

8009

Brevet N°
 du 13 mars 1987
 Titre délivré : 12 AOUT 1987

GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG



Monsieur le Ministre
 de l'Économie et des Classes Moyennes
 Service de la Propriété Intellectuelle
 LUXEMBOURG

Demande de Brevet d'Invention

I. Requête

La société dite: Fisons plc, Fison House, Princes Street, (1)
 Ipswich, Angleterre, représentée par Maître Alain RUKAVINA, (2)
 avocat-avoué, demeurant à Luxembourg, 10A, boulevard de la (2)
 Foire, agissant en sa qualité de mandataire (3)
 dépose(nt) ce treize mars 1900 quatre-vingt-sept (3)
 à 15.00 heures, au Ministère de l'Économie et des Classes Moyennes, à Luxembourg :

1. la présente requête pour l'obtention d'un brevet d'invention concernant : (4)
 "Composition pharmaceutique"

2. la délégation de pouvoir, datée de le
3. la description en langue française de l'invention en deux exemplaires;
4. // planches de dessin, en deux exemplaires;
5. la quittance des taxes versées au Bureau de l'Enregistrement à Luxembourg,

le 13 mars 1987

déclare(nt) en assumant la responsabilité de cette déclaration, que l'(es) inventeur(s) est (sont) :

Monsieur Hugh CATRNS, 2, Lanesshaw Avenue, Loughborough, (5)
 Leicestershire, Angleterre

revendique(nt) pour la susdite demande de brevet la priorité d'une (des) demande(s) de (6)
 brevet d'invention déposée(s) en (7) Grande-Bretagne
 le 15 mars 1986 sous le no 86/06455 et 17 mars 1986 sous le (8)
 no 86/06553

au nom de la déposante (9)

élit(élisent) pour lui (elle) et, si désigné, pour son mandataire, à Luxembourg
 10A, boulevard de la Foire (10)

solicite(nt) la délivrance d'un brevet d'invention pour l'objet décrit et représenté dans les annexes susmentionnées, — avec ajournement de cette délivrance à // mois. (11)

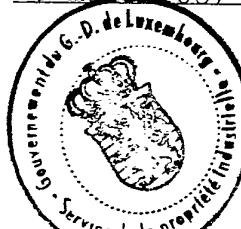
Le mandataire

II. Procès-verbal de Dépôt

La susdite demande de brevet d'invention a été déposée au Ministère de l'Économie et des Classes Moyennes, Service de la Propriété Intellectuelle à Luxembourg, en date du:

13 mars 1987

à 15.00 heures



Pr. le Ministre
 de l'Économie et des Classes Moyennes,
 p. d.

A 68007

(1) Nom, prénom, firme, adresse — (2) s'il a lieu «représenté par ...» agissant en qualité de mandataire — (3) date du dépôt en toutes lettres — (4) titre de l'invention — (5) noms et adresses — (6) brevet, certificat d'addition, modèle d'utilité — (7) pays — (8) date — (9) déposant originaire — (10) adresse — (11) 6, 12 ou 18 mois.

Revendication de la priorité
de(s) la demande(s) correspondante(s)
déposée(s), en Grande-Bretagne
les 15.03.86 et 17.03.86
sous les nos 86/06455 et 86/06553

M E M O I R E D E S C R I P T I F

déposé à l'appui d'une demande de

B R E V E T D' I N V E N T I O N

au Grand-Duché de LUXEMBOURG

au nom de: FISONS PLC

pour: "Composition pharmaceutique"

Composition pharmaceutique

5

10 La présente invention concerne de nouveaux composés, leurs mélanges et des procédés pour les préparer.

15 Le nédocromil sodique, qui est le sel de sodium de l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-4,6-dioxo-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique, a été recommandé pour le traitement d'états allergiques et autres, en particulier des affections obstructives réversibles des voies aériennes.

20 Les bronchodilatateurs et les stéroïdes ont été recommandés aussi pour le traitement des affections obstructives réversibles des voies aériennes. Toutefois, le traitement au moyen d'une combinaison de constituants actifs, en particulier des combinaisons à dose fixée, peut susciter des inconvénients et il existe une forte 25 prévention contre l'administration de ces combinaisons.

25 Chez de nombreux patients, le traitement au moyen d'un bronchodilatateur sur une base régulière pendant une longue durée, par exemple six semaines, conduit à une baisse de la réponse à l'agent thérapeutique qui laisse 30 le patient sans protection. Dans certains cas, l'administration prolongée d'un bronchodilatateur peut même provoquer une bronchoconstriction de rebond. Dans d'autres cas, l'un des constituants du mélange peut par lui-même suffire à maîtriser l'affection, rendant ainsi 35 les autres constituants superflus.

La Demanderesse a découvert à présent que les mélanges de nédocromil sodique avec des agents propres à l'inhalation choisis parmi les bronchodilatateurs et les stéroïdes, les sels de l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-4,6-dioxo-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique avec ces agents, et les mélanges de ces sels avec le nédocromil sodique ou l'agent dans le rapport thérapeutique approprié offrent l'avantage qu'ils sont tant palliatifs que prophylactiques, 5 sont plus efficaces, exposent moins à une perte de réponse, induisent moins d'effets secondaires, réduisent l'hyperactivité bronchique, peuvent être administrés en doses plus faibles, peuvent être administrés directement au site de l'affection, par exemple par inhalation, 10 peuvent être administrés moins fréquemment, par exemple 1 ou 2 fois par jour, peuvent être administrés en thérapie à long terme, ont un effet plus durable, réduisent la candidiasis induite par les stéroïdes, sont plus stables, sont synergiques, mènent le patient à une meilleure 15 observance, ont un goût moins désagréable ou ont d'autres propriétés souhaitables par comparaison avec les stéroïdes ou bronchodilatateurs administrés tels quels, le nédocromil sodique administré tel quel ou certains 20 autres mélanges lors d'épreuves sur des modèles pharmacologiques compétents. 25

L'invention a pour objet un mélange pharmaceutique comprenant

- a) un ou plusieurs d'entre l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-4,6-dioxo-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique et les sels pharmaceutiquement acceptables de celui-ci, comme "constituant actif A", en combinaison avec
- b) un ou plusieurs agents propres à l'inhalation choisis parmi les bronchodilatateurs, les stéroïdes et leurs dérivés pharmaceutiquement acceptables, comme "consti-

tuant actif B".

La Demanderesse préfère utiliser le sel disodique de l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-10-propyl-4H-pyran-no[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique, connu sous le nom de nedocromil sodique. Elle préfère aussi utiliser un seul constituant actif A en mélange avec soit un bronchodilatateur, soit un stéroïde comme constituant actif B.

Les bronchodilatateurs que le constituant B peut représenter comprennent l'isoprénaline. La Demanderesse préfère toutefois que le bronchodilatateur soit bêta-2-sélectif.

Un bronchodilatateur bêta-2-sélectif est un agoniste des récepteurs bêta-adrénergiques qui a davantage d'affinité pour les récepteurs bêta-2-adrénergiques, dont la stimulation se traduit par le relâchement des muscles bronchiques (et aussi artériels et utérins) que pour les récepteurs bêta-1-adrénergiques, dont les agonistes induisent la stimulation cardiaque (et la lipolyse). Pour la détermination de la bêta-2-sélectivité, une comparaison est établie entre l'activité du composé (a) comme agent de relâchement des préparations de trachée isolée de cobaye sous tonus spontané (CE_{50} = concentration molaire donnant 50% de la réponse de relâchement maximal à l'isoprénaline) et (b) l'augmentation de la fréquence de battement auriculaire de l'oreille isolée en battement spontané du cœur de cobaye (CE_{50} = concentration molaire induisant 50% de l'augmentation maximale de rythme induite par l'isoprénaline). Un composé bêta-2-sélectif doit avoir une CE_{50} plus faible sur la trachée que sur l'oreille. Il est possible de déterminer un rapport de sélectivité qui est l'antilogarithme de la différence entre le logarithme négatif de CE_{50} (trachée) et le logarithme négatif de CE_{50} (oreille). Plus ce rapport de sélectivité est

élevé et plus le composé est sélectif pour les récepteurs bêta-2-adrénergiques.

La Demanderesse préfère que le bronchodilatateur bêta-2-sélectif soit à action durable. Par l'expression "à action durable", on entend que le composé a comme agent de relâchement du muscle bronchique lisse dans les épreuves pharmacologiques une durée d'action plus longue que celle de l'isoprénaline ou de l'orciprénaline. Pour les études de la durée d'action, une comparaison est établie entre l'effet de doses i.v. également actives pour l'inhibition du bronchospasme induit par l'acétylcholine ou l'histamine chez le cobaye anesthésié. La durée d'action de l'isoprénaline dans une telle épreuve est relativement brève (retour de la réponse témoin à la valeur normale en 10 à 25 minutes). Dans le cas d'un composé ayant une plus longue durée d'action, la réponse témoin ne devrait retourner à la valeur normale qu'en une durée plusieurs fois plus longue.

Des bronchodilatateurs spécifiques qui peuvent être cités sont la terbutaline, le fénotérol, le réprotérol, le pirbutérol, le rimiterol, l'orciprénaline et en particulier le salbutamol.

Des stéroïdes convenant comme constituant actif B sont notamment l'hydrocortisone, outre des composés plus actifs tels que le valérate de bétaméthasone, le butyrate de clobétasone, l'acétonide de fluocinolone, l'hexanoate de fluocortolone, le dipropionate de béclo-méthasone, le butyrate d'hydrocortisone, le valérate de difluocortolone, l'acétonide de triamcinolone, le flucinonide, le désonide, la flurandrénalone, le pivalate de fluméthasone, la méthylprednisolone, le propionate de clobétasol, l'halcinonide, le tixocortol, la prednisolone et le 21-acétate de fluprednylidène. La Demanderesse préfère que le constituant actif B soit le dipropionate de bécломéthasone.

L'invention a aussi pour objet un sel de l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-4,6-dioxo-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique avec un agent basique propre à l'inhalation choisi parmi les bronchodilatateurs bêta-2-sélectifs et les stéroïdes.

Le sel peut être préparé par un procédé de double décomposition, par exemple par réaction d'un sel approprié, tel que le sel disodique, de l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-4,6-dioxo-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique avec un sel convenable, par exemple le chlorhydrate ou le sulfate, de la base de l'agent propre à l'inhalation. Toutefois, le sel est de préférence produit par réaction de l'acide libre, à savoir l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-4,6-dioxo-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique, avec la base libre de l'agent propre à l'inhalation, parce qu'un tel procédé ne donne pas de sel inorganique comme sous-produit. La réaction peut être exécutée dans un solvant qui est inerte dans les conditions de réaction. Le solvant est de préférence un solvant dans lequel le sel souhaité est soluble, par exemple l'eau. Le sel souhaité peut être isolé et purifié, par exemple, par cristallisation ou lyophilisation.

L'invention a donc pour objet le sel lorsqu'il n'est pas en solution, par exemple le sel lorsqu'il se trouve sous une forme sensiblement sèche, ou lorsqu'il se trouve en mélange avec insuffisamment de liquide, par exemple d'eau, pour le dissoudre complètement.

Le sel peut, si la chose est souhaitée, être utilisé conjointement avec un ou plusieurs autres sels de l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-4,6-dioxo-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique, notamment son sel disodique.

Le rapport des constituants actifs A et B dans la composition variera avec la nature des constituants

actifs particuliers et les fins spécifiques auxquelles la composition est destinée. Lorsque le constituant actif A est lui-même un sel de l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique avec un agent basique propre à l'inhala-
5 tion, par exemple un bronchodilatateur bêta-2-sélectif, il peut être nécessaire d'utiliser une proportion nulle ou tout au plus très faible de l'agent basique "libre" ou d'un autre sel de celui-ci comme constituant actif B.

10 Une dose appropriée du constituant actif A pour l'inhala-
tion se situe dans l'intervalle de 1 à 100 mg et de préférence de 1 à 20 mg (à mesurer en néodo-
cromil sodique).

15 Une dose appropriée du constituant actif B pour l'inhala-
tion et un nombre approprié de parties en poids de constituant actif A (à mesurer en néodocro-
mil sodique) pour une partie en poids de constituant actif B sont spécifiés ci-après:

	Composé	Dose en microgrammes	Rapport A:B (composition en aérosol sous pression)
	Salbutamol	50 à 300	4 à 20 : 1
5	(sous forme de sulfate)	de préférence 50 à 200	
	Terbutaline	100 à 600	2 à 10 : 1
	(sous forme de sulfate)	de préférence 100 à 500	
10	Fénotérol	100 à 500	2 à 10 : 1
	(sous forme de bromhydrate)		
	Pirbutérol	100 à 500	2 à 15 : 1
	(sous forme de chlorhydrate)		
15	Réprotérol	150 à 750	1,3 à 6,7 : 1
	(sous forme de chlorhydrate)		
	Dipropionate de bécломéthasone	10 à 500	2 à 40 : 1
20		de préférence 25 à 200	

Il est hautement préféré que la dose de constituant B soit de nature à exercer un effet persistant plutôt que transitoire.

25 Le mélange peut être administré en doses subdivisées 1 à 6 et de préférence 2 à 4 fois par jour. Chaque dose peut comprendre une ou plusieurs doses unitaires.

30 Les rapports spécifiques des constituants actifs A et B particuliers dans toute composition conforme à l'invention peuvent varier dans un large intervalle. La Demanderesse préfère toutefois une composition contenant 0,4 à 400 parties en poids et plus avantageusement 2 à 200 parties en poids de constituant actif A (à mesurer en nédocromil sodique) par partie en poids de con-

stituant actif B.

Les mélanges conformes à l'invention peuvent être préparés en mélangeant ensemble les différents constituants actifs suivant des techniques habituelles connues.

Les sels, mélanges et compositions de l'invention sont utiles parce qu'ils ont une activité pharmacologique chez les animaux; en particulier, ils sont utiles parce qu'ils inhibent le dégagement et/ou l'action des médiateurs pharmacologiques qui résultent de la combinaison in vivo de certains types d'anticorps et d'antigènes spécifiques, par exemple la combinaison d'un anticorps réaginique avec un antigène spécifique (voir exemple 27 du brevet anglais n° 1.292.601). Les sels et compositions se sont aussi révélés inhiber la dégranulation des mastocytes et intervenir dans les trajets réflexes chez les animaux d'expérience et l'homme, en particulier dans les réflexes associés à la fonction pulmonaire. Chez l'homme, les altérations tant subjectives qu'objectives qui résultent de l'inhalation d'un antigène spécifique par un sujet sensibilisé sont inhibées par une administration préalable des nouveaux sels et nouvelles compositions. Les nouveaux sels et nouvelles compositions sont donc utiles pour le traitement d'une obstruction réversible des voies aériennes et/ou pour la prévention de la sécrétion d'un excès de mucus. Ils sont donc utiles pour le traitement de l'asthme allergique, de l'asthme dit "intrinsèque" (pour lequel aucune sensibilité à un antigène extrinsèque ne peut être démontrée), de l'asthme induit par l'exercice etc., de la rhinite, du poumon du fermier, de la maladie des oiseleurs, de la bronchite, des toux (y compris la coqueluche) et des obstructions du nez et des bronches associées au rhume ordinaire. Les nouveaux sels, mélanges et compositions sont précieux aussi pour le

traitement d'autres états dans lesquels des réactions antigènes-anticorps ou une sécrétion excessive de mucus sont la cause ou une cause accessoire de la maladie.

Les nouveaux sels, mélanges et compositions de l'invention peuvent être administrés par des voies très diverses et peuvent agir par voie systémique ou locale. Par conséquent, les composés peuvent être administrés par inhalation orale ou nasale dans les poumons, directement dans le nez ou les yeux, dans la cavité buccale, dans l'oesophage ou sur d'autres surfaces accessibles du corps. Les nouveaux sels et mélanges peuvent être administrés directement sur l'organe ou la partie du corps manifestant les symptômes ou sur une partie éloignée que celle manifestant les symptômes.

L'invention a aussi pour objet un procédé de traitement des affections obstructives et réversibles des voies aériennes, qui comprend l'administration d'une quantité thérapeutiquement efficace de

20 a) un ou plusieurs d'entre l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-4,6-dioxo-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique et les sels pharmaceutiquement acceptables de celui-ci comme "constituant actif A", en combinaison avec

25 b) une quantité thérapeutiquement efficace d'un ou plusieurs agents propres à l'inhalation choisis parmi les bronchodilatateurs bêta-2-sélectifs, les stéroïdes et leurs dérivés pharmaceutiquement acceptables comme "constituant actif B",

30 simultanément ou séparément dans le temps à un patient souffrant d'une telle affection.

Le procédé de traitement est exécuté de préférence sur base quotidienne régulière, par exemple 1 à 4 fois par jour. Le procédé est exécuté de préférence pendant une longue durée, par exemple au moins

4 semaines et de préférence au moins 8 semaines. Le procédé comprend de préférence l'administration simultanée de doses fixées du constituant actif A avec des doses fixées du constituant actif B.

5 Les nouveaux sels, mélanges et compositions de l'invention peuvent être administrés suivant une grande variété de posologies, soit tels quels, soit conjointement avec un ou plusieurs autres composés actifs.

10 Les nouveaux sels de l'invention et les constituants actifs des mélanges et compositions peuvent être préparés à des granulométries d'une grande variété. Par exemple, pour l'inhalation et d'autres applications, les composés peuvent avoir un diamètre médian en masse 15 de 0,01 à 10 μm , de préférence de 2 à 6 μm et plus avantageusement de 2 à 4 μm .

20 L'invention a aussi pour objet une composition pharmaceutique comprenant (de préférence à raison de moins de 80% et plus avantageusement à raison de moins de 50% en poids) un sel ou mélange conforme à l'invention, en association avec un adjuvant, diluant ou excipient pharmaceutiquement acceptable.

25 Des exemples d'adjuvants, diluants ou excipients appropriés sont:
pour les comprimés, capsules et dragées: la cellulose microcristalline, le phosphate de calcium, la terre de diatomées, un sucre tel que le lactose, le dextrose ou le mannitol, le talc, l'acide stéarique, l'amidon, le bicarbonate de sodium et/ou la gélatine;
30 pour les suppositoires: les cires et huiles naturelles ou durcies, et
pour les compositions à inhaller: le lactose grossier.

35 Pour l'administration par inhalation, les nouveaux sels ou mélanges peuvent être mis en composition avec un gaz comprimé, par exemple l'azote, ou avec

un agent propulseur liquéfié à l'état de composition en aérosol sous pression, la composition contenant de préférence 1 à 20% p/v du ou des agents actifs.

5 Les nouveaux sels ou mélanges peuvent être administrés aussi à l'état de solution nébulisée.

L'invention est illustrée par les exemples suivants.

EXEMPLE 1

Aérosol sous pression débitant du nedocromil sodique (2 mg) et du sulfate de salbutamol (0,1 mg)

10	Nedocromil sodique (micronisé, séché)	1,4420% p/p
	Salbutamol (micronisé)	0,0721
	Trioléate de sorbitan	0,5000
	Dichlorotétrafluoroéthane	39,1944
15	Dichlorodifluorométhane	58,7915

Refroidir le dichlorodifluorométhane à -55°C et y disperser le trioléate de sorbitan au moyen d'un mélangeur à cisaillement intense. Disperser le nedocromil sodique et le sulfate de salbutamol dans le mélange et ajouter le dichlorotétrafluoroéthane préalablement refroidi à -55°C. Introduire la suspension dans des bidons et sertir sur chaque bidon une valve doseuse d'une capacité de 100 μ l.

25 EXEMPLE 2

Aérosol sous pression débitant du nedocromil sodique (2 mg) et de la terbutaline (0,25 mg).

30	Nedocromil sodique (séché, micronisé)	1,4286% p/p
	Terbutaline (micronisée)	0,1786
	Trioléate de sorbitan	0,5000
	Trichlorofluorométhane	24,4732
	Dichlorotétrafluoroéthane	24,4732
	Dichlorodifluorométhane	48,9464

Dissoudre le trioléate de sorbitan dans le trichlorofluorométhane et disperser le nedocromil sodi-

que et le sulfate de terbutaline dans la solution. Refroidir la solution à -55°C et ajouter le dichlorotétrafluoroéthane et le dichlorodifluorométhane refroidis à -55°C. Introduire la suspension dans des bidons et sertir sur chaque bidon une valve doseuse d'une capacité de 100 μ l.

EXAMPLE 3

Aérosol sous pression débitant du nédocromil sodique (2 mg) et du réprotérol (0,5 mg).

10	Nédocromil sodique (séché, micronisé)	1,4663% p/p
	Chlorhydrate de réprotérol (micronisé)	0,3666
	Trioléate de sorbitan	1,0000
	Trichlorofluorométhane	10,0000
	Dichlorotétrafluoroéthane	13,0751
15	Dichlorodifluorométhane	74,0920

Préparer comme dans l'exemple 2.

EXAMPLE 4

Aérosol sous pression débitant du nédocromil sodique (2 mg) et du dipropionate de bêclométhasone (0,05 mg)

20 Nédocromil sodique (séché, micronisé) 1,4420% p/p

Dipropionate de bêclométhasone (micronisé) 0,0361%

Trioléate de sorbitan 0,5000

Dichlorotétrafluoroéthane 39,2088

Dichlorodifluorométhane 58,8131

25 Préparer comme dans l'exemple 1.

On a examiné les effets des mélanges, sels et compositions conformes à l'invention dans les systèmes suivants:

EXEMPLE A

30 Epreuve d'anaphylaxie pulmonaire passive chez le rat

On a sensibilisé passivement des femelles de rat (Charles River) d'un poids de 250 g par injection intraveineuse de 0,5 ml d'antisérum à l'IgE de rat potentialisée dirigée contre l'ovalbumine.

35 On a anesthésié les rats à la pentobarbitone

sodique (70 mg/kg) par voie intraveineuse. On a canulé la trachée et on a ventilé le rat à l'aide d'une pompe respiratoire Palmer Miniature Ideal en système clos. On a enregistré la pression dans la trachée au moyen d'une dérivation de la canule connectée à un transducteur de différence de pression de l'air (UPI, Pye Ether Ltd.). On a réglé le rythme respiratoire à 99 coups par minute avec une pression dans la trachée de 6 cm d'eau.

10 On a agressé les rats, 48 heures après la sensibilisation, avec de l'ovalbumine (25 mg/kg par voie intraveineuse) et on a mesuré, en pinçant la trachée, l'augmentation résultante de la pression dans la trachée exprimée en pourcentage du degré maximum possible de 15 bronchoconstriction (Δ PCB max).

20 On a administré le constituant actif A et/ou le constituant actif B, soit isolément, soit en combinaison, par voie intraveineuse dans de la solution physiologique salée au cours de la période de 1 à 5 minutes avant l'agression par l'antigène.

25 On a analysé les résultats de l'administration des deux composés en combinaison en exécutant une analyse de variance pour un agencement factoriel avec des mesures répétées dans chaque cellule. On a effectué une transformation par racine carrée avant l'analyse.

30 On a examiné plus en détail un effet antagoniste ou synergique éventuel des deux composés en appliquant le procédé décrit par Berenbaum, Clin. Exp. Immunol., 28, 1 (1977). Celui-ci consiste à calculer la grandeur:

$$Z = \frac{\text{dose de A}}{Ae} + \frac{\text{dose de B}}{Be}$$

où (A,B) est la combinaison exerçant un effet X.

Ae est la dose de A seul donnant un effet X.

B_e est la dose de B seul donnant un effet X.

Si $Z < 1$, A et B sont synergiques.

$Z = 1$, A et B sont additifs.

$Z > 1$, A et B sont antagonistes.

5 EXEMPLE B

Inhibition du dégagement du médiateur par les cellules broncho-alvéolaire

Matériels et procédés

Matériels

10 On a acquis de la [^3H]-S-adénosyl-L-méthionine (500mCi/mmole) et du [^{32}P]-orthophosphate (sans entraîneur) chez Amersham International (Amersham, Buckinghamshire, Royaume-Uni), de l'antisérum de mouton contre l'IgE de rat, de l'antisérum de chèvre contre de l'IgE humaine et du sérum de chèvre normal chez Miles Laboratories (Slough, Buckinghamshire, Royaume-Uni). On a précipité le sérum de chèvre anti-IgE humaine et le témoin avec du sulfate d'ammonium saturé à 40% (Largman et al, Methods Enzymol (1981) 74:22) et après dialyse, on a
 15 ajusté la fraction de globuline au volume original du sérum. On a préparé l'antigène d'ascaris à partir du liquide pseudocoelomique d'Ascaris suum adulte par chromatographie sur Sephadex G200 (Pharmacia, Milton Keynes, Buckinghamshire, Royaume-Uni) suivant le procédé d'Ambler et al, J. Immunol. Meth. (1972), 1, 317.

20
 25
 30

Infection et lavage broncho-alvéolaire chez des macaques

On a utilisé pour ces études un groupe de 20 singes Macaca arctoides, d'un poids de 8-18 kg. On a infecté les animaux au moyen d'A. suum et on a effectué le lavage comme décrit par Pritchard et al, Clin. Exp. Immunol., (1983), 54:469. On a recueilli le liquide du lavage dans des tubes héparinisés et on l'a mis sur glace.
Traitements de cellules du lavage broncho-alvéolaire

35 On a filtré le liquide de lavage à travers un filtre en Nylon de $175\text{ }\mu\text{m}$ et on a recueilli les cellules

par centrifugation (450 g pendant 5 minutes à 4°C). On a lavé les cellules et on les a remise en suspension à la dilution de travail requise dans du tampon (Tyrode tamponné à l'HEPES 10 mM, pH 7,4, contenant 1 mg/ml de 5 gélatine et 5 unités/ml d'héparine). On a effectué les comptages différentiels de cellules sur les préparations humides dans du milieu colorant de Kimura (20). Lorsque seul le dégagement d'histamine devait être mesuré, les cellules ont été agressées, en triple expérience, par addition de 0,05 ml de cellules, à une densité de 10^5 mastocytes/ml, à du constituant A, par exemple à 0,05 ml de tampon contenant l'agent de dégagement autre le constituant B, par exemple ($3 \times 10^{-8} - 10^{-6}$ M), et du nedocromil sodique ($3 \times 10^{-6} - 10^{-4}$ M) isolément 10 et en combinaison à 37°C. Après 20 minutes d'incubation à 37°C, le processus de dégagement a été bloqué par addition de 0,25 ml de tampon glacé exempt de Ca^{2+} et Mg^{2+} contenant de l'EDTA 2 mM. Après centrifugation (450 g pendant 5 minutes à 4°C), on a recueilli 0,2 ml 15 de liquide surnageant pour le dosage de l'histamine. Dans toutes les expériences d'inhibition, on a choisi un taux d'agression submaximal qui, d'après l'expérience de lavages antérieurs du même animal, dégage 15-25% de l'histamine totale, mais pas plus de la moitié du dégagement maximum réalisable.

Mesures de l'histamine

On a mesuré l'histamine par le procédé isotope double de Beaven et al, Clin. Chim. Acta, (1972), 37, 97 modifié comme décrit dans Pritchard et al.

EXAMPLE C

Hyperactivité bronchique non spécifique chez l'asthmatique adulte

Des adultes asthmatiques ont donné leur consentement après information et participé à l'étude.

35 On a effectué l'agression par l'histamine

suivant le procédé de Cockcroft, Clin. Allergy, (1977), 7, 235. On a fait inhale pendant 2 minutes à intervalles de 5 minutes, des concentrations doublées de phosphate acide d'histamine (0,03 - 8 mg/ml). On a 5 mesuré le volume expiratoire forcé à une seconde (VEF_1) au moyen d'un spiromètre Vitalograph à coin sec avant, de même que 0,5 et 1,5 minute après chaque inhalation. On a interrompu l'agression lorsque le VEF_1 a été diminué de 20% ou davantage par rapport à la ligne de base 10 mesurée. On a établi les courbes Log-dose/réponse et mesuré la CP_{20} par interpolation des deux derniers points.

EXEMPLE D

On a rassemblé pour cette étude des volontaires 15 souffrant d'asthme allergique spécifique. Chez ces volontaires, une crise d'asthme succède normalement à l'inhalation d'un antigène auquel ils sont spécifiquement sensibles. Le degré d'asthme provoqué par ce mode opératoire peut être mesuré par examen répété de la 20 résistance des voies aériennes.

On utilise un spiromètre approprié conçu pour mesurer le volume expiratoire forcé à une seconde (VEF_1) et dès lors les modifications de la résistance des voies aériennes.

25 On mesure les modifications de VEF_1 induites par le médicament 5 minutes après l'administration du médicament.

30 Six heures après l'administration du médicament, on déclenche une attaque témoin par antigène chez le volontaire et on mesure la baisse de VEF_1 5 minutes après l'administration de l'antigène.

R E V E N D I C A T I O N S

1 - Mélange pharmaceutique comprenant

- 5 a) un ou plusieurs d'entre l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-4,6-dioxo-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-di-
carboxylique et les sels pharmaceutiquement acceptables
de celui-ci, comme "constituant actif A", en combinaison
avec
- 10 b) un ou plusieurs agents propres à l'inhalation choi-
sis parmi les bronchodilatateurs, les stéroïdes et leurs
dérivés pharmaceutiquement acceptables, comme "consti-
tuant actif B".

2 - Mélange suivant la revendication 1, dans
lequel le constituant actif A est le nedocromil sodique.

15 3 - Mélange suivant la revendication 1, com-
prenant 0,4 à 400 parties en poids de constituant actif
A, à mesurer en nedocromil sodique, par partie en poids
de constituant actif B.

20 4 - Mélange suivant l'une quelconque des re-
vendications précédentes, dans lequel le constituant
actif B est un bronchodilatateur ou un dérivé pharma-
ceutiquement acceptable de celui-ci.

25 5 - Mélange suivant l'une quelconque des re-
vendications précédentes, dans lequel le constituant
actif B est un bronchodilatateur bêta-2-sélectif ou
un dérivé pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

6 - Mélange suivant l'une quelconque des
revendications précédentes, dans lequel le constituant
actif B est le salbutamol ou un sel pharmaceutiquement
acceptable de celui-ci.

30 7 - Mélange suivant l'une quelconque des re-
vendications 1 à 4, dans lequel le constituant actif B
est la terbutaline, le fénotérol, le réprotérol, le
pirbutérol, le rimitérol ou un sel pharmaceutiquement
acceptable de l'un de ceux-ci.

35 8 - Mélange suivant l'une quelconque des re-

vendications 1 à 3, dans lequel le constituant actif B est un stéroïde ou un dérivé pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

9 - Mélange suivant la revendication 8, dans lequel le constituant actif B est la bêclométhasone, un solvate de celle-ci ou un dérivé pharmaceutiquement acceptable de l'un ou l'autre.

10 - Mélange suivant la revendication 8, dans lequel le constituant actif B est l'hydrocortisone, le valérate de bétaméthasone, le butyrate de clobétasone, l'acétonide de fluocinolone, l'hexanoate de flucortolone, le butyrate d'hydrocortisone, le valérate de diflucortolone, l'acétonide de triamcinolone, le flucinonide, le désonide, la flurandrénalone, le pivalate de fluméthasone, la méthylprednisolone, le propionate de clobétasol, l'halcinonide, le tixocortol, la prednisolone, le 21-acétate de fluprednylidène ou un solvate de l'un de ceux-ci.

11 - Sel de l'acide 9-éthyl-6,9-dihydro-4,6-dioxo-10-propyl-4H-pyranno[3,2-g]quinoléine-2,8-dicarboxylique avec un agent basique propre à l'inhalation choisi parmi les bronchodilatateurs bêta-2-sélectifs et les stéroïdes.

12 - Composition pharmaceutique comprenant un mélange suivant l'une quelconque des revendications 1 à 10 ou un sel suivant la revendication 9 en association avec un adjuvant, diluant ou excipient pharmaceutiquement acceptable et sous une forme propre à l'inhalation.

13 - Composition suivant la revendication 12, sous la forme d'une composition en aérosol sous pression contenant 1 à 20% p/p du ou des constituants actifs et comprenant 0,05 à 1,5% en poids d'un agent tensio-actif.

Dessins : planches

..... 19 pages dont 1 page de garde

..... 16 pages de description

..... 2 pages de revendication

..... 1 page descriptif

Luxembourg, le 19 MARS 1987

Le mandataire :