



N° 882.889

Classif. Internat. : 6076/A61K

Mis en lecture le : 18-08-1980

Le Ministre des Affaires Économiques,

*Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention :*

*Vu le procès-verbal dressé le 21 avril 19780 à 15 h. 20*  
au Service de la Propriété industrielle;

## ARRÊTE :

**Article 1.** — *Il est délivré à la Sté dite : DOMPE' FARMACEUTICI S.P.A.,  
Via S. Martino , 12 Milan (Italie),  
repr. par le Bureau Gevers S.A. à Bruxelles,*

*un brevet d'invention pour : Sel de lysine de l'acide méta-benzoyl-hydra-  
tropique , son procédé de préparation et compositions  
pharmaceutiques en contenant,*

*qu' elle déclare avoir fait l'objet d'une demande de brevet  
non encore accordée à ce jour, déposée en Italie le 12  
mai 1977, n° 23465 A/77*

**Article 2.** — *Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et  
périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit  
de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.*

*Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention  
(mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui  
de sa demande de brevet.*

Bruxelles, le 14 mai 19780

PAR DÉLÉGATION SPÉCIALE :

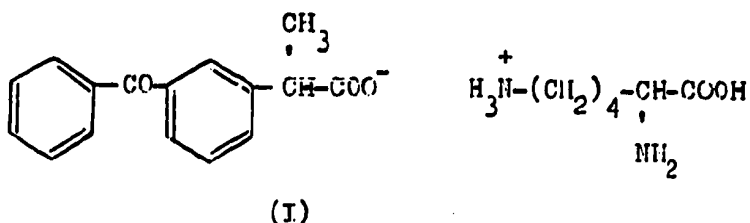
Le Directeur

L. SALPÊTEUR





La présente invention est relative au sel de lysine de l'acide méta-benzoyl-hydratropique répondant à la formule :



Le composé (I) a montré des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et anti-agglutinantes importantes, qui sont notamment supérieures à celles de l'acide méta-benzoyl-hydratropique, par rapport auquel le composé suivant l'invention présente en outre des propriétés avantageuses en ce qui concerne l'activité ulcérogène.

Un autre but de l'invention est de prévoir des compositions pharmaceutiques à action anti-inflammatoire, ces compositions comprenant le composé (I) comme principe actif.

L'invention se rapporte également à un procédé de préparation du composé (I). Suivant ce procédé, on fait réagir des quantités essentiellement équimoléculaires de l'acide méta-benzoyl-hydratropique et de lysine dans un solvant aqueux ou hydro-alcoolique.

Le sel ainsi formé est isolé grâce à une concentration de la solution aqueuse ou grâce à l'addition d'un non-solvant. Le produit obtenu est suffisamment pur pour l'emploi pharmaceutique mais il peut être encore purifié grâce à une recristallisation dans un solvant approprié.

Le procédé de l'invention est illustré par l'exemple suivant.



### EXEMPLE

A une solution de 146 g (1 mole) de L-lysine dans 150 ml d'eau, on ajoute en agitant 254 g (1 mole) d'acide méta-benzoyl-hydratropique. L'acide se dissout avec un caractère légèrement exothermique en formant une solution sirupeuse que l'on dilue sous agitation avec 400-450 ml d'isopropanol. On refroidit à 0-5°C et on ajoute très lentement, en agitant et en amorçant avec des cristaux du produit (I) déjà préparé, 900-1000 ml supplémentaires d'isopropanol. Le méta-benzoyl-hydratropate de lysine (I) précipite sous forme cristalline et est libéré par décantation de la partie maximale du liquide surnageant, avec ensuite reprise en utilisant 500 ml supplémentaires d'isopropanol. On filtre sous vide et on lave à l'isopropanol, puis à l'éther sec.

On obtient 340-360 g de produit pur d'un point de fusion de 145-149°C, soluble dans l'eau, peu soluble dans le méthanol et l'éthanol, pratiquement insoluble dans l'isopropanol, l'acétone et l'éther éthylique. Le pH de la solution aqueuse à 10% est d'environ 7,5.

Les résultats analytiques et spectroscopiques correspondent à ceux prévus pour le produit en question.

Le sel de L-lysine de l'acide méta-benzoyl-hydratropique a été soumis à des expériences toxicologiques et pharmacologiques que l'on présente ci-après.

### TOXICITE AIGUE

Le composé a été administré à des souris Swiss et à des rats Sprague-Dawley par voie orale, par voie intrapéritonéale et par voie sous-cutanée. Pour chaque dose du produit pharmaceutique, on a traité 10 animaux, à savoir 5 mâles et 5 femelles. Sur la



base des mortalités enregistrées au cours des 7 jours suivant l'administration, on a déterminé, pour chaque voie utilisée, la valeur  $LD_{50}$  suivant la méthode de Litchfield et Wilcoxon (J. Pharmacol. Exp. Ther. 96, 1949).

### Résultats

| Animal particulier | Voie d'administration | $LD_{50}$ | (Limites de confiance) 95% |
|--------------------|-----------------------|-----------|----------------------------|
| souris             | per os                | 651       | (610-704)                  |
| souris             | intrapéritonéale      | 824       | (758-908)                  |
| souris             | sous-cutanée          | 786       | (742-837)                  |
| rat                | per os                | 349       | (319-388)                  |
| rat                | intrapéritonéale      | 288       | (256-322)                  |
| rat                | sous-cutanée          | 317       | (285-359)                  |

### TOXICITE CHRONIQUE

#### a) Sur rat Sprague-Dawley

Quatre groupes de 20 animaux chacun, à savoir 10 mâles et 10 femelles, d'un poids initial de  $100 \pm 5$  g ont été traités journallement pendant 24 semaines suivant le schéma suivant :

- 1<sup>er</sup> groupe : témoins (aucun traitement)
- 2<sup>e</sup> groupe : composé I (25 mg/kg par voie orale)
- 3<sup>e</sup> groupe : témoins (solution physiologique par voie intrapéritonéale)
- 4<sup>e</sup> groupe : composé I (25 mg/kg par voie intrapéritonéale)

Durant cette période, on a contrôlé chaque jour l'état général, le comportement et les mortalités. Chaque semaine, on a contrôlé le poids de corps et la consommation alimentaire. A la



fin du traitement, on a procédé à un examen complet du sang et de l'urine, et à un examen autoptique et hystologique.

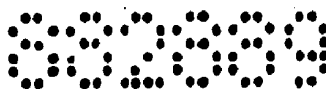
### Résultats

L'état général de tous les animaux est toujours resté bon et on n'a observé aucun signe de souffrance. En outre, le comportement est toujours resté normal aussi bien chez les rats témoins que chez les rats traités par le composé I pour les deux voies d'administration. Les mortalités enregistrées sont à considérer comme se situant dans les limites de la normale pour chaque espèce d'animal et en rapport avec les conditions de stabulation et avec la période prolongée de traitement. L'allure du poids de corps des animaux traités, aussi bien par voie orale que par voie intrapéritonéale, est toujours resté comparable à celui des animaux témoins, qu'il s'agisse des animaux mâles ou des animaux femelles.

Les paramètres hématologiques et hématochimiques des groupes d'animaux des deux sexes traités ont montré des valeurs physiologiques qui ne présentent pas de variations significatives par rapport à celles des groupes correspondants d'animaux témoins. Les prélèvements urinaires n'ont pas montré de signes pathologiques. Enfin, à l'examen macroscopique et microscopique, on n'a pas relevé de modifications des organes internes, que l'on pouvait considérer comme dues aux traitements décrits.

#### b) Sur chien Beagle

Le composé I a été administré à quatre groupes de chiens (chaque groupe étant formé d'un mâle et d'une femelle) par voie orale, intramusculaire et rectale, à la dose de 25 mg/kg. Un groupe d'animaux était conservé comme témoin et ne recevait donc aucun traitement. Les administrations étaient faites journalièrement sur



une période de 24 semaines. Journallement, on a contrôlé l'état général, le comportement et les mortalités. Tous les 15 jours, on a contrôlé le poids du corps. Au début du traitement, au milieu de celui-ci et à la fin, on a procédé à un examen complet du sang et des urines.

Sur les animaux sacrifiés, on a procédé à un examen autoptique et histologique sur les organes principaux.

### Résultats

Les animaux ont toujours joui d'un état général satisfaisant. Aucun symptôme de souffrance et d'intolérance n'a été enregistré. Les variations pondérales ont été semblables dans les quatre groupes expérimentaux. L'examen hématologique, l'examen hématochimique et l'examen des urines n'ont jamais permis de relever des résultats pathologiques quelconques. L'examen macroscopique et microscopique des principaux organes n'a pas mis en évidence des modifications pathologiques attribuables au traitement par le composé suivant l'invention.

### TERATOGENESE

L'essai de tératogénèse a été réalisé sur des rates de la souche Sprague-Dawley et sur des lapines de la souche New Zealand White. Le traitement par le composé I a été réalisé par voie orale et par voie intrapéritonéale sur les rates et par voie intramusculaire et rectale sur les lapines, toujours à la dose de 25 mg/kg du produit. Chaque groupe d'animaux était constitué de 10 animaux, ainsi que les groupes témoins correspondants traités par la même voie uniquement par le véhicule employé.

Le produit a été administré aux rates du 6<sup>e</sup> au 16<sup>e</sup> jour de la grossesse, tandis qu'aux lapines, il a été administré du 6<sup>e</sup> au 18<sup>e</sup> jour.



Quotidiennement, on a relevé l'état général, le comportement, les mortalités, les avortements. Chaque semaine on a vérifié le poids du corps. Le 20<sup>e</sup> jour de la grossesse (28<sup>e</sup> jour pour les lapines), les rates ont été soumises à une laparatomie sous anesthésie à l'éther. Les foetus ont été extraits, comptés et pesés et on y a recherché les éventuelles malformations somatiques et squelettiques. On a en outre vérifié l'existence de résorptions.

### Résultats

Le composé suivant l'invention, aux doses et par les voies d'administration utilisées, n'a pas montré d'activité tératogène aussi bien chez les rates que chez les lapines.

Le comportement des animaux traités est toujours resté normal, aucun signe de souffrance n'a été enregistré et les mortalités ont été nulles. Le pourcentage de femelles fertiles, le nombre de foetus, vivants et morts, le nombre de résorptions et d'avortements, sont toujours restés normaux pour chaque espèce animale, en étant comparables, pour chaque voie d'administration, aux résultats obtenus pour les témoins correspondants.

Aucune malformation somatique ou squelettique n'a été remarquée.

### Effets cardiovasculaires

L'administration du composé I à des lapins New Zealand White, par voie intraduodénale à des doses allant jusqu'à 50 et 100 mg/kg, et par voie intraveineuse à des doses de 20 et de 40 mg/kg, n'a pas causé d'effets indésirables sur le système cardiovasculaire (pression artérielle, rythme cardiaque, électrocardiogramme).



### ACTIVITE ANTIPHLOGISTIQUE

On a déterminé l'activité antiphlogistique du composé I par comparaison à l'acide m-benzoyl-hydratropique, sur la base des méthodes suivantes :

- a) Oedème dû à la carragheenine (Winter et col. Proc.Soc.Exp. Biol.Med. -1963b, 111, 544)
- b) Abscess dû à la carragheenine (Benitz et col. Arch.Int. Pharmacodyn. - 1963, 144, 185)
- c) Granulome "Pouch" (Seyle Arch. Int.Pharmacodyn. 1954, 97, 379).

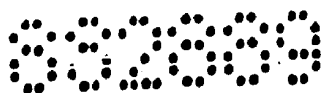
Pour chaque expérience, on a utilisé 7 groupes de 10 rats Sprague-Dawley chacun, qui ont reçu les traitements ci-après :

- 1<sup>er</sup> groupe : témoins
- 2<sup>e</sup> groupe : composé I (2,5 mg/kg par voie orale)
- 3<sup>e</sup> groupe : acide m-benzoyl-hydratropique (2,5 mg/kg par voie orale)
- 4<sup>e</sup> groupe : composé I (2,5 mg/kg par voie intramusculaire)
- 5<sup>e</sup> groupe : acide m-benzoyl-hydratropique (2,5 mg/kg par voie intramusculaire)
- 6<sup>e</sup> groupe : composé I (2,5 mg/kg par voie rectale)
- 7<sup>e</sup> groupe : acide méta-benzoyl-hydratropique (2,5 mg/kg par voie rectale)

### Résultats

Le Tableau suivant illustre l'activité antiphlogistique du sel de L-lysine de l'acide m-benzoyl-hydratropique (composé I) pour chaque méthode utilisée.

| Groupe n° | Oedème d0 à la carra-<br>gheenine<br>Accroissement de la<br>patte traitée (g) | %    | Abcès d0 à la carra-<br>gheenine<br>Poids des abcès<br>(g) | %    | Granulome "Pouche"<br>Poids de granulome<br>(g) | %    | Volume d'exsudat<br>(ml) | %    |
|-----------|---|------|--|------|---|------|--------------------------|------|
| 1         | 101,4 ± 4,2   | 100  | 2,572 ± 0.102  | 100  | 7,145 ± 0,314                                   | 100  | 18,6 ± 0,9               | 100  |
| 2         | 27,2 ± 2,7  | 26,8 | 1,079 ± 0.038  | 42,0 | 4,831 ± 0,168                                   | 68,2 | 9,6 ± 0,5                | 51,6 |
| 3         | 41,7 ± 3,9  | 41,1 | 1,326 ± 0.051  | 51,6 | 5,147 ± 0,183                                   | 72,0 | 11,8 ± 0,7               | 63,4 |
| 4         | 25,4 ± 3,1  | 25,0 | 1,004 ± 0.047  | 39,0 | 4,972 ± 0,142                                   | 69,6 | 9,8 ± 0,7                | 52,7 |
| 5         | 38,2 ± 4,4  | 37,7 | 1,282 ± 0.025  | 49,8 | 5,103 ± 0,179                                   | 71,4 | 11,0 ± 0,4               | 59,1 |
| 6         | 36,9 ± 4,0  | 36,4 | 1,268 ± 0.061  | 49,3 | 5,283 ± 0,182                                   | 73,9 | 10,7 ± 0,6               | 57,5 |
| 7         | 47,8 ± 5,1  | 47,1 | 1,531 ± 0.053  | 59,5 | 5,513 ± 0,174                                   | 77,2 | 12,4 ± 0,5               | 66,2 |



Le composé I a démontré, dans chaque essai particulier, qu'il présente une activité statistiquement plus significative que l'acide m-benzoyl-hydratropique aussi bien par voie orale que par voie intramusculaire et que par voie rectale.

#### ACTIVITE ANALGESIQUE

L'activité analgésique du composé I suivant l'invention a été examinée sur le rat Sprague-Dawley suivant la méthode de La Belle et Tislow (J.Pharmacol. 1950 - 98, 19).

On a utilisé 7 groupes de 10 animaux chacun, ces animaux étant soumis au traitement par le produit examiné suivant le schéma ci-après :

- 1er groupe : témoins
- 2<sup>e</sup> groupe : composé I (5 mg/kg par voie orale)
- 3<sup>e</sup> groupe : acide m-benzoyl-hydratropique (5 mg/kg par voie orale)
- 4<sup>e</sup> groupe : composé I (5 mg/kg par voie intramusculaire)
- 5<sup>e</sup> groupe : acide m-benzoyl-hydratropique
- 6<sup>e</sup> groupe : composé I (5 mg/kg par voie rectale)
- 7<sup>e</sup> groupe : acide m-benzoyl-hydratropique.

#### Résultats

D'après le Tableau suivant, il résulte que le sel de L-lysine de l'acide m-benzoyl-hydratropique présente une activité analgésique très semblable à celle de l'acide correspondant, pour chaque voie d'administration essayée.



| <u>Groupe<br/>n°</u> | <u>% d'animaux<br/>analgésiés</u> |
|----------------------|-----------------------------------|
| 1                    | 0                                 |
| 2                    | 80                                |
| 3                    | 70                                |
| 4                    | 90                                |
| 5                    | 90                                |
| 6                    | 50                                |
| 7                    | 60                                |

#### ACTIVITE ANTIPYRETIQUE

On a utilisé 4 groupes de 5 lapins chacun de la souche New Zealand White, sur lesquels on a provoqué une hyperthermie grâce à l'administration d'un vaccin antipyrogène polyvalent dans la veine marginale de l'oreille. Après 8 heures, on a administré les médicaments suivants :

- 1<sup>er</sup> groupe : aucun traitement (témoin)
- 2<sup>e</sup> groupe : composé I (2,5 mg/kg par voie orale)
- 3<sup>e</sup> groupe : composé I (2,5 mg/kg par voie intramusculaire)
- 4<sup>e</sup> groupe : composé I (2,5 mg/kg par voie rectale)

La température a été enregistrée une heure avant l'injection du vaccin (temps 0), au moment du traitement par le produit (temps 1) et 4 heures après le traitement (temps 2).



| Groupe n° | Température du corps (°C) au temps : |             |             |
|-----------|--------------------------------------|-------------|-------------|
|           | 0                                    | 1           | 2           |
| 1         | 39,15 ± 0,2                          | 40,85 ± 0,3 | 40,95 ± 0.2 |
| 2         | 38,90 ± 0,3                          | 40,55 ± 0,4 | 39,10 ± 0.2 |
| 3         | 39,40 ± 0,2                          | 40,75 ± 0,4 | 39,50 ± 0.3 |
| 4         | 39,20 ± 0,2                          | 40,70 ± 0,5 | 39,35 ± 0.3 |

Le composé I a montré qu'il possède une activité antipyrétique notable.

#### ACTIVITE ULCEROGENE

Cet essai a été mené sur des rates de la souche Sprague-Dawley, en prévoyant 4 groupes de 10 animaux chacun, suivant la technique de Hanson et Brodie (J.Appl. Phys. 291 - 15; 1960). Les lésions gastriques ont été estimées suivant une échelle arbitraire établie sur des modèles proposés par Osterloch et col. (Arzneim. Forsch 901 - 16, 1966).

L'activité ulcérogène du composé I suivant l'invention a été comparée à celle que présente l'acide m-benzoyl-hydratropique et la phénylbutazone. Les traitements ont été réalisés par voie orale en suivant le schéma ci-après :

1<sup>er</sup> groupe : témoin

2<sup>e</sup> groupe : phénylbutazone (100 mg par voie orale)

3<sup>e</sup> groupe : composé I (158 mg/kg par voie orale), ce qui équivaut à 100 mg/kg d'acide m-benzoyl-hydratropique

4<sup>e</sup> groupe : acide m-benzoyl-hydratropique (100 mg/kg par voie orale)



### Résultats

| Groupe, n° | Degré d'ulcération moyen | %    | Réduction % par rapport à l'acide m-benzoyl-hydratropique |
|------------|--------------------------|------|---|
| 1          | 0,20 ± 0,08              | 4,3  | -   |
| 2          | 0,85 ± 0,14              | 18,5 | -50   |
| 3          | 1,50 ± 0,17              | 32,6 | -   |
| 4          | 4,60 ± 0,19              | 100  | -   |

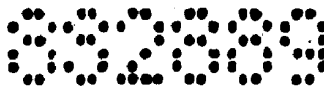
Du tableau précédent, il résulte que le sel de L-lysine de l'acide m-benzoyl-hydratropique présente une activité ulcérogène faible, nettement inférieure à celle présentée par une quantité équimoléculaire de l'acide libre. La réduction est égale à 50 %.

### ACTIVITE ANTI-AGGLUTINANTE DES PLAQUETTES

L'activité anti-agglutinante des plaquettes a été examinée "in vivo" suivant la méthode décrite par Born (Nature 927 - 194, 1962) sur le sang du lapin héparinisé. On a suivi le schéma ci-après :

- 1<sup>er</sup> échantillon : sérum (témoin)
- 2<sup>e</sup> échantillon : sérum + ADP
- 3<sup>e</sup> échantillon : sérum + ADP + composé I (0,05 mM)
- 4<sup>e</sup> échantillon : sérum + ADP + acide m-benzoyl-hydratropique (0,05 mM)

La densité optique du sérum a été mesurée comme étant de 600 mμ avant l'addition du produit et après 20 minutes.



### Résultats

| Echantillon,<br>n° | Densité optique<br>au temps |      | Variation,<br>% | Effet anti-aggluti-<br>nant, % |
|--------------------|-----------------------------|------|-----------------|--------------------------------|
|                    | 0                           | 20'  |                 |                                |
| 1                  | 0,73                        | 0,73 | 0               | -                              |
| 2                  | 0,73                        | 0,24 | -67             | 100                            |
| 3                  | 0,73                        | 0,66 | -10             | 85                             |
| 4                  | 0,73                        | 0,57 | -22             | 67                             |

Le composé I est capable d'inhiber fortement l'agglutination des plaquettes. Son efficacité est supérieure à celle de doses équimoléculaires de l'acide m-benzoyl-hydratropique correspondant.

### PHARMACOCINETIQUE

L'essai a été mené sur des lapins mâles New Zealand White après administration orale, intramusculaire et rectale de 7,5 mg/kg du composé I. On a utilisé 5 animaux par groupe. Sous des conditions similaires, on a procédé à un examen comparatif avec l'acide m-benzoyl-hydratropique à des doses de 7,5 mg/kg.

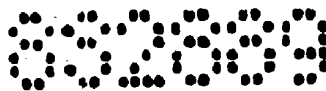
Des échantillons de sang ont été prélevés après 30 minutes, 60 minutes, 120 minutes, 180 minutes et 480 minutes. Les taux du produit ont été déterminés par voie spectrophotométrique.

Pour des animaux maintenus dans des cages métaboliques, on a prélevé les urines des 24 heures pour déterminer la quantité de produit excrétée avec ces urines.

# Résultats

| Groupe                        | Voie d'administration | Concentration d'acide m-benzoyl-hydratropique |            |            |            |            |            |
|-------------------------------|-----------------------|---|------------|------------|------------|------------|------------|
|                               |                       | Sang (m/l) après                              |            |            |            |            | Urines     |
|                               |                       | 1/2h  | 1h         | 2h         | 3h         | 6h         | (%)        |
| Composé I                     | per os                | 27,8 ± 2,3                                    | 33,7 ± 2,9 | 21,5 ± 3,1 | 16,9 ± 2,4 | 12,7 ± 1,4 | 45,7 ± 3,6 |
| "                             | intramuscul.          | 29,7 ± 4,0                                    | 35,2 ± 3,2 | 23,1 ± 3,4 | 16,4 ± 2,9 | 11,6 ± 1,6 | 49,2 ± 2,8 |
| "                             | rectale               | 22,8 ± 3,7                                    | 27,0 ± 4,1 | 27,9 ± 4,0 | 18,3 ± 3,1 | 14,2 ± 1,7 | 43,7 ± 4,1 |
| Acide m-benzoyl-hydratropique | per os                | 19,2 ± 2,6                                    | 28,7 ± 3,4 | 17,4 ± 3,0 | 14,2 ± 2,1 | 10,6 ± 1,3 | 47,2 ± 4,5 |
| "                             | intramuscul.          | 22,4 ± 4,3                                    | 30,2 ± 3,9 | 20,1 ± 2,8 | 14,8 ± 3,0 | 9,7 ± 1,1  | 45,4 ± 3,7 |
| "                             | rectale               | 14,7 ± 2,8                                    | 22,1 ± 3,5 | 20,4 ± 2,8 | 15,3 ± 2,7 | 10,8 ± 0,9 | 48,9 ± 3,9 |



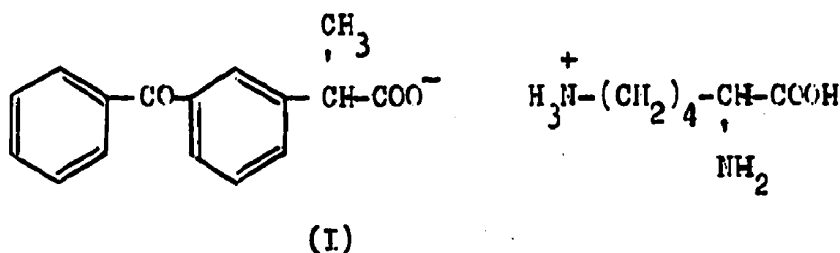


Le sel de L-lysine de l'acide m-benzoyl-hydratropique (I) a démontré une absorption plus rapide de l'acide libre à parité de voie d'administration et de dose, et il est de ce fait capable d'atteindre rapidement des niveaux thérapeutiques utiles. L'excrétion urinaire est assez élevée et voisine de 50% aussi bien pour le composé I que pour le produit de comparaison.

En raison des propriétés pharmacologiques spécifiques mentionnées ci-dessus, le composé (I) se prête au traitement des arthrites rhumatoïdes, des artroses, des bursites, des contusions, des déformations, des luxations, etc. L'administration peut être réalisée par voie orale ou parentérale en des doses unitaires comprises entre 50 et 150 mg du principe actif et en des doses journalières variables de 50 à 500 mg (adultes). Le principe actif peut être présenté en comprimés, en capsules, en ampoules, en suppositoires, etc.

#### REVENDEICATIONS

1. Sel de lysine de l'acide méta-benzoyl-hydratropique de formule (I) :



2. Procédé de préparation du composé suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'on fait réagir des quantités essentiellement équimoléculaires de l'acide méta-benzoyl-hydratropique et de la lysine, dans un milieu alcoolique ou hydro-alcoolique, et en ce qu'on isole le sel ainsi formé grâce à une concentration ou un traitement avec un non-solvant.



3. Compositions pharmaceutiques à activité anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique, caractérisées en ce qu'elles contiennent, comme principe actif, le composé tel que défini dans la revendication 1.

4. Nouveau composé pharmaceutique actif et compositions en comprenant, le tout comme décrit ci-dessus, notamment dans l'Exemple donné.

Bruxelles, le 21 avril 1980

P.Pon de DOMPE' FARMACEUTICI S.p.A.

P.Pon du Bureau GEVERS, société anonyme