NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO (11) **300156** (13) B1

(51) Int Cl^6 A 61 K 31/44

Patentstyret

(21) Søknadsnr	921575	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	
(22) Inng. dag	23.04.92		
(24) Løpedag	23.04.92	(85) Videreføringsdag	
(41) Alm. tilgj.	26.10.92	(30) Prioritet	24.04.91, CH, 1227/91
(45) Meddelt dato	21.04.97		

(73) Patenthaver Ciba-Geigy AG, Klybeckstrasse 141, CH-4002 Basel, CH
(72) Oppfinner Ajay Bhatnagar, Basel, CH
(74) Fullmektig Bryns Patentkontor AS, 0106 OSLO

(54) Benevnelse **Anvendelse av aromatasehemmeren 5-(p-cyanofenyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo-[1,5-a]pyridin for fremstilling av farmasøytiske preparater for å hindre befruktning hos hunnlige primater**

(56) Anførte publikasjoner EP A1 411735, US 4916144

(57) Sammendrag

Anvendelse av aromatasehemmere til antikonsepsjon (befruktningshindring) hos hunnlige primater, hhv. fremgangsmåte for antikonsepsjon hos hunnlige primater under anvendelse av slike substanser, hhv. anvendelse av disse substansene til fremstilling av farmasøytiske preparater til antikonsepsjon hos hunnlige primater.

Et svangerskap hos primater innbefattende mennesket, inntrer når en befruktet eggcelle har implantert seg i uterus-slimhimmen. Under forløpet av den hunnlige syklus skjer det en styring med hypofyseforlapphormonene FSH og LH til follikkelmodning og eggløsning (ovulasjon), hvorved en eggcelle blir frigjort i trakten til eggledereren. Dersom en sædcelle treffer på ovum skjer det en befruktning. Det befruktede egget bruker 3-4 dager på veien gjennom eggledereren til uterus. I løpet av denne tiden utvikler det seg i en rekke delinger til blastocyter, som omtrent 7 dager etter befruktning er implantert i uterusvevet.

Den klassiske hormonelle antikonsepsjon ("pillen") beror på hemming av ovulasjonen. De anvendte preparatene inneholder en kombinasjon av syntetiske gestagener og østrogen som med en negativ feed-back-mekanisme hemmer sekresjon av gonadotropiske hormoner LH og FSH og dermed follikkelmodning og eggløsning.

Den såkalte "minipillen" består av små doser gestagen. Kontraseptiv av denne type griper ikke hemmende inn i syklusen, men stimulerer produksjon av cervixslim og forandrer dennes fysikalske beskaffenhet slik at spermiene ikke lenger kan passere. Denne form for antikonsepsjon bygger utelukkende på den forannevnte mekaniske barrieren ved fysikalsk forandring av cervixslimet og er dessuten mindre sikker enn inntak av ovulasjonshemmere, på den annen side er den forbundet med mindre risiko (bivirkning).

Det vil være meget ønskelig å kunne forbinde fordelene med "pillen" - som innebærer stor sikkerhet - med de til "minipillen" - ingen påvirkning av hunnlig syklus.

Det er nå på overraskende måte funnet mulig ved administrering av aromatasehemmere til hunnlige primater innbefattende mennesket, å bevirke en sikker og pålitelig

antikonsepsjon og dermed ikke påvirke den menstruelle syklus til hunnlige primater i vesentlig grad.

Substanser som hemmer enzymet aromatase er allerede kjent. Videre er aromatasehemmere allerede blitt foreslått som antifertilitetsmidler for kvinner i forplantningsdyktig alder (se f.eks. EP-A-340 153, side 3, linje 5-6). I alle disse tilfellene skal aromatasehemmerne imidlertid tjene til å senke østerogenspeilet hos hunnlige pattedyr, som ved siden av implantasjon også hemmer ovulasjon. Det trenger ingen videre forklaring at den hunnlige syklus dermed, som den klassiske "pillen", blir i stor grad påvirket.

I motsetning til dette angår foreliggende oppfinnelse anvendelse av aromatasehemmeren 5-(p-cyanofenyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo-[1,5-a]pyridin hhv. dens optiske antipoder eller et farmasøytisk anvendbart syreaddisjonssalt av denne forbindelsen for fremstilling av farmasøytiske preparater, som inneholder 5-(p-cyanofenyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo-[1,5-a]pyridin hhv. dens optiske antipoder eller et farmasøytisk anvendbart syreaddisjonssalt av denne forbindelsen i en slik dosering, at befruktning blir hindret hos hunnlige primater i forplantningsdyktig alder, uten vesentlig å påvirke menstruasjonssyklus hos de hunnlige primatene.

Med "primater" forstår man, ifølge vanlig definisjon, halvaper, aper og mennesker. Hunnlige primater utmerker seg ved at de har en meget lignende reproduktiv-endokrinologi som atskiller seg stort fra reproduktiv-endokrinologien som oppvises hos andre pattedyr, f.eks. gnagere.

Den antikonsepsjonelle virkningen til aromatasehemmeren hos primater kan f.eks. bli bestemt ved hjelp av følgende forsøksanordning:

Hunnlige aper i fruktbar fase av syklus blir kohabitert med påvisbare fruktbare mannlige parter. Etter ovulasjon blir de

hunnlige dyrene behandlet med en aromatasehemmer. Under like eksperimentelle betingelser blir det gjennomført en kontroll som ikke innebærer behandling med testsubstans og insidens av svangerskap i behandlingsgruppen blir sammenlignet med den ubehandlede kontrollgruppen. For vurdering av regelmessighet i syklus blir det under den samlede forsøksvarigheten målt egnede parametre, f.eks. basaltemperatur, hormonspeil som serum-hormonspeil, særlig serum-progesteronspeil, og/eller inntreden av menstruasjon på ventet tidspunkt. Videre kan det påvises parametre i etterfølgende syklus, f.eks. inntreden av menstruasjon, lengde på luteal fase og/eller follikkelfunksjon, slik at den menstruelle syklus hos de behandlede primatene med de anvendte aromatasehemmerne i det vesentlige blir upåvirket.

Den minimale effektive dose for anvendelse av en aromatasehemmer som er nødvendig, kan bli bestemt eksperimentelt f.eks. på aper, f.eks. med følgende forsøksanordning:

a) Den samlede dosen av administrert aromatasehemmer blir redusert inntil man ikke mer kan registrere noe antikonseptiv virkning, dvs. til en signifikant del av dyrene er befruktet; og/eller

b) Behandlingsvarigheten blir redusert inntil man ikke mer kan registrere noen kontraseptiv virkning, dvs. inntil en signifikant del av dyrene eller alle dyrene er blitt befruktet.

Ifølge definisjonen er den minimale dosen den laveste dosen av virkestoff, som fører til en signifikant redusert svangerskapsinsidens i forhold til ubehandlede kontroller.

Signifikant betyr signifikant etter vanlige statistiske metoder, f.eks. Student's t-test.

Anvendelsesvarigheten av de anvendte aromatasehemmerne må velges slik at den menstruelle syklus hos hunnlige primater i det vesentlige ikke blir påvirket. For eksempel kan anvendelsen begynne etter ovulasjon, f.eks. 2 til 3 dager etter ovulasjon, og over fra ca. 5 til 6 dagers varighet mot slutten av syklus.

Med "aromatasehemmere" forstår man substanser, som hemmer enzymet aromatase (= østrogensyntetase), som er ansvarlig for omdannelse av androgener til østrogener. Fortrinnsvis dreier det seg om selektive aromatasehemmere, dvs. slike som foruten aromatasehemming i minst mulig grad oppviser ytterligere, uønskede hemmevirkninger på biosyntese av andre steroidhormoner, som gestagener, androgener, gluko- og mineralokortikoider, og f.eks. ikke induserer noe adrenal hypertrofi.

Med aromatasehemmere forstår man særlig slike substanser som ved bestemmelse av in vitro-hemming av aromataseaktivitet oppviser IC_{50}-verdier på 10^{-5} M eller mindre, særlig 10^{-6} eller lavere, særlig 10^{-7} M eller lavere og fremfor alt 10^{-8} M eller lavere.

In vitro-hemming av aromataseaktiviteten kan f.eks. vises ved metodene som er beskrevet i J. Biol. Chem. 249, 5364 (1974) eller i J. Enzyme Inhib. 4, 169 (1990). Videre kan IC_{50}-verdiene for aromatasehemming f.eks. bli oppnådd in vitro med en "direct product isolation"-metode som angår hemming av omdannelse av 4-^{14}C-androstendion til 4-^{14}C-østron i menneskelige plasentale mikrosomer.

I første rekke forstår man med aromatasehemmere slike substanser som utgjør ved minimale effektive doser ved in vivo-aromatasehemming ved 10 mg/kg eller under, særlig 1 mg/kg eller under, fortrinnsvis 0,1 mg/kg eller under og fremfor alt 0,01 mg/kg eller under.

In vivo aromatasehemmingen kan f.eks. bli bestemt etter følgende metode [se J. Enzyme Inhib. 4, 179 (1990)]: androstendion (30 mg/kg subkutan) blir alene hhv. sammen med en forbindelse (oralt eller subkutant) i 4 dager til ikke kjønnsmodne hunnlige rotter. Etter den fjerde anvendelsen blir rottene tatt livet av, uterus isolert og oppveid. Aromatasehemmingen blir bestemt ved graden hvori den ved administrering av androstendion alene forårsakede uterushypertrofi blir undertrykket hhv. forringet ved samtidig administrering av forbindelsene.

Oppfinnelsen angår i første rekke anvendelse av 5-(p-cyanofenyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazol[1,5-a]pyridin (=Fadrozol) eller et farmasøytisk anvendbart syreaddisjonssalt derav for fremstilling av farmasøytiske preparater til hindring av befruktning hos hunnlige primater i forplantningsdyktig alder, der den menstruelle syklus hos de hunnlige primatene i det vesentlige ikke påvirker menstruasjonssyklus.

Oppfinnelsen angår videre anvendelse av optiske antipoder av den ovenfor nevnte forbindelsene, (-)-5-(p-cyanofenyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazol[1,5-a]pyridin eller et farmasøytisk anvendbart syreaddisjonssalt derav for fremstilling av et preparat for befruktningshindring hos hunnlige primater i forplantningsdyktig alder, der den menstruelle syklus hos primatene i det vesentlige forblir upåvirket.

Som angitt over kan anvendelsen av aromatasehemmere til fremstilling av farmasøytiske preparater for hemming av fertilisasjon eller implantasjon hos hunnlige primater bli anvendt, uten at dermed den hunnlige syklus vesentlig blir påvirket.

Foreliggende oppfinnelse blir forklart nærmere i de etterfølgende eksemplene.

Eksempel 1

Antikonsepsjonell virkning av fadrozol-hydroklorid uten at den menstruelle syklus vesentlig blir påvirket

En gruppe på fem hunnlige Bonnetaper (M. Radiata) blir i fruktbar fase av syklus (dag 9-13; preovulatorisk og ovulatorisk fase) kohabisert med påvisbare fruktbare hannlige arter. Etter 4 dager (dag 13 i syklus) blir hannene fjernet. På kvelden den 13 syklusdagen blir de hunnlige dyrene innsatt med mini-alzet-pumpe, som kontinuerlig frisetter 500µg fadrozol-hydroklorid (5-(p-cyanofenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-imidazo[1,5-a]pyridin-hydroklorid) pr. dag. Mot slutten av syklus (dag 26) blir alzet-pumpene fjernet. Dette forløpet ble gjentatt under de neste tre syklusene. Under like eksperimentelle betingelser blir en kontrollgruppe som ikke er behandlet med fadrozolhydroklorid gjennomført med fem Bonnetaper. Til vurdering av regelmessighet i syklusene blir under den samlede forsøkstiden serum-østradiol- og -progesteronspeilet målt. Videre blir starten på menstruasjon kontrollert ved forventet tidspunkt.

Under disse eksperimentelle betingelsene ble 80% av de ubehandlede kontrolldyrene gravide, i motsetning hos de fadrozol-hydrokloridbehandlede dyrene i løpet av tre behandlede sykluser oppsto det i ingen enkelttilfeller et svangerskap. Alle fadrozol-hydroklorid-behandlede dyr sykliserte normalt, og dette ble kontrollert på bakgrunn av serum-hormonverdier og menstruasjonsstart til ventet tidspunkt. Behandling med fadrozolhydroklorid har i det vesentlige ingen påvirkning på syklus og lengden på luteal fase, progesteronprofilen og follikkelfunksjon i etterfølgende syklus. Den kontraseptive virkningen til fadrozol-hydroklorid er reversibel, da de opprinnelig behandlede dyrene allerede kort tid etter kohabitering var blitt gravide.

Eksempel 2

Det ble fremstilt 10 000 tabletter á 100 mg som hver inneholdt 0,2 mg virkestoff:

Sammensetning:

5-(p-cyanofenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-imidazo[1,5-a]pyridin-hydroklorid	2,00 g
Silisiumdioksidkolloidal	2,00 g
Cellulosemikrokrystallinsk	100,00 g
Laktose, sprøytetørket	836,00 g
Magnesiumstearat	10,00 g
Natriumkarboksymetylcellulose	50,00 g
	1000,00 g

Alle bestanddelene i tablettkjernen ble blandet med hverandre. Straks man har oppnådd en homogenblanding blir denne presset til tablettkjerner.

P a t e n t k r a v

1.
Anvendelse av aromatasehemmeren 5-(p-cyanofenyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo-[1,5-a]pyridin hhv. dens optiske antipoder eller et farmasøytisk anvendbart syreaddisjonssalt av denne forbindelsen for fremstilling av farmasøytiske preparater, som hindrer befruktning hos hunnlige primater i forplantningsdyktig alder, uten vesentlig å påvirke menstruasjonssyklus.

2.
Anvendelse av aromatasehemmeren (-)-5-(p-cyanofenyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,5-a]pyridin eller et farmasøytisk anvendbart syreaddisjonssalt av denne for det i krav 1 angitte formål.

3.
Anvendelse av 5-(p-cyanofenyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo-[1,5-a]pyridin-hydroklorid for det i krav 1 angitte formål.