

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 148117 B



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

(21) Patentansøgning nr.: 1531/79

(51) Int.Cl.⁴: C 07 D 333/38

(22) Indleveringsdag: 11 apr 1979

(41) Alm. tilgængelig: 12 okt 1979

(44) Fremlagt: 11 mar 1985

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 11 apr 1978 IT 22175/78 12 feb 1979 IT 20111/79

(71) Ansøger: *MEDIOLANUM FARMACEUTICI S.R.L.; Milano, IT.

(72) Opfinder: Franco *Bolasco; IT, Giuseppe *Quadro; IT.

(74) Fuldmægtig: Firmaet Chas. Hude

(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af
2-(2-thenoylthio)-propionylglycin eller farmako-
logisk acceptable salte deraf med baser

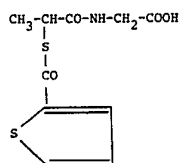
(57) Sammen drag:

fremstilles ved omsætning af 2-thiopropionylglycin med
thiophen-2-carboxylsyrechlorid i nærværelse af en base.

Forbindelsen har leverbeskyttende, mucolytisk og bronchial-
spasmelindrende virkning.

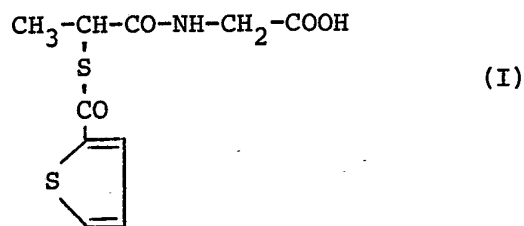
1531-79

2-(2-thenoylthio)-propionylglycin med formlen



DK 148117 B

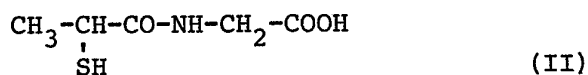
Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af den hidtil ukendte forbindelse 2-(2-thienylthio)-propionylglycin med strukturformlen (I):



eller farmaceutisk acceptable salte deraf med baser.

Forbindelsen (I) og de farmakologiske acceptable salte deraf er egnede til behandling af akutte og kroniske leversygdomme samt forgiftningstilfælde.

Det er kendt, at 2-mercaptopropionylglycin (II)



har en interessant farmakologisk virkning, som gør forbindelsen egnet til behandling af akutte og kroniske leversygdomme samt forgiftningstilfælde. 2-mercaptopropionylglycin (II) er imidlertid behæftet med forskellige ulemper som følge af dens lave stabilitet. Den vigtigste af nævnte ulemper består i den ubehagelige lugt, som afgives af præparater indeholdende forbindelsen (II), endog efter kort tids lagring. Den nævnte ulempe har tydeligvis negative psykologiske virkninger på patienten, og den lave stabilitet bevirker en samtidig forringelse af præparatets terapeutiske egenskaber. Den nævnte ustabilitet af 2-mercaptopropionylglycin (II) stiger tydeligt med stigende temperatur, som kan forekomme under varme klimaforhold, eksempelvis i tropiske lande.

Det har nu vist sig, at 2-(2-thenoylthio)-propionylglycin, der har den ovennævnte strukturformel (I), har farmakologiske egenskaber, som gør forbindelsen tydeligt egnet til behandling af akutte og kroniske leversygdomme samt forgiftningstilfælde, idet den desuden har en stabilitet, som er meget højere end stabiliteten af forbindelsen (II). Det fuldstændige fravær af lugt og smag er karakteristisk for forbindelsen fremstillet ifølge opfindelsen, og forbindelsens høje stabilitet sikrer bevarelse af dens terapeutiske egenskaber, så at forbindelsen klinisk tåles optimalt i mave-tarmkanalen under de forskellige afprøvede betingelser.

Det viste sig overraskende også, at 2-(2-thenoylthio)-propionylglycin har en interessant mucolytisk og bronchialspasme-lindrende virkning, som muliggør anvendelsen af nævnte forbindelse til behandling af akutte infektioner i åndedrætskanalen, karakteriseret ved bronchial hypersekretion, samt til behandling af mucoviscidosis-syndromer og andre lignende sygdomme. En sådan virkning var ikke kendt for forbindelsen (II).

Til terapeutisk anvendelse som leverbeskyttende middel kan forbindelsen (I) bringes til at indgå i kapsler på 100 - 400 mg samt i sirupper med sådanne doseringsstyrker, at der opnås tilsvarende enhedsdoser.

Den daglige dosismængde er 2 - 4 kapsler på 250 mg, en eller flere ampuller på 250 mg til intramuskulær eller intravenøs indgivelse samt 2 - 3 skefulde sirup med en tilnærmelsesvis doseringsmængde på 250 mg i hver skefuld.

Forbindelsen (I) og saltene deraf fremstilles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, der er ejendommelig ved, at 2-mer=captopropionylglycin i et vandigt medium omsættes med thio=phen-2-carboxylsyrechlorid i nærværelse af en base, fortrinsvis natrium- eller kaliumcarbonat, hvorpå det dannede salt af forbindelsen med formlen I om ønsket omdannes til den frie

syre ved syrning. Fremgangsmåden ifølge opfindelsen illustreres nærmere af det efterfølgende eksempel.

Eksempel

278 g 2-mercaptopropionylglycin indføres i 1600 ml vand. Til den resulterende suspension sættes forsigtigt under omrøring 653 g kaliumcarbonat. Stadig under omrøring sættes 240 g thiophen-2-carboxylsyrechlorid dråbevis til den resulterende opløsning.

Temperaturen holdes ved 20°C.

Den resulterende opløsning rystes, indtil dråberne af syrechlorid forsvinder fuldstændigt (ca. 4 timer).

Opløsningen syrnes derefter forsigtigt til en pH-værdi på 3 med 10% svovlsyre.

Der opnås et krystallinsk bundfald, som straks efter opsamles ved hjælp af filtrering, vaskes med destilleret vand og tørres i luften ved 40°C. 472 g farveløst produkt opnås derpå efter en acetonitrilrekrySTALLISATION, hvilket produkt har et smeltepunkt på 168-170°C. Forbindelsens identitet bekræftes ved hjælp af dens tilhørende analytiske og spektroskopiske data (IR, NMR). Forbindelsen (I) er opløselig i en mættet opløsning af NaHCO₃, og den er også opløselig i chloroform. Den er næsten uopløselig i alle andre uorganiske opløsningsmidler. Forbindelsen er lugtløs og praktisk taget uden smag.

Som allerede nævnt har 2-(2-thenoylthio)-propionylglycin vist sig at have en bemærkelsesværdig leverbeskyttende virkning, der som det fremgår af de nedenfor anførte undersøgelser viser sig at være signifikant højere end den

· virkning, som den som referencelægemiddel benyttede 2-mercaptopropionylglycin udviser. Også de toksikologiske data for forbindelsen (I) viste sig at være tydeligt tilfredsstillende, hvilket fremgår af de nedenfor anførte undersøgelser.

Toksicitetsforsøg

(a) Akut toksicitet over for mus

Til forsøget blev anvendt albinomus af schweizisk race med en legemsvægt på 20-23 g, hvilke mus blev delt i grupper på 5 dyr, som blev holdt på faste i 16 timer før undersøgelsen og tildelt frit vand. 2-(2-thenoylthio)-propionylglycin (I) og 2-mercaptopropionylglycin (II) blev indgivet såvel oralt som intravenøst i en enkelt administration, idet gradvis stigende doser blev indgivet med regelmæssige tidsrum.

Oral LD 50

Oral LD 50-værdien viste sig at være højere end 2500 mg/kg for begge forbindelser. Medens ingen dyr døde selv ved den højeste dosis administreret 2-(2-thenoylthio)-propionylglycin, frembragte referencelægemidlet en 20% dødelighed blandt dyrene ved en dosis på 2500 mg/kg (tabel 1).

Intravenøs LD 50

Intravenøs LD 50-værdien viste sig at være højere end 1250 mg/kg for begge forbindelser. Også i dette tilfælde forekom ingen døde i tilfælde af forbindelsen (I), medens referencelægemidlet fremkaldte en 30% dødelighed ved en dosis på 1250 mg/kg (tabel 2).

(b) Akut toksicitet over for rotter

Til undersøgelsen benyttedes 140 albinorotter af Sprague-

Dawley-racen med en legemsvægt på 120-135 g, som var opdelt i grupper, der hver bestod af 5 dyr. Dyrene, som blev holdt på faste i 16 timer før behandlingen, blev såvel oralt som intramuskulært i en enkelt administration og i stigende doser indgivet de to forbindelser, dvs. 2-(2-thenoylthio)-propionylglycin (I) og 2-mercaptopropionylglycin (II) (referencelægemiddel). For hver forbindelse blev LD 50-værdien fastslået i overensstemmelse med Litchfield og Wilcoxon på basis af den dødelighed, som viste sig i de 7 dage, der fulgte efter behandlingen.

Oral LD 50

Heller ikke blandt rotter forekom dødsfald op til den højeste dosis af forbindelsen (I), medens der i tilfælde af referencelægemidlet blev iagttaget en 20% dødelighed ved den højeste dosis (tabel 3).

Intramuskulær LD 50

LD 50-værdien opnået med forbindelsen (I) viste sig at være ækvivalent med 1801 mg/kg, medens den viste sig at være 1630 mg/kg i tilfælde af referencelægemidlet (tabel 4).

Tabel 1

Oral LD 50 blandt mus

Indgivet forbindelse	Dosis mg/kg	Antal dyr pr. dosis	Antal døde dyr	% dødelighed	LD 50
I	1500	10	0	0	> 2500
	2000	10	0	0	
	2500	10	0	0	
II	1500	10	0	0	> 2500
	2000	10	1	10	
	2500	10	2	20	

Tabel 2Intravenøs LD 50 blandt mus

Indgivet forbindelse	Dosis mg/kg	Antal dyr pr. dosis	Antal døde dyr	% døde- lighed	LD 50
I	500	10	0	0	> 1250
	750	10	0	0	
	1000	10	0	0	
	1250	10	0	0	
II	500	10	0	0	> 1250
	750	10	0	0	
	1000	10	1	10	
	1250	10	3	30	

Tabel 3Oral LD 50 blandt rotter

Indgivet forbindelse	Dosis mg/kg	Antal dyr pr. dosis	Antal døde dyr	% døde- lighed	LD 50
I	1500	10	0	0	> 2500
	2000	10	0	0	
	2500	10	0	0	
II	1500	10	0	0	> 2500
	2000	10	0	0	
	2500	10	2	20	

Tabel 4
Intramuskulær LD 50 blandt rotter

Indgivet forbindelse	Dosis mg/kg	Antal dyr pr. dosis	Antal døde dyr	% døde- lighed	LD 50
I	1250	10	0	0	1801 (1741-1864)
	1500	10	1	10	
	1750	10	4	40	
	2000	10	10	100	
II	1250	10	0	0	1630 (1580-1692)
	1500	10	2	20	
	1750	10	6	60	
	2000	10	10	100	

(c) Kronisk toksicitet blandt rotter og hunde

Rotter: 80 albinorotter (Sprague Dawley - 100 g legemsvægt) blev delt i to grupper: (1) Kontrol (carboxymethylcellulose), (2) 2-(2-thenoylthio)-propionylglycin (200 mg/kg/im) blev benyttet til undersøgelsen.

Behandlingerne blev givet dagligt, 6 gange om ugen i 16 uger.

<u>Resultater:</u> Dødelighed	Normal
Almen tilstand	Optimal
Acceptabilitet	Optimal
Opførsel	Normal blandt behandlede dyr og kontroldyr
Legemsvægtsforøgelse	Højere end blandt kontroldyrene
Blodmorfologi og kemiske parametre	Som blandt kontroldyrene
Vægt af organer	Som blandt kontroldyrene

Resultaterne var også gode blandt hundene.

"IN VIVO" beskyttelsesvirkning mod mercuriforbindelser

40 hanmus (schweizisk race, 22 g middellegemsvægt) blev benyttet til undersøgelsen, idet de blev inddelt i 4 grupper, der blev behandlet som følger:

- (1) Mercurichlorid, 20 mg/kg/intraperitonealt;
- (2) mercurichlorid, 20 mg/kg/intraperitonealt, + forbindelse (I), 200 mg/kg/intraperitonealt;
- (3) mercurichlorid, 20 mg/kg/intraperitonealt, + forbindelse (I), 300 mg/kg/intraperitonealt;
- (4) mercurichlorid, 20 mg/kg/intraperitonealt, + 2-mercaptopropionylglycin, 300 mg/kg/intraperitonealt.

Indtrufne dødsfald blev registreret hver time i løbet af de første 5 timer, og derefter efter 24 timer.

Resultater: Alle dyrene, som kun var blevet indgivet mercurichlorid, døde inden for de 24 timer, som fulgte efter behandlingen.

Forbindelse (I) 200 mg/kg/intraperitonealt	} 10% døde
2-mercaptopropionylglycin 300 mg/kg/intra-	
peritonealt	

Forbindelse (I), 300 mg/kg/intraperitonealt, ingen døde.

Stabilitetsforsøg

Som allerede indledningsvis anført er 2-(2-thenoylthio)-propionylglycin (I) mærkbart mere stabil end den tilsvarende 2-mercaptopropionylglycin (II).

Stabilitetsforsøgene blev udført i overensstemmelse med Rogers' ikke-isotermiske metode, passende kompletteret med bedømmelse af fysiske data, smeltepunkt, vægtvariation og spektrofotometrisk prøve. For hver enkelt forbin-

delse blev forsøgene udført med en række prøver med en vægt på 100 mg eller 200 mg, idet der til de våde forsøg blev tilsat 1 ml destilleret vand. I tilfælde af forbindelsen (I) opnåedes derfor en hvid suspension, medens 2-mercaptopropionylglycin dannede en klar opløsning. Tabel 5 viser resultaterne i henseende til udseendet, de fysiske egenskaber og vægtvariationerne. Prøverne blev opbevaret i en termostats ved stigende temperaturer, dvs. fra 25 til 80°C. Sluttemperaturen blev valgt under hensyntagen til det laveste smeltepunkt for de to forsøgsforbindelser (2-mercaptopropionylglycin, smeltepunkt 93-95°C). Temperaturen, som blev programmeret i overensstemmelse med Rogers' formel, viste sig at være 40°C ved afslutningen af den første time, 50°C ved afslutningen af den anden time, 57°C ved afslutningen af den tredje time, 63°C ved afslutningen af den fjerde time, 69°C ved afslutningen af den femte time, 73°C ved afslutningen af den sjette time, 77°C ved afslutningen af den syvende time og som allerede anført 80°C ved afslutningen af den ottende time.

I tabel 5 refererer prøven fra 1 til 5 endvidere for hver af de to forbindelser til det tørre materiale, medens prøverne fra 6 til 10 refererer til opløsningen eller til den som ovenfor anført opnåede vandige suspension.

Slutvægten af de forskellige prøver blev bestemt på udtagesestidspunktet fra termostaten, dvs. 1 time og 30 minutter for prøverne nr. 1, 3 timer for prøverne nr. 2, 5 timer og 15 minutter for prøverne nr. 3, og 8 timer for prøverne nr. 4 og 5. I tilfælde af de våd-behandlede prøver blev slutvægten kun bestemt for prøverne nr. 10, der var blevet tørret ved 60°C under vakuum efter en 8 timers opvarmning.

Tabel 5
Fysiske egenskaber og vægtvariationer

Materiale	Prøve	Farve	Lugt	Vægt (mg) Begyndel- sesvægt	Slut- vægt	Varia- tioner %
2-percapto- propionyl- glycin	1	Hvid	Mild mercaptanisk	98,7	98,3	-0,41
	2	"	"	99,0	93,0	-6,06
	3	"	"	100,5	94,8	-5,67
	4	"	"	101,3	95,7	-5,53
	5	"	Mærkbart mercaptanisk	204,7	198,9	-2,83
	6	Farveløs	Mildt mercaptanisk	101,6	-	-
	7	"	"	102,1	-	-
	8	"	"	100,4	-	-
	9	Gullig	"	98,5	-	-
	10	Vandfri betingelser: Gult pulver	Vandfri betingelser: mærkbart mercaptanisk	200,0	193,8	-3,1
2-(2-thenoyl- thio)-propio- nylglycin	1	Hvid	Næsten fraværende	100,7	95,4	-5,26
	2	"	"	99,5	94,5	-5,03
	3	"	"	100,5	95,1	-5,37
	4	"	"	100,7	94,9	-5,76
	5	"	"	201,5	194,1	-3,67
	6	Hvid suspension	"	100,4	-	-
	7	"	"	103,2	-	-
	8	"	"	101,0	-	-
	9	"	"	95,6	-	-
	10	Vandfri betingelser: Hvidt pulver	Vandfri betingelser: Næsten fraværende	207,4	201,3	-2,94

Smeltepunktet blev under identiske betingelser bestemt i et kapillarrør, for prøverne nr. 5's vedkommende efter opvarmning i 8 timer under de tidligere anførte betingelser, og for prøverne nr. 10's vedkommende efter opvarmning og indampning til tørhed som ovenfor anført. Tabel 6 viser de opnåede resultater. Medens forbindelsen (I) ikke udviste variationer, viste 2-mercaptopropionylglycin (II) et mærkbart fald i smeltepunktet i tilfælde af den våde prøve.

Tabel 6

Smeltepunkt

<u>Produkt</u>	<u>Begyndelses-</u> <u>smeltepunkt</u>	<u>Slutsmeltepunkt</u> <u>tørre betingel-</u> <u>ser (prøve 5)</u>	<u>Våde betingelser</u> <u>(prøve 10)</u>
II	93-95°C	92-94°C	86-88°C
I	166-167°C med dekom- ponering	166-167°C med dekom- ponering	166-167°C med dekom- ponering

Også variationerne i resultaterne af de spektrofotometriske forsøg med de to forbindelser efter varierende opvarmningstider fører til formulering af afgørende betragtninger.

Det vil fremgå, at 2-mercaptopropionylglycin udviser en maksimal ekstinktion $E = 0,329$ ved 232 nm, medens forbindelsen (I) udviser en $E = 0,438$ ved 292 nm.

Prøverne 1-9 af de to forbindelser udviser ved de ovenfor anførte opvarmningstider de ekstinktionsforskelle, som er anført i tabel 7. Den bedre stabilitet af forbindelsen (I) fremstillet ifølge opfindelsen fremgår tydeligt.

Tabel 7

Ekstinktionsforsøg samt spektrofotometrisk måling

Mate- riale	Prøve nr.	Vægt mg	E ved 232 nm	E ved 292 nm	Indhold %
2-mercapto-	(som sådan)	99,8	0,329	-	101,43
propionyl-	1	98,7	0,325	-	101,32
glycin	2	99,0	0,324	-	100,70
(II)	3	100,5	0,325	-	99,50
	4	101,3	0,324	-	98,41
	6	101,6	0,333	-	100,85
	7	102,1	0,325	-	97,94
	8	100,4	0,320	-	98,06
	9	98,5	0,300	-	93,71
2-(2-theno=	(som				
ylthio)-	sådan)	100,0	-	0,438	100,0
propionyl=	1	100,7	-	0,440	99,76
glycin	2	99,5	-	0,435	99,81
(I)	3	100,5	-	0,440	99,96
	4	100,7	-	0,440	99,76
	6	104,0	-	0,455	99,88
	7	103,2	-	0,450	99,60
	8	101,0	-	0,435	99,33
	9	95,6	-	0,412	98,25

De i tabel 8 viste data blev udarbejdet i overensstemmelse med Rogers' metode under optegning af værdierne for aktiveringsenergierne ved dekomponeringsreaktionerne under tørre og våde betingelser, de specifikke hastighedskonstanter samt gyldighedsperioden. De tilhørende resultater er vist i tabel 8.

Tabel 8
Aktiveringsenergier, specifikke hastig-
heder og gyldighedstider.

Materiale	Betin- gelser	Aktiverings- energi som Kcal/mol	K ved 25°C i timer ⁻¹	Gyldigheds- tid
2-mercapto- propionyl- glycin	Tør	15,66	$2,58,10^{-6}$	40847 timer = 1702 dage $\approx$ 4 år og 8 måneder
	Våd	11,54	$2,14,10^{-5}$	4924 timer = 205 dage
2-(2-theno- ylthio)- propionyl- glycin	Tør	-12,28	0	Ubegrænset
	Våd	13,27	$2,61,10^{-6}$	40377 timer = 1682 dage $\approx$ 4 år og 7 måneder

Den betydelig bedre stabilitet af 2-(2-thenoylthio)-pro-
pionylglycin (I) fremgår også tydeligt ud fra dataene i
tabel 8.

Mucolytisk og bronchial-spasmelindrende virkning(a) Eksperimentel bronchitis hos rotter

Den mucolytiske aktivitet af (I) blev fastslået hos rotter, der blev underkastet en bronchopulmonær svækkelse fremkaldt ved SO₂-inhalation.

Til formålet blev 40 hanrotter, Sprague-Dawley-race, 320-370 g, inddelt i 4 grupper indeholdende hver 10 dyr, som blev underkastet følgende behandlinger:

Gruppe 1: Forgiftningsbehandling (SO₂)

Gruppe 2: Forgiftning med SO₂ samt aerosolbehandling med (I).

Gruppe 3: Forgiftning med SO₂ samt aerosolbehandling med (I).

Gruppe 4: Forgiftning med SO₂ og subkutan behandling med (I).

I hvert tilfælde var dosismængden af (I) 50 mg/kg.

Med henblik på forgiftningsfremkaldelse blev dyrene udsat for en konstant luftstrøm indeholdende SO₂ i en koncentration på 0,03%. Forgiftningsbehandlingen blev udført i 15 dage, idet rotterne 2 timer dagligt blev underkastet en inhalation af SO₂ i perioder på 15 minutter. Samtidig blev beskyttelsesbehandlingen med (I) udført i de grupper, for hvilke den var blevet planlagt.

Dyrene blev dræbt på dagen, der fulgte efter den sidste inhalation.

Lungerne blev fjernet sammen med luftrøret, anbragt i 10% formalin og underkastet makroskopisk undersøgelse, hvor-

efter lunger og luftrør blev neddykket i den samme opbevaringsvæske i 24 timer og derefter i en time i absolut ethanol.

Det bronchiale træ blev derefter tydeliggjort med alcianblåt. Endvidere blev en efterfølgende pletning frembragt med Schiff's reagens med henblik på påvisning af mucho= polysaccharider.

Hver lunge blev udsat for følgende arbitrære bedømmelse:

- (1) Makroskopisk undersøgelse:
- 0 = normal lunge
 - 1 = rødmende lunge
 - 2 = få blødende punkter
 - 3 = nogle blødende punkter
 - 4 = mange blødende punkter
 - 5 = store blødende punkter

- (2) Synliggørelse af det bronchiale træ med alcianblåt:
- 0 = ensartet farvning
 - 1 = næsten ensartet farvning
 - 2 = uregelmæssig farvning
 - 3 = temmelig uregelmæssig farvning

- (3) Bronchopulmonære ændringer ved den mikroskopiske undersøgelse:

- 0 = ingen ændringer
- 1 = lettere ændringer
- 2 = ret store ændringer
- 3 = væsentlige ændringer

Resultaterne fremgår af de efterfølgende tabeller.

Tabel 9. Makroskopisk undersøgelse

	G R U P P E R			
	1	2	3	4
E	4,00 $\pm$ 0,26	1,25 $\pm$ 0,31	1,12 $\pm$ 0,39	1,25 $\pm$ 0,36
S	-	h.s.	h.s.	h.s.

E = vurdering; middel $\pm$ standardfejl

S = signifikans sammenlignet med kontrolgrupper

h.s. = meget signifikant

Tabel 10. Visualisering af
bronchialrøret.

	G R U P P E R			
	1	2	3	4
E	2,50 $\pm$ 0,26	0,87 $\pm$ 0,29	0,87 $\pm$ 0,29	0,75 $\pm$ 0,31
S	-	h.s.	h.s.	h.s.

Bemærkning: Se tabel 9 med henblik på symbolforklaring.

Tabel 11. Mikroskopisk undersøgelse

	G R U P P E R			
	1	2	3	4
E	2,75 $\pm$ 0,16	0,87 $\pm$ 0,29	0,75 $\pm$ 0,31	1,00 $\pm$ 0,26
S	-	h.s.	h.s.	h.s.

Bemærkning: Se tabel 9 med henblik på symbolforklaring.

Både de opnåede resultater og deres høje signifikans gør det muligt at fastlå, at forbindelsen (I) udøver en betydelig beskyttende virkning over for den eksperimentelle bronchitis, som blev fremkaldt hos rotter ved inhalation af SO₂.

(b) Eksperimentel bronchitis som følge af citronsyre hos marsvin.

24 plettede marsvin af Morini-racen med en legemsvægt på ca. 450 g blev benyttet til undersøgelsen, idet de blev inddelt i 4 grupper på hver 6 dyr, som blev underkastet følgende behandlinger:

Gruppe 1: Forgiftningsbehandling med citronsyre.

Gruppe 2: Behandling med citronsyre og derefter oralt med (I).

Gruppe 3: Behandling med citronsyre og derefter med (I) ved hjælp af aerosoladministration.

Gruppe 4: Behandling med citronsyre og derefter rektalt med (I).

Dosismængden af (I) var i hvert tilfælde 50 mg/kg.

Forgiftningen blev foretaget ved indføring af forsøgsdyrene i tæt lukkede plexiglasbure indeholdende en opløsning af 7,5% citronsyre i 15 minutter dagligt, 6 dage om ugen i 4 uger. Samtidig med forgiftningsbehandlingen blev behandlingen med (I) udført i alle de bure, for hvilke behandlingen med (I) var planlagt.

Dyrene blev dræbt dagen efter den sidste administration, og lungerne blev underkastet de samme behandlinger og de samme vurderinger, som allerede var benyttet for rotters vedkommende med samme bedømmelse.

De pågældende resultater fremgår af de følgende tabeller.

Tabel 12. Makroskopisk undersøgelse

G R U P P E R				
	1	2	3	4
E	4,00 $\pm$ 0,25	2,00 $\pm$ 0,36	2,33 $\pm$ 0,49	1,83 $\pm$ 0,40
S	-	h.s.	h.s.	h.s.

Bemærkning: Se tabel 9 med henblik på symbolforklaring.

Tabel 13. Visualisering af
bronchialrøret.

G R U P P E R				
	1	2	3	4
E	2,83 $\pm$ 0,16	1,16 $\pm$ 0,30	1,00 $\pm$ 0,36	1,00 $\pm$ 0,44
S	-	h.s.	h.s.	h.s.

Bemærkning: Se tabel 9 med henblik på symbolforklaring.

Tabel 14. Mikroskopisk undersøgelse.

G R U P P E R				
	1	2	3	4
E	3,00 $\pm$ 0,00	0,83 $\pm$ 0,30	1,00 $\pm$ 0,36	0,66 $\pm$ 0,42
S	-	h.s.	h.s.	h.s.

Bemærkning: Se tabel 9 med henblik på symbolforklaring.

De opnåede resultater gør det muligt at fastlå, at (I) udøver en betydelig beskyttende virkning i tilfælde af en eksperimentel bronchitis fremkaldt hos marsvin ved indtagelse af citronsyre.

(c) Bronchialspasme som følge af histaminaerosol hos marsvin.

30 plettede hanmarsvin af Morini-race med en legemsvægt på 400-500 g blev benyttet til undersøgelsen, idet de blev inddelt i 5 grupper på hver 6 dyr. Dyrene blev enkeltvis anbragt i tæt lukkede plexiglasbure, hvori en 0,1% vandig opløsning af histaminhydrochlorid var aerosoliseret. Modstandstiden over for spasmen blev beregnet udfra tidspunktet for indføringen i burene og indtil tidspunktet for fremkomsten af kritisk åndenød. Resultaterne gentoges 24 timer efter og 1 time efter følgende behandlinger:

Gruppe 1: Kontrol dyr uden nogen behandling.

Gruppe 2: Behandlet med (I) indgivet oralt.

Gruppe 3: Behandlet med (I) indgivet ved hjælp af aerosoladministration.

Gruppe 4: Behandlet med (I) intraperitonealt.

Gruppe 5: Behandlet med (I) rektalt.

Dosismængden var i hvert tilfælde 50 mg/kg.

De opnåede resultater er anført i de efterfølgende tabeller.

TABEL 15 - Bronchial-spasmelindrende virkning af (I).
Bestemmelser af modstandstiden i sekunder før behandlingen.

G R U P P E R					
	1	2	3	4	5
E	116,7 ± 4,73	116,00 ± 8,84	113,00 ± 5,62	112,16 ± 7,9	117,5 ± 6,39

E = Vurdering, middel ± standardfejl, udtrykt i sekunder.
Grupperne er statistisk homogene.

TABEL 16 - Bronchial-spasmelindrende virkning af (I).
Bestemmelser af modstandstiden i sekunder 1 time efter
behandlingen.

G R U P P E R					
	1	2	3	4	5
E	114,1 ± 5,4	185,7 ± 14,2	170,3 ± 10,9	187,2 ± 16,1	178,5 ± 11,9
S	-	h.s.	h.s.	h.s.	h.s.

Bemærkning: Se tabel 9 med henblik på symbolforklaring.

De opnåede resultater gør det muligt at fastlå, at forbindelsen (I) udøver en bemærkelsesværdig bronchial-spasme-lindrende virkning via alle de vurderede administrationsveje.

Resultaterne af den farmakologiske undersøgelse i forbindelse med den meget lave toksicitet af forbindelsen (I) muliggjorde direkte påbegyndelse af kliniske forsøg med mennesker.

De opnåede resultater kan sammenfattes som nedenfor anført.

(d) Kliniske forsøg

Lægemidlet blev vurderet med hensyn til sin mucolytiske virkning på 30 ældre patienter (laveste alder 57 år, maksimalt 87, middelalder 72). 26 af dem udviklede en betydelig forbedring i forhold til de kliniske begyndelsestilstande efter daglig indtagelse i 6 på hinanden følgende dage af to suppositorier dagligt, der hver indeholdt 0,36 g af forbindelsen (I).

Forbedringen blev vurderet på basis af følgende parametre:

- Formindskelse af den daglige opspytsmængde;
- formindskelse af opspytets viskocitet;
- forøgelse af Tiffeneau's indeks;
- forøgelse af størrelsen af erythrocyternes sedimentationshastighed.

En gruppe på 20 patienter med samme middelalder blev med henblik på kontrolformål indgivet et kendt lægemiddel, såsom N-acetylcystein. Selv om de med N-acetylcystein opnåede resultater generelt kan sidestilles med resulta-

terne opnået med forbindelsen (I) med hensyn til formindskelsen af opspytet, viste det sig, at forbindelsen (I) virker betydelig bedre i henseende til virkningens hurtighed.

Overlegenheden af forbindelsen (I) i forhold til N-acetylcystein viser sig endvidere ved administration i form af aerosol. I virkeligheden iagttoges ingen hosteanfald i tilfælde af forbindelsen (I), medens sådanne derimod hyppigt forekommer i tilfælde af patienter, som udsættes for en aerosoladministration med N-acetylcystein.

(e) Kliniske forsøg (inden for pædiatri).

Under et klinisk forsøg med henblik på vurdering af den mucolytiske effektivitet af forbindelsen (I) på bronchopneumopatier i børnealderen blev 50 patienter i alderen fra 3 måneder til 9 år (middelalder 26 måneder) behandlet for tilstedeværelsen af en akut tilstand af infektionsbetændelse i luftrøret, der var kendetegnet ved en bronchial hypersekretion eller i nogle tilfælde ved et mucoviscidosisyndrom.

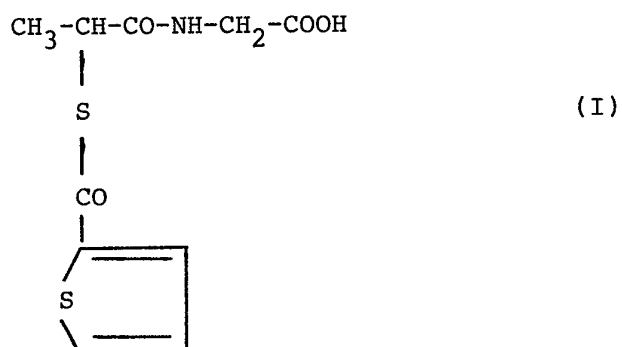
Resultaterne viste sig bemærkelsesværdigt positive for 45 patienter (90%) med normalisering af følgende parametre:

- Hoste
- åndedrætsbesvær
- våde lyde ved auskultation.

Endvidere viste der sig et middelfald i slimets viskositetsmetriske værdi, nemlig fra $292,4 \pm 92,1$ gram kviksølv til $155,4 \pm 61,3$ gram kviksølv (ifølge et træk ved det særlige apparat, som blev benyttet til bestemmelse af slimviskositet).

P a t e n t k r a v.

Analogifremgangsmåde til fremstilling af 2-(2-thenoylthio)-propionylglycin med strukturformlen (I)



eller farmakologisk acceptable salte deraf med baser, k e n - d e t e g n e t ved, at 2-mercaptopropionylglycin i et vandigt medium omsættes med thiophen-2-carboxylsyrechlorid i nærværelse af en base, fortrinsvis natrium- eller kaliumcarbonat, hvorpå det dannede salt af forbindelsen med formlen I om ønsket omdannes til den tilsvarende frie syre ved syring.

Fremdragne publikationer:
