

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 913034 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 913034

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07D401/12
C07D235/28

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 20.12.1989

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 20.06.1991

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 20.06.1991

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 13.06.2019

(86) Kansainvälinen hakemus - 20.12.1989 PCT/SE1989/000739
Internationell ansökan - International
application

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

22.12.1988 SE 8804629 16.06.1989 SE 8902170

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Aktiebolaget Hässle, 431 83 Mölndal, Sverige, SVERIGE, (SE)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Brändström, Arne Elof, Sverige, SVERIGE, (SE)

2 • Lindberg, Per Lennart, Sverige, SVERIGE, (SE)

3 • Sunden, Gunnel Elisabeth, Sverige, SVERIGE, (SE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Yhdiste, jolla on vatsahappoa inhiboiva vaikutus, ja menetelmä sen val mistamiseksi

Förening med magsyrainhiberande effekt och förfarande för dess framstä lling

Yhdiste, jolla on vatsahappoa inhiboiva vaikutus, ja menetelmä sen valmistamiseksi

5 Kuvaus

Keksinnön ala

- Esillä olevan keksinnön tarkoituksena on antaa käyttöön
 10 uusi yhdiste ja sen hoitoon sopivat suolat, jotka inhiboivat ulkoisesti tai sisäisesti stimuloitua vatsahapon erityystä, ja sitä voidaan siten käyttää itsesulatushaavauman estämiseen ja hoitoon.
- Esillä olevassa keksinnössä kerrotaan myös keksinnön mukaisen yhdisteen, erityisesti sen hoitoon sopivien suolojen käytöstä, inhiboimaan vatsahapon erityystä imettäväisillä
 15 ihminen mukaanlukien. Yleisemmässä merkityksessä keksinnön mukaista yhdistettä voidaan käyttää estämään ja hoitamaan mahasuolen tulehdussairauksia ja vatsahappoon liittyviä
 20 sairauksia imettäväisillä ihminen mukaanlukien, kuten mahakatarria, mahahaavaa, pohjukaissuolihaavaa, takaisin-
 vuotoruokatorventulehdusta ja Zollinger-Ellisonin syndroomaa. Yhdistettä voidaan lisäksi käyttää muiden mahasuoli-
 25 sairauksien hoitoon, joissa mahaeritystä estävä vaikutus on toivottavaa, esim. potilailla, joilla on gastrinomas ja potilailla, joilla on akuutti ylemmän mahasuolen verenvuoto. Sitä voidaan käyttää myös potilaille tehohoitolanteissa sekä ennen ja jälkeen leikkauksen estämään hapon
 30 henkeenvetämistä ja stressihaavautumista. Keksinnön mukaista yhdistettä voidaan käyttää myös tulehdustilojen hoitoon tai ennaltaehkäisyyn imettäväisillä ihminen mukaanlukien, erityisesti niillä, joilla on lysotsymaalisia entsyymejä. Tilat, jotka voidaan erityisesti mainita, ovat
 35 nivelreuma ja kihti. Yhdiste voi olla myös käyttökelpoinen

luumetaboliahäiriöihin liittyvien sairauksien hoitoon sekä viherkaihin hoitoon.

5 Keksinnössä kerrotaan myös farmaseuttisista koostumuksista, jotka sisältävät keksinnön mukaisen yhdisteen tai sen hoitoon sopivia suoloja aktiivisena aineosana. Edelleen keksinnössä kerrotaan sellaisen uuden yhdisteen valmistusmenetelmistä, uusista välituotteista yhdisteen valmistuksessa sekä aktiivisen yhdisteen käytöstä farmaseuttisten
10 koostumusten valmistamiseksi lääketieteellistä käyttöä varten kuten on yllä osoitettu.

15 Keksinnön erityisenä päätarkoituksena on antaa käyttöön yhdiste, jonka hyötyosuus on suuri. Keksinnön mukainen yhdiste on myös stabiilisuuominaisuuksiltaan hyvä neutraalissa pH:ssa ja tehokas inhiboimaan vatsahapon eritystä. Hyötyosuus määritetään murto-osana tai prosentteina annettua yhdisteannosta, joka absorboituu muuttumattomana verenkiertoon. Tehokkuus määritetään tässä sovelluksessa ED_{50} -arvona.
20

Alalla aiemmin tunnettua ja keksinnön taustaa

25 Bentsimidatsolijohdannaisia, jotka on tarkoitettu estämään vatsahapon erittymistä, kuvataan lukuisissa patenttiasiakirjoissa. Näistä voidaan mainita GB 1 500 043, GB 1 525 958, US 4 182 766, US 4 255 431, US 4 599 347, EP 124 495, US 4 555 518, US 4 727 150, US 4 628 098, EP 208 452 ja Derwent-abstrakti 87-294449/42. Bentsimidatsolijohdannaisia, joita esitetään käytettäväiksi erityisten mahasuolitulehdussairauksien hoidossa, kuvataan US 4 539 465:ssä.

Keksintö

35 Aiemmin alalla kuvatut yhdisteet, kuten on yllä kuvattu, ovat tehokkaita haponerityksen inhibiittoreita ja ovat

siten käyttökelpoisia haavautumisenestoyhdisteinä. Tämän-
 tyyppisten lääkkeiden käyttökelpoisuuden edelleen lisäämi-
 seksi on toivottu suurempaa hyötyosuutta, mutta yhdisteiden
 tulisi silti olla tehokkaita estämään vatsahapon erit-
 5 tymistä ja kemiallisesti hyvin stabiileja neutraalissa
 pH:ssa.

On käsitetty, että testatut 2-[(2-pyridinyylimetyyli)sul-
 finyyli]-1H-bentsimidatsolit ovat hyötyosuudeltaan sekä
 10 tehokkuudeltaan ja stabiilisuudeltaan hyvin vaihtelevia ja
 on vaikea identifioida yhdisteitä, joilla on kaikki nämä
 kolme edullista ominaisuutta. Alalta ei löydy aiempia
 ohjeita, kuinka saada yhdisteitä, joilla olisi tämä ominai-
 suuksien yhdistelmä.

On havaittu, että keksinnön mukaisen yhdisteen hyötyosuus
 on erittäin suuri, ja silti yhdiste on hyvin tehokas vat-
 sahapon erityksen inhibiittori ja on kemiallisesti hyvin
 stabiili liuoksessa neutraalissa pH:ssa. Siten keksinnön
 20 mukaista yhdistettä voidaan käyttää yllä mainittuihin viit-
 tauksiin imettäväisillä ihminen mukaanlukien.

Keksinnön mukainen yhdiste on 4-fluori-2-[[4-metoksi-2-
 pyridinyyli)metyyli]sulfinyyli]-1H-bentsimidatsoli (I
 25 yhdiste) ja sen fysiologisesti sopivat suolat.

Keksinnön mukaisella yhdisteellä on asymmetrinen keskus
 rikkiatomissa, s.o. esiintyy kahtena optisena isomeerina
 (enantiomeereina). Sekä puhtaat enantiomeerit, raseemiset
 30 seokset (50 % kumpaakin enantiomeeria) että näiden kahden
 erilaiset seokset sisältyvät esillä olevaan keksintöön.
 Myöskin kaksi synteettistä välituotetta ja valmistus-
 menetelmä sisältyvät.

Valmistus

Keksinnön mukaista yhdistettä voidaan valmistaa seuraavan menetelmän mukaisesti:

5

Hapettamalla 4-fluori-2-[[(4-metoksi-2-pyridinyyli) metyyli]tio]-1H-bentsimidatsolia (II yhdiste), jolloin saadaan keksinnön mukaista yhdistettä. Tämä hapetus voidaan suorittaa käyttämällä hapettavaa ainetta, kuten typpihappoa, vetyperoksidia (valinnaisesti vanadiumyhdisteiden läsnäollessa), perasideja, perestereitä, otsonia, dinitrotetraoksidia, jodibentseeniä, N-halogeenisukkiini-imidiä, 1-klooribentsotriatsolia, t-butyylhypokloriittia, diatsabisyklo-[2,2,2]-oktaanibromikompleksia, natriummetaperiodaattia, seleenidioksidia, mangaanidioksidia, kromihappoa, serikammoniumnitraattia, bromia, klooria ja rikkikloridia. Hapetus tapahtuu tavallisesti liuottimessa, kuten halogenoiduissa hiilivedyissä, alkoholeissa, eettereissä, ketoneissa.

20

Hapetus voidaan suorittaa myös entsymaattisesti käyttämällä hapetusentsyymia tai mikrobiologisesti käyttämällä sopivaa mikro-organismia.

25

Prosessiolosuhteista ja aloitusmateriaaleista riippuen keksinnön mukaista yhdistettä saadaan joko neutraalissa tai suolamuodossa. Sekä neutraali yhdiste että tämän suolat sisältyvät keksintöön. Siten voidaan saada happamia, neutraaleja tai seossuoloja kuin myös hemi-, mono-, seskvi- tai polyhydraatteja.

30

Keksinnön mukaisen yhdisteen alkaalisuoloista ovat esimerkeinä sen suolat $\text{Li}^+:\text{n}$, $\text{Na}^+:\text{n}$, $\text{K}^+:\text{n}$, $\text{Mg}^{2+}:\text{n}$, $\text{Ca}^{2+}:\text{n}$ ja $\text{N}^+(\text{R}):\text{n}$, jossa R on (1-4 C)alkyyli, kanssa. Erittäin edullisia ovat Na^+ -, Ca^{2+} - ja Mg^{2+} -suolat. Erityisen edullisia ovat Na^+ - ja Mg^{2+} -suolat. Sellaisia suoloja voidaan val-

35

mistaa antamalla yhdisteen reagoida emäksen kanssa, joka kykenee vapauttamaan halutun kationin.

Esimerkkejä emäksistä, jotka kykenevät vapauttamaan sellaisia kationeja, ja esimerkkejä reaktio-olosuhteista on annettu alla.

a) Suoloja, joissa kationi on Li^+ , Na^+ tai K^+ , valmistetaan käsittelemällä keksinnön mukaista yhdistettä LiOH :lla, NaOH :lla tai KOH :lla vesi- tai vedettömässä ympäristössä tai LiOR :lla, LiNH_2 :lla, LiNR_2 :llä, NaOR :llä, NaNH_2 :lla, NaNR_2 :lla, KOR :llä, KNH_2 :lla tai KNR_2 :lla, joissa R on alkyyli-ryhmä, joka sisältää 1-4 hiiliatomia vedettömässä ympäristössä.

b) Suoloja, joissa kationi on Mg^{2+} tai Ca^{2+} , valmistetaan käsittelemällä keksinnön mukaista yhdistettä Mg(OR)_2 :lla, Ca(OR)_2 :lla tai CaH_2 :lla, joissa R on alkyyli-ryhmä, joka sisältää 1-4 hiiliatomia, vedettömässä liuottimessa, kuten alkoholissa (vain alkoholaateille), esim. ROH :ssa tai esterissä, kuten tetrahydrofuraanissa.

Saadut rasemaatit voidaan erottaa puhtaiksi enantiomeereiksi. Tämä voidaan suorittaa tunnetuilla menetelmillä, esim. raseemisista diastereomeerisista suoloista kromatografialla tai jakokiteytyksellä.

Välituote-esimerkeissä kuvattuja aloitusmateriaaleja saadaan sinänsä tunnetuilla menetelmillä.

Kliinistä käyttöä varten keksinnön mukaista yhdistettä formuloidaan farmaseuttisiksi formuloinneiksi suu-, peräsuoli-, ruoansulatuskanavan ulkopuolista tai muuta antomuotoa varten. Farmaseuttinen formulointi sisältää keksinnön mukaisen yhdisteen tavallisesti farmaseuttisesti sopivan kantajan yhdistelmänä. Kantaja voi olla kiinteän,

puolikiinteän tai nestemäisen laimennusaineen muodossa tai kapseli. Nämä farmaseuttiset valmisteet ovat keksinnön lisäobjekti. Tavallisesti aktiivisen yhdisteen määrä on välillä 0,1-95 painoprosenttia valmisteesta, välillä 0,2-20 painoprosenttia ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti käytettävissä valmisteissa ja välillä 1-50 painoprosenttia suun kautta otettavissa valmisteissa.

Farmaseuttisten formulointien, jotka sisältävät esillä olevan keksinnön mukaista yhdistettä annosyksikköjen muodossa annettavaksi suun kautta, valmistuksessa valittu yhdiste voidaan sekoittaa kiinteän, jauhemaisen kantajan, kuten laktoosin, sakkaroosin, sorbitolin, mannitolin, tärkelyksen, amylopektiinin, selluloosajohdannaisten, gelatiinin tai muun sopivan kantajan kanssa, stabilointiaineiden, kuten alkaaliyhdisteiden, esim. natriumin, kaliumin, kalsiumin, magnesiumin karbonaattien, hydroksidien, oksidien ja vastaavien kanssa sekä voiteluaineiden, kuten magnesiumstearaatin, kalsiumstearaatin, natriumstearyylifumaraatin ja polyetyleeniglykolivahojen kanssa. Sitten seos prosessoidaan jyväsiksi tai puristetaan tableteiksi. Jyvät ja tabletit voidaan päällystää suolikalvolla, joka suojaa aktiivista yhdistettä hapon katalysoimalta hajoamiselta niin kauan kuin annos on vatsassa. Suolikalvo valitaan farmaseuttisesti sopivista suolikalvomateriaaleista, esim. mehiläisvahasta, sellakasta tai anionisista kalvoa muodostavista polymeereista, kuten selluloosa-asetaatitfalaatista, hydroksipropyylimetyyliselluloosaftalaatista, osittain metyyliesteröidyistä metakryylihappopolymeereista ja vastaavista, mikäli on edullinen yhdistettynä sopivaan pehmentimeen. Kalvoon voidaan lisätä erilaisia väriaineita erottamaan tableteista tai jyväsistä erilaiset aktiiviset yhdisteet tai erilaiset määrät esillä olevaa aktiivista yhdistettä.

Pehmeitä gelatiinikapseleita voidaan valmistaa kapseleilla, jotka sisältävät keksinnön mukaisen aktiivisen yhdisteen seosta, kasvisöljyä, rasvaa tai muuta pehmeisiin gelatiinikapseleihin sopivaa vehikkeliä. Pehmeät gelatiinikapselit
 5 voivat myös olla päällystetyt suolella kuten on yllä kuvattu. Kovat gelatiinikapselit voivat sisältää aktiivisen yhdisteen jyväsiä tai suolikalvoisia jyväsiä. Kovat gelatiinikapselit voivat sisältää myös aktiivista yhdistettä yhdistettynä kiinteään, jauhemaiseen kantajaan, kuten lak-
 10 toosiin, sakkarosiin, sorbitoliin, mannitoliin, perunatärkkelykseen, amylopektiiniin, selluloosajohdannaisiin tai gelatiiniin. Kovat gelatiinikapselit voivat olla suolikalvoisia kuten on yllä kuvattu.

Annostusyksiköitä annettaviksi peräsuolen kautta voidaan valmistaa peräpuikkojen muotoon, jotka sisältävät aktiivista ainetta sekoitettuna neutraalin emäksisen rasvan kanssa, tai niitä voidaan valmistaa gelatiiniperäsuolikapseleiksi, jotka sisältävät aktiivista ainetta seoksena, jossa on
 20 kasvisöljyä, parafiiniöljyä tai muuta gelatiiniperäsuolikapseleihin sopivaa vehikkeliä, tai niitä voidaan valmistaa valmiin pienoisperäruiskeen muotoon, tai niitä voidaan valmistaa kuivan pienoisperäruiskeformuloinnin muotoon, joka kootaan uudelleen sopivassa liuottimessa juuri ennen
 25 antamista.

Nestemäistä valmistettua annettavaksi suun kautta voidaan valmistaa siirapeiksi tai suspensioiksi, esim. liuoksiksi tai suspensioiksi, jotka sisältävät 0,2-20 painoprosenttia
 30 aktiivista aineosaa, ja loppuosa koostuu sokerista tai sokerialkoholeista ja etanolin, veden, glyserolin, propyleeniglykolin ja/tai polyetyleeniglykolin seoksesta. Haluttaessa sellaiset nestemäiset valmisteet voivat sisältää väriaineita, aromiaineita, sakariinia ja karbok-
 35 simetyyliselluloosaa tai muita paksunnosaineita. Nestemäisiä valmisteita annettaviksi suun kautta voidaan myös

valmistaa kuivan jauheen muotoon, joka järjestetään uudelleen sopivalla liuottimella ennen käyttöä.

Ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annettavia liuoksia voidaan valmistaa keksinnön mukaisen yhdisteen liuoksena farmaseuttisesti sopivassa liuottimessa, edullisesti 0,1-10 painoprosentin konsentraatiolla. Nämä liuokset voivat sisältää myös stabilointiaineita ja/tai puskuroivia aineita, ja niitä voidaan valmistaa erilaisina yksikköannos-ampulleina pieninä lääkepulloina. Liuoksia annettaviksi ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti voidaan myös valmistaa kuivana valmisteena, joka järjestetään uudelleen sopivalla liuottimella hetkessä ennen käyttöä.

Tyypillinen päiväannos aktiivista ainetta riippuu lukuisista tekijöistä, kuten esimerkiksi kunkin potilaan yksilöllisestä tarpeesta, antotavasta ja sairaudesta. Yleensä suun kautta ja ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annettavat annostukset ovat välillä 5-500 mg päivässä aktiivista ainetta.

Keksintöä havainnollistetaan seuraavilla esimerkeillä.

Esimerkki 1. 4-fluori-2-[[(4-metoksi-2-pyridinyyli) metyyli-
sulfinyyli]-1H-bentsimidatsolin valmistus

4-fluori-2-[[(4-metoksi-2-pyridinyyli) metyyli]tio]-1H-bentsimidatsolia (1,31 g, 0,0045 mol) liuotettiin metyleenikloridiin (60 ml). Lisättiin NaHCO₃ (0,76 g, 0,0090 mol) liuotettuna veteen (10 ml), ja seos jäähdytettiin +2 °C:een. 84 prosenttista m-klooriperbetsoehappoa (1,64 g, 0,0045 mol) liuotettuna metyleenikloridiin (10 ml) lisättiin tipottain sekoittaen.

Sekoitusta jatkettiin +2 °C:ssa 15 minuuttia. Erottamisen jälkeen orgaaninen kerros uutettiin 0,20 M NaOH-vesiliuoksella (2 x 25 ml, 0,010 mol). Yhdistetyt vesiliuokset

neutraloitiin pH 7-8:aan 0,1 M HCl:llä metyleenikloridin läsnäollessa (100 ml). Erottamisen jälkeen vesikerros uutettiin metyleenikloridilla ja yhdistetyt orgaaniset liuokset kuivattiin MgSO_4 :llä. Liuos haihdutettiin ja saatiin haluttu yhdiste (1,06 g, 77 %). Lopputuotteen NMR-tiedot on esitetty alla.

Esimerkki 2. 4-fluori-2-[[(4-metoksi-2-pyridinyyli) metyyli-]sulfinyyli]-1H-bentsimidatsolin natriumsuolan valmistus
 4-fluori-2-[[(4-metoksi-2-pyridinyyli) metyyli]sulfinyyli]-1H-bentsimidatsolia (5 g, 16,3 mmol) liuotettuna dikloorimetaaniin (100 ml) ja natriumhydroksidia (0,64 g, 16 mmol) liuotettuna veteen (100 ml) siirrettiin erotussuppilon. Seosta ravisteltiin tasapainotilaan, jonka jälkeen liuotinfaasit erotettiin pois. Vesiliuos pestiin dikloorimetaanilla (2 x 25 ml) ja pakastekuivattiin. Jäännös uudelleenkiteytettiin etyyliasetaatista/dietyylieetteristä. Saanto: 4,7 g (89 %) haluttua yhdistettä. NMR-tiedot on esitetty alla.

Taulukko 1.

Esimerkki	Liuotin	NMR-tiedot	ppm
1	CDCl_3 , (500 MHz)	3.65(s, 3H), 4.55(d, 1H), 4.75(d, 1H), 6.65(d, 1H), 6.75(dd, 1H), 7.05(dd, 1H), 7.25(dt, 1H), 7.3-7.4(b, 1H), 8.35(d, 1H)	
2	D_2O (D_2O , 4.82) (300 MHz)	3.44(s, 3H), 4.63(d, 1H), 4.73(d, 1H), 6.40(s, 1H), 6.79(m, 1H), 6.94(m, 1H), 7.14(m, 1H), 7.48(d, 1H), 8.24(d, 1H)	

Välituotteiden valmistaminen

Esimerkki I 1. 4-fluori-2-merkapto-1H-bentsimidatsolin valmistus

5 1,2-diamino-3-fluoribentseeniä (1,6 g, 12,7 mmol) ja kaliumetyyliksantogenaattia (2,64 g, 16,5 mmol) liuotettiin etanoliin (25 ml) ja veteen (6 ml). Seosta palautusjäähdytettiin 14 tuntia ja konsentroitiin sitten pyöröhaihduttimella. Vettä (20 ml) lisättiin, ja liuos tehtiin happamaksi 10 2 M vetykloorihapolla. Sakka suodatettiin pois ja kuivattiin. Tällä tavalla saatiin haluttu yhdiste (1,23 g, 58 %). NMR on esitetty alla.

15 Esimerkki I 2. 4-fluori-2-[[[(4-metoksi-2-pyridinyyli)metyyli]tio]-1H-bentsimidatsolin valmistus aloitusmateriaalina käytettynä

Liuokseen, jossa oli 4-fluori-2-merkapto-1H-bentsimidatsolia (1,15 g, 0,0068 mol) metanolissa (60 ml) lisättiin NaOH:ta (0,54 g, 0,014 mol) liuotettuna veteen (3 ml) ja 4- 20 metoksi-2-kloorimetyylipyridiinivetykloridia (1,32 g, 0,0068 mol) liuotettuna metanoliin (20 ml) annetussa järjestyksessä. Seosta palautusjäähdytettiin yhden tunnin ajan, jonka jälkeen liuos haihdutettiin. Jäännös erotettiin metyleenikloridin ja veden välille. Erottamisen jälkeen 25 orgaaninen liuos kuivattiin MgSO₄:llä ja haihdutettiin, jolloin saatiin öljy, joka puhdistettiin silikageelillä (50 g) käyttäen eluenttina 1 % metanolia metyleenikloridissa. Tällä tavoin saatiin haluttu yhdiste (1,35 g, 69 %). Tuotteen NMR-tiedot on esitetty alla.

30

35

Taulukko 2.

	Esimerkki	Liuotin	NMR-tiedot	ppm (500 MHz)
--	-----------	---------	------------	---------------

5	1	DMSO	6.95(d, 1H), 7.00(dd, 1H), 7.10(dt, 1H)	
10	2	CDCl ₃	3.90(s, 3H), 4.30(s, 2H), 6.85(dd, 1H), 6.90(d, 1H), 6.90(dd, 1H), 7.10(dt, 1H), 7.2-7.4(b, 1H), 8.50(d, 1H)	

Paras tapa toteuttaa esillä oleva keksintö on käyttää I
kaavan mukaista yhdisteen natriumsuolaa, siten yhdiste on
15 kuin on kuvattu esimerkissä 2.

Farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät keksinnön
mukaista yhdistettä, kuvataan seuraavissa formuloinneissa.

20 Siirappi

Siirappia, joka sisältää 1 % (paino suhteessa tilavuuteen)
aktiivista ainetta, valmistettiin seuraavista aineksista:

25	Esimerkin 1 mukaista yhdistettä	1,0 g
	Sokeria, jauhe	30,0 g
	Sakariinia	0,6 g
	Glyserolia	5,0 g
	Aromiainetta	0,05 g
30	Etanolia 96 %	5,0 g
	Tislattua vettä lopulliseen tilavuuteen	100 ml

Sokeri ja sakariini liuotettiin 60 g:aan lämmintä vettä.
Jäähdyttämisen jälkeen aktiivinen yhdiste lisättiin sokeri-
35 liuokseen ja glyseroli sekä etanoliin liuotettu aromiaine-

liuos lisättiin. Seos laimennettiin vedellä lopulliseen tilavuuteen 100 ml:ksi.

Suolikalvoiset tabletit

5

Suolikalvoinen tabletti, joka sisältää 50 mg aktiivista yhdistettä, valmistettiin seuraavista aineksista:

I Esimerkin 1 mukainen yhdiste

10	Mg-suolana	500 g
	Laktoosia	700 g
	Mettyyliselluloosaa	6 g
	Ristiinsilloitettua polyvinyyli-pyrrolidiinia	50 g
15	Magnesiumstearaattia	15 g
	Natriumkarbonaattia	6 g
	Tislattua vettä	q.s.

	II Selluloosa-asetaatitfalaattia	200 g
20	Setyylialkoholia	15 g
	Isopropanolia	2 000 g
	Metyleenikloridia	2 000 g

I Esimerkin 1 mukaista yhdistettä, jauhetta, sekoitettiin laktoosin kanssa ja rouhittiin mettyyliselluloosan ja natriumkarbonaatin vesiliuoksen kanssa. Märkä massa pakotettiin seulan lävitse, ja granulaatti kuivattiin uunissa. Kuivaamisen jälkeen granulaatti sekoitettiin polyvinyyli-pyrrolidonin ja magnesiumstearaatin kanssa. Kuiva seos puristettiin tablettien ytimiksi (10 000 tablettia) tablettikoneessa, jossa käytettiin halkaisijaltaan 7 mm:n lävistimiä jokaisen tabletin sisältäessä 50 mg aktiivista ainetta.

35 II Selluloosa-asetaatin ja setyylialkoholin liuos isopropanoli/metyleenikloridissa ruiskutettiin tableteiksi I

Accela Cota[®], Manesty -pinnoituslaitteessa. Lopulliseksi tabletin painoksi saatiin 110 mg.

Laskimonsisäisesti annettava liuos

5

Ruoansulatuskanavan ulkopuolinen formulointi, joka sisältää 4 mg aktiivista yhdistettä ml:ssa, laskimonsisäistä käyttöä varten valmistettiin seuraavista aineksista:

10	Esimerkin 2 mukaista yhdistettä	4 mg
	Steriiliä vettä lopputilavuuteen	1 000 ml

Aktiivista yhdistettä liuotettiin veteen lopputilavuuteen 1 000 ml. Liuos suodatettiin 0,22 µm suodattimen läpi ja jaettiin välittömästi steriileiksi 10 ml:n ampulleiksi. Ampullit suljettiin.

15

Kapselit

20 Kapseleita, jotka sisältävät 30 mg aktiivista yhdistettä, valmistettiin seuraavista aineksista:

	Esimerkin 1 mukaista yhdistettä	300 g
	Laktoosia	700 g
25	Mikrokiteistä selluloosaa	40 g
	Vähänsubstituotua hydroksipropyyliselluloosaa	62 g
	Dinatriumvetyfosfaattia	2 g
	Puhdistettua vettä	q.s.

30

Aktiivinen yhdiste sekoitettiin kuivien aineksien kanssa ja rouhittiin dinatriumvetyfosfaattiliuoksen kanssa. Märkä massa pakotettiin ekstruuderin läpi ja muovattiin palloiksi sekä kuivattiin leijupetikuivaajassa.

35

500 g yllämainituista pelleteistä päällystettiin ensin hydroksipropyylimetyyliselluloosaliuoksella, 30 g vedessä, 750 g, käyttäen leijupetipinnoittajaa. Kuivaamisen jälkeen pelletit päällystettiin toisella pinnoitteella alla esitetyllä tavalla:

Pinnoitusliuos:

	Hydroksipropyylimetyyliselluloosaftalaattia	70 g
10	Setyylialkoholia	4 g
	Asetonia	200 g
	Etanolia	600 g

Lopulliset pinnoitetut pelletit täytettiin kapseleiksi.

Peräpuikot

Peräpuikkoja valmistettiin seuraavista aineksista käyttäen sulatusmenetelmää. Kukin peräpuikko sisälsi 40 mg aktiivista yhdistettä.

	Esimerkin 1 mukaista yhdistettä	4 g
	Witepsol H-15:a	180 g

Aktiivinen yhdiste sekoitettiin homogeenisesti Witepsol H-15:n kanssa 41 °C:n lämpötilassa. Sulanut massa täytettiin tilavuuden mukaan ennalta koottuihin, nettopainoltaan 1,84 g:n peräpuikkopakkausiksi. Jäähdyttämisen jälkeen pakkaukset lämpösuljettiin. Kukin peräpuikko sisälsi 40 mg aktiivista yhdistettä.

Biologiset vaikutukset

Hyötyosuus

5 Lajien valinta kokeita varten

Kahdella eri eläinlajilla, rotalla ja koiralla, tehtyjen kokeiden tulokset eroavat samalla yhdisteellä mitatun hyötyosuustason suhteen. Me uskomme, että rotta on merkityksellisempi laji hyötyosuuden testaamiseen. Tämä perustuu uskoomme, että maksan metaboliolla on mitä ylivoimaisiin vaikutus hyötyosuuteen, ja että maksan metaboliamalla ihmisellä tämän tyyppisillä yhdisteillä on aivan samanlainen kun urosrotalla (enemmän kuin naarasrotalla ja koiralla).
10 Sitäpaitsi hyötyosuuskoetulokset urosrotalla pyrkivät olemaan laajuudeltaan leveämpiä verrattuna koetuloksiin koiralla, ja siten malli urosrotalla antaa selvempiä eroja hyötyosuudessa eri yhdisteiden välillä. Toisella tavalla todettuna urosrotalla testatun hyötyosuuden voidaan olettaa
15 antavan paremman arvion suhteellisista eroista ihmisessä eri koeyhdisteiden välillä verrattuna koetuloksiin, jotka saadaan käytettäessä samoja yhdisteitä koiraan.

Hyötyosuuden arviointi

25

Hyötyosuus määritetään laskemalla pohjukaissuolensisäisestä (id) antamisesta ja laskimonsisäisestä (iv) antamisesta seuraavien plasman konsentraatiokäyrien (AUC) alojen osamäärä rotasta tai koirasta. Käytettiin alhaisia, terapeuttisesti merkityksellisiä annoksia. Tämä menetelmä on tunnistettu tieteellisesti päteväksi hyötyosuuden määrittämiseksi (katso esim. M. Rowland ja T.N. Tozer, Clinical Pharmacokinetics, 2. painos, Lea & Febiger, London 1989, s. 42.). Sekä rotan että koiran tiedot on esitetty taulukossa
30
35 3.

Karkea valintamenetelmä

Koska yllä kuvattu hyötyosuusmalli vaatii paljon aikaa ja työvoimaa sekä suuren määrän plasma-analyysejä, on käytetty myös karkeata valintamenetelmää, joka perustuu suhteelliseen potenssiin inhiboida haponeritystä (katso esimerkiksi A. Goth, Medical Pharmacology, 7. painos, C.V. Mosby Company, Saint Louis 1974, s. 19). Siten laskettiin ED_{50} -arvojen suhde (kutsutaan 'hyötyosuudeksi' taulukossa 3) annettaessa laskimonsisäisesti ja pohjukaissuolen-sisäisesti. Myös nämä tiedot on esitetty taulukossa 3.

Potenssi

Potenssi inhiboida haponeritystä on mitattu urosrotalla ja -koiralla sekä laskimonsisäisesti että pohjukaissuolen-sisäisesti. Kun eläinkokeiden tiedot tietyn yhdisteen potenssista ihmisessä esillä olevan tyyppisillä yhdisteillä tulevat merkityksellisiksi, uskotaan, että potenssi ihmisessä vastaa tasoa jossain välillä, joka on mitattu urosrotalla ja koiralla. Kahden eläinlajin potenssitiedot on esitetty taulukossa 3.

Biologiset kokeet

Vatsahapon erityksen inhibitio tajuissaan olevalla urosrotalla.

Käytettiin Sprague-Dawley-suvun urosrottia. Ne varustettiin kanyyliavanteella vatsassa (aukko) ja pohjukaissuolen ylemmässä osassa vatsaeritteiden keräämiseksi ja koeaineiden antamiseksi, kummankin erikseen. Kirurgian jälkeen sallittiin 14 päivän palautumisaika, ennen kuin kokeet aloitettiin.

Ennen erityystestejä eläimet jätettiin ilman ruokaa mutta ei vettä 20 tunnin ajaksi. Vatsaa pestiin toistuvasti vatsakanyylin kautta, ja annettiin 6 ml Ringer-glukoosia s.c. Haponeritystä stimuloitiin pentagastriinin (1,2 ml/h) ja karbakolin (20 ja 110 nmol/kg h, kumpikin erikseen) infuusiolla 3,5 tunnin ajan, jonka aikana kerättiin vatsaeritteitä 30 minuutin fraktioihin. Koeaineet tai vehikkeli annettiin iv tai id 90 minuutissa stimuloinnin aloittamisen jälkeen tilavuutena 1 ml/kg. Mahanestenäytteet titrattiin pH 7:ään NaOH:lla, 0,1 mol/l, ja haponkulutus laskettiin titratun tilavuuden ja konsentraation tuloksena. Lisälaskut perustuivat keskimääräisiin ryhmävasteisiin 4-5 rotasta. Hapontuotto ajan kuluessa koeaineiden tai vehikkelin antamisen jälkeen ilmaistiin fraktioiden vasteina säätämällä 30 minuutin aikaa edeltäneen antamisen hapontuotto 1,0:ksi. Prosenttinen inhibitio laskettiin koeyhdisteen ja vehikkelin esille tuomista fraktiovasteista. ED_{50} -arvot saatiin graafisella interpoloinnilla log-annosvasteikäyristä tai arvioitiin yksittäisannoskokeista edellyttäen kaikkien annosvasteikäyrien kaltevuuden samanlaiseksi. Hyötyosuusarvionti saatiin arvioimalla suhde $ED_{50}iv/ED_{50}id$. Raportoidut tulokset perustuvat vatsahapon erityykseen toisen tunnin kuluessa lääkkeen/vehikkelin antamisen jälkeen.

Hyötyosuus urosrotalla

Käytettiin Sprague-Dawley-suvun täysikasvuisia urosrottia. Eräänä päivänä ennen kokeita kaikki rotat kanavoitiin vasemmasta kaulavaltimosta nukutuksessa. Rotat, joita käytettiin laskimonsisäisissä kokeissa, kanavoitiin myös kaulasuonesta. (Viite V Popovic ja P Popovic, J Appl Physiol 1960, 15:727-728). Pohjukaissuolensisäisiin kokeisiin käytetyt rotat kanavoitiin myös pohjukaissuolen ylemmästä osasta. Kanyylit tulivat ulos niskasta. Rotat sijoitettiin kirurgian jälkeen jokainen erikseen ja jätettiin ilman ruokaa muttei vettä ennen koeaineiden antamista. Sama

annos (4 $\mu\text{mol/kg}$) annettiin iv ja id isona pillerinä noin minuutissa (2 ml/kg).

Verinäytteitä (0,1-0,4 g) vedettiin toistuvasti kaulaval-
timosta aina 4 tunnin väliajoihin saakka annoksen antamisen
jälkeen. Näytteet jäädytettiin niin pian kuin mahdollista
ennen koeyhdisteen analyysiä.

Verikonsentraation ajan suhteen muodostama ala AUC määri-
tettiin lineaarisella puolisuunnikassäännöllä ja ekstrapo-
loitiin äärettömyyteen jakamalla viimeinen määritetty veri-
konsentraatio viimeisen vaiheen eliminaationopeusvakiolla.

Pohjukaissuolen sisäisestä annosta seuraava systeeminen
hyötyosuus (F %) laskettiin seuraavasti

$$F (\%) = \frac{\text{AUC}_{\text{id}}}{\text{AUC}_{\text{iv}}} \times 100$$

Vatsahapon erityksen inhibitio ja hyötyosuus tajuissaan
olevassa koirassa

Käytettiin kumpaakin sukupuolta olevia Harrier-koiria. Ne
varustettiin pohjukaissuolensisäisellä fistelillä koeyhdis-
teiden tai vehikkelin antamista varten ja kanavoidulla
kammiofistelillä mahaeritteiden keräämiseksi.

Ennen erityskokeita eläimet paastosivat noin 18 tuntia,
mutta vettä sai vapaasti. Vatsahapon eritystä stimuloitiin
4 tuntia histamiinidivetykloridin infuusiolla (12 ml/h)
annoksella, joka aikaansaa noin 80 % yksilöllisestä mak-
simaalisesta eritysvasteesta, ja mahanestettä kerättiin
peräkkäisiä 30 minuutin fraktioita. Koeaine tai vehikkeli
annettiin id tai iv 1 tunnin kuluttua histamiini-infusion

aloittamisen jälkeen tilavuudella 0,5 ml/ruumiinpaino-kg. Mahanestenäytteiden happamuus määritettiin titraamalla pH 7,0:aan, ja hapontuotto arvioitiin. Hapontuotto koeaineen tai vehikkelin antamisen jälkeisenä keräysaikana ilmaistiin fraktionaalisenä vasteena asettaen hapontuotto fraktiossa ennen antamista 1,0:aan. Prosenttinen inhibitio laskettiin koeyhdisteellä ja vehikkelillä esiintulevista fraktionaalisisista vasteista. ED_{50} -arvot saatiin graafisella interpoloinnilla log-annos/vastekäyrästä tai arvioitiin yksittäisannoskokeista olettaen annos-vaste-käyrän kaltevuuden olevan sama kaikilla koeyhdisteillä. Kaikki raportoidut tulokset perustuvat hapontuottoon 2 tunnin kuluttua annostuksesta.

Verinäytteitä koeyhdisteen konsentraation analysoimiseksi plasmassa otettiin väliajoin aina 3 tuntiin saakka annostuksen jälkeen. Plasma erotettiin ja jäädytettiin 30 minuutin kuluessa keräämisen jälkeen. AUC (plasmakonsentraatio-aika-käyrän alapuolinen ala), joka ekstrapoloitiin äärettömyyteen ajan suhteen, laskettiin lineaarisella puoli-suunnikassäännöllä. Systemisen hyötyosuuden (F %) id:n antamisen jälkeen arvioitiin olevan $100 \times (AUC_{id}/AUC_{iv})$.

Kemiallinen stabiilisuus

Keksinnön mukaisten erilaisten yhdisteiden kemiallista stabiilisuutta on seurattu kineettisesti alhaisessa konsentraatiossa 37 °C:ssa puskurin vesiliuoksessa erilaisilla pH-arvoilla. Tulokset taulukossa 3 osoittavat puoliintumisajan ($t_{1/2}$) pH:ssa 7, t.s. aikajakson, jonka jälkeen puolet alkuperäisyhdisteen määrästä pysyy muuttumattomana.

Biologisten ja stabiilisuuskokeiden tulokset

Taulukossa 3 esitetään tiivistettynä saatavilla olevat koetiedot keksinnön mukaiselle yhdisteelle ja rakenteel-

lisesti läheiselle, alalla ennen tunnetulle yhdisteelle, nimeltään viite taulukossa 3, nimittäin 5-fluori-2-[[(4-isopropoksi-2-pyridinyyli) metyyli] sulfinyyli]-1H-bentsimidatsolille, jota on kuvattu US 4 727 150:ssä. Kuten taulukosta 3 voidaan nähdä, keksinnön mukaisella yhdisteellä on korkea hyötyosuus ($F=96\%$ rotalla), korkea potenssi (ED_{50} iv= $0,96\text{ umol/kg}$, ED_{50} id= $2,4\text{ umol/kg}$ rotalla) ja korkea kemiallinen stabiilisuus ($t_{1/2}=23\text{ h}$). Sitäpaitsi tarkasteltaessa keksinnön mukaisen yhdisteen tunnusomaisinta ominaisuutta, hyötyosuutta, keksinnön mukaisella yhdisteellä on paljon korkeampi arvo (96% vs. 31%) verrattuna viiteyhdisteeseen, ja se on muiltakin ominaisuuksiltaan parempi ($ED_{50}=1,8\text{ umol/kg}$, $ED_{50}=4,0\text{ umol/kg}$ ja $t_{1/2}=14\text{ tuntia}$ viiteyhdisteellä).

Taulukko 3.

Biologisten kokeiden tiedot ja stabiilisuustiedot

5	Koeyh- diste	Vatsahapon erityksen inhibitio				Hyöty- osuus mitat- tuna karke- alla	Hyötyosuus mitattuna AUC-mene- telmällä	Kemial- linen stabiil- isuus pH 7:ssä
10	Esi- merkki no.	Koira ED ₅₀ (umol/kg)	Rotta ED ₅₀ (umol/kg)			valintame- netelmällä Rotta ED ₅₀ iv/ ED ₅₀ id (%)		Puoliin- tumis- aika (t 1/2) h
15		iv	id	iv	id		F % Koira Rotta	
	1	0.80	0.9	0.96	2.4	40	95	96
	Viite	e.k.	1)	1.8	4.0	45	e.k.	31
20								14

e.k. = ei koetta

1) Koira 1 3 umol/kg aikaansai 95 % inhibition
 25 Koira 2 3 umol/kg aikaansai 98 % inhibition
 Siten ED₅₀ -arvoa ei voida arvioida

30

35

Patenttivaatimukset

1. 4-fluori-2-[[(4-metoksi-2-pyridinyyli) metyyli] sulfi-
nyyli]-1H-bentsimidatsoli (yhdiste I) ja sen fysiologisesti
hyväksyttävät suolat sekä sen optiset enantiomeerit.

5

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** sii-
tä, että se on sen natriumsuolan muodossa.

10

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, **tunnettu** sii-
tä, että se on sen magnesiumsuolan muodossa.

15

4. Farmaseuttinen koostumus, **tunnettu** siitä, että se si-
sältää aktiivisena aineosana patenttivaatimuksen 1 mukaista
yhdistettä.

5. Menetelmä patenttivaatimuksen 1 mukaisen yhdisteen
valmistamiseksi, **tunnettu** siitä, että 4-fluori-2-[[(4-me-
toksi-2-pyridinyyli) metyyli] tio]-1H-bentsimidatsolia hape-
tetaan, minkä jälkeen näin saatu yhdiste I haluttaessa muu-
tetaan fysiologisesti hyväksyttäväksi suolaksi tai puhtaak-
si optiseksi isomeeriksi.

20

6. 4-fluori-2-[[(4-metoksi-2-pyridinyyli) metyyli] tio]-
1H-bentsimidatsoli.

25

Patentkrav

1. 4-fluor-2-[[(4-metoxi-2-pyridinyl) metyl] sulfinyl]-1H-
bensimidazol (förening I) och fysiologiskt acceptabla sal-
ter därav samt dess optiska enantiomerer.

30

2. Förening enligt patentkrav 1, **kännetecknad** av att den
är i form av dess natriumsalt.

35

3. Förening enligt patentkrav 1, **kännetecknad** av att den
är i form av dess magnesiumsalt.

4. Farmaceutisk komposition, **kännetecknad** av att den innehåller som aktiv ingrediens en förening enligt patentkrav 1.

5 5. Förfarande för framställning av en förening enligt patentkrav 1, **kännetecknat** av att att 4-fluor-2-[[(4-metoxi-2-pyridinyl)metyl]tio]-1H-bensimidazol oxideras, varefter den sålunda erhållna föreningen I, om så önskas, överförs till ett fysiologiskt acceptabelt salt eller till en
10 ren optisk isomer.

6. 4-fluor-2-[[(4-metoxi-2-pyridinyl)metyl]tio]-1H-bensimidazol.