



⑫ A **Terinzagelegging** ⑪ **8702446**

Nederland

⑲ NL

⑤4 **Werkwijze ter bereiding van een veterinaire- en humaanmedisch preparaat met antivirale en antitumorale werking, alsmede het in farmaceutisch toepasbare vorm gebrachte preparaat.**

⑤1 Int.Cl.: A61K31/44, C07D 213/76, C09B 29/09.

⑦1 Aanvragers: Barend Willem Hak te Giessen en Erris van Duuren te 's-Gravenhage.

⑦4 Gem.: Ir. A.M.E. Siemens
Roskam 8
4813 GZ Breda.

②1 Aanvraag Nr. 8702446.

②2 Ingediend 14 oktober 1987.

③2 --

③3 --

③1 --

⑥2 --

④3 Ter inzage gelegd 1 mei 1989.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Kenm.:87-22.

Int.Class.: A 61 J
A 61 K.

Barend Willem Hak, te Giessen, en
Erris van Duuren, te s'Gravenhage.

Werkwijze ter bereiding van een veterinaire- en humaanmedisch preparaat met antivirale en antitumorale werking, alsmede het in farmaceutisch toepasbare vorm gebrachte preparaat.

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een werkwijze ter bereiding van een veterinaire- en humaanmedisch preparaat met antivirale en antitumorale werking.

Het preparaat volgens de uitvinding is een anorganisch zout van 2,6-
5 diamino-3-fenylazopyridine (zie formule I).

De base van dit zout is bekend per se als azokleurstof in de textielindustrie en werd ook reeds onderzocht op haar antibacteriële eigenschappen als profylactisch en therapeutisch middel tegen infecties bij gevogelte en zoogdieren, echter alleen samen met de antibiotica chlor-
10 amphenicol en terramycine, waarvan thans slechts een additieve werking wordt vermoed. Als anorganisch zout wordt boraat, carbonaat, sulfaat en/of hydrochloride voorgesteld.

Guépin, Jason, Kruimel en Lorenzen schreven reeds in "Archiv für Hygiène und Bakteriologie" (1961), nr. 145, 88 e.v., dat het hydrochloride van
15 de base chemotherapeutische en profylactische werking ook tegen vira en zelfs tegen DNA- en RNA-vira zou hebben.

Er kon echter slechts het effect tegen influenza worden aangetoond. Guépin voerde daarna nog vele proeven uit op dit gebied, die echter niet werden gepubliceerd.

20 De aanvragers hebben deze onderzoeken voortgezet en uitgebreid en farmacologische en analytische resultaten verkregen, die het vermoeden wettigen, dat de metaboliëten van de base, die na de toediening in het lichaam worden gevormd, een veel bredere antivirale werking bij warmbloedigen kunnen uitoefenen.

25 Dit kon na proeven in vitro ook in vivo worden aangetoond.

8702446

Dierproeven toonden verrassenderwijs ook een antitumorale werking aan tegen virus-geïnitieerde sarcomen, waarvan de hematogene metastasering in vroege stadia gevreesd wordt.

De metabolieten, welke in urine en faeces konden worden gevonden, waren o.a. producten van reducerende splitsing van de azobinding, en in het bijzonder de volgende N-heterocyclen, met algemene structuur volgens formule II:

Thymidine

Pyrimidine,

10 Azidothymidine.

In deze formule geven R_1 en R_2 respectievelijk suikers, amino- en/of purinegroepen weer.

Deze N-heterocyclen kunnen als actief tegen de receptoren van diverse vira worden beschouwd.

15 Verdere metabolieten van de verbinding zijn N-acetylaminofenol, p-aminofenol en aniline, waarvan een synergistisch effect wordt vermoed, doch nog niet kon worden bewezen.

Aangezien de celwand van mitochondriën een belangrijke informatiedrager is, zoals door Ashwell in Trends Biochem. Science, (1977), nr.2,76 e.v.

20 werd beschreven, en de meest gevaarlijke vira receptoren bezitten, die nagenoeg alleen met in vivo gevormde verbindingen, dus voornamelijk met metabolieten kunnen worden bestreden, wordt de toepassing van de base 2,6-diamino-3-fenylazopyridine in een geschikte vorm en concentratie bij virale infecties voor mens en dier van groot belang geacht, terwijl de
25 toepassing tegen viraal geïnitieerde tumoren en tegen metastasen in de toekomst wellicht ook uitkomst kan bieden bij de bestrijding van het HIV-II-virus, dat aids veroorzaakt, en van virus-Hepatitis (infectieuze Hepatitis en serum-Hepatitis).

Aangezien de verbinding volgens de onderhavige uitvinding slechts een
30 matige hepatoxische werking vertoont en reeds tegen bacteriële ontstekingen in geringe concentraties werd toegediend in de humane geneeskunde, zijn ook reeds klinische toepassingen in gevallen van viraal geïnitieerde sarcomen uitgevoerd en hebben duidelijke verbeteringen van het ziektebeeld getoond, die aan de metabolieten, althans aan een van de drie
35 eerstgenoemde, worden toegeschreven.

Gezien de reeds eerder bekende antibacteriële werking kan de onderhavige verbinding ook in een breedspectrum-geneesmiddel worden opgenomen. en tegen ziekten worden toegepast, waarvan de diagnose bijzonder moeilijk

8702 44 6

is, en waarvoor zich thans in tropische streken voorbeelden vertonen. Het veterinaire- en humaanmedisch preparaat met antibacteriële, antivirale en antitumorale werking volgens de onderhavige uitvinding is gekenmerkt, door dat men voor orale toediening 2,6-diamino-3-fenylazopyridine-zout in een concentratie van 0.5 tot 10.0 gew.% in water oplost. 5 Als zouten komen in aanmerking het hydrochloride, boraat en carbonaat. Voor intramusculaire toediening wordt een oplossing van 2,6-diamino-3-fenylazopyridine-boraat in een concentratie van 5 gew.% in een organisch oplosmiddel en in water in ampullen van 50 ml bereid.

- 10 Voor locale behandeling wordt een mengsel van 5 gew.% 2,6-diamino-3-fenylazopyridine-zout in unguentum-vaseline bereid.

De toediening van de preparaten aan zoogdieren en gevogelte ligt tussen 0.5 en 10 mg per kg lichaamsgewicht per dag. De behandeling kan gedurende 2 tot 6 dagen zonder onderbreking worden 15 voortgezet.

Het onderzoek van de werking van het middel gaf in het algemeen bij warmbloedige dieren, die leden aan virusziekten en die daardoor kennelijk werden bedreigd, opvallend gunstige resultaten. Ook werd opgemerkt, dat voor sarcomen gevoelige mannelijke witte Wistar- 20 ratten zowel prophylactisch als therapeutisch met succes konden worden behandeld. Virus-mond- en klauwzeer bij rundvee en varkens en Newcastle-disease bij kippen gaven tot nu toe als niet geneesbaar, en worden met de verbinding volgens de uitvinding succesvol bestreden. 25 De eigenschappen van de verbinding voor farmacologische toepassing zijn als volgt:

Tabel I:

Uiterlijk: rood reukloos kristallijn poeder.	
Smelttraject: 235-239° C.	
30 Oplosbaarheid:	
ethylalcohol	3.5 mg/ml.
chloroform	0.4 mg/ml.
diethylether	0.2 mg/ml.
2-propanol	2.1 mg/ml.
35 methylalcohol	2.7 mg/ml.

8702446

ligroïne	0.1 mg/ml
water	3.2 mg/ml.

De verbinding kan worden bereid door condensatië uit fenazine en pyridine of door koppeling uit fenyldiazonium-chloride met α, α' -diaminopyridine in waterbad onder terugstroomkoeling en oplossen van het verkregen product in boorzuur, azijnzuur of verdund zoutzuur.

Identificatie is o.m. mogelijk door UV-spectrometrie van een oplossing van 0.5 mg in 100 ml aangezuurde ethylalcohol, waarbij in het gebied van 210-450 nm twee maxima worden gemeten bij 238-240 nm ($\epsilon=2.2 \times 10^4$) en bij 390-392 nm ($\epsilon=2.4 \times 10^4$), en drie minima optreden bij 220nm, 272 nm en 296 nm.

De resultaten van dierenbehandeling tegen uitsluitend virusziekten zijn weergegeven in de navolgende tabel:

8702446

8702446

Tabel II:

Ziekte:	Therapeutisch behandeld:	genezen:	% gunstig:	Preventief behandeld:	% gunstig:
<u>A. Varkens:</u>					
Pneumonie	2300	2270	99	1563	98
Mond-en Klauwzeer	1000	958	96	124	100
Varkenspest	355	345	98	50	100
Varkenspokken	100	100	100	45	100
Enteritis	974	974	100	4000	98
<u>B. Rundvee:</u>					
Mond-en Klauwzeer	3200	3072	96	40	96
<u>C. Honden:</u>					
Carré - Hondenziekte	58	58	100	---	---
Hepatitis infect. Canis	17	17	100	---	---
Kennelhoest	16	16	100	---	---
Rhinitis	10	10	100	---	---
<u>D. Katten:</u>					
Kattenziekte	140	127	92	---	---
<u>E. Gevogelte: (Vogels en Kippen):</u>					
Ornithosis	205	200	100	50	100
Blaauwekamziekte	200	200	100	---	---
Kippenpokken	13	13	100	---	---
Enteritis	100	100	100		
Coryza	4800	4300	88	1200	100
C.R.D.	17000	16000	94	2470	100

8702446

Vervolg Tabel II

Ziekte	Therapeutisch behandeld	genezen:	% gunstig:	Preventief behandeld:	% gunstig:
Newcastle-Disease	20	20	100	---	---
Marek	673	665	99	---	---
<u>F. Knaagdieren (Koniijnen):</u>					
Coryza	50	50	100	---	---
<u>G. Paarden:</u>					
Influenza	2	2	100	---	---

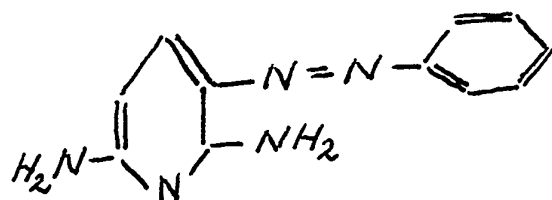
(Conclusies):

Conclusies:

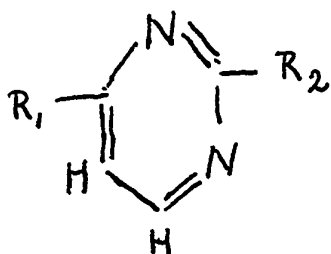
1. Werkwijze ter bereiding van een veterinaire- en humanomedisch preparaat met antivirale en antitumorale werking, met het kenmerk, dat men 2,6-diamino-3-fenylazopyridine als anorganisch zout oplost in een organisch oplosmiddel en water in een concentratie van 0.5 tot 10.0 gew./gew.%.
5
2. Werkwijze ter bereiding van een veterinaire- en humanomedisch preparaat met antivirale en antitumorale werking, met het kenmerk, dat men 2,6-diamino-3-fenylazopyridine voor parenterale toediening als anorganisch zout in een concentratie van 5.0 gew./gew.% in een organisch oplosmiddel en water in steriele ampullen brengt.
10
3. Werkwijze ter bereiding van een veterinaire- en humanomedisch preparaat met antivirale en antitumorale werking, met het kenmerk, dat men 2,6-diamino-3-fenylazopyridine voor orale toediening als anorganisch zout in een concentratie van 2.0 tot 10.0 gew.% mengt met melksuiker, zetmeel en/of calciumcarbonaat en het mengsel tot tabletten, capsules en/of siroop verwerkt.
15
4. Werkwijze ter bereiding van een veterinaire- en humanomedisch preparaat met antivirale en antitumorale werking; met het kenmerk, dat men voor locale toepassing 2,6-diamino-3-fenylazopyridine als anorganisch zout in unguentumvorm met vaseline mengt in een concentratie van 2.0 tot 10.0 gew./gew.%.
20
5. Werkwijze volgens een der conclusies 1 t/m 4, met het kenmerk, dat men als anorganisch zout het boraat, het sulfaat, het carbonaat en/of het hydrochloride verwerkt.
6. Farmacologisch preparaat, bereid met behulp van de werkwijze volgens een der conclusies 1-4.
25

(Formuleblad).

8702446



Form. I



Form. II

8702446