

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 21 janvier 1987.

③0 Priorité : HU, 21 janvier 1986, n° 268/86.

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOPI « Brevets » n° 43 du 23 octobre 1987.

⑥0 Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :

⑦1 Demandeur(s) : Société dite : EGIS GYOGYSZERGYAR,
société régie par les lois en vigueur en Hongrie. — HU.

⑦2 Inventeur(s) : Péter Tömpe, István Krasznai, Lujza Pe-
tőcz, Katalin Szemerédi et Mária Hegedűs.

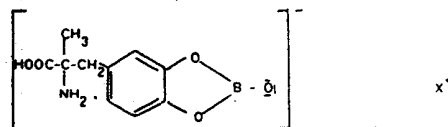
⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : Cabinet Orès.

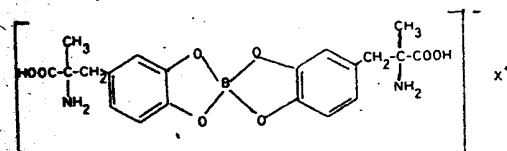
⑤4 Solution pharmaceutique contenant de chélates de L-3,4-dihydroxyphényl-alpha-méthylalanine et procédé pour la
préparation de celle-ci.

⑤7 La présente invention est relative à une solution pharma-
ceutique contenant des chélates de L-3,4-dihydroxyphényl-al-
pha-méthylalanine.

Cette solution pharmaceutique contient un composé de for-
mule I



et/ou un composé de formule II



dans lesquelles X⁺ est l'ion hydrogène ou un cation organique
ou inorganique, dans de l'eau, et ayant un pH de 7 à 8,5.

La présente invention est relative à des solutions pharmaceutiques comprenant des chélates de L-3,4-dihydroxyphényl-alpha-méthylalanine (alpha-méthyl-DOPA) comme agent actif, et à un procédé pour les préparer. Les solutions pharmaceutiques de l'invention conviennent particulièrement pour l'administration par injection ou par voie orale.

L'alpha-méthyl-DOPA est un important agent anti-hypertenseur (brevet US N° 3 344 023), qui est largement utilisé dans le traitement de l'hypertension. En général, l'alpha-méthyl-DOPA est administrée sous forme de comprimés, mais dans certains cas on aurait besoin de solutions pharmaceutiques pouvant être administrées par voie orale, ou injectées par voie intraveineuse ou par perfusion.

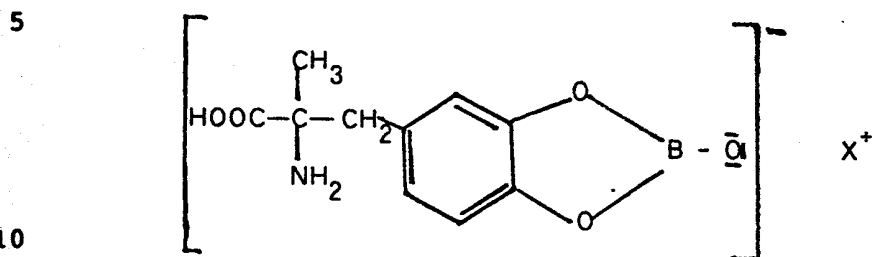
Le brevet US N° 3 526 698 décrit une suspension aqueuse stable d'alpha-méthyl-DOPA. Cette suspension ne peut pas être injectée par voie intraveineuse à des malades et l'absorption est défavorable en cas d'administration orale.

Le brevet US N° 3 230 153 décrit une solution comprenant le chlorhydrate de l'ester éthylique d'alpha-méthyl-DOPA comme agent actif. Cet agent est hydrolysé à la suite de l'administration dans l'organisme traité, et donne ainsi l'alpha-méthyl-DOPA. Cette solution connue peut être administrée par voie intraveineuse, mais il faut une forte dilution.

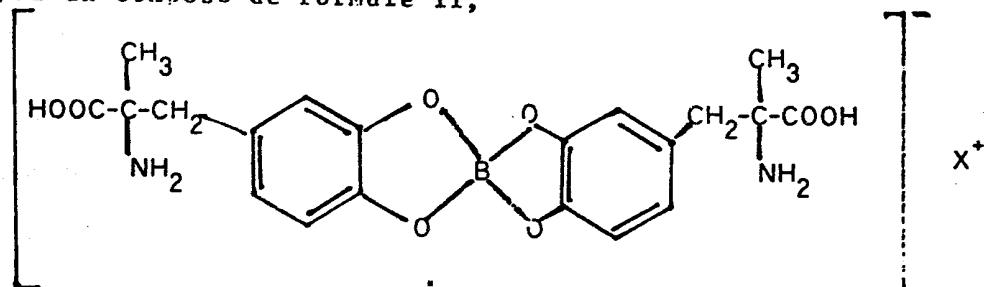
Le brevet hongrois N° 189 796 décrit une solution aqueuse d'alpha-méthyl-DOPA qui peut être administrée à la fois par voie orale et par voie intraveineuse. Cette solution connue comprend 1 à 5 % d'alpha-méthyl-DOPA, 17 à 75 % d'un agent solubilisant, 20 à 80 % d'eau et 0,1 à 10 % d'additifs et elle a un pH de 3 à 5. La polyvinylpyrrolidone ou le glycérol est utilisé comme agent solubilisant.

Cependant, le pH relativement faible de la composition connue n'est pas favorable pour l'injection intraveineuse. Ainsi, l'invention a pour objet de fournir des solutions pratiquement neutres d'alpha-méthyl-DOPA.

On a maintenant trouvé que l'on peut atteindre l'objet ci-dessus grâce à une solution pharmaceutique comprenant un composé de formule (I)



et/ou un composé de formule II,



20

dans lesquelles X^+ est un ion hydrogène ou un cation organique ou inorganique, dans de l'eau, et ayant un pH de 7 à 8,5.

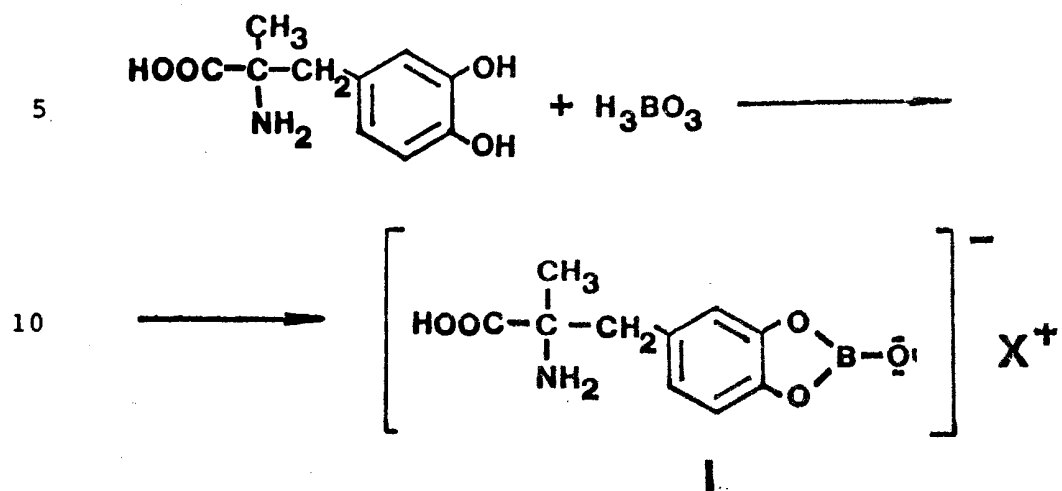
L'invention repose sur la constatation selon laquelle
25 l'alpha-méthyl-DOPA réagit avec l'acide borique pour donner
des composés complexes ayant une forte solubilité dans l'eau.

La formation des chélates de formules (I) et (II) est illustrée par les schémas réactionnels A et B, respectivement :

30

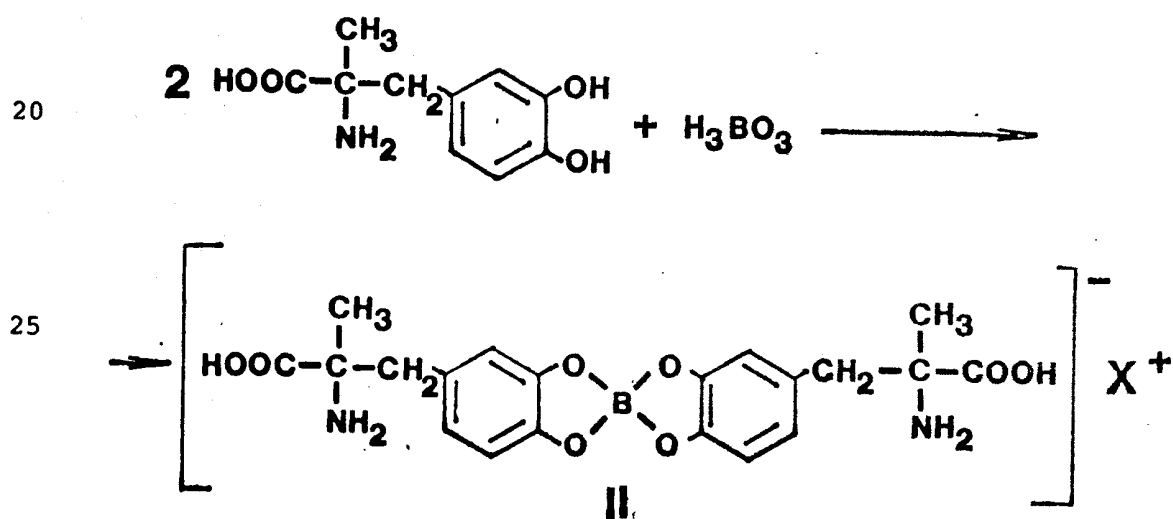
35

Schéma de réaction A.



15

Schéma de réaction B



30

Le composé de formule (I) est formé en présence d'une quantité équimolaire d'acide borique. Avec une quantité inférieure d'acide borique, on obtient le composé de formule (II) ou un mélange des deux chélates.

35

La Demanderesse a constaté que les composés de formules (I) et (II), où X^+ est un ion hydrogène, sont des acides modérément forts, dont les sels peuvent être séparés, ce qui n'est en général pas nécessaire dans l'invention, et
5 ils sont facilement solubles dans l'eau. Dans une solution aqueuse, il y a bien sûr, un équilibre entre les chélates, l'acide borique et l'alpha-méthyl-DOPA, chacun des composés pouvant donc exister en même temps.

Dans les solutions pharmaceutiques conformes à la
10 présente invention, la quantité totale des composés de formules (I) et (II) représente environ 1,2 à 24 %.

Le pH de la solution pharmaceutique de l'invention est de préférence de 7,2 à 7,6.

La solution pharmaceutique de l'invention peut être
15 injectée par voie intraveineuse ou administrée par perfusion sous une forme stérile. Elle peut aussi être donnée par voie orale.

La solution pharmaceutique de l'invention est préparée par mélange d'une solution aqueuse de 0,2 à 6,0 % en poids
20 d'acide borique, de 1 à 20 % en poids d'alpha-méthyl-DOPA et de 0,01 à 2 % en poids d'additif(s), ajustement du pH à 7-8,5 par addition d'une base, addition éventuelle d'autre(s) solvant(s) jusqu'à obtention d'une quantité de 72 à 98,79 % en poids de solvant et transformation de la solution obtenue
25 en une composition pharmaceutique liquide, de préférence une solution pouvant être injectée par voie intraveineuse ou administrée par perfusion ou par voie orale.

La base utilisée pour ajuster le pH peut être une base inorganique ou organique. On préfère employer une base
30 fortement soluble dans l'eau et acceptable du point de vue physiologique, comme l'hydroxyde de sodium ou l'hydroxyde de potassium.

Le ou les additifs peuvent être par exemple, des antioxydants comme le sulfite de sodium, le sulfite acide de
35 sodium, le pyrosulfite de sodium, etc... des agents anti-

bactériens comme le p-hydroxybenzoate de méthyle, le p-hydroxybenzoate d'éthyle, etc... des sels inorganiques comme le chlorure de sodium, etc...

Les solvants peuvent être l'eau, une solution saline physiologique ou un ou des solvants organiques acceptables du point de vue physiologique miscibles à l'eau. On peut utiliser un ou plusieurs solvants.

Dans le cas d'une solution injectable par voie intraveineuse, le solvant est de préférence l'eau ou une solution saline physiologique et le pH de la solution est ajusté entre 7,0 et 7,6.

Dans le cas d'une solution pour un traitement oral, le solvant est en général de l'eau et/ou de l'éthanol et/ou du glycérol ou un quelconque solvant organique non-toxique miscible à l'eau. On peut aussi utiliser une solution aqueuse de sorbitol comme solvant ou partie de celui-ci, pour améliorer le goût de la composition, dont le pH est ajusté à une valeur de 7 à 8,5. Comme le pH d'une solution à administrer par voie orale n'est pas aussi critique que celui d'une solution à injecter par voie intraveineuse, un pH de 8 à 8,5 est également acceptable.

Lorsqu'on prépare la solution pharmaceutique de la présente invention, on peut aussi ajouter le ou les additifs après avoir ajusté le pH. Si l'on introduit un ou plusieurs solvants supplémentaires, on peut vérifier le pH et éventuellement l'ajuster à nouveau.

Dans le cas de l'administration intraveineuse, la solution ayant un pH de 7,0 à 7,6 est stérilisée de façon connue, par exemple au moyen d'un filtre à micropores et/ou d'une stérilisation thermique. La solution stérile est conservée dans des récipients fermés hermétiquement, par exemple des ampoules, jusqu'au moment de l'utilisation.

La toxicité aigue de la solution injectable préparée selon la méthode décrite dans l'Exemple 2 a été déterminée sur des souris blanches (CFLP) pesant 18 à 22 g. Chaque dose

a été administrée par voie intraveineuse à un groupe comprenant 5 mâles et 5 femelles. Après traitement, les animaux ont été observés pendant 14 jours, tandis qu'ils étaient nourris avec une nourriture habituelle pour des souris, avec de l'eau à volonté. Une solution d'alpha-méthyl-DOPA à 1 % préparée avec une solution saline physiologique, a été utilisée comme référence. (Il faut remarquer que, bien qu'une solution aqueuse à 1 % puisse être préparée à partir d'alpha-méthyl-DOPA cristalline, la solution obtenue n'est pas stable et se décompose en 1 à 2 heures. Cependant, la solution fraîche peut être testée). Les valeurs de DL₅₀ obtenues sont données dans le Tableau I.

TABLEAU I
Toxicité aigue chez la souris

Solution testée	Dose en mg/kg	Nombre de souris mortes		Souris testées Total	Mort en %	DL ₅₀ en mg/kg
		Mâles	Femelles			
Solution à 3,8 % d'alpha-méthyl-DOPA de l'Exemple 2	380	0/5	0/5	0/10	0	
	760	0/5	0/5	0/10	0	
	1000	0/5	0/5	0/10	0	
	1240	0/5	0/5	0/10	0	
	1520	0/5	0/5	0/10	0	plus de 1520
=====						
1 % d'alpha-méthyl-DOPA dans une solution saline physiologique	1240	0/5	0/5	0/10	0	
	1520	0/5	0/5	0/10	0	plus de 1520

On constate d'après les données du Tableau I, que la toxicité de la composition de la présente invention est identique à celle de la solution d'alpha-méthyl-DOPA fraîchement préparée. La toxicité observée correspond à celle qui est fournie dans la littérature (1700 mg/kg).

L'activité antihypertensive de la solution injectable de l'Exemple 2 a été déterminée sur des rats Wistar anesthésiés, pesant 200 à 250 g. La pression sanguine artérielle a été mesurée par l'intermédiaire d'une canule de polyéthylène fixée à la carotide, au moyen d'un manomètre électrique. La solution d'essai a été donnée à une dose de 20 mg/kg par une canule placée dans la veine jugulaire externe et la pression sanguine a été déterminée juste avant, puis 5, 15, 30 et 60 minutes après le traitement. La diminution de la pression sanguine a été également déterminée avec la solution fraîche d'alpha-méthyl-DOPA à 1%. Les valeurs de la pression sanguine, le changement de pression sanguine par rapport à celle qui est mesurée avant le traitement, ainsi que les pH caractérisant le taux de signification, sont fournis dans le Tableau II. La moyenne calculée des valeurs de pression sanguine ainsi mesurées et des changements de pression sont donnés également avec l'écart type.

TABLEAU II

Activité antihypertensive chez les rats

20

	Mesure effectuée juste avant le traitement (0 min.)	Mesure effectuée 5 15 30 60 minutes après le traitement iv.			
Solution à 3,8% de l'Exemple 2					
Pression sanguine en mm de Hg	131,3±2,0	122,0±3,1	117,0±5,0	111,0±4,6	107,0±4,9
Changement de la pression sangui- ne en mm de Hg	-	-9,3±1,9	14,3±3,1	-19,7±3,2	-24,3±2,96
p	-	0,05	0,05	0,05	0,05
1% d'alpha-méthyl- DOPA dans une solu- tion saline physiologique					
Pression sanguine en mm de Hg	117,0±11,1	112,0±6,5	114,3±3,1	112,0±3,8	100,7±5,7
Changement de la pression sangui- ne en mm de Hg	-	-5,0±13,0	-2,7±10,1	-5,0±10,3	-16,3±12,7

On constate d'après les données du Tableau II, que la solution de l'invention a pu réduire notablement la pression sanguine des rats anesthésiés déjà 5 minutes après le traitement et que cet effet était stabilisé au cours de la période de 60 minutes du test. La diminution de la pression sanguine était significative du point de vue statistique. On a pu noter qu'on a observé une plus forte réduction de pression sanguine en une durée plus brève en utilisant la solution de l'invention plutôt que la solution de référence. La même chute de pression sanguine est obtenue avec une dose orale de 250 mg/kg d'alpha-méthyl-DOPA, c'est-à-dire 12,5 fois la dose intraveineuse testée.

L'activité du récepteur adrénergique avec la solution de l'Exemple 2 et avec la solution de référence ci-dessus, a été évaluée sur des canaux déférents isolés de rats, au moyen d'une stimulation électrique.

On a isolé le canal déférent de rats 140 à 180 g selon la procédure de Henderson et col. [Br. J. Pharm., 46, 764 - 766 (1972)] et de Hart et coll. [Br. J. Pharm., 66, 361 - 363 (1979)]. On a utilisé une solution de Krebs à 37°C comme bain pour l'organe. L'enregistrement isométrique a été employé à une charge préalable de 0,5 g. On a suspendu l'organe dans un récipient de 4 ml et on l'a stimulé en continu selon la méthode de Benett et Stockley [Br. J. Pharm. 50, 453 (1974)] avec des impulsions électriques ayant les caractéristiques suivantes : tension : 50 V; fréquence : 0,1 Hz, durée : 1 ms. Lorsque la croissance des contractions dues à la stimulation électrique n'a plus changé, on a tracé une courbe de l'activité par rapport à la dose cumulée avec la solution de l'Exemple 2 et la solution à 1% d'alpha-méthyl-DOPA utilisée comme référence. On a calculé la valeur de l'inhibition par rapport à la contraction mesurée juste avant l'addition de la solution d'essai. De cette façon, on a déterminé pour les deux solutions, la concentration se traduisant par une inhibition de 50% (CI₅₀). Les résultats obtenus sont rassemblés dans le Tableau III.

TABLEAU III

Solution examinée	CI ₅₀ en mole/litre
5 Solution à 3,8 % de l'Exemple 2 1% d'alpha-méthyl-DOPA dans une solution saline physiologique	$2,81 \times 10^{-2}$ $3,87 \times 10^{-2}$

10 Les données du Tableau III montrent clairement qu'il faut une concentration plus faible de la solution de la présente invention pour produire la même activité que celle qui ne peut être obtenue qu'avec une plus grande concentration de la solution de référence.

15 La stabilité de la solution de l'Exemple 1 a été testée de la façon suivante : la solution a été stockée dans une bouteille transparente à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 90 jours, et sa couleur, son pH et sa rotation spécifique ont été évalués au début du stockage et à des intervalles prédéterminés. De plus, des analyses ont été effectuées à chaque

20 fois par CCM avec une couche de Kieselgel GF₂₅₄ (Merck), avec transfert de 5 µl de la solution à évaluer sur la plaque et emploi d'un mélange de solvants comprenant 60 % en volume de n-butanol, 15 % en volume d'acide acétique glacial et

25 25 % en volume d'eau pour le développement.

 La couleur, le pH et la rotation spécifique de la solution ont été déterminés de la façon qui est décrite dans Pharmacopoeia Hungarica, 6ème Edition. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau IV.

30

35

TABLEAU IV
Stabilité de la solution de l'Exemple 1
à $25 \pm 2^\circ\text{C}$

5	Période de stockage en jours	Pureté vérifiée par CCM	Couleur de la solution	Rotation spécifique / α / _D	pH
	0 (début du stockage)	uniforme	verte	-19,6	7,5
10	14	inchangée	verte	-19,5	7,5
	20	inchangée	verte	-19,5	7,45
	50	inchangée	verte	-19,8	7,5
	60	inchangée	verte	-19,8	7,5
	90	inchangée	verte	-19,8	7,45

15

Il est évident d'après les données du Tableau IV, que la solution de l'Exemple 1 n'a pas changé au cours du stockage de 90 jours. Les solutions pharmaceutiques de l'invention sont donc stables. La réduction de la pression sanguine est atteinte en un temps plus court que dans le cas d'un traitement avec des comprimés comprenant l'alpha-méthyl-DOPA grâce à l'absorption favorable de ces solutions.

20

La toxicité des chélates de formules I et II présents dans la solution, est pratiquement identique à celle de l'alpha-méthyl-DOPA. Les solutions convenables pour l'administration intraveineuse sont pratiquement neutres et sont donc favorables pour l'organisme.

25

L'invention est davantage illustrée au moyen des Exemples non-limitatifs suivants.

30 Exemple 1

On dissout 0,6 g d'acide borique dans 50 ml d'eau distillée en chauffant. La solution agitée obtenue est additionnée, sous agitation constante, de 0,02 g de pyrosulfite de sodium et de 2,26 g d'alpha-méthyl-DOPA cristalline contenant 1,5 mole d'eau de cristallisation. Une solution d'hydro-

35

xyde de sodium à 5 % dans de l'eau distillée est ajoutée jusqu'à obtention d'un pH de $7,4 \pm 0,2$, déterminé au moyen d'un pH mètre électrique. Le volume de la solution est ajusté à 100 ml par l'addition de l'eau distillée, le pH est vérifié et, si
5 nécessaire, ajusté à nouveau. La solution est filtrée à travers un filtre à micropores et introduite dans des ampoules de 10 ml. Les ampoules sont fermées hermétiquement et stérilisées à 100°C pendant 30 minutes. On obtient de cette façon, une solution comprenant 2 % d'alpha-méthyl-DOPA, qui
10 peut être injectée par voie intraveineuse.

Exemple 2

On répète la procédure de l'Exemple 1, sauf qu'on utilise 1,14 g d'acide borique et 4,28 g d'alpha-méthyl-DOPA cristalline. La solution obtenue comprend 3,8 % d'alpha-méthyl-DOPA et elle peut être injectée par voie intraveineuse.
15

Exemple 3

On dissout 2,7 g d'acide borique dans 50 ml d'eau distillée en chauffant, puis on ajoute à la solution agitée, 0,2 g de pyrosulfite de sodium et 16,95 g d'alpha-méthyl-DOPA cristalline comprenant 1,5 mole d'eau de cristallisation. Le pH est ajusté à $8 \pm 0,5$ avec une solution d'hydroxyde de sodium aqueuse à 10 %, puis le volume de la solution est porté à 100 ml avec de l'eau distillée. La solution
20 obtenue comprend 15 % d'alpha-méthyl-DOPA et elle peut être administrée par voie orale. La solution est conservée dans des flacons de verre ou de plastique fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'emploi.
25

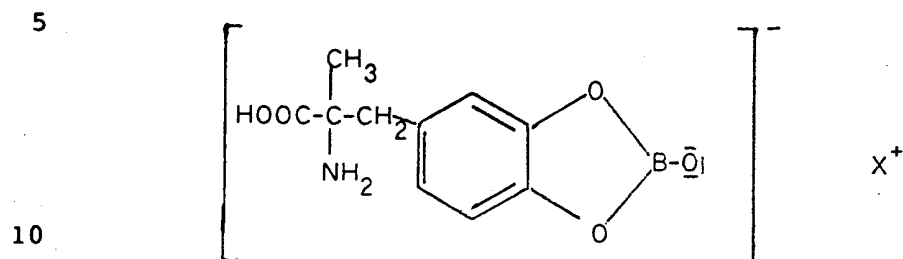
Exemple 4

On met en suspension 6,18 g (0,1 mole) d'acide borique, 4,0 g (0,1 mole) d'hydroxyde de sodium solide et 0,1 g de pyrosulfite de sodium solide, dans 200 ml d'eau, puis on chauffe au voisinage de l'ébullition et l'on ajoute 47,64 g (0,2 mole) d'alpha-méthyl-DOPA sous agitation. La solution agitée est évaporée à siccité, le résidu solide est
30 pulvérisé et séché à 105°C jusqu'à poids constant.
35

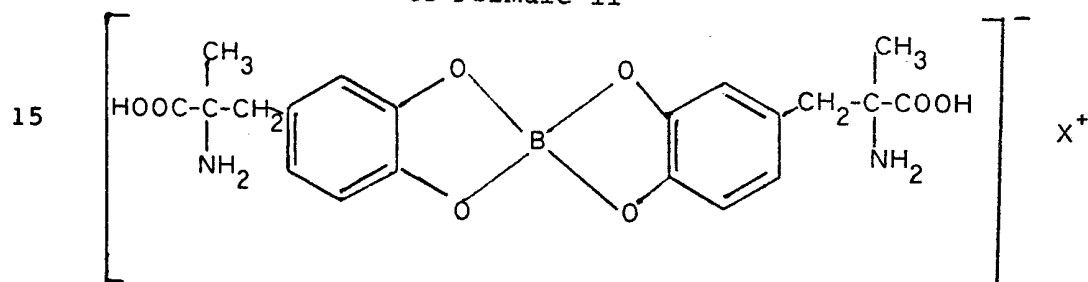
On obtient ainsi le chélate de formule(II) dans laquelle X^+ est l'ion sodium. Le chélate peut être dissous dans l'eau pour donner la solution pharmaceutique de la présente invention.

REVENDICATIONS

1. Solution pharmaceutique, de préférence une solution injectable, comprenant un composé de formule (I)



et/ou un composé de Formule II



- dans lesquelles X^+ est l'ion hydrogène ou un cation organique ou inorganique, dans de l'eau, et ayant un pH de 7 à 8,5.

2. Solution pharmaceutique suivant la revendication 1, dans laquelle la quantité totale des composés de formules (I) et (II) représente 1,2 à 24 %.

25

3. Solution pharmaceutique suivant la revendication 1 ou 2, dans laquelle le pH de la solution est compris entre 7,2 et 7,6.

4. Procédé de préparation d'une solution pharmaceutique, de préférence une solution injectable, suivant l'une quelconque des revendications 1 à 3, selon lequel on mélange une solution aqueuse de 0,2 à 6,0 % en poids d'acide borique, 1 à 20 % en poids de L-3,4-dihydroxyphényl-alpha-méthylalanine et 0,01 à 2 % en poids d'additif(s), on ajuste le pH à une

30

35

valeur comprise entre 7 et 8,5 en ajoutant une base, on ajoute

éventuellement un ou des solvants supplémentaires jusqu'à ce que la quantité de solvant(s) représente 72 à 98,79 % en poids, et l'on transforme la solution en une composition pharmaceutique liquide, de préférence une solution qui peut
5 être injectée par voie intraveineuse ou administrée par perfusion ou par voie orale.

5. Procédé suivant la revendication 4, dans lequel la base est une base inorganique.

6. Procédé suivant la revendication 5, dans lequel
10 la base inorganique est l'hydroxyde de sodium, de préférence en solution aqueuse.