

(19)



Octrooi Centrum
Nederland

(11) 1031882

(12) C OCTROOI²⁰

(21) Aanvraag om octrooi: 1031882

(22) Ingediend: 24.05.2006

(51) Int.Cl.:

A61K31/397 (2006.01) **A61K31/343** (2006.01)
A61K31/4164 (2006.01) **A61K31/415** (2006.01)
A61K31/403 (2006.01) **A61K31/405** (2006.01)
A61K31/437 (2006.01) **A61K31/4355** (2006.01)
A61K31/4353 (2006.01) **A61K31/454** (2006.01)
A61K31/4412 (2006.01) **A61K31/496** (2006.01)
A61K31/5517 (2006.01) **A61K31/53** (2006.01)
A61K31/52 (2006.01) **A61K31/506** (2006.01)
A61P3/04 (2006.01)

(30) Voorrang:
27.05.2005 US 60/685752
07.07.2005 US 60/697516

(41) Ingeschreven:
28.11.2006 I.E. 2007/02

(47) Dagtekening:
24.07.2007

(45) Uitgegeven:
03.09.2007 I.E. 2007/09

(73) Octrooihouder(s):
**Pfizer Products Inc. te Groton, Connecticut,
Verenigde Staten van Amerika (US).**

(72) Uitvinder(s):
**Terrell Ann Patterson te Groton,
Connecticut (US).**
**Andrew Gordon Swick te Groton,
Connecticut (US).**

(74) Gemachtigde:
Mr. G.L. Kooy c.s. te 2514 BB Den Haag.

(54) **Combinatietherapie voor het behandelen van obesitas of het handhaven van gewichtsverlies.**

(57) Hierin worden combinatietherapieën beschreven voor het behandelen van obesitas of verwante eetstoornissen en/of het verminderen van de voedselconsumptie. Deze omvatten het toedienen van een therapeutisch effectieve hoeveelheid van een antagonist van de cannabinoïd-1-(CB-1)-receptor en een intestinaal werkende remmer van microsomaal triglyceridetransfereiwit (MTPi) aan een dier dat aan een dergelijke behandeling behoefte heeft. De antagonist van de CB-1-receptor en de intestinaal werkende MTPi kunnen afzonderlijk of tezamen worden toegediend.

NL C 1031882

De inhoud van dit octrooi wijkt af van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en). De oorspronkelijk ingediende stukken kunnen bij het Octrooi Centrum Nederland worden ingezien. Octrooi Centrum Nederland is het Bureau voor de Industriële Eigendom, een agentschap van het ministerie van Economische Zaken

COMBINATIETHERAPIE VOOR HET BEHANDELEN VAN OBESITAS
OF HET HANDHAVEN VAN GEWICHTSVERLIES

TEREIN VAN DE UITVINDING

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op combinatietherapieën voor het behandelen van obesitas of verwante eetstoornissen en/of het verminderen van de voedselconsumptie door toedienen van een antagonist van de cannabinoïdreceptor-1 (CB-1) in combinatie met een intestinaal werkende remmer van microsomaal triglyceridetransfereiwit (MTPi).

ACHTERGROND

10 Obesitas is een ernstige zorg voor de volksgezondheid en wordt nu erkend als een chronische ziekte die behandeling behoeft voor het verminderen van de daarmee gepaardgaande gevaren voor de gezondheid. Hoewel gewichtsverlies een belangrijke uitkomst van de behandeling is, is één van
15 de belangrijkste doelen van de beheersing van obesitas toch het verbeteren van de cardiovasculaire en metabolische waarden om de door obesitas optredende morbiditeit en mortaliteit te verlagen. Men heeft aangetoond dat een verlies van 5-10% van het lichaamsgewicht tot een aanzienlijke
20 verbetering kan leiden van de metabolische waarden, zoals het glucosegehalte in het bloed, de bloeddruk en de lipideconcentraties. Derhalve is men van mening dat een bedoelde vermindering van 5-10% van het lichaamsgewicht de morbiditeit en mortaliteit kan verlagen.

De tegenwoordig op recept verkrijgbare geneesmiddelen voor het beheersen van obesitas verminderen in het algemeen het gewicht door het veroorzaken van een gevoel van verzadiging of het doen verminderen van de absorptie van vetten uit de voeding. Totnogtoe zorgen de commercieel verkrijgbare middelen tegen obesitas echter voor een slechts bescheiden gewichtsverlies. De succesvolste geneesmiddelregimes bij menselijke patiënten zijn combinaties van fentermine en fenfluramine of van efedrine, cafeïne en/of aspirine geweest. Men is echter met elk van deze combinaties gestopt vanwege zorgen op het gebied van de veiligheid. Hoewel de onderzoeken worden voortgezet bestaat er echter nog steeds behoefte aan een effectievere en veilige therapeutische behandeling voor het verminderen of voorkomen van een gewichtstoename.

SAMENVATTING VAN DE UITVINDING

De onderhavige uitvinding voorziet in een werkwijze voor het behandelen van obesitas of verwante eetstoornissen (bij voorkeur het verminderen van het gewicht en/of het handhaven van gewichtsverlies (of het voorkomen van een gewichtstoename)) die omvat de stap van het toedienen van een therapeutisch effectieve hoeveelheid van een combinatie van een antagonist van de cannabinoïd-1 (CB-1) receptor en een intestinaal werkende remmer van microsomaal triglyceridetransfereiwit (MTPi) aan een dier dat aan een dergelijke behandeling behoefte heeft. De CB-1-receptor-antagonist en intestinaal werkende MTPi kunnen afzonderlijk of tezamen worden toegediend. Bij voorkeur wordt de combinatietherapie toegediend tezamen met lichaamsbeweging en een verstandig dieet.

In een andere uitvoeringsvorm van de onderhavige uitvinding wordt voorzien in een werkwijze voor het verminderen van de voedselconsumptie (met inbegrip van het verlangen om voedsel te consumeren) die omvat de stap van het toedienen van een therapeutisch effectieve hoeveelheid van een combinatie van een antagonist van de cannabinoïd-1

(CB-1) receptor en een intestinaal werkende remmer van microsomaal triglyceridetransfereiwit (MTPi) aan een dier dat aan een dergelijke behandeling behoefte heeft. De CB-1-receptorantagonist en intestinaal werkende MTPi kunnen
5 afzonderlijk of tezamen worden toegediend. Bij voorkeur wordt de combinatietherapie toegediend tezamen met lichaamsbeweging en een verstandig dieet.

De hierboven beschreven combinatietherapieën kunnen worden toegediend als (a) een enkel farmaceutisch preparaat dat de CB-1-antagonist, de intestinaal werkende MTPi
10 en een farmaceutisch aanvaardbare excipiënt, farmaceutisch aanvaardbaar verdunningsmiddel of farmaceutisch aanvaardbare drager omvat, of (b) twee afzonderlijke farmaceutische preparaten omvattende (i) een eerste preparaat omvat-
15 tende de CB-1-antagonist en een farmaceutisch aanvaardbare excipiënt, farmaceutisch aanvaardbaar verdunningsmiddel of farmaceutisch aanvaardbare drager, en (ii) een tweede preparaat omvattende de intestinaal werkende MTPi en een farmaceutisch aanvaardbare excipiënt, farmaceutisch aanvaardbaar verdunningsmiddel of farmaceutisch aanvaardbare dra-
20 ger. De farmaceutische preparaten kunnen gelijktijdig of opeenvolgend en in elke volgorde worden toegediend.

In een andere uitvoeringsvorm van de onderhavige uitvinding wordt voorzien in een farmaceutisch preparaat om-
25 vattende (i) een CB-1-receptoragonist, (ii) een intestinaal werkende MTPi en (iii) een farmaceutisch aanvaardbare excipiënt, farmaceutisch aanvaardbaar verdunningsmiddel of farmaceutisch aanvaardbare drager, waarbij de hoeveelheid van de antagonist van de CP-1-receptor ongeveer 1,0 mg tot
30 ongeveer 100 mg (en bij voorkeur ongeveer 1,0 mg tot ongeveer 50 mg, liever ongeveer 2,0 mg tot ongeveer 40 mg, en liefst ongeveer 5,0 mg tot ongeveer 25 mg) bedraagt en de hoeveelheid van de intestinaal werkende MTPi typisch onge-
35 0,5 mg tot ongeveer 30 mg, liever ongeveer 0,5 mg tot ongeveer 20 mg en liefst ongeveer 1,0 mg tot ongeveer 15 mg) is.

Volgens nog een ander aspect van de onderhavige uitvinding wordt voorzien in een farmaceutische kit voor het gebruik door een consument voor het behandelen van obesitas en verwante eetstoornissen. De kit omvat (a) een geschikte doseringsvorm omvattende een CB-1-antagonist en een intestinaal werkende MTPi, en (b) instructies die een werkwijze beschrijven voor het gebruik van de doseringsvorm voor het behandelen van obesitas en/of verwante eetstoornissen en/of het verminderen van de voedselconsumptie.

In nog een andere uitvoeringsvorm van de onderhavige uitvinding omvat een farmaceutische kit: a) een eerste doseringsvorm omvattende (i) een CB-1-antagonist en (ii) een farmaceutisch aanvaardbare drager, farmaceutisch aanvaardbare excipiënt of farmaceutisch aanvaardbaar verdunningsmiddel, b) een tweede doseringsvorm omvattende (i) een intestinaal werkende MTPi en (ii) een farmaceutisch aanvaardbare drager, farmaceutisch aanvaardbare excipiënt of farmaceutisch aanvaardbaar verdunningsmiddel, en c) een houder.

Definities

Zoals hierin gebruikt betekent de frase "therapeutisch effectieve hoeveelheid" een hoeveelheid van de combinatie van verbindingen van de onderhavige uitvinding die (i) de desbetreffende ziekte behandelt (met inbegrip van de aandoeningen of stoornissen daarvan), (ii) één of meer symptomen van de desbetreffende ziekte verzwakt, verbetert of elimineert, of (iii) het begin van één of meer symptomen van de hierin beschreven desbetreffende ziekte voorkomt of vertraagt (vermindert bijv. de opgenomen hoeveelheid voedsel of het verlangen om voedsel te consumeren). De termen "behandelen" of "behandeling" omsluiten eveneens de preventieve (dat wil zeggen het handhaven van het gewicht) behandeling.

De term "dier" heeft betrekking op mensen (mannen of vrouwen), gezelschapsdieren (bijv. honden, katten en paar-

den), dieren die tot voedsel dienen, dieren in de dierentuin, zeedieren, vogels en andere gelijksoortige diersoorten. "Eetbare dieren" heeft betrekking op dieren die tot voedsel dienen, zoals koeien, varkens, schapen en pluimvee. Bij voorkeur is het dier een mens of een gezelschapsdier (bij voorkeur is het gezelschapsdier een hond) en liever is het dier een mens (man en/of vrouw).

De frase "farmaceutisch aanvaardbaar" geeft aan dat de stof of het preparaat chemisch en/of toxicologisch verenigbaar dient te zijn met de andere bestanddelen die deel uitmaken van een preparaat, en/of het dier dat daarmee wordt behandeld.

De term "antagonist" omvat zowel volledige antagonisten als partiële antagonisten, alsmede omgekeerde agonisten.

De term "voedsel" heeft betrekking op voedsel en drinken voor menselijke consumptie, en consumptie door andere dieren.

KORTE BESCHRIJVING VAN DE FIGUREN

Fig. 1 illustreert de afgenomen voedselopname die wordt waargenomen voor de combinatie van 10 mg/kg van Verbinding A en 3 mg/kg Dirlotapide in vergelijking met vehiculum (geen geneesmiddel), 10 mg/kg van verbinding A alleen en 3 mg/kg Dirlotapide alleen.

Fig. 2 illustreert de afgenomen voedselopname die wordt waargenomen voor de combinatie van 10 mg/kg van verbinding A en 10 mg/kg Dirlotapide in vergelijking met vehiculum (geen geneesmiddel), 10 mg/kg van verbinding A alleen en 10 mg/kg Dirlotapide alleen.

Fig. 3 illustreert de afgenomen voedselopname die wordt waargenomen voor de combinatie van 30 mg/kg van verbinding A en 3 mg/kg Dirlotapide in vergelijking met vehiculum (geen geneesmiddel), 30 mg/kg van verbinding A alleen en 3 mg/kg Dirlotapide alleen.

Fig. 4 illustreert de afgenomen voedselopname die wordt waargenomen voor de combinatie van 30 mg/kg van ver-

binding A en 10 mg/kg Dirlotapide in vergelijking en ver-
hiculum (geen geneesmiddel), 30 mg/kg van verbinding A al-
leen en 10 mg/kg Dirlotapide alleen.

5

GEDETAILLEERDE BESCHRIJVING

De aanvragers hebben ontdekt dat aanzienlijke vermin-
deringen van de voedselopname kunnen worden verkregen door
toedienen van een antagonist van de CB-1-receptor in com-
binatie met een intestinaal werkende remmer van MTP. Bij
10 voorkeur wordt de combinatietherapie toegediend tezamen
met lichaamsbeweging en een verstandig dieet.

Antagonisten van de cannabinoïd-1 (CB-1) receptor:

15 Zoals hierin gebruikt betekent de term "CB-1 recep-
tor" een aan G-eiwit gekoppelde cannabinoïdreceptor type
1. Bij voorkeur is de antagonist van de CB-1-receptor se-
lectief voor de CB-1-receptor. "Selectief voor de CB-1-re-
ceptor" betekent dat de verbinding weinig of geen activi-
teit heeft voor wat betreft het antagoniseren van de can-
nabinoïd-2-receptor (CB-2). Liever is de CB-1-antagonist
20 ten minste ongeveer 10 maal selectiever voor de CB-1-re-
ceptor dan voor de CB-2-receptor. De remmende concentratie
(IC₅₀) voor het antagoniseren van de CB-1-receptor is bij-
voorbeeld ongeveer 10 of meer keer lager dan de IC₅₀-waarde
25 voor het antagoniseren van de CB-2-receptor. Bioassaysys-
temen voor het bepalen van bindingseigenschappen van CB-1
en CB-2 en de farmacologische activiteit van liganden van
de cannabinoïdreceptor worden door Roger G. Pertwee be-
schreven in "Pharmacology of Cannabinoïd Receptor Ligan-
30 ds", Current Medicinal Chemistry, 6, 635-664 (1999) en in
WO 92/02640 (Amerikaanse octrooiaanvraag 07/564.075, inge-
diend op 8 augustus 1990 en hierin opgenomen door verwij-
zing).

Geschikte antagonisten van de CB-1-receptor omvatten
35 verbindingen beschreven in Amerikaanse octrooischriften
5.462.960; 5.596.106; 5.624.941; 5.747.524; 6.017.919;

6.028.084; 6.432.984; 6.476.060; 6.479.479; 6.518.264 en 6.566.356;

Amerikaanse octrooipublicaties 2003/0114495; 2004/0077650; 2004/0092520; 2004/0122074; 2004/0157838; 5 2004/0157839; 2004/0214837; 2004/0214838; 2004/0214855; 2004/0214856; 2004/0058820; 2004/0235926; 2004/0248881; 2004/0259887; 2005/0080087; 2005/0026983 en 2005/0101592;

PCT octrooipublicaties WO 03/075660; WO 02/076949; WO 01/029007; WO 04/048317; WO 04/058145; WO 04/029204; 10 WO 04/012671; WO 03/087037; WO 03/086288; WO 03/082191; WO 03/082190; WO 03/063781; WO 04/012671; WO 04/013120; WO 05/020988; WO 05/039550; WO 05/044785; WO 05/044822; WO 05/049615; WO 05/061504; WO 05/061505; WO 05/061506; WO 05/061507 en WO 05/103052 en

15 Amerikaanse voorlopige octrooiaanvragen Serienr. 60/673535, ingediend op 20 april 2005, en 60/673546, ook ingediend op 20 april 2005.

Alle bovenstaande octrooischriften en octrooiaanvragen zijn hierin opgenomen door verwijzing.

20 Voorkeursantagonisten van de CB-1-receptor voor gebruik in de werkwijzen van de onderhavige uitvinding omvatten: rimonabant (SR141716A, ook bekend onder het handelsmerk AcompliaTM) is verkrijgbaar bij Sanofi-Synthelabo of kan worden bereid zoals beschreven in Amerikaans octrooischrift 5.624.941; N-(piperidine-1-yl)-1-(2,4-dichloorfenyl)-5-(4-joodfenyl)-4-methyl-1H-pyrazool-3-carboxamide (AM251) is verkrijgbaar bij TocrisTM, Ellisville, MO, VS; [5-(4-broomfenyl)-1-(2,4-dichloorfenyl)-4-ethyl-N-(1-piperidiny1)-1H-pyrazool-3-carboxamide] (SR147778) dat 25 kan worden bereid zoals beschreven in Amerikaans octrooischrift 6.645.985; N-(piperidine-1-yl)-4,5-difenyl-1-methylimidazool-2-carboxamide, N-(piperidine-1-yl)-4-(2,4-dichloorfenyl)-5-(4-chloorfenyl)-1-methylimidazool-2-carboxamide, N-(piperidine-1-yl)-4,5-di(4-methylfenyl)-1-methylimidazool-2-carboxamide, N-cyclohexyl-4,5-di(4-methylfenyl)-1-methylimidazool-2-carboxamide, N-(cyclohexyl)-4-(2,4-dichloorfenyl)-5-(4-chloorfenyl)-1-methylimidazool-2- 35

carboxamide en N-(fenyl)-4-(2,4-dichloorfenyl)-5-(4-chloorfenyl)-1-methylimidazool-2-carboxamide die kunnen worden bereid zoals beschreven in PCT octrooipublicatie WO 03/075660; het hydrochloride-, mesylaat- en besylaatzout

5 van 1-[9-(4-chloorfenyl)-8-(2-chloorfenyl)-9H-purine-6-yl]-4-ethylaminopiperidine-4-carbonzuuramide dat kan worden bereid zoals beschreven in Amerikaanse octrooipublicatie 2004/0092520; 1-[7-(2-chloorfenyl)-8-(4-chloorfenyl)-2-methylpyrazolo[1,5-a][1.3.5]triazine-4-yl]-3-ethylamino-

10 azetidine-3-carbonzuuramide en 1-[7-(2-chloorfenyl)-8-(4-chloorfenyl)-2-methylpyrazolo[1,5-a][1.3.5]triazine-4-yl]-3-methylaminoazetidine-3-carbonzuuramide die kunnen worden bereid zoals beschreven in Amerikaanse octrooipublicatie 2004/0157839; 3-(4-chloorfenyl)-2-(2-chloorfenyl)-6-(2,2-

15 difluorpropyl)-2,3,5,6-tetrahydropyrazolo[3,4-c]pyridine-7-on dat kan worden bereid zoals beschreven in Amerikaanse octrooipublicatie 2004/0214855; 3-(4-chloorfenyl)-2-(2-chloorfenyl)-7-(2,2-difluorpropyl)-6,7-dihydro-2H,5H-4-oxa-1,2,7-triazaazuleen-8-on dat kan worden bereid zoals

20 beschreven in Amerikaanse octrooipublicatie 2005/0101592; 2-(2-chloorfenyl)-6-(2,2,2-trifluorethyl)-3-(4-trifluormethylfenyl)-2,6-dihydropyrazolo[4,3-d]pyrimidine-7-on dat kan worden bereid zoals beschreven in Amerikaanse octrooipublicatie 2004/0214838; (S)-4-chloor-N-([3-(4-chloorfe-

25 nyl)-4-fenyl-4,5-dihydropyrazool-1-yl]methylaminomethyleenbenzeensulfonamide (SLV-319) en (S)-N-([3-(4-chloorfenyl)-4-fenyl-4,5-dihydropyrazool-1-yl]methylaminomethyleen)-4-trifluormethylbenzeensulfonamide (SLV-326) die kunnen worden bereid zoals beschreven in PCT octrooipublicatie WO 02/076949; N-piperidino-5-(4-broomfenyl)-1-(2,4-

30 dichloorfenyl)-4-ethylpyrazool-3-carboxamide dat kan worden bereid zoals beschreven in Amerikaans octrooischrift 6.432.984; 1-[bis(4-chloorfenyl)methyl]-3-[(3,5-difluorfenyl)methaansulfonylmethyleen]azetidine dat kan worden bereid zoals beschreven in Amerikaans octrooischrift

35 6.518.264; 2-(5-(trifluormethyl)pyridine-2-yloxy)-N-(4-(4-chloorfenyl)-3-(3-cyaanfenyl)butaan-2-yl)-2-methylpropaan-

amide dat kan worden bereid zoals beschreven in PCT octrooipublicatie WO 04/048317; 4-{{[6-methoxy-2-(4-methoxy-fenyl)-1-benzofuran-3-yl]carbonyl}benzonitril (LY-320135) dat kan worden bereid zoals beschreven in Amerikaans octrooischrift 5.747.524; 1-[2-(2,4-dichloorfenyl)-2-(4-fluorfenyl)benzo[1,3]dioxool-5-sulfonyl]piperidine dat kan worden bereid zoals beschreven in WO 04/013120 en [3-amino-5-(4-chloorfenyl)-6-(2,4-dichloorfenyl)furo[2,3-b]-pyridine-2-yl]fenylmethanon dat kan worden bereid zoals
 10 beschreven in WO 04/012671.

Intestinale remmers van microsomaal triglyceridetransfereiwit

Microsomaal triglyceridetransfereiwit (Microsomal Triglyceride Transfer Protein; MTP) katalyseert het transport van lipiden tussen fosfolipide-oppervlakken; zie Wetterau, J.R. et al., Biochem Biophys Acta, **1345**, 136-150 (1997). Het eiwit wordt gevonden in het lumen van de lever en de intestinale microsomen. MTP is een heterodimeer dat
 20 bestaat uit een voor MTP specifieke grote subeenheid (97 kD) en proteïnedisulfide-isomerase (PDI, 58 kD). PDI is een algemeen verspreid eiwit van het endoplasmatisch reticulum (ER) en een essentiële component voor de structurele en functionele integriteit van MTP. MTP is noodzakelijk
 25 voor de intracellulaire productie van apolipoproteïne B (apoB) bevattende plasmalipoproteïnen. Hoewel de precieze rol van MTP in de samenstelling van de lipoproteïnen niet bekend is, transporteert dit hoogstwaarschijnlijk lipiden vanaf het membraan van het ER naar de lipoproteïnedeeftjes
 30 die worden gevormd in het lumen van het ER. Apolipoproteïne B is de voornaamste eiwitcomponent van hepatische VLDL (very low density lipoproteins) en intestinale chylomicros. Stoffen die MTP remmen, verminderen de secretie van apoB-bevattende lipoproteïnen. Elke remming van MTP verlaagt dus de plasmaconcentraties van cholesterol en
 35 triglyceriden in apoB-bevattende lipoproteïnen. De remming van de intestinale absorptie van vetten uit het voedsel

door MTP-remmers is naar wordt aangenomen bruikbaar voor het behandelen van aandoeningen zoals obesitas en diabetes mellitus waarbij een overmatige consumptie van vetten in aanzienlijke mate bijdraagt tot de ontwikkeling van de ziekte; zie Grundy, S.M., Am J Clin Nutr, 57(suppl), 563S-572S (1998).

In de praktijk van de onderhavige uitvinding zijn de intestinaal werkende MTP-remmers bij voorkeur intestinaal selectief. De term "intestinaal selectief" betekent dat de MTP-remmer een intenser contact met het MTP in de intestinale microsomen heeft dan het MTP in de lever. De MTPi is bij voorkeur driemaal selectiever voor het MTP in de intestinale microsomen dan het MTP in de lever, en liever is de MTPi 10 maal selectiever voor het MTP in de intestinale microsomen dan het MTP in de lever, en liefst is de MTPi 100 maal selectiever voor de MTP in de intestinale microsomen dan het MTP in de lever. De selectiviteit wordt in het algemeen gemeten door de ophoping van triglyceride (TG). Bruikbare intestinaal werkende MTPi en/of doses van intestinaal werkende MTPi zijn die welke tot triglyceride-ophoping in de darmen zouden leiden en geen statistisch significante triglyceride-ophoping in de lever tot gevolg hebben. De triglycerideconcentratie zou in dieren kunnen worden vastgesteld door uitnemen van intestinaal en leverweefsel, extraheren en bepalen van de triglyceridegehalten. Bij voorkeur is de TG-ophoping in de darmen 3 maal hoger dan de TG-ophoping in de lever, liever is de TG-ophoping in de darmen 10 maal hoger dan de TG-ophoping in de lever, en liefst is de TG-ophoping in de darmen 100 maal hoger dan de TG-ophoping in de lever. Aangezien een correlatie tussen de intestinale TG-ophoping en een vermindering van de voedselconsumptie werd vastgesteld, is het redelijk om aan te nemen dat een geringere voedselopname direct of indirect voortvloeit uit de intestinale remming van MTP; metingen van de voedselopname zorgen derhalve voor andere bruikbare middelen voor het beoordelen van de intestinale remming van MTP.

De testinale selectiviteit kan worden bereikt door het regelen van de oplosbaarheid van de remmer in het darmkanaal en/of de afgifte van de remmer uit de doseringsvorm.

- 5 In het recentere verleden is van MTP-remmers aangetoond dat deze de voedselopname door honden en katten verminderen; zie EP 1099438.

Geschikte intestinaal werkende MTP-remmers omvatten verbindingen beschreven in de Amerikaanse octrooischriften

10 4.453.913; 4.473.425; 4.491.589; 4.540.458; 4.962.115;
 5.057.525; 5.137.896; 5.286.647; 5.521.186; 5.595.872;
 5.646.162; 5.684.014; 5.693.650; 5.712.279; 5.714.494;
 5.721.279; 5.739.135; 5.747.505; 5.750.783; 5.760.246;
 5.789.197; 5.811.429; 5.827.875; 5.837.733; 5.849.751;
 15 5.883.099; 5.883.109; 5.885.983; 5.892.114; 5.919.795;
 5.922.718; 5.925.646; 5.929.075; 5.929.091; 5.935.984;
 5.952.498; 5.962.440; 5.965.577; 5.968.950; 5.998.623;
 6.025.378; 6.034.098; 6.034.115; 6.051.229; 6.051.387;
 6.051.693; 6.057.339; 6.066.650; 6.066.653; 6.114.341;
 20 6.121.283; 6.191.157; 6.194.424; 6.197.798; 6.197.792;
 6.200.971; 6.235.730; 6.235.770; 6.245.775; 6.255.330;
 6.265.431; 6.281.228; 6.288.234; 6.329.360; 6.342.245;
 6.369.075; 6.417.362; 6.451.802; 6.479.503; 6.492.365;
 6.583.144; 6.617.325; 6.713.489; 6.720.351; 6.774.236 en
 25 6.777.414;

Amerikaanse octrooipublicaties 2002/028940;
 2002/032238; 2002/055635; 2002/132806; 2002/147209;
 2003/149073; 2003/073836; 2003/105093; 2003/114442;
 2003/0162788; 2003/166590; 2003/166637; 2003/181714;
 30 2004/009988; 2004/014971; 2004/024215; 2004/034028;
 2004/044008; 2004/058903; 2004/102490; 2004/157866 en
 2005/234099;

PCT octrooipublicaties WO 96/262205; WO 98/016526;
 WO 98/031366; WO99/55313; WO 00/005201; WO 01/000183;
 35 WO 01/000184; WO 01/000189; WO 01/005767; WO 01/012601;
 WO 01/014355; WO 01/021604; WO 01/053260; WO 01/074817;

WO 01/077077; WO 02/014276; WO 02/014277; WO 02/081460;
WO 02/083658 en WO 04/017969 en

Japanse octrooipublicaties JP2002-212179(14212179) en
JP2002-220345(14220345).

5 Zie voor een overzicht van remmers van apo-B/MTP Wil-
liams, S.J. en J.D. Best, Expert Opin Ther Patents, **13**(4),
479-488 (2003). Zie voor werkwijzen die kunnen worden ge-
bruikt voor het identificeren van actieve MTP-remmers
10 Chang, G. et al., "Microsomal triglyceride transfer pro-
tein (MTP) inhibitors: Discovery of cliniclaly active in-
hibitors using high-throughput screening and parallel syn-
thesis paradigms", Current Opinion in Drug Discovery & De-
velopment, **5**(4), 562-570 (2002). Alle bovenstaande oc-
trooischriften, octrooiaanvragen en referenties zijn hier-
15 in opgenomen door verwijzing.

Intestinaal werkende MTP-remmers die de voorkeur heb-
ben voor gebruik in de combinaties, farmaceutische prepa-
raten en werkwijzen van de onderhavige uitvinding omvatten
dirlotapide ((S)-N-{2-[benzyl(methyl)amino]-2-oxo-1-phenyl-
20 ethyl}-1-methyl-5-[4'-(trifluormethyl)[1,1'-bifenyl]-2-
carboxamido]-1H-indool-2-carboxamide) en 1-methyl-5-[(4'-
trifluormethylbifenyl-2-carbonyl)amino]-1H-indool-2-car-
bonzuur(carbamoylfenylmethyl)amide die beide kunnen worden
bereid met gebruik van werkwijzen beschreven in Amerikaans
25 octrooischrift 6.720.351; (S)-2-[(4'-trifluormethylbife-
nyl-2-carbonyl)amino]chinoline-6-carbonzuur(pentylcarba-
moyl)fenylmethyl)amide, (S)-2-[(4'-tert-butylbifenyl-2-
carbonyl)amino]chinoline-6-carbonzuur-[(4-fluorbenzyl)me-
thylcarbamoyl]fenylmethyl)amide en (S)-2-[(4'-tert-butyl-
30 bifenyl-2-carbonyl)amino]chinoline-6-carbonzuur[(4-fluor-
benzylcarbamoyl)fenylmethyl)amide die alle kunnen worden
bereid zoals beschreven in Amerikaanse octrooipublicatie
2005/0234099; (-)-4-[4-[4-[4-[(2S,4R)-2-(4-chloorfenyl)-
2-[(4-methyl-4H-1,2,4-triazool-3-yl)sulfanyl]methyl-1,3-
35 dioxolaan-4-yl]methoxy]fenyl]piperazine-1-yl]fenyl]-2-
(1R)-1-methylpropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazool-3-on
(ook bekend als Mitratapide of R103757) dat kan worden be-

reid als beschreven in de Amerikaanse octrooischriften 5.521.186 en 5.929.075, en implitapide (BAY 13-9952) dat kan worden bereid als beschreven in Amerikaans octrooischrift 6.265.431. De meeste voorkeur hebben dirlotapide, 5 mitratapide, (S)-2-[(4'-trifluormethylbifenyl-2-carbonyl)-amino]chinoline-6-carbonzuur(pentylcarbamoylfenylmethyl)-amide, (S)-2-[(4'-tert-butylbifenyl-2-carbonyl)amino]chinoline-6-carbonzuur{[(4-fluorbenzyl)methylcarbamoyl]fenylmethyl}amide of (S)-2-[(4'-tert-butylbifenyl-2-carbonyl)- 10 amino]chinoline-6-carbonzuur[(4-fluorbenzylcarbamoyl)fenylmethyl]amide.

Een typisch preparaat wordt bereid door mengen van de antagonist van de CB-1-receptor en/of de intestinaal werkende MTPi met een drager, verdunningsmiddel of excipiënt. 15 Geschikte dragers, verdunningsmiddelen en excipiënten zijn bekend voor de deskundigen en omvatten materialen zoals koolhydraten, wassen, in water oplosbare en/of zweelbare polymeren, hydrofiele of hydrofobe materialen, gelatine, oliën, oplosmiddelen, water en dergelijke. De of het ge- 20 bruikte desbetreffende drager, verdunningsmiddel of excipiënt zal afhankelijk zijn van de wijzen waarop en het doel waarvoor de verbindingen van de onderhavige uitvinding worden toegepast. Oplosmiddelen worden in het algemeen gekozen op grond van oplosmiddelen waarvan voor deskundigen bekend is dat deze veilig (GRAS) aan een zoogdier 25 kunnen worden toegediend. In het algemeen zijn veilige oplosmiddelen niet-toxische waterige oplosmiddelen zoals water en andere niet-toxische oplosmiddelen die oplosbaar in of mengbaar met water zijn. Geschikte waterige oplosmiddelen 30 omvatten water, ethanol, propyleenglycol, polyethyleenglycolen (bijv. PEG400, PEG300), enz. en mengsels daarvan. De preparaten kunnen ook excipiënten omvatten, zoals buffers, stabilisatoren, oppervlakactieve stoffen, bevochtigingsmiddelen, smeermiddelen, emulgatoren, suspendermiddelen, conserveermiddelen, antioxidanten, middelen 35 die ondoorschijnend maken, glijmiddelen, hulpmiddelen bij de verwerking, kleurstoffen, zoetstoffen, parfums, geur-

en smaakstoffen en andere bekende additieven, hetgeen voorziet in een elegante presentatie van het geneesmiddel of het hulpmiddel bij het vervaardigen van het farmaceutische product (dat wil zeggen een geneesmiddel).

5 De preparaten kunnen worden bereid met gebruik van gebruikelijke procedures voor oplossen en mengen. De bulkstof van het geneesmiddel (de verbinding of de gestabiliseerde vorm van de verbinding (bijv. een complex met een cyclodextrinederivaat of een ander bekend complexerings-

10 middel)) wordt in aanwezigheid van één of meer van de hierboven beschreven excipiënten opgelost in een geschikt oplosmiddel. De verbinding wordt typisch geformuleerd in farmaceutische doseringsvormen, hetgeen in een gemakkelijk te regelen dosering van het geneesmiddel voorziet en de

15 patiënt een elegant en gemakkelijk te hanteren product geeft. De antagonist van de CB-1-receptor en de intestinaal werkende MTP1 kunnen in een enkele doseringsvorm of in afzonderlijke doseringsvormen worden geformuleerd. Om de oplossnelheid te vergroten kan het gunstig zijn om

20 slecht in water oplosbare verbindingen te dispergeren in een geschikt disperseermiddel voordat tot een doseringsvorm wordt geformuleerd. De in water onoplosbare of gedeeltelijk in water oplosbare verbinding kan bijvoorbeeld worden gesproeidroogd in aanwezigheid van een solubilisermiddel of een disperseermiddel; zie bijv. Takeuchi,

25 Hirofumi, et al., J. Pharm Pharmacol, **39**, 769-773 (1987) en WO 05/046644. Andere technieken voor het verbeteren van de biologische beschikbaarheid van slecht in water oplosbare verbindingen worden beschreven door Verreck, G., et

30 al., "The Use of Three Different solid Dispersion Formulations-Melt Extrusion, Film-coated Beads, and a Glass Thermoplastic System-to Improve the Bioavailability of a Novel Microsomal Triglyceride Transfer Protein Inhibitor", J. Pharm Sci, 93(5), 1217-1228 (2004); en Peeters, J. et al.,

35 Proceed. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., **28**, 704-705 (2001).

Voor orale toediening wordt het farmaceutische preparaat in het algemeen in afzonderlijke eenheden toegediend. Typische doseringsvormen omvatten bijvoorbeeld tabletten, dragees, capsules, granules, sachets en vloeibare oplossingen of suspensies waarbij elk een tevoren bepaalde hoeveelheid van de één of meer actieve bestanddelen bevat in de vorm van een poeder of granules, of als een oplossing of een suspensie in een waterige vloeistof, een niet-waterige vloeistof, een vloeibare olie-in-wateremulsie of een water-in-olie-emulsie.

Samengeperste tabletten kunnen worden bereid door samenpersen van de één of meer actieve bestanddelen in een rulle vorm, zoals een poeder of granules, met een bindmiddel, smeermiddel, inert verdunningsmiddel, oppervlakactief middel en/of disperseermiddel.

Vloeibare doseringsvormen voor orale toediening omvatten farmaceutisch aanvaardbare emulsies, oplossingen, suspensies, siropen en elixers. Behalve de één of meer actieve bestanddelen kan de vloeibare doseringsvorm inerte verdunningsmiddelen bevatten die gewoonlijk in het vakgebied worden gebruikt, zoals water of andere oplosmiddelen, solubiliseermiddelen en emulgatoren zoals bijvoorbeeld ethylalcohol, isopropylalcohol, ethylcarbonaat, ethylacetat, benzylalcohol, benzylbenzoeaat, propyleenglycol, 1,3-butyleenglycol, dimethylformamide, oliën (bijv. katoenzaadolie; grondnootolie, maïskiemolie, olijfolie, ricinusolie, sesamolie en dergelijke), glycerol, tetrahydrofurfurylalcohol, polyethyleenglycolen en vetzuuresters van sorbitan, of mengsels van deze stoffen, en dergelijke.

Behalve dergelijke inerte verdunningsmiddelen kan het preparaat ook excipiënten omvatten, zoals bevochtigingsmiddelen, emulgatoren en suspendeermiddelen, zoetstoffen en geur- en smaakstoffen.

Behalve de actieve bestanddelen kunnen suspensies bovendien suspendeermiddelen, bijv. geëthoxyleerde isostearylalcoholen, polyoxyethyleensorbitol en sorbitanesters, microkristallijne cellulose, aluminiummetahydroxide, ben-

toniet, agar-agar en tragantgom, of mengsels van deze stoffen, en dergelijke bevatten.

Het farmaceutische preparaat (of formulering) kan voor toepassing op diverse manieren worden verpakt die afhankelijk zijn van de methode die voor de toediening van het geneesmiddel wordt gebruikt. In het algemeen omvat een artikel voor distributie een houder waarin het farmaceutische preparaat in een gepaste vorm aanwezig is. Geschikte houders zijn voor de deskundigen bekend en omvatten materialen zoals flessen (van plastic en glas), sachets, ampullen, plastic zakken, metalen cilinders en dergelijke. De houder kan ook een daarop of daaraan gemonteerde voorziening omvatten die ongeëigende toegang tot de inhoud van de verpakking voorkomt. Bovendien is op de houder een label aangebracht dat de inhoud van de houder omschrijft. De label kan ook gepaste waarschuwingen omvatten. De houder kan tevens instructies bevatten voor het gebruik van de één of meer doseringsvormen voor de behandeling van obesitas of verwante eetstoornissen, of voor vermindering van de voedselconsumptie.

De verbindingen kunnen worden toegediend met een werkwijze die de verbindingen bij voorkeur aan het gewenste weefsel (bijv. hersen-, nier- of intestinale weefsels) afgeeft. Deze werkwijzen omvatten de orale, parenterale, intraduodenale, transdermale routes, enz. In het algemeen worden de verbindingen oraal in enkele (bijv. eenmaal daags) of meervoudige doses toegediend. De hoeveelheid en het tijdstip van de toegediende verbindingen zullen uiteraard afhankelijk zijn van de patiënt die wordt behandeld, van de ernst van de aandoening, van de wijze van toediening en van het oordeel van de voorschrijvende arts. Vanwege de variabiliteit van patiënt tot patiënt vormen de hierin gegeven doseringen dus slechts een richtlijn en kan de arts de doses van het geneesmiddel titreren om de behandeling te bereiken die de arts voor de patiënt geschikt acht. Bij het beoordelen van de mate van behandeling die wordt gewenst dient de arts een balans te vinden tussen

een aantal factoren zoals de leeftijd van de patiënt, het optreden van een eerdere ziekte, de levensstijl, alsmede de aanwezigheid van andere ziekten (bijv. cardiovasculaire ziekten).

5 Voor gebruik door mensen ligt de dagelijkse dosis van de intestinaal werkende MTPi in het algemeen tussen ongeveer 0,05 mg en ongeveer 50 mg, bij voorkeur tussen ongeveer 0,5 mg en ongeveer 30 mg, liever tussen ongeveer 0,5 mg en ongeveer 20 mg en liefst tussen ongeveer 1,0 mg en
10 ongeveer 15 mg. Voor gebruik niet door mensen weten de deskundigen hoe de dosering aan het desbetreffende gewicht van het dier kan worden aangepast. In sommige gevallen kan de MTPi worden toegediend in combinatie met een middel voor het verminderen van een vette lever (bijv. een fibraat of PPAR-alfa-agonist); zie bijv. JP publicatie 2002-220345 (ocrooiaanvraag 2001-015602) met de titel "Remedial Agent for Fatty Liver", en Kersten, S., "Peroxisome Proliferator Activated Receptors and Obesity", Eur J Pharm., **440**, 223-234 (2002).

20 Voor gebruik door mensen ligt de dagelijkse dosis van de antagonist van de CB-1-receptor in het algemeen tussen ongeveer 1,0 mg en ongeveer 100 mg, bij voorkeur tussen ongeveer 1,0 mg en ongeveer 50 mg, liever tussen ongeveer 2,0 mg en ongeveer 40 mg en liefst tussen ongeveer 5,0 mg
25 en ongeveer 25 mg. Voor gebruik niet door mensen weten de deskundigen hoe de dosering aan het desbetreffende gewicht van het dier kan worden aangepast.

FARMACOLOGISCHE TESTEN

30 Identificatie van CB-1-antagonisten

CB-1-antagonisten die bruikbaar zijn in de praktijk van de onderhavige uitvinding kunnen worden geïdentificeerd met ten minste één van de hierna beschreven protocollen. De volgende acroniemen worden in de hierna beschreven protocollen gebruikt.

BSA - runderserumalbumine

DMSO - dimethylsulfoxide

EDTA - ethyleendiaminetetraazijnzuur
 PBS - met fosfaat gebufferde zoutoplossing
 EGTA - ethyleenglycolbis(β -aminoethylether)-
 N,N,N',N'-tetraazijnzuur

5 GDP - guanosinedifosfaat

[³H]-SR141716A - van een radiolabel voorzien N-(piperidine-1-yl)-5-(4-chloorfenyl)-1-(2,4-dichloorfenyl)-4-methyl-1H-pyrazool-3-carboxamide-hydrochloride dat verkrijgbaar is bij Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, VS.

10 [³H]-CP-55940 - van een radiolabel voorzien 5-(1,1-dimethylheptyl)-2-[5-hydroxy-2-(3-hydroxypropyl)cyclohexyl]-fenol dat verkrijgbaar is bij NEN Life Science Products, Boston, MA, VS.

15 AM251 - N-(piperidine-1-yl)-1-(2,4-dichloorfenyl)-5-(4-joodfenyl)-4-methyl-1H-pyrazool-3-carboxamide dat verkrijgbaar is bij TocrisTM, Ellisville, MO, VS.

In vitro biologische assays

20 Bioassaysystemen voor het bepalen van de bindings-eigenschappen van CB-1 en CB-2 en de farmacologische activiteit van liganden voor de cannabinoïdreceptor zijn beschreven door Roger G. Pertwee in "Pharmacology of Cannabinoid Receptor Ligands", Current Medicinal Chemistry, 6, 635-664 (1999) en in WO 92/02640 (Amerikaanse octrooiaanvraag 07/564.075, ingediend op 8 augustus 1990 en hierin opgenomen door verwijzing). De volgende assays zijn ontworpen voor het detecteren van de verbindingen die de binding van [³H]-SR141716A (selectief van een radiolabel voorzien ligand voor CB-1) en [³H]-5-(1,1-dimethylheptyl)-2-[5-hydroxy-2-(3-hydroxypropyl)cyclohexyl]fenol ([³H]CP-55940; van een radiolabel voorzien ligand voor CB-1/CB-2) aan hun respectievelijke receptoren remt.

Protocol voor binding aan CB-1-receptor van ratten

35 PelFreeze hersenen (verkrijgbaar bij Pel Freeze Biologicals, Rogers, Arkansas, VS) worden in stukken gesneden en in buffer voor een weefselpreparaat gebracht (5 mM

Tris- HCl, pH = 7,4 en 2 mM EDTA), bij hoge snelheid gehomogeniseerd met een Polytron en gedurende 15 minuten in ijs gehouden. Het homogenaat wordt vervolgens gedurende 5 minuten geroteerd bij 4°C en 1000x g. De supernatant wordt
5 verwijderd en gedurende 1 uur en gecentrifugeerd bij 4°C en 100.000x g. De pellet wordt vervolgens opnieuw gesuspendeerd in 25 ml TME (25 nM Tris, pH = 7,4, die 5 mM Mg-Cl₂ en 1 mM EDTA bevat) per gebruikt stel hersenen. Een eiwitassay wordt uitgevoerd en 200 µl weefsel, tot een to-
10 taal van 20 µg, wordt aan de assay toegevoegd.

De testverbindingen worden verdund in buffer voor geneesmiddel (0,5% BSA, 10% DMSO en TME) en vervolgens wordt 25 µl toegevoegd aan de diepe putjes van een polypropyleenplaat. [³H]-SR141716A wordt verdund in een ligandbuffer
15 fer (0,5% BSA plus TME) en 25 µl wordt aan de plaat toegevoegd. Een BCA eiwitassay wordt gebruikt om de geschikte weefselconcentratie te bepalen en vervolgens wordt 200 µl van het rattenhersenweefsel in de geschikte concentratie aan de plaat toegevoegd. De platen worden bedekt en gedurende
20 rende 60 minuten bij 20°C in een incubator gehouden. Aan het eind van de incubatieperiode wordt aan de reactieplaat 250 µl stop buffer (5% BSA plus TME) toegevoegd. De platen worden vervolgens met een Skatron op GF/B-filtermatten geogst die tevoren zijn geweekt in BSA (5 mg/ml) plus TME.
25 Elk filter wordt tweemaal gewassen. De filters worden gedurende de nacht gedroogd. 's Morgens worden de filters geteld op een Wallac Betaplate™ teller (verkrijgbaar bij PerkinElmer Life Sciences™, Boston, MA, VS).

30 Protocol voor binding aan humane CB-1-receptor

Humane embryonale nier 293 (HEK 293) cellen die waren getransfecteerd met cDNA van de CB-1-receptor (verkregen van Dr. Debra Kendall, University of Connecticut) worden
geogst in homogenisatiebuffer (10 mM EDTA, 10 mM EGTA, 10
35 mM Na-bicarbonaat, proteaseremmers; pH = 7,4) en gehomogeniseerd met een Dounce-homogenisator. Het homogenaat wordt vervolgens gedurende 15 minuten gecentrifugeerd bij 10°C

en 1000x g. De supernatant wordt behouden en gedurende 20 minuten gecentrifugeerd bij 4°C en 25000x g. De pellet wordt vervolgens opnieuw gesuspenseerd in 10 ml homogenisatiebuffer en gedurende 20 minuten bij 4°C en 25000x g opnieuw gecentrifugeerd. De uiteindelijke pellet wordt opnieuw gesuspenseerd in 1 ml TME (25 mM Tris-buffer; pH = 7,4, die 5 mM MgCl₂ en 1 mM EDTA bevat). Een eiwitassay wordt uitgevoerd en 200 µl weefsel, tot een totaal van 20 µg, wordt aan de assay toegevoegd.

De testverbindingen worden verdund in buffer voor geneesmiddel (0,5% BSA, 10% DMSO en TME) en vervolgens wordt 25 µl toegevoegd aan de diepe putjes van een polypropyleenplaat. [³H]-SR141716A wordt verdund in een ligandbuffer (0,5% BSA plus TME) en 25 µl wordt aan de plaat toegevoegd. De platen worden bedekt en gedurende 60 minuten bij 30°C in een incubator gehouden. Aan het eind van de incubatieperiode wordt aan de reactieplaat 250 µl stopbuffer (5% BSA plus TME) toegevoegd. De platen worden vervolgens met een Skatron geoogst op GF/B filtermatten die tevoren zijn geweekt in BSA (5 mg/ml) plus TME. Elk filter wordt tweemaal gewassen. De filters worden gedurende de nacht gedroogd. 's Morgens worden de filters geteld op een Wallac BetaplateTM teller (verkrijgbaar bij PerkinElmer Life SciencesTM, Boston, MA, VS).

25

Protocol voor binding aan CB-2 receptor

K1-cellen uit het ovarium van de Chinese hamster (CHO-K1) die waren getransfecteerd met cDNA van CB-2 (verkregen van Dr. Debra Kendall, University of Connecticut) worden geoogst in buffer voor een weefselpreparaat (5 mM Tris-HCl-buffer (pH = 7,4) die 2 mM EDTA bevat), bij hoge snelheid gehomogeniseerd in een Polytron en gedurende 15 minuten in ijs gehouden. Het homogenaat werd vervolgens gedurende 5 minuten gecentrifugeerd bij 4°C en 1000x g. De supernatant wordt behouden en gedurende 1 uur gecentrifugeerd bij 4°C en 100.000x g. De pellet wordt vervolgens opnieuw gesuspenseerd in 25 ml TME (25 mM Tris-buffer; pH

= 7,4, die 5 mM MgCl₂ en 1 mM EDTA bevat) per gebruikt stel hersenen. Een eiwitassay wordt uitgevoerd en 200 µl weefsel, tot een totaal van 10 µg, wordt aan de assay toegevoegd.

5 De testverbindingen worden verdund in buffer voor geneesmiddel (0,5% BSA, 10% DMSO en 80,5% DME) en vervolgens wordt 25 µl toegevoegd aan de diepe putjes van een polypropyleenplaat. [³H]-CP-55940 wordt verdund in een ligandbuffer (0,5% BSA en 99,5% TME) en vervolgens wordt 25 µl
10 aan elk putje toegevoegd tot een concentratie van 1 nM. Een BCA-eiwit-assay wordt gebruikt om de geschikte weefselconcentratie te bepalen en 200 µl van het weefsel wordt in de geschikte concentratie aan de plaat toegevoegd. De platen worden bedekt en gedurende 60 minuten bij 30°C in
15 een incubator gehouden. Aan het eind van de incubatieperiode wordt aan de reactieplaat 250 µl stopbuffer (5% BSA plus TME) toegevoegd. De platen worden vervolgens met een Skatron geoogst op GF/B-filtermatten die tevoren zijn geselecteerd in BSA (5 mg/ml) plus TME. Elk filter wordt tweemaal
20 gewassen. De filters worden gedurende de nacht gedroogd. De filters worden vervolgens geteld op de Wallac BetaplateTM teller.

Bindingassay van CB-1 in GTPγ[³⁵S]

25 Membranen worden bereid uit CHO-K1-cellen die stabiel waren getransfecteerd met cDNA van de humane CB-1-receptor. De membranen worden bereid uit cellen als beschreven door Bass et al. in "Identification and characterization of novel somatostatin antagonists", Molecular Pharmacology, 50, 709-715 (1996). Bindingassays van GTPγ[³⁵S] worden
30 in tweevoud uitgevoerd in een FlashPlateTM met 96 putjes met 100 pM GTPγ[³⁵S] en 10 µg membraan per putje in assaybuffer die was samengesteld uit 50 mM Tris-HCl, pH = 7,4, 3 mM MgCl₂ met pH = 7,4, 10 mM MgCl₂, 20 mM EGTA, 100 mM
35 NaCl, 30 µM GDP, 0,1% runderserumalbumine en de volgende proteaseremmers. 100 µg/ml bacitracine, 100 µg/ml benzamidine, 5 µg/ml aprotinine, 5 µg/ml leupeptine. Het

assaymengsel wordt vervolgens gedurende 10 minuten geïncubeerd met toenemende concentraties van de antagonist (10^{-10} M tot 10^{-5}) en in contact gebracht met de cannabinoïd-agonist CP-55940 (10 μ M). De assays worden gedurende 1 uur
 5 uitgevoerd bij 30°C. De FlashPlatesTM worden vervolgens gedurende 10 minuten gecentrifugeerd bij 2000 x g. Stimulering van de binding van GTP γ [³⁵S] wordt vervolgens bepaald met gebruik van een Wallac Microbeta teller. De berekeningen van de EC₅₀-waarden worden gedaan met gebruik van
 10 PrismTM van Graphpad.

Omgekeerd agonisme wordt gemeten in afwezigheid van agonist.

Protocol voor functionele assay op basis van CB-1 FLIPR

15 CHO-K1-cellen worden co-getransfecteerd met het cDNA van de humane CB-1-receptor (verkregen bij Dr. Debra Kendall, University of Connecticut) en voor deze assay wordt het promiscue G-eiwit G16 gebruikt. De cellen worden 48 uur van tevoren met 12.500 cellen per putje overgebracht
 20 in assayplaten met 384 heldere zwarte putjes die met collageen zijn bekleed. De cellen worden gedurende 1 uur geïncubeerd met 4 μ M Fluo-4 AM (Molecular Probes) in DMEM (Gibco) dat 2,5 mM probenid en Pluronic (0,04%) bevat. De platen worden vervolgens driemaal gewassen met met
 25 HEPES gebufferde zoutoplossing (die probenid bevat; 2,5 mM) om overmaat kleurstof te verwijderen. Na 20 minuten worden de platen individueel toegevoegd aan de FLIPR en worden gedurende een periode van 80 seconden de fluorescentieniveaus continu gevolgd. Na 20 seconden van de basislijnwaarden worden de verbindingen gelijktijdig toegevoegd aan alle 384 putjes. De assays worden in drievoud
 30 uitgevoerd en krommen met 6 punten van concentratierespons worden uitgezet. De antagonistverbindingen worden vervolgens in contact gebracht met 3 μ M WIN 55.212-2 (agonist). De gegevens worden geanalyseerd met gebruik van
 35 PrismTM van Graph Pad.

Detectie van omgekeerde agonisten

Het volgende protocol voor de assay van cyclische AMP met gebruik van intacte cellen kan worden gebruikt voor het bepalen van activiteit van de omgekeerde agonist.

5 De cellen worden in een dichtheid van 10.000-14.000 cellen per putje overgebracht in platen met 96 putjes, en in een concentratie van 100 μ l per putje. De platen worden in een incubator gedurende 24 uur geïncubeerd bij 37°C. Het medium wordt verwijderd en medium zonder serum (100
10 μ l) toegevoegd. De platen worden vervolgens gedurende 18 uur bij 37°C geïncubeerd.

Serumvrij medium dat 1 mM IBMX bevat wordt aan elk putje toegevoegd, waarna 10 μ l proefverbinding (1:10 voorraadoplossing (25 mM verbinding in DMSO) in 50% DMSO/PBS)
15 volgt, die 10 maal wordt verdund in PBS met 0,1% PSA. Na 20 minuten incuberen bij 37°C wordt 2 μ M forskoline toegevoegd en vervolgens wordt gedurende nog 20 minuten geïncubeerd bij 37°C. Het medium wordt verwijderd, 100 μ l 0,01N HCl toegevoegd en vervolgens wordt nog 20 minuten geïncu-
20 beerd bij kamertemperatuur. Cellysaat (75 μ l) en 25 ml assay-buffer (geleverd in FlashPlate™ cAMP assay-kit die verkrijgbaar is bij NEN Life Science Products, Boston, MA, VS) worden in een Flashplate gebracht. cAMP-standaarden en cAMP-tracer worden toegevoegd, waarbij het protocol voor
25 de kit wordt gevolgd. De FlashPlate wordt vervolgens gedurende 18 uur geïncubeerd bij 4°C. De inhoud van de putjes wordt afgezogen en geteld in een scintillatieteller .

Identificatie van intestinaal werkende MTPi

30 Intestinaal werkende MTPi's die bruikbaar zijn in de praktijk van de onderhavige uitvinding kunnen worden geïdentificeerd met gebruik van het hierna beschreven protocol. De volgende reagentia die in de hierna beschreven protocollen worden gebruikt, kunnen worden aangeschaft bij
35 de overeenkomstige leveranciers.

Triton-XTM 100 is een niet-ionogene oppervlakactieve stof die verkrijgbaar is bij Union Carbide Chemicals & Plastics Technology Corp.

Aprotinine is verkrijgbaar bij Apollo Scientific Ltd,
5 Verenigd Koninkrijk.

WAKO Triglyceride L-T Colorimetric assay is verkrijgbaar bij Waco Chemicals, Richmond, VA, VS.

Remming van apo B-secretie

10 Het vermogen van de verbindingen van de onderhavige uitvinding tot het remmen van de apo B-secretie werd bepaald met gebruik van de volgende op cellen gebaseerde assay, die de secretie van apo B in HepG2-cellen meet.

HepG2-cellen (ATCC, HB-8065, Manassas, VA, VS) werden
15 gekweekt in Dulbecco's Modified Eagles Medium plus 10% foetaal runderserum (groeimedium; Gibco, Grand Island, NY, VS) in kweekplaten met 96 putjes in een bevochtigde atmosfeer die 5% koolstofdioxide bevatte, tot deze voor ongeveer 70% confluent waren. De testverbindingen werden opge-
20 lost in 10 mM dimethylsulfoxide (DMSO). Uit deze voorraad-oplossing werd de aanvankelijke concentratie van de dosis bereid in 70% EtOH en de later volgende reeks-verdunningen werden gemaakt in 70% EtOH met DMSO in een concentratie die equivalent was met die van de aanvankelijke verdun-
25 ning. De verdunningen van de testverbindingen werden bereid in 100x die van de gewenste eindconcentratie en deze werden in drievoud toegevoegd aan de afzonderlijke putjes van een kweekplaat met 96 putjes die HepG2- cellen bevatten. Veertig uur later werd het groeimedium verzameld en
30 getest met een specifieke enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) voor ApoB. De remmers werden geïdentificeerd als verbindingen die de Apo B-secretie in het medium verminderen. De ELISA-assay voor Apo B werd als volgt uitgevoerd: Polyklonaal antilichaam tegen humane Apo B (Chemicon, Temecula, CA, VS) werd 1:1000 verdund in carbonaat-bicarbonaatbuffer (Pierce, Rockford, IL, VS) en 100 µl werd
35 toegevoegd aan alle 96 putjes van de plaat (NUNC Maxisorb,

Rochester, NY, VS). Na 5 uur incubatie bij kamertemperatuur werd de oplossing met antilichaam verwijderd en werden de putjes viermaal gewassen met met fosfaat gebufferde zoutoplossing (PBS)/0,05% Tween® 20 (Tween® 20 is verkrijgbaar bij Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, VS). Niet-specifieke plaatsen op het plastic werden geblokkeerd door de putjes gedurende 1 tot 1,5 uur te incuberen in een oplossing van 0,05% (gew./vol.) runderserumalbumine (BSA), 0,1% Tween® 20 die in PBS is aangemaakt. Honderd microliter (100 µL) van een 1:20-verdunning van groeimedium uit de HEP G2-cellen (aangemaakt in 0,004% Tween 20/1% BSA in PBS) werd aan elk putje toegevoegd en er werd gedurende 3 uur geïncubeerd bij kamertemperatuur. De putjes werden leeggezogen en viermaal gewassen (0,05% Tween® 20 in PBS) voordat 100 µl van een 1/1000-verdunning (~5 µg/ml) van het secundaire antilichaam, muizen-anti-humane Apo B (Chemicon, Temecula, CA, VS) werd toegevoegd. Na 2 uur incubatie bij kamertemperatuur werd deze oplossing afgezogen en werden de putjes opnieuw viermaal gewassen als hierboven. Honderd microliter (100 µl) van een 1:10.000-verdunning (0,004% Tween® 20/1% BSA in PBS) van peroxidasegeconjugeerde affinpure geiten-anti-muizen IgG (H+L) (Jackson ImmunoREsearch Laboratories, Bar Harbor, ME, VS) werd vervolgens aan elk putje toegevoegd en er werd gedurende 1 uur geïncubeerd bij kamertemperatuur. Na afzuigen werden de putjes viermaal gewassen als hierboven en werd 50 µl van 1-stap Ultra TMB (tetramethylbenzidine) ELISA-reagens (Pierce, Rockford, IL, VS) aan elk putje toegevoegd en werd gedurende 5 minuten geïncubeerd. De reactie werd gestopt door de toevoeging van 50 µl 2M H₂SO₄ en de absorptie van elk putje werd afgelezen bij 450 nm. Het percentage remming werd berekend met gebruik van de absorptie uit met vehiculum behandelde supernatanten minus de absorptie van alleen de media als het totaal of de 100% waarde. Het percentage remming werd bij elke concentratie van de proefverbinding geregistreerd en de IC₅₀-waarden werden bepaald.

Voedselopname, lichaamsgewicht en triglyceride-ophoping

Het effect van een MTP-remmer op de voedselopname bij mannelijke Sprague-Dawley-ratten (verkrijgbaar bij Charles River Laboratories) werd beoordeeld door de ratten te voeren met een vetarm of vetrijk dieet als vervolg op drie dagelijkse orale doses van 0, 10, 30 en 100 mg/kg proefverbinding in een vehiculum van 0,5% methylcellulose. De gemeten eindpunten omvatten voedselopname, lichaamsgewicht en triglyceriden in lever en/of darmen.

Een gepoederd experimenteel vetrijk dieet (45% vetten) en maïszetmeel/maltodextrine als koolhydraten (Research Diets D01060502M) werd hiervoor gebruikt. De ratten werden gewogen op de dagen 0 en 3. De voedselopname werd dagelijks gemeten op dag -4 tot 3. Ten tijde van de euthanasie op dag 3 werd bloed afgenomen en verzameld in EDTA-buizen (75%) die Aprotinine (0,6 TIU/ml) bevatten en sumpscheidingsbuizen (25%) en ingevroren bewaard. Vervolgens werd een stuk leverweefsel van ongeveer 0,5 g verwijderd, afgespoeld met steriele zoutoplossing, gewogen en ingevroren in vloeibare stikstof.

Voor de bepaling van triglyceride in de lever werden de stukken lever gehomogeniseerd in PBS en werd een klein volume geëxtraheerd met chloroform:methanol (2:1). De gedroogde extracten werden aangevuld met Triton-XTM 100 in absolute ethanol en een klein volume werd gebruikt voor triglycerideanalyse, waarvoor een WAKO Triglyceride L-Type Colorimetric assay (Cat#997-37492 Enzyme A, Cat # 993-37592, Cat# 996-41791 Lipids Calibrator) werd gebruikt. Een analoge werkwijze die voor de deskundigen bekend is wordt gebruikt voor het vaststellen van het intestinale triglyceridegehalte.

VOORBEELDEN

De volgende verbindingen en reagentia die in de hierna toegelichte experimenten worden gebruikt, kunnen worden

bereid als beschreven in de genoemde beschrijvingen, of zijn verkrijgbaar bij de vermelde verkopers.

Dirlotapide ((S)-N-{2-[benzyl(methyl)amino]-2-oxo-1-fenylethyl}-1-methyl-5-[4'-(trifluormethyl)[1,1'-bifenyl]-2-carboxamido]-1*H*-indool-2-carboxamide) werd bereid met de werkwijzen beschreven in Amerikaans octrooischrift 6.720.351 (voorbeeld 44).

Verbinding A: 1-[9-(4-chloorfenyl)-8-(2-chloorfenyl)-9*H*-purine-6-yl]-4-ethylaminopiperidine-4-carbonzuuramide-hydrochloridezout werd bereid zoals beschreven in Amerikaanse octrooipublicatie 2004/0092520 (voorbeeld 20).

Miglyol® 812: een gefractioneerde kokosolie met een kooktraject van 240-270°C die bestaat uit verzadigde C₈ (50-65%) en C₁₀ (30-45%) triglyceriden, die verkrijgbaar is bij CONDEA Vista Co., Cranford, NJ, VS.

Triacetin®: Glyceryltriacetaat dat verkrijgbaar is bij Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, VS.

Tween® 80: Polysorbaat 80 dat verkrijgbaar is bij Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, VS.

Capmul® MCM: Mono- & diglyceriden met middelbare keten, verkrijgbaar bij ABITEC Corporation, Columbus, OH, VS.

De volgende functionele assay werd gebruikt om het effect te bepalen van een intestinaal werkende MTPi, een CB-1-antagonist en de combinatie van een intestinaal werkende MTPi en een CB-1-antagonist op de voedselopname. De in de experimenten gebruikte doses van de CB-1-antagonist waren 10 mg/kg en 30 mg/kg. De in de experimenten gebruikte doses van de intestinaal werkende MTPi waren 3 mg/kg en 10 mg/kg. De verschillende doseringen werden voor elke actieve stof alleen en in diverse concentraties met elkaar getest, waarbij werd vergeleken met een controle (vehiculum).

Voedselopname

Mannelijke Sprague-Dawley-ratten (275-325 g) kregen een vetrijk dieet (Research Diets, 45% kcal van vetten). Men liet de dieren acclimatiseren in een gedurende de nacht werkend automatisch beoordelingssysteem voor de voedselopname. De gegevens met betrekking tot het gewicht van het voedsel werden verzameld met een computer. Onmiddellijk voorafgaand aan het begin van de donkercyclus op de eerste dag kregen de dieren een P.O. (dat wil zeggen 5 oraal in de bek) dosis van een gMTP-remmer (Dirlotapide) of een vehiculum (zelf-emulgerend afgiftesysteem voor geneesmiddel (self-emulsifying drug delivery system (SEDDS)) 10 in een formulering die 20% Miglyol 812, 30% Tracetin, 20% Tween 80 en 30% Capmul MCM bevatte). Op de tweede dag kregen de ratten (n=5-10/groep) een P.O. dosis van een CB-1-antagonist (verbinding A) of 0,5% methylcellulose 20 minuten voordat een tweede dosis Dirlotapide of vehiculum volgde. De voedselopname werd tot de volgende dag gevolgd. De gegevens van elke behandelingsgroep werden vergeleken 15 met ANOVA (analyse van de variantie).

De voor de voedselopname waargenomen resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel 1 en grafisch weergegeven in de figuren 1, 2, 3 en 4.

25

Tabel 1

<u>Spontane voedselopname gedurende 12 uur (gram)</u>			
	VEH	10 mg/kg verbinding A	30 mg/kg verbinding A
Vehiculum (VEH)	20,5 ± 0,6	16,3 ± 1,0	12,6 ± 1,4
3 mg/kg Dirlotapide	14,6 ± 0,8	12,5 ± 1,4	11,2 ± 1,1
10 mg/kg Dirlotapide	11,3 ± 0,7	9,9 ± 1,7	7,4 ± 1,2

1031882

C O N C L U S I E S

1. Farmaceutisch preparaat dat (i) een antagonist van de CB-1-receptor; (ii) een intestinaal werkende MTPi; en (iii) een farmaceutisch aanvaardbare excipiënt, farmaceutisch aanvaardbaar verdunningsmiddel of farmaceutisch aanvaardbare drager omvat, waarbij de hoeveelheid antagonist van de CB-1-receptor ongeveer 1,0 mg tot ongeveer 100 mg is en de hoeveelheid intestinaal werkende MTPi ongeveer 0,05 mg tot ongeveer 50 mg is.
2. Farmaceutisch preparaat volgens conclusie 1, waarbij de antagonist van de cannabinoid-1-receptor wordt gekozen uit de groep bestaande uit
- rimonabant
 - N*-(piperidine-1-yl)-1-(2,4-dichloorfenyl)-5-(4-joodfenyl)-4-methyl-1*H*-pyrazool-3-carboxamide,
 - [5-(4-broomfenyl)-1-(2,4-dichloorfenyl)-4-ethyl-*N*-(1-piperidiny)-1*H*-pyrazool-3-carboxamide],
 - N*-(piperidine-1-yl)-4,5-difenyl-1-methylimidazool-2-carboxamide,
 - N*-(piperidine-1-yl)-4-(2,4-dichloorfenyl)-5-(4-chloorfenyl)-1-methylimidazool-2-carboxamide,
 - N*-(piperidine-1-yl)-4,5-di(4-methylfenyl)-1-methylimidazool-2-carboxamide,
 - N*-cyclohexyl-4,5-di-(4-methylfenyl)-1-methylimidazool-2-carboxamide,
 - N*-(cyclohexyl)-4-(2,4-dichloorfenyl)-5-(4-chloorfenyl)-1-methylimidazool-2-carboxamide
 - N*-(fenyl)-4-(2,4-dichloorfenyl)-5-(4-chloorfenyl)-1-methylimidazool-2-carboxamide,
 - 1-[9-(4-chloorfenyl)-8-(2-chloorfenyl)-9*H*-purine-6-yl]-4-ethylaminopiperidine-4-carbonzuuramide of een farmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan,

1- [7- (2-chloorfenyl) -8- (4-chloorfenyl) -2-methylpyra-
zolo [1,5-a] [1.3.5] triazine-4-yl] -3-ethylaminoazetidine-3-
carbonzuuramide

1- [7- (2-chloorfenyl) -8- (4-chloorfenyl) -2-methylpyra-
5 zolo [1,5-a] [1.3.5] triazine-4-yl] -3-methylaminoazetidine-3-
carbonzuuramide

3- (4-chloorfenyl) -2- (2-chloorfenyl) -6- (2,2-difluor-
propyl) -2,4,5,6-tetrahydropyrazolo [3,4-c] pyridine-7-on,
3- (4-chloorfenyl) -2- (2-chloorfenyl) -7- (2,2-difluor-
10 propyl) -6,7-dihydro-2H,5H-4-oxa-1,2,7-triazaazuleen-8-on,
2- (2-chloorfenyl) -6- (2,2,2-trifluorethyl) -3- (4-tri-
fluormethylfenyl) -2,6-dihydropyrazolo [4,3-d] pyrimidine-7-
on,

(S) -4-chloor-N- { [3- (4-chloorfenyl) -4-fenyl-4,5-dihy-
15 dropyrazool-1-yl] methylaminomethyleenbenzeensulfonamide,

(S) -N- { [3- (4-chloorfenyl) -4-fenyl-4,5-dihydropyra-
zool-1-yl] methylaminomethyleen} -4-trifluormethylbenzeen-
sulfonamide,

N-piperidino-5- (4-broomfenyl) -1- (2,4-dichloorfenyl) -
20 4-ethylpyrazool-3-carboxamide,

1- [bis (4-chloorfenyl) methyl] -3- [(3,5-difluorfenyl) me-
thaansulfonylmethyleen] azetidine,

2- (5- (trifluormethyl) pyridine-2-yloxy) -N- (4- (4-
chloorfenyl) -3- (3-cyaanfenyl) butaan-2-yl) -2-methylpro-
25 paanamide

4- { [6-methoxy-2- (4-methoxyfenyl) -1-benzofuran-3-yl] -
carbonyl} benzonitril,

1- [2- (2,4-dichloorfenyl) -2- (4-fluorfenyl) benzo [1,3] -
dioxool-5-sulfonyl] piperidine en

30 [3-amino-5- (4-chloorfenyl) -6- (2,4-dichloorfenyl) furo-
[2,3-b] pyridine-2-yl] fenylmethanon,

of een farmaceutisch aanvaardbaar hydraat of solvaat
daarvan.

35 3. Farmaceutisch preparaat volgens conclusie 1 of 2,
waarbij de intestinal werkende remmer van microsomaal

triglyceridetransfereiwit wordt gekozen uit de groep bestaande uit

dirilotapide,

mitratapide,

5 1-methyl-5-[(4'-trifluormethylbifenyl-2-carbonyl)amino]-1H-indool-2-carbonzuur(carbamoylfenylmethyl)amide,

(S)-2-[(4'-trifluormethylbifenyl-2-carbonyl)amino]chinoline-6-carbonzuur(pentylcarbamoylfenylmethyl)amide,

10 (S)-2-[(4'-tert-butylbifenyl-2-carbonyl)amino]chinoline-6-carbonzuur{[(4-fluorbenzyl)methylcarbamoyl]fenylmethyl}amide,

(S)-2-[(4'-tert-butylbifenyl-2-carbonyl)amino]chinoline-6-carbonzuur{[4-fluorbenzyl)carbamoyl]fenylmethyl}amide,

15 4-(4-(4-(4-((2-((4-methyl-4H-1,2,4-triazool-3-ylthio)methyl-2-(4-chloorfenyl)-1,3-dioxolaan-4-yl)methoxy)-fenyl)piperazine-1-yl)fenyl)-2-sec-butyl-2H-1,2,4-triazool-3(4H)-on

en

20 implitapide,

of een farmaceutisch aanvaardbaar hydraat of solvaat daarvan.

25

-0-0-0-

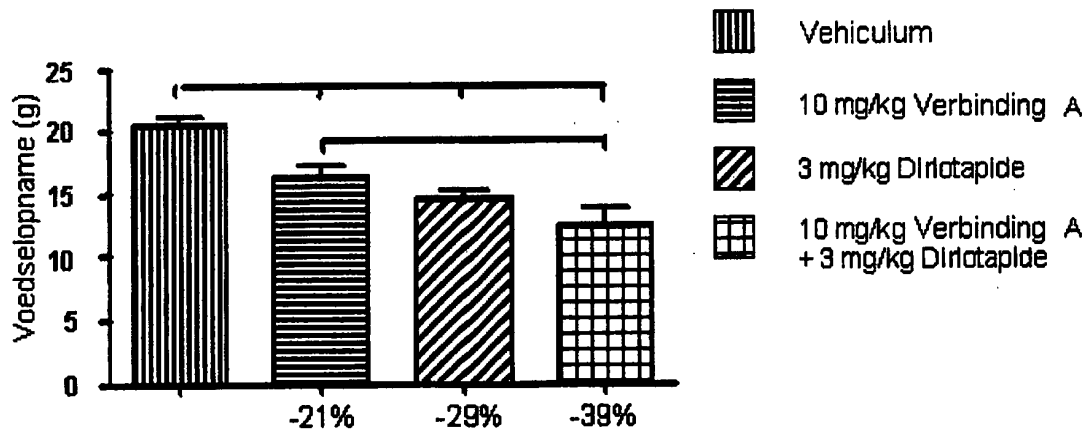
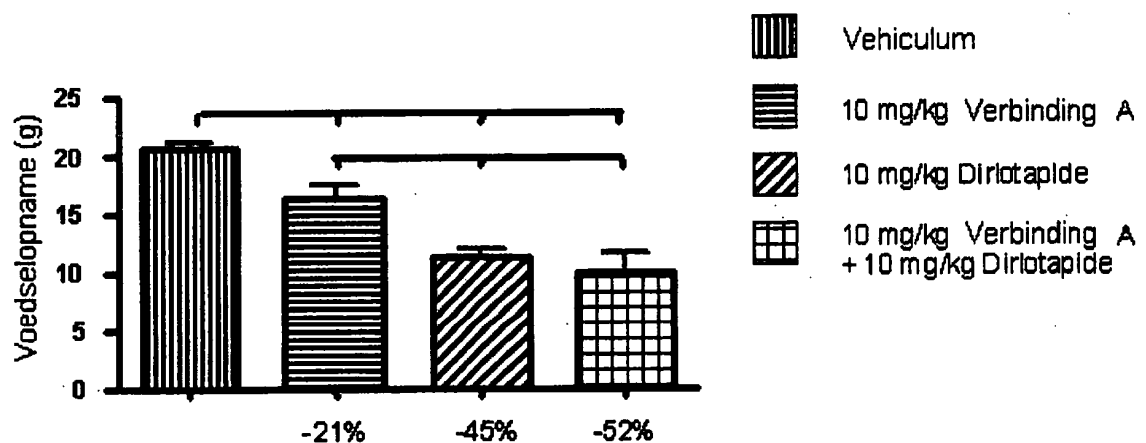
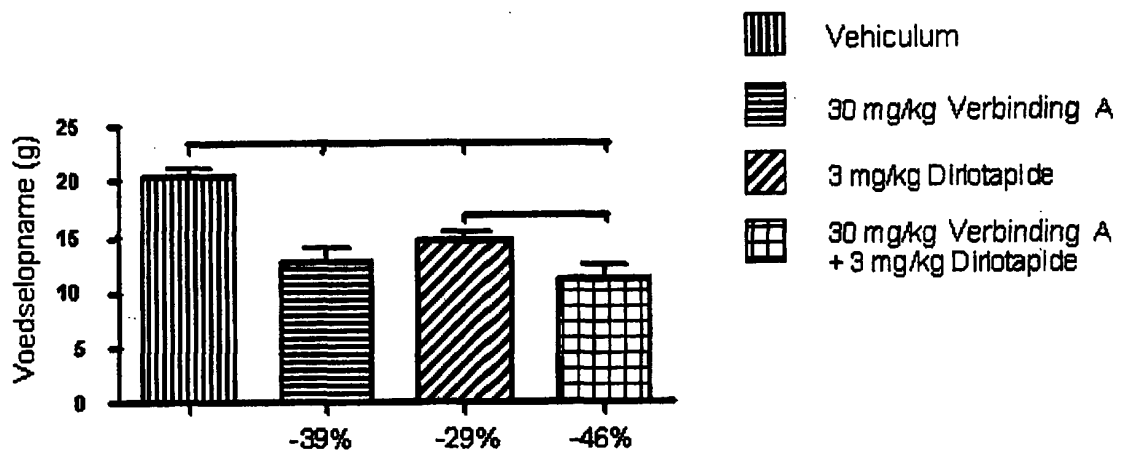
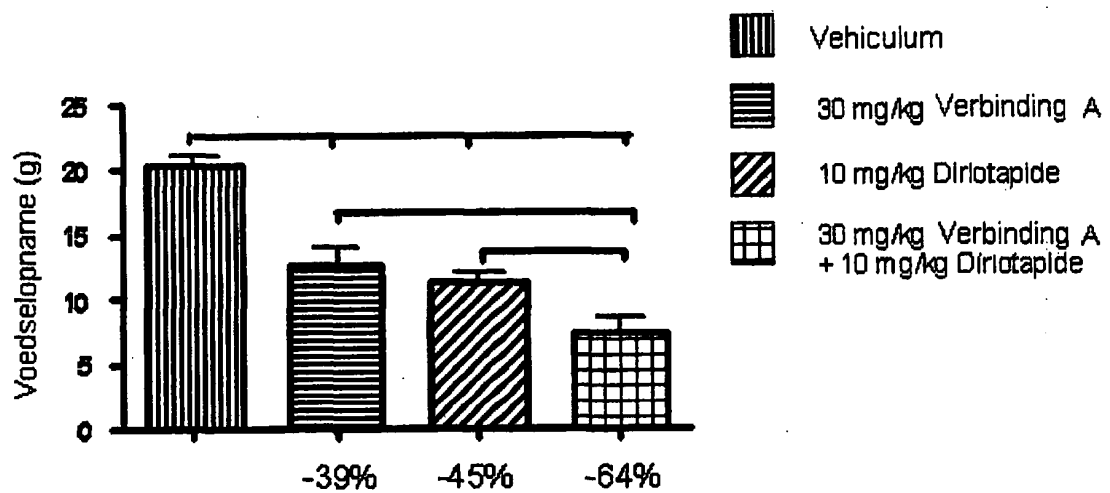
Fig. 1**Fig. 2**

Fig. 3**Fig. 4**

RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK

Van belang zijnde literatuur			
Categorie ¹	Vermelding van literatuur met aanduiding, voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde tekstgedeelten of figuren.	Van belang voor conclusie(s) Nr.:	International Patent Classification (IPC)
X	WO 2005/000217 A2 (MERCK & CO INC) 6 januari 2005 * samenvatting; bladzijde 6; bladzijde 33, regel 30 - bladzijde 34, regel 2; bladzijde 40, regels 13-14; bladzijde 61, regels 6-9; conclusies *	1-11	A61K31/397 31/343 A61K31/4164 31/415 A61K31/403 31/405 A61K31/437 31/4355 A61K31/4353 31/454 A61K31/4412 31/496

D, X	US 2004/0092520 A1 (PFIZER) 13 mei 2004 * samenvatting; alinea's [0007], [0160], [0166], [0180]; voorbeeld 20 *	1-11	A61K31/5517 31/53 A61K31/52 31/506 A61P3/04

D, X	WO 2004/012671 A2 (MERCK & CO INC) 12 februari 2004 * samenvatting; bladzijde 60, regels 21-26; bladzijde 64, regels 30-35; bladzijde 66, regel 4 - bladzijde 68, regel 3; voorbeeld 1 *	1-11	

D, Y	US 2003/0187053 A1 (PFIZER) 2 oktober 2003 * samenvatting; alinea's [0255], [0290]-[0291]; voorbeeld 44 *	1-11	Onderzochte gebieden van de techniek, gedefinieerd volgens IPC 8 A61K A61P

D, Y	US 2004/0157839 A1 (PFIZER) 12 augustus 2004 * samenvatting; alinea's [0175], [0181], [0195]; voorbeeld 2 *	1-11	

D, Y	US 2004/0214838 A1 (PFIZER) 28 oktober 2004 * samenvatting; alinea's [0007], [0093], [0099], [0112]; voorbeeld 2A-2 *	1-11	Computerbestanden WPI EPODOC EMBASE MEDLINE BIOSIS

D, Y	US 2004/0214855 A1 (PFIZER) 28 oktober 2004 * samenvatting; alinea's [0007], [0107], [0113], [0126]; tabel 2, voorbeeld 2A-11 *	1-11	

Indien gewijzigde conclusies zijn ingediend, heeft dit rapport betrekking op de conclusies ingediend op:

Omvang van het onderzoek:

Volledig

Onderzochte conclusies:	alle	
Niet (volledig) onderzochte conclusies met redenen:	Hoewel conclusies 1 t/m 8 medische werkwijzen lijken te betreffen, welke volgens Artikel 7, lid 2 niet worden beschouwd als uitvindingen die vatbaar zijn voor toepassing op het gebied van de nijverheid, is het onderzoek uitgevoerd en gebaseerd op de vermeende effecten van de verbinding/samenstelling	
Datum waarop het onderzoek werd voltooid:	14 maart 2007	Vooronderzoeker: Dr. Ing. L. Bechger

¹ Verklaring van de categorie-aanduiding: zie apart blad.

Categorie van de vermelde literatuur:

- X: op zichzelf van bijzonder belang zijnde stand van de techniek
- Y: in samenhang met andere geciteerde literatuur van bijzonder belang zijnde stand van de techniek
- A: niet tot de categorie X of Y behorende van belang zijnde stand van de techniek
- O: verwijzend naar niet op schrift gestelde stand van de techniek
- P: literatuur gepubliceerd tussen voorrangs- en indieningsdatum
- T: niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding
- E: colliderende octrooiaanvraag
- D: in de aanvraag genoemd
- L: om andere redenen vermelde literatuur
- &: lid van dezelfde octrooifamilie; corresponderende literatuur

AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK, UITGEVOERD IN OCTROOIAANVRAGE NR. 1031882

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octroofamilie), die overeenkomen met octrooigeschriften genoemd in het rapport.

De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per 22 maart 2007.

De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door Octrooiencentrum Nederland gegarandeerd; de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

In het rapport genoemd octrooi- geschrift	datum van publicatie	overeenkomend(e) geschrift(en)	datum van publicatie
WO2005000217 A	2005-01-06		
US2004092520 A	2004-05-13	US2006241120 A	2006-10-26
WO2004012671 A	2004-02-12	CA2494091 A	2004-02-12
		AU2003257145 A	2004-02-23
		EP1558252 A	2005-08-03
		JP2005538120T T	2005-12-15
US2003187053 A	2003-10-02	US2004087625 A	2004-05-06
		US2005080108 A	2005-04-14
US2004157839 A	2004-08-12		
US2004214838 A	2004-10-28		
US2004214855 A	2004-10-28	US2006205948 A	2006-09-14
		US2006205720 A	2006-09-14

Algemene informatie over dit aanhangsel is gepubliceerd in de 'Official Journal' van het Europees Octrooibureau nr 12/82 blz 448 ev

