



Nr 897.028

Internat. Klassif:

A61K/C07C

Ter inzage
gelegd op:

12 -12- 1983

De Minister van Economische Zaken,

*Gezien de octrooiwet van 24 mei 1854;**Gezien het Unieverdrag tot bescherming van de nijverheidseigendom;**Gezien het proces-verbaal op 10 juni 19 83 te 15 uur 10*

bij de Dienst voor de Nijverheidseigendom opgemaakt;

BESLUIT :

Artikel 1. - Er wordt aan : AKZO N.V.

Velperweg 76, 6824 BM Arnhem (Nederland)

vert. door Bureau Gevers N.V. te Brussel

een uitvindingsoctrooi verleend voor: a-Endorfine fragment bevattend
farmaceutisch preparaat,
(Uitv. : D. De Wied)

dewelke zij verklaart het voorwerp uitgemaakt te hebben
van een octrooiaanvraag ingediend in Nederland op
14 juni 1982 onder nr. 82.02403

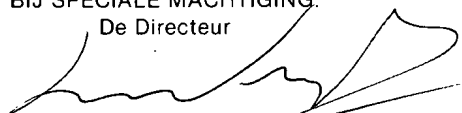
Artikel 2. - Dit octrooi wordt hem verleend zonder vooronderzoek, op zijn eigen verantwoor-
ding, zonder waarborg hetzij voor de wezenlijkheid, de nieuwheid of de verdiensten der uitvin-
ding, hetzij voor de nauwkeurigheid der beschrijving, en onverminderd de rechten van derden.

Bij dit besluit moet het dubbel gevoegd blijven van de beschrijving en van de tekeningen
der uitvinding, door de belanghebbende getekend, en tot staving van zijn octrooiaanvraag
ingediend.

Brussel, de 12 december 19 83

BIJ SPECIALE MACHTIGING:

De Directeur


L. WUYT

BESCHRIJVING

behorende bij een

UITVINDINGSOCTROOIAANVRAGE

ten name van

AKZO N.V.

voor:

" α -Endorfine fragment bevattend farmaceutisch preparaat"

Met recht van voorrang op de octrooiaanvraag ingediend
in Nederland op 14 juni 1982, N° 82.02403

Uitvinder: David DE WIED

b

α -Endorfine fragment bevattend farmaceutisch preparaat.

De uitvinding heeft betrekking op de farmaceutische toepassing van een bepaald fragment van het peptide α -endorfine.

α - en γ -endorfinen zijn fragmenten van β -endorfine. Zowel α -, β - als γ -endorfine zijn in tal van testsystemen - veelal analgetische en gedragstest systemen - getest.

In een aantal gedragstestsystemen bleken α -endorfine en γ -endorfine een tegenovergestelde werking te vertonen. Een voorzichtige conclusie uit de testresultaten luidde dat α -endorfine psycho-stimulerende activiteit en γ -endorfine neuroleptische activiteit zou bezitten.

Het verwijderen van het eerste aminozuur (Tyr) van γ -endorfine, resulterende in des-Tyr- γ -endorfine, bleek voorts een versterking van de neuroleptische eigenschappen en een nagenoeg verdwijnen van de opiaat eigenschappen te bewerkstelligen (zie Europese Octrooiaanvraag no.: 0.004.394).

Verdere structuur/werkingsstudies ten aanzien van γ -endorfine derivaten leidde tot de conclusie dat het kleinste peptide, dat nog alle neuroleptische eigenschappen bezit, het C-terminale fragment 6-17 van γ -endorfine is (zie Europese Octrooiaanvraag No.: 0.015.036).

Aan structuur/werkingsstudies ten aanzien van α -endorfine derivaten is tot nu toe veel minder aandacht besteed.

α -Endorfine is, zoals reeds gezegd, bekend als psychostimulant; terwijl ook bekend is dat bij C-terminale afbraak deze psychostimulerende eigenschappen vooralsnog behouden blijven.

5 D.H. Coy beschrijft in een grote reeks van U.S. octrooien (zie bijvoorbeeld U.S.P. 4.127.517 t/m U.S.P. 4.127.541) dat successieve C-terminale afbraak van een β -endorfine derivaat, waarin het tweede aminozuur vervangen is door een D-aminozuur,
10 telkens leidt tot peptiden met psychostimulerende eigenschappen, doch tevens sedatieve, hypnotische, analgetische en prolactine-vrijmakende eigenschappen.

Voorts werd gevonden (zie b.v. Pharmac.Ther. 16,
15 67 (1982) dat het α -endorfine fragment (2-9)- α -endorfine niet meer dan slechts een tiende deel van de werking van α -endorfine vertoont in de bekende paalklim test. Met andere woorden (2-9)- α -endorfine is aanzienlijk zwakker in het vertragen van de extinctie van
20 aangeleerd vluchtgedrag (avoidance behavior) dan α -endorfine en zou op basis van dit testresultaat vrijwel geen praktisch bruikbare psychostimulant kunnen opleveren.

Verrassenderwijze werd echter gevonden, dat
25 het fragment (2-9)- α -endorfine en structureel zeer verwante analoga hiervan met een aminozuur sequentie: H-R(1)-Gly-L-Phe-R(2)-L-Thr-L-Ser-L-Glu-L-Lys-OH, I waarin R(1) Gly of L-Ala voorstelt en R(2) L-Met, L-Met(O) of L-Met(O₂) voorstelt,
30 alsmede de functionele derivaten hiervan, bijzonder waardevolle dopaminerge eigenschappen bezitten, waardoor zij zich bij uitstek lenen voor toepassing bij de behandeling van de ziekte van Parkinson, en dat zij bovendien de endogene produktie
35 van vasopressine stimuleren, waardoor zij toepasbaar

zijn bij alle behandelingen, waarbij tot dusver het hormoon vasopressine werd voorgeschreven.

Laatstgenoemde toepassing, waarbij endogeen vasopressine wordt opgewekt, bezit het additionele voordeel dat de bijwerkingen, die het toedienen van
5 (exogeen) vasopressine met zich meebrengt,
- bijvoorbeeld de werking op de bloeddruk -,
geheel of nagenoeg geheel achterwege blijft.

10 Via het stimuleren van de endogene vasopressine
produktie kan het onderhavige peptide gebruikt worden
als anti-diureticum of als bloedvat vernauwend agens.
Zo kan men bijvoorbeeld patiënten behandelen die
lijden aan diabetis insipidus of bloedende oesophage-
15 varices. Voorts kan het onderhavige peptide gebruikt
worden bij de behandeling van cognitieve storingen,
zoals amnesie.

Als een verder uitvloeisel van dit stimuleren
van vasopressine produktie kan het onderhavige peptide
20 met formule I of een functioneel derivaat hiervan,
gebruikt worden als een diagnostisch hulpmiddel om
patiënten op te sporen met een te lage vasopressine
produktie.

25 Onder functionele derivaten worden verstaan:
(a) de C-terminale lagere alifatische esters
(1-6 C-atomen) zoals de methyl, ethyl, propyl,
isopropyl, butyl of isobutyl ester,
(b) C-terminale amiden of monomethyl of dimethyl
30 gesubstitueerde amiden, en
(c) farmaceutisch aanvaardbare zouten inclusief de
zuur-additiezouten.



De peptiden volgens de hiervoor beschreven formule I worden bereid op de voor peptiden gebruikelijke wijze via fragment-condensatie of via de vaste phase techniek.

5

De voorkeur wordt gegeven aan de toepassing van het peptide:

H-Gly-Gly-L-Phe-L-Met-L-Thr-L-Ser-L-Glu-L-Lys-OH

en farmaceutisch acceptabele zuuradditieozouten

10 hiervan.

De onderhavige peptiden volgens formule I worden bij voorkeur parenteraal, rectaal of intranasaal (via (neusspray) toegediend. Zij kunnen op de gebruikelijke wijze gemengd worden met gebruikelijke farmaceutische hulpstoffen (vulstoffen, oplosmiddelen, verdunningsmiddelen etc.).

De dosering waarin de peptiden volgens de uitvinding bij voorkeur worden toegediend, varieert tussen 0,1 µg en 10 mg per kg lichaamsgewicht per dag. Voor humane toediening wordt de voorkeur gegeven aan een dagelijkse dosering van 5 µg tot 500 mg.

25

Testmethode t.a.v. vasopressine produktie

Het effect van (2-9)-α-endorfine op het AVP (arg-vasopressine) gehalte van oog-plexus plasma werd als volgt onderzocht.

30 Vrouwelijke Wistar ratten (140-160 g) werden met ether verdoofd voor een strikt gecontroleerde periode van 45 seconden. Monsters van oog-plexus bloed werden genomen en bewaard in gekoelde plastic buisjes waaraan heparine werd toegevoegd.

35

De buisjes werden gecentrifugeerd bij 4 °C om het plasma te verkrijgen. Het immunoreactieve AVP werd rechtstreeks in 20 µl oog-plexus plasma gemeten met behulp van RIA (radio-immuno-assay) methodieken.

5

De ratten werden behandeld met placebo of met 10 µg (2-9)-α-endorfine per rat, subcutaan geïnjectieerd.

10

Tijdstip na injectie in minuten	AVP gehalte uitgedrukt in pg/ml	
	placebo (0,5 ml saline)	(2-9)- α-endorfine
2	<50	667
5	<50	92
10	<50	78

15

Door Apomorfine gestimuleerde stereotype snuffelgedrag

Subcutane behandeling van ratten met 250 µg/kg apomorfine bewerkstelligt met name een uitgesproken stereotype snuffelgedrag.

Toename van dit gedrag door voorbehandeling met de te testen stof wordt beschouwd als een indicatie voor dopaminerge activiteit van die stof.

25

Groepen ratten werden subcutaan geïnjectieerd met placebo (0,5 ml saline), (2-9)-α-endorfine (50 µg) of (3-9)-α-endorfine en vervolgens na 1 uur met apomorfine (250 µg/kg). Voorts werd aan een groep ratten met een tussenpauze van 1 uur twee keer een placebo (0,5 ml saline) injectie gegeven. Twintig minuten na de laatste injectie werden de ratten geobserveerd en de duur van het stereotype snuffelgedrag gedurende 4 minuten gemeten.

35

Resultaat

5	behandeling		duur in sec. stereotype snuffel- gedrag	aantal ratten
	1 ^e injectie	2 ^e injectie (1 uur later)		
	placebo	placebo	30,7	5
	placebo	apomorfine	121,4	6
	(2-9)- α -endorfine	apomorfine	158,0	6
	(3-9)- α -endorfine	apomorfine	115,3	6

- 10 Alleen (2-9)- α -endorfine versterkt de werking van het door apomorfine opgewerkte stereotype snuffel-gedrag.

Voorbeeld15 Injectiepreparaat

Een gevriesdroogd mengsel in een afgesloten ampul bestaat uit

0,5 mg H-Gly-Gly-L-Phe-L-Met-L-Thr-L-Ser-L-Glu-L-Lys-OH
en

- 20 50 mg mannitol.

Voor injectie wordt 1 ml water aan het mengsel in de ampul toegevoegd.



Conclusies

1. Farmaceutisch preparaat met dopaminerge en de endogene produktie van vasopressine stimulerende werking bestaande uit een peptide met de algemene formule I:

H-R(1)-Gly-L-Phe-R(2)-L-Thr-L-Ser-L-Glu-L-Lys-OH
waarin R(1) Gly of L-Ala voorstelt en
R(2) L-Met, L-Met(O) of L-Met(O₂) voorstelt,
of een functioneel derivaat hiervan,
als het actieve bestanddeel,
en een of meerdere gebruikelijke farmaceutisch acceptabele hulpstoffen.
2. Preparaat volgens conclusie 1 met het kenmerk dat als actief bestanddeel een peptide volgens formule I wordt toegepast, waarin R(1) Gly en R(2) L-Met voorstelt.
3. Peptide met de algemene formule I, beschreven in conclusie 1, of een functioneel derivaat hiervan, voor toepassing als dopaminerge en/of de endogene produktie van vasopressine stimulerende stof.
4. Methode voor de behandeling van patiënten die lijden aan de ziekte van Parkinson gekenmerkt door het toedienen van een peptide volgens conclusie 3 of een functioneel derivaat hiervan.
5. Methode voor het behandelen van patiënten met cognitieve storingen, zoals geheugenverlies, gekenmerkt door het toedienen van een peptide volgens conclusie 3 of een functioneel derivaat hiervan.



6. Methode voor het behandelen van patiënten die een anti-diureticum nodig hebben, gekenmerkt door het toedienen van een peptide volgens conclusie 3 of een functioneel derivaat hiervan.
7. Methode voor het aantonen van vasopressine deficiëntie in patiënten gekenmerkt door het toedienen van een peptide volgens conclusie 3 of een functioneel derivaat hiervan.

BRUSSEL, 10 juni 1983

Bij volmacht van

AKZO N.V.

Bij volmacht van

Bureau GEVERS

naam de vennootschap