

(19) DANMARK



Patentdirektoratet  
TAASTRUP

(12) PATENTSKRIFT

(11) 169017 B1

(21) Patentansøgning nr.: 1368/87

(51) Int.Cl.5

A 61 K 31/557  
//A 61 K 31/557,  
A 61 K 31:18)

(22) Indleveringsdag: 17 mar 1987

(24) Løbedag: 20 jun 1986

(41) Alm. tilgængelig: 17 mar 1987

(45) Patentets meddelelse bkg. den: 01 aug 1994

(86) International ansøgning nr.: PCT/DE86/00260

(86) International indleveringsdag: 20 jun 1986

(85) Videreførelsesdag: 17 mar 1987

(30) Prioritet: 19 jul 1985 DE 3526362

(73) Patenthaver: \*Schering Aktiengesellschaft; Muellerstrasse 170-178; Berlin und Bergkamen; D-1000 Berlin 65, DE

(72) Opfinder: Claus-Steffen \*Stuerzebecher; DE, Bernd \*Raduechel; DE, Werner Georg \*Witt; DE, Werner \*Skuballa; DE, Helmut \*Vorbrueggen; DE

(74) Fuldmægtig: Chas. Hude

(54) Kombinationspræparat til fælles anvendelse ved behandling af thrombotiske og thromboemboliske sygdomsbilleder indeholdende prostacykliner, analoger heraf eller prostaglandiner (PC/PCA/PG) og thromboxanreceptorantagonister (TXAA), samt anvendelse af PC/PCA/PG og TXAA til fremstilling af et lægemiddel

(56) Fremdragne publikationer

CH pat. nr. 637298

(57) Sammendrag:

1368-87

Kombinationspræparat, der indeholder en prostaglandin (PG), et prostacyclin (PC) eller en prostacyclinanalog (PCA) og en thromboxanreceptorantagonist (TXAA), er egnet til fælles anvendelse til thrombotiske og thromboemboliske sygdomstilstande.

DK 169017 B1

Opfindelsen angår et kombinationspræparat til fælles anvendelse ved behandling af thrombotiske og thromboemboliske sygdomsbilleder med tilstande af forhøjet intravasal blodpladeaktivering og dermed forhøjet blodpladeaggregations- og blodpladeadhæ-  
5 sionstilbøjelighed såvel som forhøjet blodstørkningstilbøjelighed, hvilket præparat indeholder et prostacyclin, en prostacyclinanalog eller en prostaglandin (PC/PCA/PG) og en thromboxanreceptorantagonist (TXAA).

Opfindelsen angår også anvendelsen af PC/PCA/PG i kombination  
10 med en thromboxanreceptorantagonist til fremstilling af præparater til anvendelse ved thrombotiske og thromboemboliske sygdomsbilleder: profylakse og terapi af koronare hjertesygdomme, koronare thromboser, hjerteinfarkt, perifer arteriesygdom, diabetiske karforandringer, arteriosklerose og thrombose,  
15 slagtilfælde, profylakse og terapi af iskæmiske angreb på centralnervesystemet, migræne, behandling af chok, inhibering af bronkokonstriktion og inhibering af mavesyresekretion. Yderligere anvendelsesmuligheder for kombinationen er cytoprotektion af mave- og tarmslimhinde, cytoprotektion i lever, ny-  
20 re og i pankreas, sænkning af pulmonar vaskulær modstand og det pulmonare blodtryk, fremme af nyregennemblødning, anvendelse i stedet for heparin eller som hjælpestof ved dialyse, hæmofiltrering, holdbargørelse af til lagring bestemt blodplasma, især af blodpladeprodukter, inhibering af fødselsveer,  
25 behandling af svangerskabstoksikoser, forhøjelse af den cerebrale gennemblødning etc. Desuden kan kombinationspræparatet anvendes som antiallergikum og som antiproliferativt virksomt stof.

Kombinationen kan f.eks. også anvendes sammen med calciumantagonister, thromboxansyntetasehæmmende midler, typiske antikoaguleringsmidler, såsom heparin, cumarin eller aspirin og tilsvarende virksomme stoffer, med phosphodiesterase-hæmmende stoffer, med angiotensin-converting-enzyme-(ACE)-inhibitorer, med vasodilaterende virksomme stoffer, især med  $\beta$ -receptor-  
35 blokkere, antiflogistika, antipyretika og antiallergika etc.

Det er allerede kendt, at der til behandling af akutte og kroniske thrombotiske og thromboemboliske sygdomme anvendes prostaglandin  $E_1$ , prostacyclin og prostacyclinanaloger [brugsinformation for prostavasin<sup>®</sup> fra Fa. Sanol Schwarz GmbH; Moncada. S., Br. J. Pharmacol. 76/1, 3-31 (1982); Schillinger, E., T. Kraiss, G. Stock, New Drug Annual: Cardiovascular Drugs, Raven Press, i tryk].

Ud over fordelene ved disse behandlingsformer, der består i en stærk hæmning af alle stimulatorer af blodpladeaggregationen, er disse behandlingsformer begrænset af kardiovaskulære bivirkninger, især den udprægede blodtrykssænkning.

Også den i CH-A-637298 beskrevne kombination af aggregationshæmmende stof, antioxidant og/eller thromboxan  $A_2$ -syntetaseinhibitor forårsager en så kraftig blodtrykssænkning, at den endog betegnes som antihypertensivt middel til behandling af højt blodtryk.

Der er for TXAA i de hidtidige kliniske undersøgelser ikke blevet anført tilstrækkeligt bevis for virkningen af dette behandlingsprincip.

At komme til bedre antiaggregatorisk virksomme principper via en plasmaspjelhævning af det endogene prostacyclin i kombination med et TXAA [Chan, C-C., A. Ford-Hutchinson, Europ. J. of Pharmacol. 110, 323-328, (1985)] må betragtes som utilstrækkeligt, især da en doserbarhed og i det hele taget en sikker og reproducerbar hævnning af det endogene prostacyclin ikke er mulig. Derudover har man ved endogent prostacyclin ikke muligheden, som ved anvendelse af syntetisk PC/PCA/PG, at skille prostacyclinets ønskede virkninger fra bivirkninger.

Det har nu overraskende vist sig, at de for PC/PCA/PG typiske bivirkninger og den ikke tilstrækkelige virkning af TXAA undgås eller udlignes, når man anvender PC/PCA/PG og TXAA sammen ved behandlingen af de ovenfor nævnte sygdomsbilleder. Medens

den blodpladehæmmende antithrombotiske og antithrombogenetiske virkning hos begge klasser af virksomt stof gensidigt forstærkes, sker der en formindskelse af de kardiovaskulære bivirkninger af PC/PCA/PG på grund af den ved kombinationen mulige  
5 mængdereduktion af de enkelte virksomme stoffer. Derved forstørres den terapeutiske bredde af de enkelte virksomme stoffer.

Der kan anvendes vægtmængder af prostacyclin/prostacyclinanalog/prostaglandin og af thromboxanreceptorantagonist, som ved  
10 fælles anvendelse er meget nedsat i forhold til de hidtidigt anvendte nødvendige doseringer af de enkelte virksomme stoffer.

PC/PCA/PG og TXAA anvendes kombineret i en dosisenhed eller adskilt og samtidigt eller sekventielt i et vægtforhold fra i  
15 det væsentlige ca. 1:1 til 1:10.000 (f.eks. i samme bærer, i en tablet eller også i en olieagtig opløsning såsom en benzylbenzoat/ricinus-blanding).

Den sekventielle behandling skal tillægges særlig betydning, da man ved sådanne behandlinger, hvor der optræder eller kan  
20 forventes en aftagen af PC/PCA/PG-virkningen (Tachyphylaxie, [Sinzinger, H., S. Reiter, Prostagl. Leukotr. and Medicine 13/3, 281-288 (1984)]), ved skiftevis op- og nedtrappingsbehandling med PC/PCA/PG og TXAA kan forhindre en sådan virkningsformindskelse.

25 Som forbindelser fra prostacyclin-/prostacyclinanalog-/prostaglandinrækken, der egner sig til anvendelse i kombinationspræparatet ifølge opfindelsen, kommer alle de stoffer på tale, som har blodpladeaggregationshæmmende egenskaber og f.eks. er beskrevet i:

30 R.C. Nickolson, M.H. Town og H. Vorbrüggen, Med. Res. Rev. 5 (1985), B.I.R. Whittle og S. Moncada, Progress in Medicinal Chemistry 21, 236 (1984), P.A. Aristoff, Advances in Prosta-

glandin, Thromboxane and Leukotriene Research Vol. 14, 1985, side 309, B. Radüchel og H. Vorbrüggen, Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene Research Vol. 14, 1985, side 263,

- 5 i de europæiske patentansøgninger med offentliggørelsesnumrene 0011591, 0055208, 0069692, 0086404, 0099538, 0119949 såvel som i DE offentliggørelsesskrift 34 08 699 og DE offentliggørelsesskrift 35 10 978.

F.eks. skal nævnes:

- 10 Prostacyclin  $\text{PGI}_2$ ,  
15-cyklopentyl- $\omega$ -pentanor-5(E)-carbacylin (ONO-41 483; Prost. and Med. 10, 53 (1983),  
5-{(E)-(1S,5S,7R)-7-hydroxy-6-[(3S,4S)-3-hydroxy-4-methyl-nona-1,6-diinyl]-bicyklo[3.3.0]-octan-3-yliden}-pentansyre (EP  
15 nr. 0086404),

(5E)-(16S)-13,14-didehydro-16,20-dimethyl-18,18,19,19-tetradehydro-2,3,4-trinor-1,5-inter-m-phenylen-6a-carba-prostaglandin  $\text{I}_2$  (DE offentliggørelsesskrift nr. 3408699),

- 57-{(E)-(1S,5S,6R,7R)-7-hydroxy-6-[(3S,4RS)-3-hydroxy-4-methyl-1-octen-6-inyl]-bicyklo[3.3.0]-octan-3-yliden}-pentansyre  
20 (Iloprost, EP nr. 0011591),

7-{(E)-(1S,5S,6S,7R)-7-hydroxy-6-[(3S,4S)-3-hydroxy-4-methyl-nona-1,6-diinyl]bicyklo[3.3.0]-octan-3-yliden}-5-oxa-heptansyre (EP nr. 0099538),

- 25 (5Z,13E,9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ ,15S)-2,3,4-trinor-inter-m-phenylen-6,9-epoxy-11,15-dihydroxy-15-cyklohexyl-16,17,18,19,20-pentanor]-prosta-diensyre (C G 4305, Arzn. Forsch. 1983, 1240) såvel som det tilsvarende natriumsalt (C G 4203, Drugs Future 9, 494, (1984)),

- 30  $\beta$ -thia-imino-prostacyclin (Hoe 892, Prost. and Med. 10, 231 (1983)),

9-methyl-carbacyclin (J. Org. Chem. 48, 534 (1983)),

5- { (E) - (1S, 5S, 6S, 7R) -7-hydroxy-6- [(3S, 4S) -3-hydroxy-4-methyl-nona-1, 6-diinyl] -bicyklo[3.3.0]-octan-3-yliden} -3-oxa-pentan-syre (EP nr. 0119949),

5 5- { (Z) - (1S, 5S, 6S, 7R) -7-hydroxy-6- [(3S, 4S) -3-hydroxy-4-methyl-nona-1, 6-diinyl] -bicyklo[3.3.0]-octan-3-yliden} -3-oxa-5-fluor-pentansyre (EP nr. 0099538),

7-oxo-16-methyl-18, 19-didehydro-PGI<sub>2</sub> (DE offentliggørelses-skrift nr. 3 035 454),

10 7-oxo-PGI<sub>2</sub> (DE offentliggørelsesskrift nr. 3 035 454),

Prostaglandin E<sub>1</sub>,

6-keto-prostaglandin E<sub>1</sub>,

(5Z, 13E) - (9R, 11R, 15S) -9-chlor-15-cyklohexyl-11, 15-dihydroxy-16, 17, 18, 19, 20-pentanor-5, 13-prostadiensyre (DE offentliggø-  
15 relsesskrift nr. 3 510 978),

17S, 20-dimethyl-trans-2, 3-didehydro-PGE<sub>1</sub> (ONO 1206, Drugs Fu-ture 7, 116 (1982)).

I stedet for de anførte prostansyrer kan deres fysiologisk forligelige salte med uorganiske eller organiske baser, som  
20 f.eks. natriumhydroxid, kaliumhydroxid, tris-(hydroxymethyl)-aminomethan, glucamin, N-methylglucamin, morpholin, lysin, arginin, også anvendes.

Som thromboxanreceptorantagonister kommer alle forbindelser på tale, som har en tilstrækkelig affinitet til thromboxanrecep-  
25 toren og ingen eller i det anvendte dosisområde kun ubetydelig thromboxanagonistisk aktivitet, sådan som de f.eks. er beskrevet i: JP 5017-315; US 4472-586-A; US 4263-207; US 4394-515-A;

US 4282-365; BE-883-713; JP 7093-962; JP 0004-154-A; EP-43-292; EP--82-646-A; DE 3346-047-A; WO 8400-754-A; US 4474-804-A; DE 3401-986-A; DE 3127-343: BE-897-763-A; EP--74-861; AU 8425607-A; EP--78-668; DE 3339-019-A; EP-137-426-A og af N.H.

- 5 Wilson og R.L. Jones i Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene Research 14, 420-423 (1985) såvel som af K. Stegmeier et al. i: Thrombosis Research 35, 379-395 (1984).

F.eks. skal der nævnes:

4-[2-(benzensulfonamido)-ethyl]-phenoxyeddikesyre (BM 13 177)

- 10 [K. Stegmeier et al. i: Thrombosis Research 35, 379-395, 1984].

[1 $\alpha$ (Z), 2 $\beta$ , 5 $\alpha$ ]-( $\pm$ )-7-[5-[[1,1-biphenyl]-4-yl]methoxy]-2-(4-morpholinyl)-3-oxocyclopentyl]-4-hepatonsyre (AH 23848) (Br. J. Pharmac. (1985), 86, 259)

- 15 [1 $\beta$ , 2 $\alpha$ (5Z), 3 $\alpha$ , 4 $\beta$ ]-7-[[2-[(phenylamino)carbonyl]hydrazino]-methyl]-7-oxabicyclo[2.2.1]hept-2-yl]-5-heptensyre (SQ 29.548) (Prostaglandins 29, 785 (1985))

- 4-(4-chlorbensensulfonfylamino)-ethyl-benzen-eddikesyre (BM 13 505) (Intern. Conf. Leukotrienes and Prostanoids in Health and  
20 Disease, Tel Aviv, Oct. 1985, side 10)

- 7-[3-[[[(phenylamino)carbonyl]hydrazonol]methyl]bicyclo[2.2.1]-hept-2-yl]-, [1 $\alpha$ , 2 $\beta$ , (Z), 3 $\alpha$ , 4 $\alpha$ ] (EP 045) og 7-{(1S, 2S, 3S, 4R,)-3-[1-(3-phenylthioureidoimino)ethyl]-bicyclo[2.2.1]heptan-2-yl}-5-heptensyre (EP 092) [begge stoffer beskrevet af  
25 R.A. Armstrong et al. i Br. J. Pharmacol. 84, 595-607, 1985].

Dibenzo[b, f]thiepin-3-methanol, 5,5-dioxid (L 640035) [C-C. Chan i: Europ. J. Pharmacol. 110 (3), 323-328, 1985].

2,7(1H)-isoquinolindisulfonamid, N7-(3-chlorphenyl)-N2-[[7-

[[ (3-chlorphenyl) amino] sulfonyl] -3,4-dihydro-2(1H)-isoquinolin-  
sulfonyl] -3,4-dihydro (SKF 88046) [B.M. Weichman et al. i:  
Prostaglandins Leukotrienes and Medicine 15, 167-175, 1984].

5 PC/PCA/PG anvendes i mængder, der ligger betydeligt under de  
ellers til hæmningen af den intravasale blodpladeaggregation  
anvendte mængder.

Ved anvendelsen af Iloprost som PCA kan man ifølge den fore-  
liggende opfindelse som regel klare sig med 10 til 1000  $\mu\text{g}$ ,  
fortrinsvis med 50 til 250  $\mu\text{g}$  per dag.

10 Applikationen kan f.eks. foregå enteralt eller parenteralt in-  
halativt eller også transdermalt eller lokalt.

Ved den intravenøse infusion af Iloprost behøves f.eks. mæng-  
der fra ca. 50 til ca. 150  $\mu\text{g}$  per dag.

15 Ved den orale applikation anvendes ca. fra 125 til ca. 250  $\mu\text{g}$   
per dag.

En dosisenhed af Iloprost indeholder ca. 100  $\mu\text{g}$  per ml som  
stamopløsning til fortynding i sædvanlige infusionsbæreløs-  
ninger til den intravenøse anvendelse.

20 Til den orale anvendelse indeholder en dosisenhed 25 til 50  
 $\mu\text{g}$ , ved nøleformuleringer eller retardformuleringer 25 til 250  
 $\mu\text{g}$ , som tablet, dragé, kapsel, pille, suspension eller opløs-  
ning, som på sædvanlig måde kan fremstilles med de i den gale-  
niske farmaci almindelige tilsætninger og bærestoffer. Til den  
lokale, topiske eller transdermale anvendelse kommer f.eks.  
25 systemer som hudplastre eller suppositorier på tale.

Der kan i kombinationspræparaterne ifølge opfindelsen også  
anvendes biologisk ækvivalente mængder af andre prostacyclin-  
analoger eller prostaglandiner.

Thromboxanreceptorantagonisterne anvendes i kombinationspræparaterne ifølge den foreliggende opfindelse i mængder, som i reglen ligger under de hidtil i undersøgelser med mennesker anvendte mængder [Riess, H., E. Hiller, B. Reinhardt, C. Bräuning i; Thrombosis Research 35, 371-378, 1984]. Sædvanligvis er 100 - 2000 mg/dag, fortrinsvis 200 - 800 mg/dag, BM 13 177, eller 1 - 100 mg/dag, fortrinsvis 2 - 50 mg/dag, AH23848 eller SQ 29548 eller en biologisk ækvivalent mængde af en anden thromboxanreceptorantagonist tilstrækkelig.

10 TXAA kan f.eks. indgives enteralt eller parenteralt, inhalativt, men også transdermalt eller lokalt.

Til den foretrukne orale applikation kommer især tabletter, dragéer, kapsler, piller, suspensioner eller opløsninger på tale, som på sædvanlig måde kan fremstilles med de i den galeniske farmaci sædvanlige tilsætninger og bærestoffer.

Til den lokale anvendelse kan der f.eks. anvendes transdermale systemer, såsom hudplastre.

En dosisenhed til den orale eller parenterale anvendelse indeholder ca. 50 - 300 mg, som nøleformulering 100 - 1000 mg BM 13 177/dag eller en biologisk ækvivalent mængde af en anden thromboxanreceptorantagonist.

Den fælles behandling med PCA og TXAA foregår, alt efter om det drejer sig om en akut, subakut eller en kronisk sygdomshandelse, over nogle dage til uger og måneder, hvor PCA og TXAA indgives i en dosisenhed eller adskilt og samtidigt eller sekventielt.

De efterfølgende eksempler belyser den galeniske formulering:

## EKSEMPEL 1

Sammensætning af en kombinationstablet.

	%	Mængde/tablet [mg]
5 1. Iloprost (som opløsning i ethanol 50%)	0,01	0,05
2. BM 13 177	50,0	250,0
3. Lactose	34,99	174,95
4. Majsstivelse	10,0	50,0
10 5. Polyvinylpyrrolidon 2500	3,0	15,0
6. Stearinsyre	2,0	10,0
	100 %	500,00 mg

Bestanddelene 3, 4 og 5 sigtes, blandes og granuleres sammen med opløsningen af 1. Efter tørring iblandes 2 og 6 efter hinanden, og pressemassen udpresses til runde tabletter med en diameter på 11 mm.

## EKSEMPEL 2

Sammensætning af en kombinationstablet.

	%	Mængde/tablet [mg]
20 1. Iloprost (som opløsning i ethanol 50%)	0,02	0,05
2. SQ 29 458	4,0	10,0
3. Lactose	65,98	164,95
25 4. Majsstivelse	20,0	50,0
5. Polyvinylpyrrolidon 2500	6,0	15,0
6. Stearinsyre	4,0	10,0
	100 %	250,00 mg

Bestanddelene 3, 4 og 5 sigtes, blandes og granuleres sammen med opløsningen af 1. Efter tørring iblandes 2 og 6 efter hin-

anden, og pressemassen udpresses til runde tabletter med en diameter på 11 mm.

## EKSEMPEL 3

Sammensætning af en kombinationstablet.

5	%	Mængde/tablet [mg]
1. Iloprost (som opløsning i ethanol 50%)	0,02	0,05
2. AH 23 848	1,0	2,5
10 3. Lactose	68,98	172,45
4. Majsstivelse	20,0	50,0
5. Polyvinylpyrrolidon 2500	6,0	15,0
6. Stearinsyre	4,0	10,0
	100 %	250,00 mg

15 Bestanddelene 3, 4 og 5 sigtes, blandes og granuleres sammen med opløsningen af 1. Efter tørring iblandes 2 og 6 efter hinanden, og pressemassen udpresses til runde tabletter med en diameter på 11 mm.

## EKSEMPEL 4

20 Sammensætning af en kombinationstablet.

20	%	Mængde/tablet [mg]
1. Iloprost-Na-salt (opløst i destilleret vand)	0,0104 ( $\cong$ 0,05 mg Iloprost)	0,052
25 2. BM 13 177	50,0	250,0
3. Lactose	34,99	174,95
4. Majsstivelse	10,0	50,0
5. Polyvinylpyrrolidon 2500	3,0	15,0
6. Stearinsyre	2,0	10,0
30	100 %	500,00 mg

Bestanddelene 3, 4 og 5 sigtes, blandes og granuleres sammen med opløsningen af 1. Efter tørring iblandes 2 og 6 efter hinanden, og pressemassen udpresses til runde tabletter med en diameter på 11 mm.

5

## EKSEMPEL 5

Sammensætning af en kombinationstablet.

	%	Mængde/tablet [mg]
1. Iloprost	0,33	1,66
10 som inklusionsforbindelse med $\alpha$ -, $\beta$ - eller $\gamma$ -cyklodextrin 3% (g/g)	( $\cong$ 0,05 mg Iloprost)	
2. BM 13 177	50,0	250,0
3. Mikrokrystallinsk cellulose	35,67	178,34
15 4. Majsstivelse	12,0	60,0
5. Stearinsyre	2,0	10,0
	100 %	500,00 mg

Receptbestanddelene med undtagelse af stearinsyren sigtes og blandes i 15 minutter. Stearinsyre (sigtet) tilsættes og blandes yderligere 3 minutter med de øvrige receptbestanddele. 20 Pressemassen udpresses til runde tabletter med en diameter på 11 mm.

FARMAKOLOGISKE UNDERSØGELSER

1. Thrombocytfunktion in vitro (Human-PRP).  
25 -----  
BM 13 177 (i teksten BM) og Iloprost afprøves med hensyn til deres virkning på thrombocyttaggregationen og thrombocytformændringen (shape change) mod stimulatorerne U 46 619 (9,11-dideoxy,9 $\alpha$ -11 $\alpha$ -methanoepoxy-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , stabil TXA<sub>2</sub>-agonist) og ADP, og IC<sub>50</sub>-værdierne bestemmes. Derefter afprøves i flere uafhængige forsøg virkningen af en kombina- 30

tion af begge stoffer på aggregationen (U 46 619 og ADP) i forskellige koncentrationer; især afprøves kombinationen af lave doser og af doser, der ligger omkring  $IC_{50}$ -værdierne for de to stoffer.

5      Metodik

-----

Blodpladeaggregation og formændring måles som lysoptiske fænomener i stimulerede PRP-prøver (blodpladerigt plasma). Således registreres formændringen som prøvens densitetsforøgelse ved blodpladernes omdannelse fra den diskoide hvileform til en sfærocytform med udvikling af pseudopodieagtige membrandannelser og vises på en skriver. Aggregationen registreres fotometrisk som densitetsformindskelse ved sammenklumpning og "udfældning" af blodpladeaggregater og vises på en skriver.

Resultater

-----

Iloprost hæmmer koncentrationsafhængigt den af U 46 619 inducerede blodpladeaggregation og formændringen.  $IC_{50}$  for aggregationshæmningen er 1,3 - 2,6 nM, og for formændringshæmningen er  $IC_{50}$  0,52 - 1,3 nM.

Den anden bølge af den af ADP inducerede aggregation hæmmes koncentrationsafhængigt med en  $IC_{50}$  på 0,26 - 0,65 nM.

BM 13 177 hæmmer koncentrationsafhængigt den af U 46 619 inducerede blodpladeaggregation og formændringen.  $IC_{50}$  er for aggregationen 1,65 - 6,6  $\mu$ M og for formændringen 1,65 - 3,3  $\mu$ M.

Den anden bølge af den ADP-inducerede aggregation hæmmes koncentrationsafhængigt med en  $IC_{50}$  på 0,33 til 0,66  $\mu$ M.

Kombination af thromboxanreceptorantagonist og Iloprost

Ved kombinationen af BM 13 177 med Iloprost bliver den af U 46 619 inducerede blodpladeaggregation og blodpladeform-  
 ændringen og den anden bølge af den af ADP-inducerede ag-  
 5 gregation ved koncentrationer af begge virksomme stoffer,  
 som ligger i tærskelområdet eller under tærskelområdet,  
 stærkt hæmmet. Hæmningseffekterne af begge virksomme stof-  
 fer forstærkes derved (se tabel).

Tabel

10 Eksempel 1: Aggregation ved hjælp af 100 ng/ml U 46 619.

Virksomt stof	Koncentration	% Hæmning
1 BM 13 177	0,66 $\mu$ M	16%
15 2 Iloprost	0,1 ng/ml	2%
1 + 2		65%

20 Eksempel 2: Formændring ved hjælp af 50 ng/ml U 46 619.

Virksomt stof	Koncentration	% Hæmning
1 BM 13 177	0,66 $\mu$ M	28%
25		

14

2	Iloprost	0,1 ng/ml	ingen hæmning
---	----------	-----------	---------------

---

1 + 2

61%

5 Eksempel 3: 2. bølge af aggregation ved hjælp af  $0,5 \times 10^{-6}M$  ADP.

---

Virksomt stof	Koncentration	% Hæmning
---------------	---------------	-----------

---

10	1 BM 13 177	0,165 $\mu M$	ingen hæmning
----	-------------	---------------	---------------

---

	2 Iloprost	0,1 ng/ml	ingen hæmning
--	------------	-----------	---------------

---

1 + 2

60%

15

2. Intravasal thrombocyttagregation hos narkotiserede rotter.

-----

Metodik

-----

20

Indflydelsen på den intravasale thrombocyttagregation undersøges på urethan-narkotiserede rotter.

25

Collagen ( $100 \mu g/kg$  i.v. bolus) frembringer transitoriske thrombocytopenier (en forbigående nedgang af blodpladekoncentrationen), målt ved kontinuerlig blodprøve fra A. carotis ( $50 \mu l/min$ ) og thrombocytptælling i en Technicon-Autocounter. Som mål for hæmningen af den intravasale blodpladeaggregation tjener ændringen af den collagenindu-

cerede thrombocytopeni (% nedgang) i sammenligning med begyndelsesværdien (= 2. collageninjektion).

#### Resultater

-----

5 Iloprost (0,1 - 0,33 - 1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) hæmmer dosisafhængigt den collageninducerede thrombocytopeni. BM 13 177 hæmmer thrombocytopenien i den laveste dosis (0,5 mg/kg/min) med  $27 \pm 6\%$  (middelværdi  $\pm$  standardafvigelse), en virkning, der ikke kan forøges ved dosisforøgelse (1,0 - 10 2,0 mg/kg/min). Kombinationen af en tærskeldosis af Iloprost (0,1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) med den laveste undersøgte dosis af BM 13 177 (0,5 mg/kg/min) giver en i forhold til enkeltindgivelserne signifikant ( $\alpha = 0,05$ ; Lord-Test) stærkere inhibering på  $45 \pm 2\%$ .

15 3. Mesenterialarteriolethrombose hos narkotiserede marsvin.

-----

#### Metodik

-----

20 Hos narkotiserede marsvin præpareres en mesenterialslange til vitalmikroskopi. Efter elektrisk læsion af en arteriole påføres topisk under kontrolbetingelser og efter stofpåføring ADP, indtil der findes en thrombogene dosis (okklusion på grund af blodpladethrombus).

25 Parameter: Forhøjelse af den thrombogene ADP-koncentration mod begyndelsesværdi; intravenøs infusion af Iloprost, intravenøs injektion af BM 13 177.

#### Resultater

-----

30 Hos elektrisk forud beskadigede mesenterialarterioler hos narkotiserede marsvin forhøjer BM 13 177 (25 mg/kg intra-

venøst) den til udløsning af okkluderende blodpladethromber nødvendige ADP-koncentration signifikant med ca. faktoren 4.

5 Iloprost forhøjer i tærskeldosen på 0,1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  intravenøst den thrombogene ADP-koncentration med faktoren 2,8. Kombinationen af BM 13 177 (25 mg/kg intravenøst) efterfulgt af en intravenøs infusion af Iloprost (0,1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) forhøjer den thrombogene ADP-koncentration med faktoren 12.

10 I en forsøgsmodel for den arterielle blodpladeinducerede thrombose medfører kombinationen af  $\text{TXA}_2$ -antagonisten BM 13 177 og prostacyklinanalogen Iloprost en forstærket antithrombogenetisk virkning.

4. Jugularvenethrombose hos narkotiserede rotter.

15 -----

Metodik

-----

20 Ved belastning af jugularvenen hos urethan-narkotiserede rotter med et til  $-15^\circ\text{C}$  nedkølet metalstempel (200 g, 2 min) beskadiges karrene i forvejen. Den i løbet af 3 timer på dette sted voksende thrombe bestemmes kvantitativt (Hb-indhold bestemt ved fugtig vægt) ved bestemmelser af dens Hb-indhold (forskel mellem beskadiget og ubeskadiget karsegment).

25 Infusionen af teststofferne begynder 15 minutter før beskadigelse af venen og fortsættes indtil forsøgets afslutning.

Resultater

-----

30 Infusionen af Iloprost i en som enkeltindgivelse ikke signifikant virksom dosis (30 ng/kg/min intravenøst) i kombi-

nation med en ligeledes som monoterapi uvirksom dosis BM 13 177 (20 mg/kg intravenøs bolus + 50  $\mu$ g/kg/min intravenøst) giver en signifikant reducereing af thrombernes HB-indhold til værdier hos ubeskadigede kontroldyr.

5 BM 13 177 som monoterapi er i jugularvenethrombosemodellen for rotter ikke antithrombotisk virksom. Kombinationen med en hæmodynamisk og antiaggregatorisk uvirksom dosis af Iloprost undertrykker thrombevæksten fuldstændigt.

5. Blodtryk hos spontant hypertone (SH)-rotter.

10

-----  
 Metodik  
 -----

15 Hos vågne SH-rotter, som har fået implanteret et venekateter til indføring af stof og et arteriekateter til blodtryksmåling, iagttages under infusion af prøvestofferne opførselen af blodtryk og hjertefrekvens.

20 Iloprost indføres ved infusion i en tærskeldosis på 0,3  $\mu$ g/kg/min (20% sænkning af det diastoliske blodtryk) sammen med en høj dosis af BM 13 177, 2 mg/kg/min (se blodpladehæmning in vivo, på 27% hæmning ved 2 mg/kg intravenøs infusion) i 20 minutter (n = 6 dyr).

Resultater  
 -----

25 De af Iloprost bevirkeede hæmodynamiske forandringer, blodtryksfald og stigning af hjertefrekvensen, påvirkes kun ubetydeligt af BM 13 177.

30 Mens den maksimale blodtryks-sænkning på grund af Iloprost ikke påvirkes af BM 13 177, forsvinder denne virkning hurtigere efter afslutning af infusionen ved kombinationsbehandling.

En forøgelse af den blodtrykssænkende virkning af Iloprost ved hjælp af BM 13 177 skal heller ikke forventes ved høje doser af BM 13 177.

## P a t e n t k r a v .

5 -----

1. Kombinationspræparat til fælles anvendelse ved thrombotiske og thromboemboliske sygdomsbilleder, k e n d e t e g n e t ved, at det indeholder prostacyclin, en prostacyclinanalog eller en prostaglandin (PC/PCA/PG) og en thromboxanreceptorantagonist (TXAA).  
10
2. Præparat ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at PC/PCA/PG og TXAA foreligger i et vægtforhold fra 1:1 til 1:10.000.
3. Præparat ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at  
15 PC/PCA/PG og TXAA foreligger i adskilte dosisenheder.
4. Præparat ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at PC/PCA/PG og TXAA foreligger sammen i en dosisenhed.
5. Præparat ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at en PC/PCA/PG-dosisenhed indeholder 25 - 250  $\mu$ g Iloprost= 5-{(E)-  
20 (1S,5S,6R,7R)-7-hydroxy-6-[(E)-(3S,4RS)-3-hydroxy-4-methyl-1-octen-6-ynyl]-bicyklo[3,3,0]-octan-3-yliden}-pentansyre eller en biologisk ækvivalent mængde af en anden PC/PCA/PG.
6. Præparat ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at en TXAA-dosisenhed indeholder 50 - 1000 mg BM 13 177 = 4-[2-(benzen-sulfonamido)-ethyl]-phenoxyeddikesyre eller en biologisk  
25 ækvivalent mængde af en anden TXAA.
7. Anvendelse af PC/PCA/PG og TXAA til fremstilling af et lægemiddel til samtidig, adskilt eller tidsmæssigt trindelt brug ved behandling af thrombotiske og thromboemboliske sygdomsbil-

leder.

8. Anvendelse af PC/PCA/PG og TXAA i en dosisenhed til fremstilling af et præparat til brug ved behandling af thrombotiske og thromboemboliske sygdomsbillede-  
leder.
- 5 9. Anvendelse ifølge krav 7 eller 8, k e n d e t e g n e t ved, at PC/PCA/PG og TXAA foreligger i et vægtforhold fra 1:1 til 1:10.000.
- 10 10. Anvendelse af 25 - 250 µg Iloprost=5-{(E)-(1S,5S,6R,7R)-7-hydroxy-6-[(E)-(3S,4RS)-3-hydroxy-4-methyl-1-octen-6-ynyl]-bicyclo[3.3.0]-octan-3-yliden}-pentansyre som PC/PCA/PG eller en biologisk ækvivalent mængde af en anden PC/PCA/PG til fremstilling af præparater ifølge krav 1.
- 15 11. Anvendelse af 50 - 1000 mg BM 13 177 = 4-[2-benzensulfon-amido)-ethyl]-phenoxyeddikesyre som TXAA eller en biologisk ækvivalent mængde af en anden TXAA til fremstilling af præparater ifølge krav 1.
- 20 12. Anvendelse af PC/PCA/PG og TXAA til fremstilling af et lægemiddel til sekventiel brug til undgåelse af virkningsaftagelsen af blodpladeaggregationshæmningen ved behandling af thrombotiske og thromboemboliske sygdomsbillede-  
leder.