tenminste twee verschillende methyltransferaseenzymen een rol.

10 Het eerste methyltransferase katalyseert de omzetting van fosfatidylethanolamine in fosfatidyl-N-monomethylethanolamine (PME), terwijl het tweede methyltransferase de omzetting van PME in fosfatidyl N,N-dimethylethanolamine (PDE) en van PDE in fosfatidylcholine katalyseert (F.T. CREWS - F. HIRATA - J. AXELROD J. Neurochem. 34, 1494, (1980) en
15 A.K. PERCY - J.F. MOORE - C.J. WAECHTER J. Neurochem. 30, 1404, (1982)).

Het CDP-deanol geeft door een reactie met een diacylglycerol PPE en fosfatidyl-deanol dat de "transmethyleringsroute" binnentreedt en zelfs voorbijstreeft, zoals in het op het formuleblad weergegeven schema is weergegeven.

20 Het therapeutisch gebruik van deanol is reeds bekend: indien toegediend als vrije base, wordt het niet direkt door de zenuwcellen gebruikt maar eerst geactiveerd, dat wil zeggen veresterd met het citidylcoenzym, waarbij met name CDP-deanol wordt gevormd.

Dit molecuul heeft een hoog energetische binding die de synthese
25 van fosfatidyl-deanol mogelijk maakt, een metaboliet die door methylering wordt omgezet in fosfatidylcholine dat op zijn beurt in staat is om choline te vormen voor de acetylcholinesynthese.

Het CDP-deanol, dat een direktere metabolische voorloper van fosfatidylcholine is dan deanol, speelt derhalve een rol van direkte voor-
30 loper voor de synthese van het laatste sleutelmetaboliet.

Overigens dient de gelding van de uitvinding op geen enkele wijze gekoppeld te worden aan de bovenstaand vermelde biochemische veronderstellingen, die bovendien geen absolute verklaring geven voor de verrassende therapeutische werking die voor de farmaceutische preparaten
35 volgens de uitvinding is gevonden.

8702280

Het CDP-deanol blijkt in feite, vergeleken met dimethylaminoethanol (deanol) hemisuccinaat, opmerkelijk minder toxisch te zijn zoals gebleken is uit acute toxiciteitsproeven met toediening langs intraperitoneale en orale route in BALB/c muizen met een gewicht van 17 - 22 g.

- 5 De intraperitoneale LD_{50} van CDP-deanol bleek hoger dan 45 g/kg te zijn, terwijl het deanol hemisuccinaat een bijna dubbele toxiciteit vertoonde met een LD_{50} van 23,5 g/kg.

CDP-deanol bleek ook significant aktiever en effectiever te zijn dan deanol (als hemisuccinaat) in de symptomatische behandeling van de
10 seniele hersenaftakeling zoals is aangetoond door de hieronder samengevatte klinische proef.

- 12 Oudere patiënten met hersenaftakeling (7 mannen, 5 vrouwen, gemiddelde leeftijd 76,5 jaren), verdeeld in twee groepen van 6 personen, zijn behandeld met CDP-deanol per os (2 x 250 mg tabletten tweemaal per
15 dag) respectievelijk per i.m. (twee keer per dag flesjes van 500 mg).

De aktiviteit parameters van het geneesmiddel zijn geëvalueerd met behulp van de Birren test (gemodificeerd), de Toulousa Pieron test en de semikwantitatieve schalen op Kellner-Sheffield, terwijl de verdraagzaamheidsparameters geëvalueerd werden door biochemische en
20 klinische onderzoeken.

De evaluatietijdstippen zijn vastgesteld op het tijdstip 0 en na 30 dagen behandeling. De statistische analyse vertoonde een significante verbetering in geheugenproblemen, in het bijzonder in de i.m. behandelde personen. De basale biochemische parameters veranderden niet
25 wezenlijk en ongewenste effecten bleken niet of nagenoeg niet op te treden.

Het CDP-deanol bewees algemeen effectief te zijn in de behandeling van hersenfunctieproblemen met een vasculair-organische en traumatische oorsprong, in verschijnselen van seniele aftakeling, in problemen met intellectueel vermogen en in alle gevallen van psychische stress.

- 30 Voor het bereiken van de gewenste therapeutische effecten kan CDP-deanol aan patiënten worden toegediend langs verschillende wegen in zuivere vorm of in de vorm van farmaceutische preparaten.

De samenstelling van geschikte farmaceutische preparaten kan worden uitgevoerd volgens de gebruikelijke technieken zoals beschreven zijn
35 in "Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook", Hack Pub. Co. USA.

De hoeveelheid CDP-deanol, die langs orale weg wordt toegediend, kan variëren van 5 mg/kg/dag tot 30 mg/kg/dag. De hoeveelheid actieve component die door parenterale weg wordt toegediend, kan variëren van 1 mg/kg/dag tot 50 mg/kg/dag tot 50 mg/kg/dag, bij voorkeur van
5 5 mg/kg/dag tot 30 mg/kg/dag.

Een eenheidsdosis voor orale toediening kan bijvoorbeeld 100 tot 1000 mg actieve ingrediënt omvatten.

De preparaten volgens de uitvinding wordt in het algemeen een of twee keer per dag toegediend, maar frequentere toedieningen kunnen gepast
10 zijn, tenminste in sommige gevallen, en kunnen al naar gelang de condities van de patiënt en de toedieningsweg worden gevarieerd.

Voor orale toediening kan de verbinding worden gepresenteerd in de vorm van vaste of vloeibare preparaten zoals capsules, pillen, tabletten, poeders, oplossingen, suspensies of emulsies, eventueel vormen met
15 langzame afgifte zoals cronoiden enz.

De vaste eenheidsdosis kan een zachte of harde gelatinecapsule zijn, die smeermiddelen en inerte excipientia zoals lactose, saccharose of zetmeel bevat.

De verbindingen volgens de uitvinding kunnen ook worden gepresenteerd in de vorm van tabletten, waarbij conventionele excipientia worden
20 gebruikt, zoals lactose, saccharose, zetmeel, gelatine, alginezuur, stearinezuur, magnesiumstearaat, enz.

Voor parenterale toediening kunnen de verbindingen worden toegediend in de vorm van injecteerbare preparaten, opgelost of gesuspenderd
25 in fysiologisch aanvaardbare verdunningsmiddelen, samen met een drager die een steriele vloeistof, bijvoorbeeld water, of een olie, met of zonder de toevoeging van andere excipientia kan zijn. Oliën die gebruikt kunnen worden zijn plantaardige, dierlijke, minerale of synthetische oliën, zoals pindaolie, sojabonenolie en minerale olie.

30 In het algemeen kunnen water, waterige oplossingen van minerale zouten, waterige oplossingen van dextrose of andere suikers, ethanol, glycolen zoals propyleen- of polyethyleenglycol als drager voor injecteerbare oplossingen worden gebruikt.

Bovendien kunnen de preparaten volgens de uitvinding desgewenst
35 naast het bovengenoemde excipient en CDP-deanol, ook andere actieve

8702280

ingrediënten met complementaire of op andere wijze nuttige activiteiten bevatten.

Een ander aspect van de uitvinding bestaat uit een werkwijze voor het bereiden van cytidine-difosfo-dimethylaminoethanol.

5 De werkwijze bestaat uit het laten reageren van een cytidine-5'-monofosforzuurtrialkylammoniumzout met een fosforyl-dimethylaminoethanolzout, in tegenwoordigheid van een carbodiimide, in een geschikt oplosmiddel.

Bij voorkeur laat men 1 mol cytidine-5'-monofosforzuur (CMP)
10 trialkylammoniumzout reageren met een hoeveelheid, equivalent met 2 - 8 mol, van een fosforyl-dimethylaminoethanolzout, in een formamide-pyridineoplossing bij een temperatuur tussen 15 en 40°C gedurende een periode van 5 tot 25 uur.

Dicyclohexylcarbodiimide wordt gebruikt als het carbodiimide, en
15 natrium, kalium, ammonium, calcium, magnesium, triethylammoniumzouten en dergelijke kunnen worden gebruikt als de fosforyl-dimethylaminoethanolzouten.

De uitvinding wordt aan de hand van de hiernavolgende niet-beperkende voorbeelden nader toegelicht.

20 VOORBEELD I

Bereiding van CDP-deanol

Een oplossing van 30 g dicyclohexylcarbodiimide in 100 ml pyridine werd langzaam toegevoegd aan een oplossing van 21 g tributylammoniumcytidine-5'-monofosfaat (gehalte in cytidine-5'-monofosforzuur: 13,4 g)
25 en 35,6 g fosforyl-dimethylaminoethanolnatriumzout in 200 ml formamide. Het mengsel liet men onder roeren gedurende 15 uur bij 35°C reageren; het neergeslagen dicyclohexylureum werd daarna afgefiltreerd en weggevoerd, en de filtraten werden geconcentreerd met behulp van een omgekeerde osmoseproces, tot een droog residu van ongeveer 30 - 35%.

30 Langzaam werd 1 liter aceton aan het verkregen visceuze residu toegevoegd, onder roeren, waarbij zich een neerslag vormde dat door centrifugeren werd gewonnen.

De bovenstaande acetonoplossingen werden weggegooid en het neerslag werd twee keer met 250 ml watervrij aceton gewassen.

8702280

Na drogen werd 30 g ruw cytidine-difosfodeanolnatriumzout verkregen. Het verkregen ruwe produkt (30 g) werd verdund in 3 l water, de pH werd op 7,2 ingesteld en het produkt werd geabsorbeerd op een Dowex 1-X₂ harskolom in formiaatvorm. De hars werd met water gewassen en
5 daarna geëluëerd met een 0,005 M mierzuuroplossing.

De eluaatfractie die de gewenste verbinding bevatte werd geneutraliseerd met NaOH, geconcentreerd tot een siroop door een omgekeerde osmoseproces, daarna in geringe mate verdund met water en aan een ultrafiltratieproces onderworpen.

10 Aan de oplossing die het gesynthetiseerde molecuul bevatte met een zuiverheidsgraad van meer dan 99%, werd 5 volumehoeveelheden van een 3 : 2 (v/v) methanol : aceton mengsel (koud) toegevoegd totdat de kristallisatie volledig was. Daarna werden de kristallen verzameld en gedroogd onder hoogvacuum waarbij 19,3 g cytidine-difosfo-dimethylamino-
15 ethanoltrihydraatnatriumzout werd verkregen.

De opbrengst was 87%.

Het smeltpunt 231 - 235°C (opzwellings).

Elementanalyse:

	C	H	N
gevonden	30,19	4,80	10,84
20 berekend (hydraatvorm)	30,36	4,90	10,89
U V in H ₂ O oplossing	= max 270 nm, log = 3,942 224 nm		
in 0,1 N HCl oplossing	= max 278 nm, log = 4,089		
HCl 1 N	= max 278 nm, log = 4,090		
25 IR cm ⁻¹	= 2479, 2670 cm ⁻¹		
R.M.N. (δ; D ₂ O; CH ₃ CN als standaard):	2,88; 3,36; 4,23; 4,65; 5,94 en 7,82.		

8702280

VOORBEELD II

Injecteerbare farmaceutische preparaten

Injecteerbaar langs intramusculaire of intraveneuze weg.

a) Waterige oplossing (pH 7 ± 0,5)

5	één flesje bevat:	ml 2	ml 4	ml 4
	Cytidinedifosfodeanol	g 0,250	g 0,500	g 1,000
	Natriummerthiolaat	mg 0,080	mg 0,160	mg 0,160
	Water voor injectie-			
	preparaten q.s. tot	ml 2	ml 4	ml 4
10	b) <u>Gevriesdroogd</u>			
	één gevriesdroogd flesje bevat:			
	Cytidinedifosfodeanol	g 0,250	g 0,500	g 1,000
	Glycocol	g 0,150	g 0,300	g 0,300
	Mannitol	g 0,100	g 0,200	g 0,200
15	Natriummerthiolaat	mg 0,050	mg 0,100	mg 0,100

VOORBEELD III

Orale farmaceutische preparaten

a) Tabletten

	- één tablet bevat:	/g 0,45	~ /g 0,685
20	Cytidinedifosfodeanol	g 0,250	g 0,500
	- Excipientia van de kern:		
	maïs-zetmeel	mg 70,0	mg 0,70
	microgranulaire cellulose	mg 86,0	mg 0,56
	geprecipiteerde silica	mg 5,0	mg 6
25	natrium carboxymethylamylopectine	mg 20,0	mg 30
	talk	mg 6,0	mg 8
	magnesiumstearaat	mg 3,0	mg 4
	- Excipientia van de coating:		
	polymethylmethacrylaat	mg 1,454	mg 1,650
30	lactose	mg 2,643	mg 3,040
	polyethyleenglycol 6000	mg 0,902	mg 1,037
	talk	mg 1,189	mg 1,367
	kaolien	mg 2,114	mg 2,431

8702280

	titaniumdioxide	mg 1,586	mg 1,824
	polysorbaat 80	mg 0,079	mg 0,090
	natriumcitraatbihydraat	mg 0,053	mg 0,060
b) <u>Capsules</u>			
5	- één capsule bevat:	g 0,277	g 0,553
	Cytidinedifosfodeanol	g 0,250	g 0,500
	microkristallijne cellulose	g 0,020	g 0,040
	geprecipiteerde silica	g 0,003	g 0,005
	talk	g 0,003	g 0,006
10	magnesiumstearaat	g 0,001	g 0,002
c) <u>Fialoids per os</u>			
	- één 10 ml fialoid bevat:		
	Cytidinedifosfodeanol	g 0,500	g 1,000
	sorbitol 70% oplossing	g 2,000	g 2,000
15	glycerine	g 1,600	g 1,600
	saccharine	g 0,010	g 0,015
	methyl-p-hydroxybenzooat	g 0,012	g 0,012
	propyl p-hydroxybenzooat	g 0,004	g 0,004
	smaakstof	g 0,030	g 0,040
20	gedestilleerd water q.s. tot	ml 10	ml 10

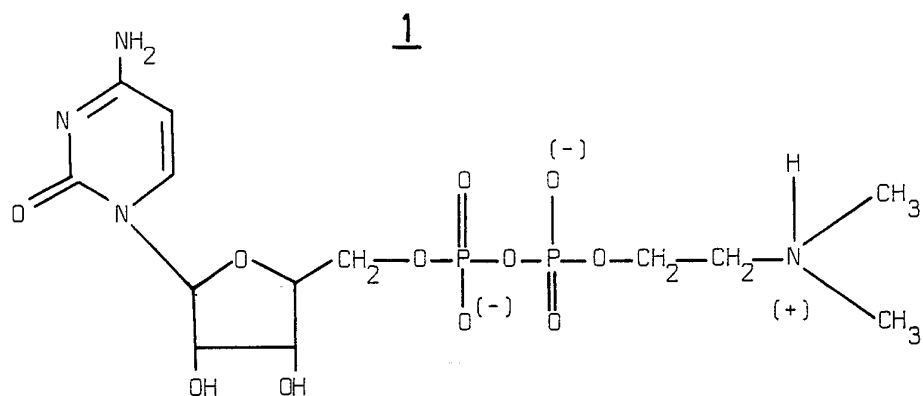
8702280

C O N C L U S I E S

=====

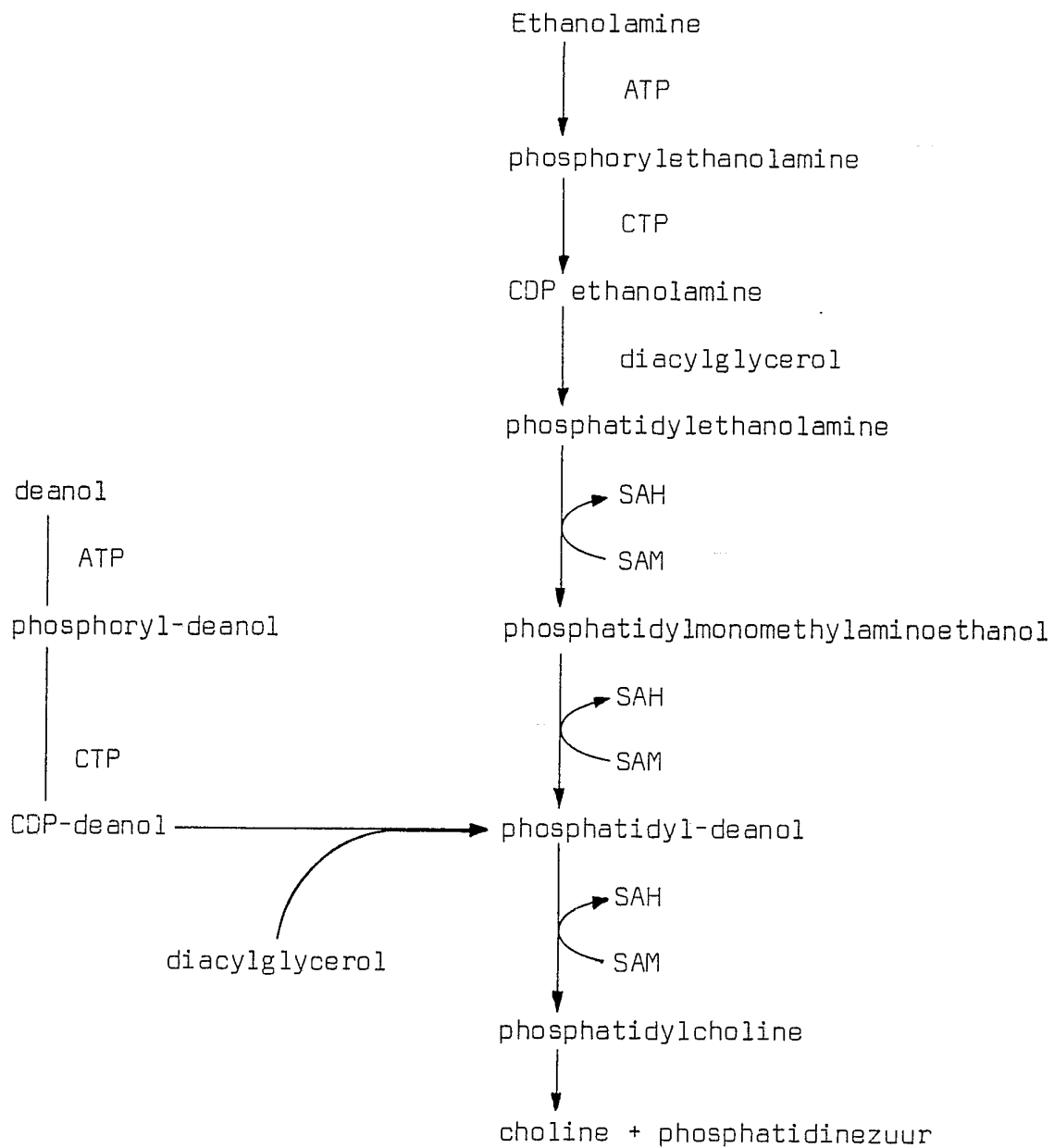
1. Farmaceutische preparaten die cytidine-difosfo-dimethyl-ethanolamine (CDP-deanol) als actieve ingrediënt bevatten, gemengd met een farmaceutisch aanvaardbare drager of excipient.
2. Farmaceutische preparaten volgens conclusie 1 voor orale toe-
5 diening.
3. Farmaceutische preparaten volgens conclusie 2 in de vorm van eenheidsdoses die 100 tot 1.000 mg actieve ingrediënt bevatten.
4. Farmaceutische preparaten volgens conclusie 3 in de vorm van harde of zachte gelatinecapsules, tabletten, met suiker beklede pillen,
10 cronoiden, oplossingen, suspensies, poeders.
5. Farmaceutische preparaten volgens conclusie 1 voor parenterale toediening.
6. Farmaceutische preparaten volgens conclusie 5 in de vorm van eenheidsdoses die 100 tot 1.000 mg actieve ingrediënt bevatten.
- 15 7. Farmaceutische preparaten volgens conclusie 6 in de vorm van flesjes of ampullen voor intramusculaire of intraveneuze toediening.
8. Cytidine-difosfo-dimethyl ethanolamine (CDP-deanol) als therapeutisch middel.
9. Werkwijze voor het bereiden van cytidine-disfosfo-dimethylethanol
20 amine, waarbij een cytidine-5'-monofosforzuurtrialkylammoniumzout in reaktie wordt gebracht met fosforyl-dimethylaminoethanol, in tegenwoordigheid van een carbodiimide.
10. Werkwijze volgens conclusie 9, welke uitgevoerd wordt in een formamide-pyridineoplossing bij een temperatuur van 15 tot 40°C.
- 25 11. Werkwijze volgens conclusie 9 of 10, waarbij het fosforyl-dimethylamino ethanolzout wordt gebruikt in hoeveelheden equivalent met 2 - 8 mol met betrekking tot het cytidine-5'-monofosforzuurzout.

8702280



8702280

Vecchi & C. Piam di G. Assereto - E. Maragliano & C. S.A.P.A.



8702280