



⑩ A **Terinzagelegging** ⑪ **8204626**

Nederland

⑲ NL

⑤4 **Nieuwe verbinding met analgetische, ontstekingsremmende en muco-regulerende activiteit, de bereiding daarvan en verwante farmaceutische verbindingen.**

⑤1 Int.Cl.: C07C 69/612.

⑦1 Aanvrager: Ausonia Farmaceutici s.r.l. te Pomezia, Italië.

⑦4 Gem.: Ir. H.M. Urbanus c.s.
Vereenigde Octrooibureaux
Nieuwe Parklaan 107
2587 BP 's-Gravenhage.

②1 Aanvraag Nr. 8204626.

②2 Ingediend 29 november 1982.

③2 Voorrang vanaf 10 maart 1982.

③3 Land van voorrang: Italië (IT).

③1 Nummer van de voorrangsaanvraag: 2007382 .

⑥2 - -

④3 Ter inzage gelegd 3 oktober 1983.

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

VO 3069

Titel: Nieuwe verbinding met analgetische, ontstekingsremmende en muco-regulerende activiteit, de bereiding daarvan en verwante farmaceutische verbindingen.

De uitvinding betreft het 2-hydroxy-3-(o-methoxy-fenoxy)propyl-2-(p-isobutyl-fenyl)-propionaat met de formule 1 van het formuleblad.

De ontstekingsremmende activiteit van 2-(p-isobutylfenyl)propion-
zuur of Ibuprofen is bekend. In dit verband kan worden verwezen naar
5 bijvoorbeeld Arch Pharmacodyn. Ther 178, 115 (1969). Hoewel dit
geneesmiddel goede therapeutische eigenschappen bezit, heeft het het
nadeel, dat het de maag kan beschadigen.

Voorts is het bekend, 3-(o-methoxyfenoxy)-1,2-propaandiol
(guaiafenesine) als een expectorans te gebruiken (zie bijvoorbeeld
10 de negende druk van de Merck Index, 4402).

Er werd nu gevonden, dat, terwijl 2-hydroxy-3-(o-methoxy-
fenoxy)propyl-2-(p-isobutyl-fenyl)-propionaat bronchosecretoire en
mycosecretolytische activiteiten heeft, die vergelijkbaar zijn met
gelijke gewichtshoeveelheden guaiafenesine, het tevens analgetische
15 en antipyretische eigenschappen bezit, die in de praktijk gelijk zijn
aan die van Ibuprofen terwijl het duidelijke voordelen bezit wat
betreft de ontstekingsremmende activiteit, welke bij bepaalde proeven
duidelijk sterker is en langer aanhoudt, terwijl de beschadiging
van de maag betrekkelijk gering is.

20 Bovendien heeft de verbinding met de formule 1 een farmacokine-
tisch profiel dat gunstig is vergeleken met Ibuprofen en guaiafenesine,
terwijl ook een duidelijk pulmonair tropisme hierbij optreedt.

De uitvinding betreft dus tevens farmaceutische preparaten met
daarin 2-hydroxy-3-(o-methoxy-fenoxy)propyl-2-(p-isobutyl-fenyl)-
25 propionaat als actief bestanddeel.

Tenslotte betreft de uitvinding een werkwijze voor het bereiden
van dit 2-hydroxy-3-(o-methoxy-fenoxy)propyl-2-(p-isobutyl-fenyl)-
propionaat en wel door 2-(p-isobutyl-fenyl)propionzuur-chloride (2)
om te zetten met 3-(o-methoxy-fenoxy)-propaandiol (3) volgens verge-
30 lijking A van het formuleblad.

Deze reactie wordt bij voorkeur uitgevoerd in aprotische
oplosmiddelen, zoals dichloormethaan, tetrahydrofuran, diëthylether
en bij aanwezigheid van zuur-acceptoren, liefst pyridine of triëthyl-
amine.

35 De reactietemperaturen liggen in het traject van circa 0-60°C.

8204626

De reactie wordt bij voorkeur uitgevoerd bij kamertemperatuur.

Het volgende voorbeeld illustreert een bereidingswijze voor deze verbinding, hoewel dit voorbeeld uiteraard niet beperkend is.

Voorbeeld.

- 5 5 g (0,0229 mol) 2-(p-~~isobutyl~~fenyl)-propionzuur-chloride, opgelost
in 50 cm³ dichloorethaan werd onder mechanisch roeren bij kamertempera-
tuur toegevoegd aan een oplossing van 20 cm³ dichloormethaan met
daarin 3 cm³ pyridine en 4,7 g 3-(o-methoxy-fenoxy)-propaandiol. Dit
mengsel liet men twee uur staan. Na afloop hiervan werd het mengsel
10 gewassen met verdund HCl en de twee fasen werden gescheiden. De
organische fase werd gedroogd met watervrij natriumsulfaat en onder
verminderde druk drooggedampt.

- Het aldus verkregen onzuivere materiaal werd gechromatografeerd
over SiO₂, waarbij eerst werd geëlueerd met petroleum-ether en daarna
15 met petroleum-ether/diethyl-ether 1:1.

- Op deze wijze werd 6,7 g van een zware olie verkregen, die
niet kristalliseerde maar oplosbaar was in gebruikelijke organische
oplosmiddelen, maar niet dissocieerde bij DLC. De structuur van dit
produkt werd bevestigd door de volgende analytische en spectroscopische
20 cijfers.

Elementaire analyse

voor C₂₃H₃₀O₅

ber. (%): C = 71,48; H = 7,82

gew. (%): C = 71,52; H = 7,88

25 IR Spectrum

in vloeistoffilm (cijfers voor de absorptie banden in cm⁻¹):

binding O-H 3600-3200 brede band

binding C=O 1735

binding C=C 1585

- 30 binding C-O 1250

¹H NMR Spectrum

in deuteriochloroform met TMS als referentie (cijfers voor de chemische

verschuivingen van de protonen in δ):

0,9 (d, 6H, $\text{HC}(\text{CH}_3)_2$); 1,5 (d, 3H, $\text{CH}-\text{CH}_3$); 1,9 (m, 1H, $\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 2,45 (d, 2H, $\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 2,7-3,3 (m, 1H, OH variabele); 3,6-4,3 (m, 9H, $\text{OCH}_3-\text{CH}-\text{COO}-$, $\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2$);

5 6,8-7,3 (m, 8H aromaten)

De biologische en farmacologische eigenschappen van het produkt, dat hieronder kortheidshalve als AFP 860 wordt aangeduid, luiden als volgt.

Giftigheid

10 De acute giftigheid werd bepaald bij diverse diersoorten onder toepassing van de methode van Litchfield en Wilcoxon (J. Phar. Exp. Therap., 96, 99-113 (1949)).

De resultaten zijn weergegeven in tabel A.

<u>Tabel A</u>		Species	Admin./	LD ₅₀
15	AFP 860	Muis	per os.	1850
	AFP 860	Rat	per os.	2510
	AFP 860	Konijn	per os.	3300

Ontstekingsremmende activiteit

Carrageenine oedemen.

20 Deze proef werd uitgevoerd bij ratten onder toepassing van de proef, waarbij een subplantair oedeem werd veroorzaakt door carrageenine.

AFP 860 en, ter vergelijking, 2-(p-isobutylfenyl)propionzuur (Ibuprofen) werd oraal toegediend en wel 30 minuten vóór met carrageenine werd geëxperimenteerd en wel in de hieronder weergegeven doses.

25 Wanneer een oedeem optrad werden de dieren in elke groep elke 60 minuten gedurende 5 opeenvolgende uren bekeken om de ontwikkeling van het ontstekingsproces na te gaan.

De verkregen resultaten zijn weergegeven in tabel B en uitgedrukt als oedeem-poot-volumina. Uit de vergelijking tussen de controle-ratten

en de ratten behandeld met AFP 860 blijkt, dat de laatste verbinding een voortreffelijke ontstekingsremmende activiteit bezit, die kan worden vergeleken met die van Ibuprofen onder dezelfde experimentele voorwaarden en doseringen.

Tabel B: Ontstekingsremmende activiteit - Subplantair oedeem veroorzaakt door carrageenine in ratten.

Behandeling	Dosering mg/kg per os	Gem. pootvolume op diverse tijdstippen						oppervlak, absoluut cijfer	% remming vergel. met controles
		0	1	2	3	4	5		
Controles	-	22,5	29,8	36,2	39,9	43,3	43,9	310,6	-
Ibuprofen	100	21,9	27,8	29,3	31,4	32,7	35,3	184,0	40,8
AFP 860	150	22,1	27,1	30,2	31,6	32,2	34,7	176,5	43,2

Tabel C: Pleuris veroorzaakt door carrageenine

Behandeling	Dosering mg/kg per os	Aantal dieren	Uren	Volume	% remming vergeleken met controles	% leukocyten x 1000	% remming verg. met controles.
Controles		10	5	0,95	=	17,540	=
			24	0,83	=	18,320	=
AFP 860	100	10	5	0,54	43,18	5,130	70,75
			24	0,43	48,19	7,190	60,75
Ibuprofen	100	10	5	0,52	45,62	5,380	69,32
			25	0,72	13,25	16,950	7,47

Pleuris veroorzaakt door carrageenine.

De methode volgens Vinegar in Proc.Soc.Exp.Biol.Med.,
143, 3 (1973) werd toegepast.

5 Sprague-Dawley ratten van beide sexen met een gewicht tussen
150 en 200 g werden toegepast. Deze dieren werden verdeeld in
willekeurige groepen en kregen de voorafgaande dag geen eten maar wel
water ad libitum.

De te onderzoeken verbindingen werden oraal 30 minuten vóór de
intrapleurale injectie toegediend en wel in gelijke gewichtsdoses van
10 100 mg/kg. De resultaten zijn weergegeven in Tabel C.

Vergelijking van de resultaten toont aan dat AFP 860 een 43,18%
vermindering van het exudaat veroorzaakt op het vijfde uur na de
behandeling van de dieren en een 70,75% vermindering van het aantal
leukocyten (vermindering in dezelfde orde van grootte als veroorzaakt
15 door de vergelijkingstof in gelijke gewichtshoeveelheden, d.w.z.
45,26% voor het exudaat en 69,32% voor het aantal leukocyten).

Na 24 uren oefende AFP 860 een beschermende activiteit uit,
die aanmerkelijk hoger was dan die van Ibuprofen. AFP 860 leverde nog
een 48,19% vermindering van het exudaatsvolume en een 60,75% verminde-
20 ring van het aantal leukocyten, terwijl de vergelijkingstof het
exudaatvolume slechts met 13,25% en het aantal leukocyten slechts met
7,47% verminderde.

Op basis van deze ontdekkingen en rekening houdende met het feit,
dat de twee geneesmiddelen hoewel in gelijke gewichtsdosering toegediend
25 niet in gelijke molhoeveelheden werden toegediend, alsmede met het aan-
tal leukocyten en het volume van het pleurale exudaat, kan worden ge-
concludeerd, dat de ontstekingsremmende activiteit in absolute termen
en vooral de langere duur bij AFP 860 veel gunstiger waren dan bij
de vergelijkingsverbinding.

30 Dit verhoogde farmacologische effect berust waarschijnlijk op
een pulmonair tropisme bij AFP 860, dat ook bij verdere proeven is
bevestigd.

Spierontspannende activiteit.

Gebruikt werd de methode van Kondziella (1964), waarbij muizen
35 worden opgehangen aan een metalen rooster en het aantal dieren wordt
geteld, dat na meer dan 30 seconden nog aan het rooster hangt. Van de

afgefallen dieren wordt aangenomen, dat hun spieren ontspannen waren.

Een metalen rooster met openingen van 7 mm en een oppervlak van 2 x 2 m werd horizontaal 1½ m van de grond aangebracht. De proefmuizen werden geselecteerd uit diegene, die de dag tevoren zich meer dan 30 seconden hadden kunnen handhaven. Deze werden vervolgens verdeeld in willekeurige groepen van 7 en kregen 1 dag niets te eten. AFP 860 en ter vergelijking mefenesine, beide gesuspenseerd in 1% carboxymethylcellulose, werden per os in doseringen van 150 mg/kg bij AFP 860 en 100 mg/kg bij mefenesine toegediend. Een derde groep muizen werd als blanco genomen en kreeg slechts 1% CMC in gelijke volumina als de muizen die met de geneesmiddelen werden behandeld.

Voor elke muis werden de roosterophangproeven 15 resp 30 minuten na toediening van de geneesmiddelen uitgevoerd, om de tijd van maximale activiteit te bepalen, en vervolgens elke 30 minuten tot het spierontspannend effect volledig was verdwenen, om ook de duur van dit effect te bepalen.

De parameter, gebruikt voor het beoordelen van de resultaten, was het percentage dieren, dat spierontspanning vertoonde, vergeleken met alle behandelde dieren. Zoals blijkt uit Tabel D hadden zowel AFP 860 als mefenesine bij de gebruikte doseringen een duidelijk spierontspannend effect en wel van dezelfde orde, d.w.z. 60% van de dieren vertoonde spierontspanningsverschijnselen, vergeleken met de controles.

Tabel D - Spierontspannend effect van AFP 860 en mefenesine bij de muis (metaalroosterproef)

aantal dieren	geneesmiddelen	mg/kg/os	% dieren met spierontspanning
10	CMC 1%	-	0
10	AFP 860	150	60
30	Mefenesine	100	60

Analgetische activiteit.

Gebruikt werd de kronkelproef waarbij fenykchinon als pijnverwek-

ker werd toegepast (Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 95, 729 (1957). AFP 860 werd oraal in een dosering van 100 mg/kg toegediend en vergeleken met Ibuprofen in dezelfde dosering. De twee geneesmiddelen werden 30 minuten vóór een intraperitoneale injectie van fenylchinon toegediend.

- 5 De voortreffelijke analgetische activiteit van AFP 860, die slechts iets minder was dan die van Ibuprofen bij een gelijke gewichtsdosering, wordt weergegeven door tabel E.

Tabel E - Analgetische activiteit - Fenylchinon- kronkelingen bij muizen

10	Behandeling	Dosis mg/kg os	Gem.aantal kronkelingen	remming vergeleken m. contr.	aantal kronke- lende dieren
	Controles	-	13,2 ± 2,8	-	10/10
	Ibuprofen	100	1,8 ± 0,6	82,26	1/10
15	AFP 860	100	3,9 ± 1,4	70,45	2/10

Antipyretische activiteit.

- 20 Bij deze proef werden mannelijke ratten gebruikt en de methode van Boisser toegepast (Therapie 17, 1225 (1962). Onder toepassing van deze methode werd een hyperthermie verkregen door een subcutane toediening van gist.

Wanneer deze hyperthermie duidelijk was, werden de ratten oraal behandeld met AFP 860 en, ter vergelijking, met Ibuprofen in de hieronder beschreven doses.

- 25 De temperatuursvariaties werden elk uur gedurende vijf opeenvolgende uren na de behandeling opgenomen en zijn weergegeven in tabel F. Onder deze voorwaarden vertoont AFP 860 een zeer goede antipyretische activiteit, die in de praktijk gelijk is aan die van Ibuprofen.

Tabel F - Antipyretische activiteit - Hyperthermie door gist

Behandeling	Dosis mg/kg p.o.	gew. in g	basis	Rectale temperatuur °C				Remming vergeleken met controles
				1 uur	2 uur	3 uur	4 uur 5 uur	
Controles								
hyperthermi- sche dieren	-	183,5	38,4	38,3	38,2	38,0	38,4 37,9	-
Blanco dieren	-	168,7	37,2	37,2	37,6	37,7	37,6 37,7	-
Ibuprofen	100	184,5	38,8	38,0	37,7	37,3	37,5 37,4	119,0
AFP 860	150	186,0	38,4	37,7	37,7	37,5	37,3 37,2	127,0

Maagbeschadigende activiteit.

Ratten, die 18 uren hadden gevast, werden oraal behandeld met AFP 860 en, ter vergelijking, met Ibuprofen, en wel met de hieronder weergegeven doseringen. 5 Uren en 30 minuten na de behandeling werden 5 de dieren gedood en hun magen verwijderd, waarna het maagslijmvlies werd bekeken.

Zoals blijkt uit de in tabel G weergegeven cijfers, was de maagbeschadiging na toediening van AFP 860 aanmerkelijk geringer dan die na toediening van Ibuprofen.

10 Tabel G - Maagbeschadigende activiteit.

Behandeling	Dosis mg/kg/os	Gemiddelde afmetingen (mm) van de zweren
Controles	-	0
Ibuprofen	100	8,7 ± 1,4
15 AFP 860	150	0,8 ± 0,3

Bronchosecretoire activiteit.

De bronchosecretoire activiteit werd bepaald bij Wistar ratten via een orale toediening volgens Mawatari (Kagoshima Daiagaku Igaku-Zasshi, 27, 561 (1976)) en vergeleken met die van guaiafenesine in de 20 hieronder weergegeven doseringen. De resultaten zijn weergegeven in tabel H.

Tabel H. Bronchosecretoire activiteit (techniek van Mawatari)

Verbinding	Toegediende dosering mg/kg/os	aantal dieren	% toename van FINa* vergeleken met de controles
25 AFP 860	500	10	24,5
Guaiafenesine	500	10	20,3

* natrium-fluoresceïne

Bekijkt men de cijfers, dan blijkt, dat AFP 860 een duidelijke bronchosecretoire activiteit bezit, die in de praktijk mag worden beschouwd als gelijk aan die van guaiafenesine indien dit in gelijke gewichtshoeveelheden wordt toegepast.

5. Mucosecretolytische activiteit.

De mucosecretolytische activiteit werd bepaald bij mannelijke konijnen volgens de techniek van Giraldez (Abstr. Comp.Int. Pharm. N: 1086, Parijs 1978) via een orale toediening en een vergelijking van AFP 860 met guaiafenesine in de onderstaande doseringen. De 10 resultaten zijn weergegeven in Tabel I.

Tabel I - Mucosecretolytische activiteit (techniek van Giraldez).

Verbinding	Dosering mg/kg/os	aantal dieren	% toename bronchiale secretie vergeleken met de controles
AFP 860	500	10	32,7
15 Guaiafenesine	500	10	34,4

De verkregen cijfers tonen aan, dat AFP 860 een duidelijke secretolytische activiteit bezit, die vergelijkbaar is met die van guaiafenesine in gelijke gewichtshoeveelheden.

Farmacokinetica.

20 AFP 860 werd toegediend in een dosering van 50 mg/kg per os aan Charles River albino ratten met een gemiddeld gewicht van 200 g. Een tweede reeks ratten werd oraal behandeld met Ibuprofen in een dosering van 27 mg/kg, d.w.z. een equimolaire hoeveelheid. Een derde reeks ratten werd per os behandeld met 27 mg/kg guaiafenesine, d.w.z. 25 eveneens een equimolaire hoeveelheid.

De dieren werden in groepen van drie verdeeld en na 15 minuten, 30 minuten, 1 uur, 2 uur, 4 uur en 6 uur gedood. Ibuprofen en guaiafenesine werden geëxtraheerd en bepaald met hogedruk-vloeistof-chromatografie onder toepassing van een UV-detector bij een golflengte van 30 275 nm. Ibuprofen werd bepaald in de longen van de ratten, die na

30 minuten en 1 uur waren gedood. De plasmaspiegels aan Ibuprofen na de toediening van AFP 860 bleken hoger vergeleken met die na toediening van Ibuprofen zelf. De Ibuprofen piek verscheen gemiddeld na 30 minuten (24 µg/l) na de toediening van Ibuprofen en 1 uur (22,8 5 µg/l) na de toediening van AFP 860. Na het eerste uur waren de Ibuprofen-spiegels hoger na de toediening van AFP 860 dan na de toediening van Ibuprofen zelf, en ze bleven aldus tot na het zesde uur.

Het oppervlak onder de plasmaspiegelkromme (AUC) voor Ibuprofen bedroeg 63,4 µg.ml⁻¹.h na de toediening van AFP 860 en 49,0 µg.ml⁻¹.h na de toediening van Ibuprofen zelf. In de praktijk levert AFP 860 dus een grotere hoeveelheid actieve stof op door zijn betere beschikbaarheid ter plaatse, vergeleken met Ibuprofen en guaiafenesine.

Pulmonair tropisme.

Aangezien de long-concentraties aan Ibuprofen zowel bij ratten, 15 behandeld met AFP 860 en ratten behandeld met Ibuprofen beschikbaar waren, was het mogelijk de verhouding te bepalen aan Ibuprofen tussen de long en het plasma. Deze verhoudingen luiden als volgt:

	Ibuprofen concentratie verhouding tussen long en plasma	
	30 minuten	1 uur
AFP 860	0,5	0,7
Ibuprofen	0,2	0,3

Deze cijfers tonen aan, dat AFP 860 een duidelijk pulmonair tropisme vertoont.

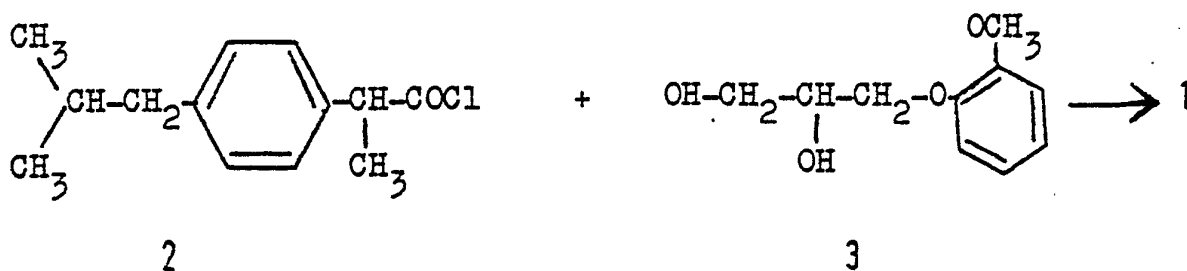
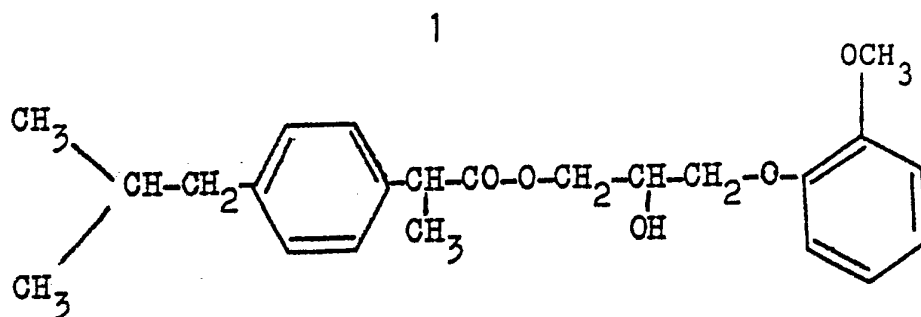
25 De onderhavige verbinding bezit dus een sterke analgetische, antipyretische en ontstekingsremmende activiteit, tezamen met duidelijke effecten als bronchosecretieversterkeren mucosecretolyticum.

Op basis van het bovenstaande kan worden geconcludeerd, dat de verbinding AFP 860 geschikt is als selectief geneesmiddel voor de 30 behandeling van spierontstekingen en diffuse pijnen na ziekten van het influenza-type en als een symptomatolyticum bij kou-infecties, gepaard gaande met acute of chronische catarre-toestanden.

De uitvinding betreft tevens alle industriële toepassingen, die
gepaard gaan met toepassing van AFP 860 als analgeticum, ontstekings-
remmer, antipyreticum en muco-regulerend middel. Voor dit doel bestaat
een belangrijk aspect van de uitvinding uit farmaceutische preparaten
5 met daarin bepaalde hoeveelheden AFP 860, tezamen met hulpstoffen,
excipientia, conserveermiddelen enz., die gewoonlijk in de farmaceutische
technieken worden toegepast. De onderhavige verbinding kan bijvoorbeeld
oraal in de vorm van capsules, suspensies, enkelvoudige dosis-sachets
met granules of rectaal in de vorm van zetpillen worden toegediend.

CONCLUSIES

1. 2-Hydroxy-3-(o-methoxy-fenoxy)propyl-2-(p-isobutylfenyl)-propionaat met de formule 1 van het formuleblad.
2. Farmaceutische preparaten met analgetische, ontstekingsremmende, antipyretische, bronchosecretie-versterkende en mucosecretolytische
5 activiteit, met het kenmerk, dat deze de verbinding volgens conclusie 1 als actieve stof bevatten.
3. Werkwijze voor het bereiden van het 2-hydroxy-3-(o-methoxyfenoxy)propyl-2-(p-isobutyl-fenyl)-propionaat met de formule 1 van het
formuleblad, met het kenmerk, dat men 2-(p-isobutyl-fenyl)-propionzuur-
10 chloride (2) laat reageren met 3-(o-methoxy-fenoxy)-propandiol (3) en wel volgens schema A van het formuleblad.
4. Werkwijze volgens conclusie 3, met het kenmerk, dat de reactie wordt uitgevoerd in inerte oplosmiddelen.
5. Werkwijze volgens conclusie 3 of 4, met het kenmerk, dat de reactie
15 wordt uitgevoerd bij aanwezigheid van zuuracceptoren, zoals pyridine of triëthylamine.
6. Werkwijze volgens conclusies 3-5, met het kenmerk, dat de reactie wordt uitgevoerd bij een temperatuur gelegen tussen ca. 0 en ca. 60°C en liefst bij kamertemperatuur.



8204626