

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 821664 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 821664

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07D

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 11.05.1982

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 11.05.1982

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 15.11.1982

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

(32) (33) (31) Etu oikeus - Prioritet - Priority

14.05.1981 FR 8109590

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • SANOFI, 40, Avenue George V, 75008 Paris, RANSKA, (FR)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Blasioli, Carlo, TOWN UNKNOWN, RANSKA, (FR)

2 • Chick, Jacques Alexandre, TOWN UNKNOWN, RANSKA, (FR)

3 • Heymes, Alain, TOWN UNKNOWN, RANSKA, (FR)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

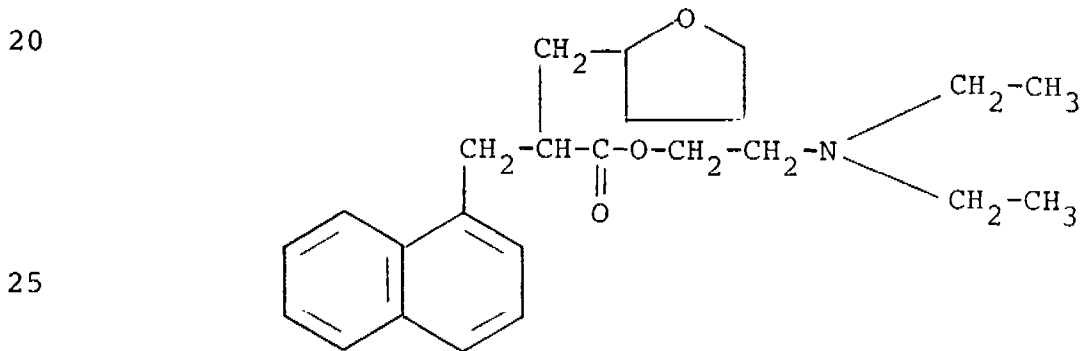
Naftidrofuryylisitraatin valmistusmenetelmä.

Framställningsförfarande för naftidrofurylcitrat.

Kyseinen keksintö koskee menetelmää uuden naftidrofuryylin suolan, naftidrofuryylisitraatin valmistamiseksi; tällä suolalla on käyttökelpoisia toksikologisia, farmakologisia ja kliinisiä ominaisuuksia, jotka ovat hyödyllisiä sen terapeuttista käyttöä ajatellen.

Patenttijulkaisussa FR-M-3843 on käsitelty yleisesti naftidrofuryylisuoloja ja mainittu erityisesti naftidrofuryylifosfaatti, -fumaraatti ja -oksalaatti, joista jälkimmäinen on erityisen käyttökelpoinen ihmisten lääkkeenä sen aineenvaihduntaa ja verenkiertoa edistävien vaikutusten takia. Sillä on myös vasoaktiivisia ominaisuuksia sen pasmo-lyyttisten ja sympatolyttisten vaikutusten takia.

Naftidrofuryyllillä eli 2-etyyliamino-etyyli-3-(naftyyli)-2-tetrahydrofurfuryyli-propionaatilla on seuraava rakennekaava:



Tämä keksintö koskee siis menetelmää paremmat ominaisuuudet omaavan erikoisen (naftidrofuryylisuolan, naftidrofuryylisitraatin valmistamiseksi. Keksinnölle on tunnusomaista, että naftidrofuryyli saatetaan reagoimaan sitruunahapon kanssa.

Seuraavassa esitetään oksalaatin ja sitraatin vertaileva tutkimus; erityisesti niitä verrataan LD₅₀-arvon suhteen hiirillä ja rotilla, koirilla havaittujen perfuusion jälkeisten sydän-hengitysvaikutusten suhteen ja ihmisillä havaitun käyttökelpoisuuden suhteen.

Tämän keksinnön mukaisesti valmistetun johdannaisen käyttökelpoiset ominaisuudet ilmenevät seuraavassa esitettyjen toksikologisten, farmakologisten ja kliinisten tutkimusten tuloksista.

5 I Toksikologinen tutkimus

Kokeet suoritettiin käyttämällä kahta eläinlajia, hiiriä ja rottia, ja käyttämällä kahta annostelutapaa; vatsaintubaatiota ja laskimonsisäistä annostelua.

I.1 Hiirikokeet

10 Kukin annos annosteltiin kahdelle 10:n naaraspuolisen 22-25 g painavan sveitsinhiiren muodostamalle ryhmälle. Molempia naftidrofuryylisuoloja annosteltiin:

suun kautta: suspensiona 5-%:ssa arabikumin vesiliuoksessa ja tilavuutena 20 ml/kg; ja

15 laskimonsisäisesti: 9⁰/oo natriumkloridin vesiliuoksena ja tilavuutena 10 mg/kg. LD₅₀ määritettiin probit-tietokonemenetelmällä.

I.1.1 Annostelu vatsaintuboinnilla

LD₅₀/24 h/kg oli 668,40 mg naftidrofuryylioksalaatille ja 1224,79 mg naftidrofuryylisitraatille.

I.1.2 Annostelu laskimonsisäisesti

LD₅₀/24 h/kg oli 18,40 mg naftidrofuryylioksalaatille ja 22,28 mg naftidrofuryylisitraatille.

I.2 Rottakokeet

25 Käytetty tekniikka oli samanlaista kuin hiirelle on esitetty. Koe-eläimet olivat urospuolisia Wistar-rottia, joiden paino oli 180-210 g. Suun kautta tapahtuvan annostelun tilavuus oli 15 ml/kg ja injeksiolla tapahtuvan annostelun tilavuus oli 2 ml/kg.

30 I.2.1 Annostelu vatsaintubaatiolla

LD₅₀/24/kg oli 2293,44 mg naftidrofuryylioksalaatilla ja 3394,44 mg naftidrofuryylisitraatilla.

I.2.2 Annostelu laskimonsisäisesti

LD₅₀/24 h/kg oli 11,08 mg naftidrofuryylioksalaatilla ja 13,56 mg naftidrofuryylisitraatilla.

Selvä ero on ilmeinen pelkästään näiden yhdistettyjen tulosten tarkastelun perusteella, parhaimman tolerans-

sin ollessa naftidrofuryylisitraatilla. Siten esimerkiksi $LD_{50}/24$ h/kg suun kautta on lisääntynyt tekijällä 83,2 % hiirillä ja tekijällä 48 % rotilla verrattuna naftidrofuryylioksalaattiin.

5 II Farmakologinen tutkimus.

Perfuusion jälkeiset sydänhengityskokeet suoritettiin kymmenellä urospuolisella jäniskoiralla, joiden painot vaihtelivat välillä 13 ja 16 kg.

10 Eläimille annettiin perfuusiolla joko naftidrofuryylioksalaattia tai naftidrofuryylisitraattia konsentraationa $1,5 \text{ mg/kg} \cdot \text{min}^{-1}$ nopeudella 5 ml/min kunnes eläin kuoli. Koeaineet oli aikaisemmin liuotettu 9^o/oo natriumkloridin vesiliuokseen.

II.1 Koemenetelmä

15 Nembutaalilla ja kloraloosilla tapahtuneen anestesian jälkeen verenpaine säädettiin yhtenäisen päävaltimon ja reisivaltimoiden tasolla Statham-tyyppisten painekammioiden kautta.

20 Elektrokardiogrammi rekisteröitiin standardihajonnan DII mukaan ja siten on mahdollista määrittää PR-intervallin pituus ja sydämen nopeus Narco-tyyppisen nopeuden mittauksen jälkeen.

Laskimonpainetta kontrolloidaan kaulalaskimon tasolla Statham-tyyppisellä painekammioilla.

25 Sydämen supistumisen amplitudimuutosten voimakkuutta seurataan vasempaan kammioon yhdensuuntaisesti kammioiden välisen vaon kanssa sidotulla jännitemittarilla.

Kolme verivirtausta määritetään käyttämällä samaa elektromagneettista virtauksen mittaussuomenetelmää:

30 - reisivaltimon ja yhteisen päävaltimon valtimoverivirtaus,

- sydänverivirtaus nousevan rinta-aortan tasolla.

Tässä tapauksessa määritetään parametrit: sydämen työ, systolinen ulostyöntötilavuus ja kokonaisperiferaalinen

35 resistanssi.

Hengityksen frekvenssi ja amplitudi määritetään termoparitutkimuksella, joka on sijoitettu henkitorveen liitosputken ulostuloon.

Kaikki edellä esitetyt parametrit määritetään samanaikaisesti Beckman polygraafin avulla.

II.2 Tulokset

Edellä esitetyissä koeolosuhteissa on ollut mahdollista määrittää naftidrofuryyliksalaattien pienimmät tappavat annokset.

II.2.1 Hengityksen vajausta havaittiin 28 ± 5 mg/kg:n annoksella naftidrofuryyliksalaattia ja 41 ± 4 mg/kg:n annoksella naftidrofuryylisitraattia.

II.2.2 Sydänverenkiertokollapsi seurasi naftidrofuryyliksalaatin annoksella 33 ± 4 mg/kg ja naftidrofuryylisitraatin annoksella 45 ± 3 mg/kg.

Merkittävä ero havaitaan siten naftidrofuryylisitraatin eduksi sekä hengityksen vajeen että sydänkollapsin kohdalla. Tämä koe osoittaa siten naftidrofuryylisitraatin parempaa toleranssia ja parempaa sydän- ja hengitysaktiivisuutta verrattuna naftidrofuryyliksalaattiin perfuusion aikana määritettyjen sydänverisuoniparametrien vaihdellessa siis samaan suuntaan.

Tulisi huomata, että mahdolliset epäluulot ~~testattu-~~ ^{tutkii-}jen molekyylien oksalaatti- ja sitraattiosien spesifisistä vaikutuksista poistamiseksi suoritettiin kontrollikokeet koirilla, joille annosteltiin joko natriumoksalaattia tai natriumsitraattia edellä esitetyissä koeolosuhteissa: perfuusiota jatkettiin 50 minuuttia ilman muutoksia parametreissa samalla kun yksikään joko naftidrofuryyliksalaatilla tai naftidrofuryylisitraatilla annostelluista koirista ei pystynyt kestämaan perfuusiota kauempaa kuin 25 minuuttia.

III Kliiniset tutkimukset

III.1 Tutkimuksen kohde

Tutkimuksen kohteena oli vertailla naftidrofuryyliksalaatin ja naftidrofuryylisitraatin käyttökelpoisuutta ihmiselle; tämä käyttökelpoisuus arvioitiin määrittämällä plasmatasot ja määrittämällä laskimonmukautuminen.

III.2 Materiaali ja menetelmä

III.2.1 Kohteet: Kokeessa käytettiin 12 kohdetta (9 naista ja 3 miestä). Keski-ikä: 52,5 vuotta.

III.2.2 Tutkimuksen kuvaus: Kukin aine annosteltiin suun kautta vähintään 8 päivän välein antamalla joko
 5 naftidrofuryylioksalaattia tai naftidrofuryylisitraattia. Kymmenen tuntia ennen lääkkeen annostelua ja neljä tuntia sen jälkeen eivät koehenkilöt nauttineet ruokaa. Laskimoverinäytteet kerättiin hepriinifluoridiin; naftidrofuryyliplasmatasot määritettiin Fontainen et al. (Bull. Chim.
 10 Thér. 1969, 1, 44-49) menetelmällä ajanhetkellä 0 (ennen annostelua); 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8 ja 12 tuntia jomman kumman naftidrofuryylisuolan annostelun jälkeen. Lisäksi jokaisen puolen tunnin kuluttua koeaineiden annostelun jälkeen määritettiin verisuonen laajennus, jonka aiheuttavat
 15 naftidrofuryylisuolat ja joka seuraa toistetulla dihydroergotamiinin annostelulla aikaansaattua verisuonen supistusta Thébaultin et al. (Comm. World Conference on Clinical Pharmacology and Therapeutics, London, 1980) tekniikan mukaisesti, josta seuraavassa on esitetty yhteenveto:

20 Menetelmä perustuu käden verisuonen halkaisijan optiseen määrittämiseen vakiollisella verentungospaineella. Käden taustan sopivan suonen korkein paikka merkitään kiinamusteella. Koehenkilö, joka pidetään vakiolämpötilaisessa huoneessa, jää makaavaan asentoon ja hänen ylempi raajansa,
 25 joka lepää tasaisella alustalla, muodostaa 30^o kulman vaakatasoon verrattuna, siten että pintaverisuonet ovat täysin kollapsoituneet. Kaksiokulaarinen mikroskooppi, jonka optinen akseli on täysin kohtisuorassa ihon pintaa vastaan, fokusoidaan merkkiin X. Yksi tai kaksi minuuttia
 30 puristimen laittamisen jälkeen laite fokusoidaan ja sopivan pintasuonen katsotaan olevan täysin laajentunut; arvo 100 annetaan sitten mielivaltaisesti suonen halkaisijalle käsittelyn aikana. Tämän jälkeen annostellaan (aika 0) 2 mg:n annos dihydroergotamiinia (DHE) ja 90 minuutin kuluttua (aika 1,5) annostellaan 30 minuutin välein 0,5 mg
 35 annos DHE:a testin kestämän kuuden tunnin aikana. Kyseiset

annokset valittiin aikaisempien kokeiden aikana, siten että voitiin havaita pysyvä veirsuonten supistuminen ilman koehenkilölle aiheutuvia sivuvaikutuksia. Ajanhetkellä 1,5 koehenkilölle annostellaan - yhtenä annoksena kaikki samalla kertaa - joko 300 mg naftidrofuryylioksalaattia tai 300 mg naftidrofuryylisitraattia. Pintaverisuonen halkaisija määritetään puolen tunnin välein 6 tunnin ajan.

III.3 Tulokset

Saadut päätulokset esitetään seuraavissa taulukoissa.

Taulukko I koskee naftidrofuryyliplasmatasoja ja pinta-aloja, jotka jäävät käyrien alle ja taulukko II koskee jäljelle jäävää verisuonen laajenemista prosentteina.

TAULUKKO 1

Naftidrofuryyliplasmatasoja (μ /ml)

Aika (tunnit)	0,5	1	1,5	2	3	4	6	8	12	Pinta-alat käyrien alla
Annosteltu tuote										
Naftidrofuryylioksalaatti	1,22	1,11	0,69	0,58	0,24	0,13	0,05	0,02	0,01	2,56
Naftidrofuryylisitraatti	2,90	2,47	1,68	1,05	0,60	0,42	0,24	0,08	0,02	6,30

Taulukko II

Verisuonen laajeneminen naftidrofuryylioksalaatin tai naftidrofuryylisitraatin annostelun jälkeen

Aika (tunnit)	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	Pinta-alat käyrien alla
Annosteltu tuote														
Naftidrofuryylioksalaatti	0	69	87	61	35	22	13	4	0	0	0	0	0	145,5
Naftidrofuryylisitraatti	0	28	35	48	65	83	91	78	56	39	22	4	0	260,5

III.3. Plasmatasot: Pelkästään tutkimalla taulukon I tuloksia havaitaan, että naftidrofuryyllisitraatti ei ole ainoastaan merkittävästi varteenotettavampi, vaan että se myös leviää ajan mukana koska ajasta riippumatta naftidrofuryyllitaso on aina parempi sitraatilla. Edellä esitetty on varmistettu käyrän alle jäävällä pinta-alalla, jossa kasyu on 146 % jälleen sitraatin eduksi.

III.3.2 Verisuonten laajeneminen (taulukko II):
Tässä on jälleen havaittu merkittävästi varteenotettavammaksi ja aina edullisemmaksi naftidrofuryyllisitraatin käyttökelpoisuus ja lisäksi aivan yllättävästi sen merkittävästi ajan suhteen hidastunut vaikutus: Kun maksimi verisuonten laajeneminen havaitaan aikoina 0,51 h naftidrofuryylioksalaatilla, havaitaan se aikoina 2,5-3 h naftidrofuryyllisitraatilla. Lisäksi pinta-alat verisuonen laajenemiskäyrän alapuolella ilmaistuna %-laajenemisena tuntia kohti on naftidrofuryyllille keskimäärin 145,5 ja naftidrofuryyllisitraatille 260,5.

Edellä esitettyjen kokeellisten tulosten yhdistelmän perusteella on ilmeistä, että:

1 - Toksilogisella tasolla

Naftidrofuryyllisitraatti on merkittävästi paremmin kestäetty kuin naftidrofuryylioksalaatti, koska havaitut LD₅₀-arvot ovat aivan oleellisesti edullisempia naftidrofuryyllisitraatilla.

2 - Farmaseuttisella tasolla

Siedettävyys ja sydän- ja sekä hengitysaktiivisuus ovat myös parempia naftidrofuryyllisitraatilla.

3 - Kliinisellä tasolla

Käyttökelpoisuus, joka on parempi naftidrofuryyllisitraatilla, on määritetty käyrän alla olevan pinta-alan avulla. Sama tulos saadaan myös Thébaultin et al. mukaisella menetelmällä, mutta yllättäen verisuonen laajenemisella on huomattavaa hidastumista ajan suhteen naftidrofuryyllisitraatin tapauksessa, mutta ei naftidrofuryylioksalaatin tapauksessa.

Naftidrofuryylisitraatin toksikologiset, farmakologiset ja kliiniset ominaisuudet osoittavat sen naftidrofuryylioksalaattiin verrattuna siedettävyydeltään paremmaksi, aktiivisuudeltaan paremmaksi ja käyttökelpoisemmaksi ja lisäksi sillä on hidastumista ajan suhteen; naftidrofuryylisitraatti soveltuu näiden tulosten mukaisesti paremmin terapeuttiseen käyttöön kuten esimerkiksi raajojen valtimotulehdusten, Raynaudin taudin ja riittämättömän aivojen verenkierron hoitoon.

10 Esimerkki

Naftidrofuryylisitraatti valmistetaan vapaasta emäksestä sitruunahapon monohydraatin kanssa suolaa muodostavalla menetelmällä seuraavalla tavalla.

15 Sekoitetaan asetonia (2,5 l), etyyliasetaatia (2,5 l), puhdistettua naftidrofuryyliemästä (500 g; 1,30 moolia) ja sitruunahapon monohydraattia (2,74 g; 1,3 moolia), minkä jälkeen seosta refluksoidaan ja sitten jäähdytetään noin 5°C:seen. Syntyvä saostuma suodatetaan ja kuivataan, jolloin saadaan 640 g yhdistettä (saanto: 85 %); sulamispiste noin 84°C.

Tämän jälkeen yhdiste uudelleenkiteytetään seoksesta, jonka tilavuus on 4 l ja joka on asetonin/etyyliasetaatin seos 1:1, jolloin saadaan 590 g yhdistettä (uudelleenkiteytyksen saanto: 92 %). Sulamispiste noin 86°C.

25 Analyysi: $(C_{24}H_{33}NO_3 \cdot C_6H_8O_7)$.

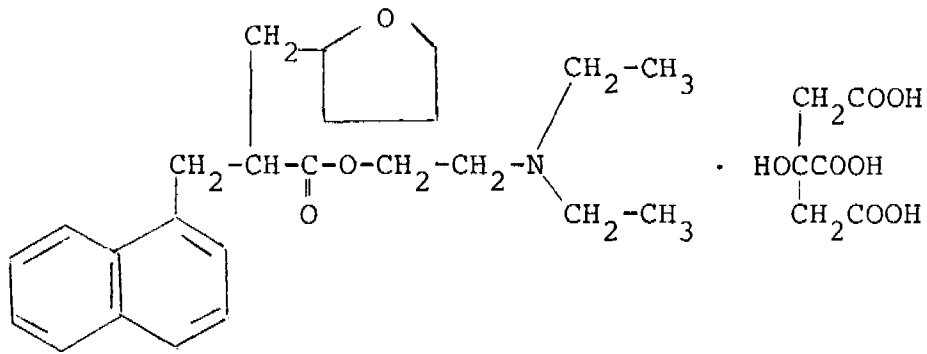
	Laskettu	Havaittu
C	62,59	62,01
H	7,18	7,13
N	2,43	2,48

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisen naftidrofuryylisitraatin valmistamiseksi, jonka kaava on

5

10



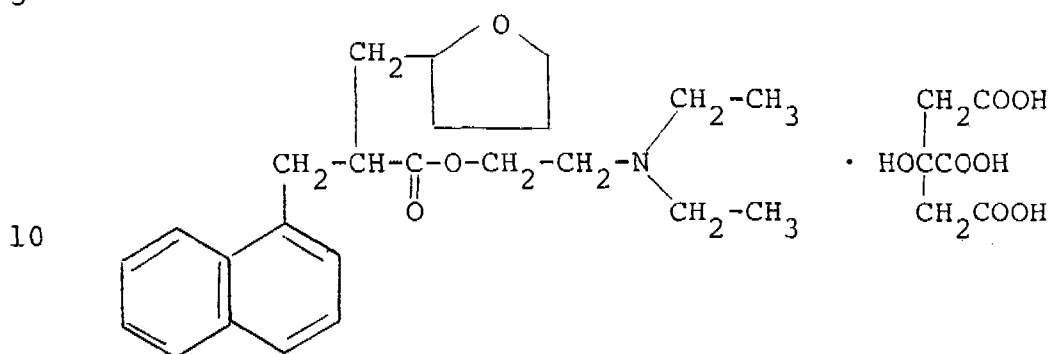
15 t u n n e t t u siitä, että naftidrofuryyli saatetaan reagoimaan sitruunahapon kanssa.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että sitruunahappo käytetään monohydraattina.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av terapeutiskt användbart naftidrofurylcitrat med formeln

5



15 k ä n n e t e c k n a t därav, att naftidrofuryl omsätts
med citronsyra.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att citronsyran används i form av
monohydrat.

L 17

Hak.n:o 82 1664

KYV NÄHT.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar.

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer, utläggnings- och patentskrifter:

FI P 44390 C07C 93/14

CH

DE

DK

FR

GB

NO

SE

US

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksai. Offenlegungsschrift) numeron eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

EP

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Merck Index Rahway, N. J., U.S.A.,
9. painos 1976 sivu 825.

1/10-85

Pekka Salminen

Allekirjoitus