



N° 897.965

Classif. Internat.: A61K/CO7D

Mis en lecture le: 30 -04- 1984

LE Ministre des Affaires Economiques,

Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention;

Vu le procès-verbal dressé le 11 octobre 1983 à 15 h.47
au greffe du Gouvernement provincial d'Anvers

ARRÊTE :

Article 1. - Il est délivré à la Sté dite : LABORATORIOS BAGO S.A.
Bernardo de Irigoyen, 248, Buenos Aires (Argentine)

repr. par Mr. M. Bockstael à Anvers

un brevet d'invention pour: Composition thérapeutique exerçant une activité
anti-agglomération des plaquettes

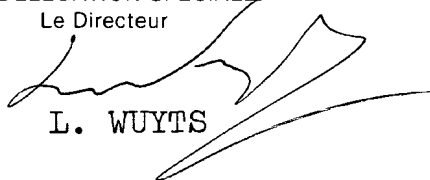
Article 2. - Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.

Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention (mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui de sa demande de brevet.

Bruxelles, le 28 octobre 1983

PAR DELEGATION SPECIALE:

Le Directeur


L. WUYTS

097985

MEMOIRE DESCRIPTIF

déposé à l'appui d'une demande de

BREVET BELGE

formulée par

Société dite : LABORATORIOS BAGO S.A.

pour

"Composition thérapeutique exerçant une activité anti-agglomération des plaquettes"

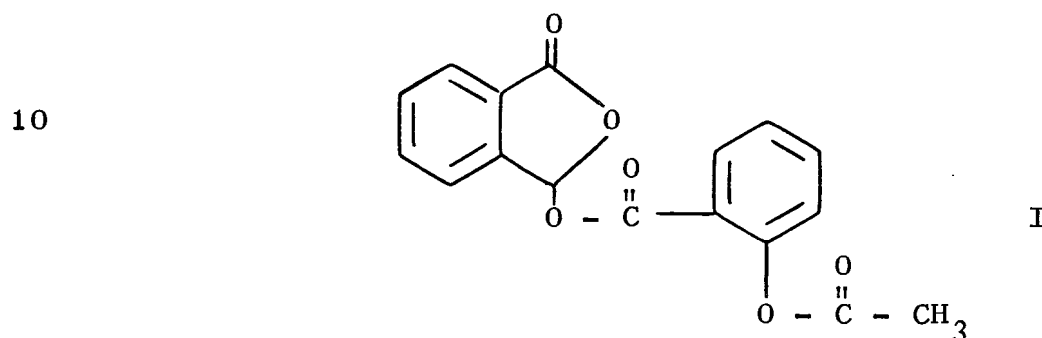
comme

BREVET D'INVENTION.

18

Composition thérapeutique exerçant une activité anti-agglomération des plaquettes.

La présente invention concerne une nouvelle composition thérapeutique exerçant une activité anti-agglomération des plaquettes et comprenant, comme ingrédient actif, l'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-yle de l'acide 2-acétyloxybenzoïque de formule I :



15 Dans la circulation normale du sang, les plaquettes qui s'écoulent dans le flux sanguin, se déplacent séparément. Si l'endothélium des artères ou des artérioles est détérioré, les plaquettes viennent adhérer immédiatement au collagène sous-jacent, puis l'une à l'autre pour former des thrombus. Cette adhérence et cette agglomération sont les causes principales de la thrombose.

En conséquence, on a étudié plusieurs composés dans ce domaine thérapeutique et l'on a introduit, dans le marché des produits pharmaceutiques, des médicaments tels que la ticlopidine, l'aspirine, le dipyramole et la sulfinpyrazone pour le traitement de patients souffrant d'états pathologiques en relation avec la formation de thrombus. Les médicaments mentionnés ci-dessus sont utiles pour le traitement des maladies cardiaques ischémiques (maladies artériosclérotiques des artères coronaires), de même que pour la prévention ou le traitement du thrombo-embolisme post-chirurgical, mais ils exercent également une agressivité gastrique apparentée et, par conséquent, ils sont contre-indiqués

chez les patients atteints d'altérations gastriques ou d'hypersensibilité gastrique. Ils ne pourraient être recommandés pour des traitements à long terme.

5 La présente invention concerne une nouvelle composition thérapeutique contenant l'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-ylique de l'acide 2-acétyloxybenzoïque exerçant une activité anti-agglomération des plaquettes conjointement avec une très faible toxicité et une très faible activité d'ulcération.

10 En conséquence, l'invention décrite ici apporte une amélioration très intéressante dans le domaine thérapeutique mentionné car, outre le fait que l'on peut ainsi envisager un traitement préventif et curatif chez des patients souffrant des maladies
15 décrites ci-dessus, elle peut être adoptée de manière sûre dans des traitements à long terme. Cet effet est indiqué par les études pharmacologiques et toxicologiques décrites dans la présente spécification.

I. ETUDE TOXICOLOGIQUE

20 Cette étude a démontré la faible toxicité et, partant, la sécurité du composé de formule I faisant partie d'une composition thérapeutique pour le traitement d'états pathologiques nécessitant une thérapie d'anti-agglomération des plaquettes.

25 1 - Toxicité aiguë. La dose létale à 50% (DL₅₀) a été déterminée chez des rats "Sprague-Dawley" des deux sexes et pesant 230-260 g. La valeur DL₅₀ de l'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-ylique de l'acide 2-acétyloxybenzoïque administré par voie orale était
30 de 2.340 mg/kg du poids du corps.

2 - Toxicité subaiguë et chronique

Tout au long des essais, il a été démontré que l'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-ylique de l'acide 2-acétyloxybenzoïque ne provoquait ni une réaction
35 locale ou systémique, ni des changements dans les

48

essais témoins biologiques effectués régulièrement.

II. ETUDE DE TOLERANCE GASTRO-INTESTINALE

Cette action a été étudiée suivant deux méthodes :

- 5 1 - Tolérance gastrique. On a adopté les méthodes de Pisanti et Volterra (1969) et de Wilhelm et al (1972). Les composés d'essai ont été administrés en une seule dose au moyen d'une canule stomacale 9, 24 et 31 heures après la privation de nourriture, à des rats "Sprague-Dawley" femelles adultes.

10 Un groupe témoin a reçu de la gomme arabique à 5% dans l'eau à raison de 0,5 ml/100 g du poids du corps. Septante-deux heures après le jeûne initial, on a sacrifié les animaux et on a soumis les estomacs

15 à un examen macroscopique. L'irritation de l'épithélium gastrique a été évaluée d'après une échelle de 0 à 6 conformément au schéma suivant : 0 = pas de lésion ; 1 = une tache hémorragique ; 2 = plusieurs lésions hémorragiques ; 3 = un petit ulcère et/ou

20 plusieurs taches hémorragiques ; 4 = nombreux ulcères et/ou un ulcère marqué ; 5 = deux gros ulcères ou plus ; 6 = ulcères perforés.

COMPOSE	DOSE (mg kg ⁻¹)	VALEUR
Témoin	-	0,10
Ester 3-oxo-1,3-dihydro- isobenzofuran-1-ylique de l'acide 2-acétyloxy- benzoïque	350	0,40
Indométhacine	10	2,42
Aspirine	200	3,26

2 - Ulcération par distension. On a évalué (méthode de Szelenyi et Thiener - 1978) la sensibilité de l'épithélium gastrique au composé de formule I et à d'autres médicaments, de même que l'influence de la distension ultérieure provoquée par un agent agressif (acide chlorhydrique) et une solution saline (témoin). On a administré les composés en une seule dose à des rats "Sprague-Dawley" adultes privés de nourriture pendant 24 heures (poids du corps : 140-200 g). 2, 3 et 5 heures après l'administration des composés, au moyen d'une canule duodénale, on a instillé, chez les animaux anesthésiés, de l'acide chlorhydrique 0,1N ou une solution saline (0,5 ml/100 g du poids du corps). On a ligaturé l'oesophage et le duodénum et l'on a fermé la paroi abdominale. Une heure plus tard, on a procédé à l'ablation des estomacs, on les a ouverts le long de la plus grande courbure et l'on a mesuré les lésions. On a appliqué la classification suivante : pétéchies et érosions < 1 mm = groupe C ; érosions 1-3 mm = groupe B ; érosions > 3 mm = groupe A. On a déterminé l'indice ulcérogène en prenant en considération le nombre de lésions observées, multiplié par un facteur pondérable (groupe A = 3 ; groupe B = 2 ; groupe C = 1) et en établissant ensuite une relation du chiffre obtenu avec le nombre d'animaux. En suivant un procédé analogue, on a déterminé préalablement le volume d'agent agressif utilisé dans cette expérience. Les résultats étaient les suivants :

68

	COMPOSE	DOSE (mg kg ⁻¹)	Indice ulcérogène	
			Solution saline	HCl
5	Témoin	-	4,5	5,6
10	Ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-yle de l'acide 2-acétyloxybenzoïque	350	5,2	15,7
	Aspirine	200	13,9	23,0
	Piroxicam	3	8,5	37,6

15 III - ETUDE D'ANTI-AGGLOMERATION DES PLAQUETTES

1. Action inhibitrice sur l'agglomération des plaquettes du sang.

20 Cette étude effectuée avec du plasma humain a démontré que le composé de formule I exerçait un net effet d'anti-agglomération.

25 Dix-huit sujets volontaires sains ont participé à cette étude. Dix jours avant l'essai, ils n'avaient pris aucun médicament pouvant perturber l'étude. On a prélevé des échantillons de sang par ponction veineuse et on les a mélangés rapidement avec une solution de citrate de sodium. Ensuite, on a centrifugé le sang à 100 G pendant 30 minutes pour obtenir un plasma riche en plaquettes (PRP). Au plasma riche en plaquettes, on a ajouté l'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-yle de l'acide 2-acétyloxybenzoïque (AAO) à une concentration finale de 40 µg/ml dans le plasma, puis on a incubé avec agitation pendant une minute. On a ajouté l'échantillon dans un tube centrifuge réalisé en matière plastique transparente. Dans un autre tube transparent en matière

35

7

plastique (témoin), on a également versé un échantillon de sang ne contenant pas d'agent anti-agglomération. On a ensuite introduit les échantillons dans un agrégomètre. Lorsque la ligne de base de transmission a atteint sa stabilité, on a ajouté l'agent agglomérant. Dans le tube témoin, l'agglomération des plaquettes a provoqué un accroissement de la transmission de la lumière. L'inhibition de l'agglomération des plaquettes par AA0 provoque un accroissement de la transmission de la lumière inférieur à celui du témoin. Les agents agglomérants utilisés étaient l'arachidonate de sodium (2 mM), une suspension de collagène (1 µg/ml) et le diphosphate d'adénosine (ADP) ($2,5 \times 10^{-3}$ mM).

Les résultats étaient les suivants :

Agent agglomérant	Nombre de volontaires	Inhibition, par AA0, de l'agglomération provoquée des plaquettes
Arachidonate	6	% 92,50 ± 3,43
Collagène	7	% 59,75 ± 5,72
ADP	5	% 41,00 ± 10,28

L'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-ylrique de l'acide 2-acétyloxybenzoïque (AA0) a exercé une inhibition efficace de la phase secondaire de l'agglomération des plaquettes en relation avec la libération et la biosynthèse des prostaglandines.

2. Inhibition du thrombo-embolisme pulmonaire provoqué par l'acide arachidonique

L'administration d'arachidonate chez la souris produit une agglomération des plaquettes in vivo, ainsi que des troubles respiratoires provoquant un thrombo-embolisme pulmonaire. Les médicaments qui sont des inhibiteurs de l'agglomération des plaquettes,

réduisent ou permettent d'éviter cette action.

La méthode adoptée était la suivante :

On a préparé de l'arachidonate de sodium en mélangeant des solutions alcooliques d'acide arachidonique avec des quantités stoechiométriques de carbonate de sodium et en diluant à la concentration appropriée avec une solution saline. On a divisé des souris à jeun en un groupe témoin (ayant reçu de l'amidon) et en un groupe expérimental (ayant reçu le médicament). On a administré l'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-ylique de l'acide 2-acétyloxybenzoïque (dans une suspension d'amidon) par gavage deux heures avant l'épreuve à l'arachidonate. Par une lente injection intraveineuse dans la veine caudale de souris mâles (20-25 g), on a administré l'arachidonate (volume : 0,2 ml) à des doses de 1-100 mg.kg⁻¹. On a observé les symptômes de troubles respiratoires chez les souris (cyanose, vitesse respiratoire interrompue, halètement) et l'on a noté la durée de l'effet, de même que le rétablissement (rétablissement du comportement exploratoire ou du réflexe de redressement). En administrant une dose de 1-10 mg.kg⁻¹ d'arachidonate, on n'a observé aucun effet respiratoire. Lorsqu'on a augmenté la dose, des troubles respiratoires se sont manifestés et certains animaux sont morts. En une dose de 100 mg.kg⁻¹, l'arachidonate a provoqué la mort des animaux en 1-3 minutes, ce qui constitue une mortalité de 100%.

Lorsqu'on a préalablement administré l'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-ylique de l'acide 2-acétyloxybenzoïque, les symptômes respiratoires observés ont nettement diminué. C'est ainsi qu'une dose appropriée d'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-ylique d'acide 2-acétyloxybenzoïque a protégé les souris contre l'effet d'une dose de 100 mg.kg⁻¹.

d'arachidonate sans aucune mortalité chez les animaux. Les études toxicologiques et pharmacologiques mentionnées ci-dessus ont démontré la bonne tolérance du composé de formule I et sa remarquable activité anti-
5 agglomération des plaquettes.

La composition thérapeutique contenant l'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-yle de l'acide 2-acétyloxybenzoïque est indiquée pour le traitement des maladies provoquées par une altération
10 pathologique de l'agglomération des plaquettes, par exemple, les maladies thrombo-emboliques. Elle pourrait être utilisée pour prévenir ou guérir ces maladies.

La composition thérapeutique consiste en
15 une forme de dosage unitaire pharmaceutique pour l'administration systémique du composé de formule I. L'expression "forme de dosage unitaire", utilisée dans la présente spécification et les revendications ci-après, désigne des unités physiquement discrètes appropriées comme dosage unitaire pour des sujets mammifères, chaque unité contenant une quantité prédéterminée de l'ingrédient actif, c'est-à-dire le composé de formule I, cette quantité étant calculée pour produire l'effet désiré en combinaison avec les moyens
20 pharmaceutiques requis adaptant cet ingrédient à une administration systémique. Parmi les formes de dosage unitaires suivant la présente invention, il y a, par exemple, les comprimés, les capsules, les suppositoires et les préparations sèches pour la préparation extemporanée dans un véhicule liquide. Les diluants ou les supports solides pour les formes de dosage unitaires pharmaceutiques solides en vue d'une administration par
30 voie orale sont choisis parmi le groupe comprenant les carbohydrates, les protéines et les solides minéraux, par exemple, l'amidon, le sucrose, le kaolin, le phos-

phate dicalcique, le gélatino-acacia, le sirop de maïs, l'amidon de maïs, le talc et analogues. Les capsules, dures et molles, sont formulées avec des diluants et des excipients classiques, par exemple, 5 le talc, le carbonate de calcium, le stéarate de calcium, le stéarate de magnésium et analogues.

On peut obtenir des préparations pharmaceutiques liquides pour administration par voie orale sous forme de préparations sèches pour la préparation 10 extemporanée, ces préparations contenant des agents édulcorants ou aromatisants, des colorants et des agents de mise en suspension tels que, par exemple, la carboxyméthyl-cellulose de sodium, la méthyl-cellulose, l'acacia, la polyvinylpyrrolidone, l'alcool 15 polyvinylique et analogues. Ces préparations doivent être stables dans les conditions de fabrication et de conservation et, outre l'agent de mise en suspension, elles contiennent habituellement des agents de conservation de la nature des agents bactéricides et 20 fongicides, par exemple, les parabens et analogues. Les supports, les véhicules, les diluants, les excipients et les agents de conservation ci-dessus et analogues constituent les moyens pharmaceutiques permettant d'adapter les préparations pour l'administra- 25 tion systémique.

On prépare les formes de dosage unitaires pharmaceutiques conformément à la description générale ci-dessus pour obtenir une quantité efficace d'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-ylique d'acide 2- 30 acétyloxybenzoïque par forme de dosage unitaire en mélange avec le moyen d'adaptation à l'administration systémique. En règle générale, la forme de dosage unitaire contiendra 0,075 à 0,9 g de l'ingrédient actif. On comprendra que le dosage exact du composé 35 de formule I, constituant une quantité efficace pour

le traitement d'un mammifère suivant le procédé de l'invention, peut varier suivant la nature spécifique de l'état clinique à traiter, de la gravité de cet état, de l'espèce du mammifère, de l'âge, du poids et de l'état du mammifère, du mode d'administration de la forme de dosage, ainsi que du composé spécifique de formule I devant être administré. La dose exacte requise pour un cas donné peut être déterminée en administrant une dose d'essai et en observant la réponse clinique. En règle générale, une quantité efficace à administrer se situera dans l'intervalle allant d'environ 1 à environ 50 mg par kg du poids du corps du receveur, par jour. De préférence, on prévoit une dose quotidienne de 2 à environ 12 mg/kg. Dans la plupart des cas, une seule administration assurera la réponse désirée et donnera le résultat souhaité.

EXEMPLE I

On prépare 5.000 comprimés pour utilisation par voie orale, contenant chacun 150 mg du composé de formule I ci-dessus, à partir des ingrédients suivants :

Ingrédient actif	750 g
Amidon (Rx-1500)	150 g
Stéarate de magnésium (Pharmacopée des Etats-Unis d'Amérique)	18 g
Acide silicique colloïdal	10 g
"Avicel" (marque commerciale déposée), pH 102, pour compléter à 1.500 g	

On broie l'ingrédient actif à travers un tamis à ouvertures de 0,25 mm. On fait passer l'ingrédient actif en poudre avec 50% de la quantité totale de stéarate de magnésium à utiliser, l'acide silicique colloïdal et l'"Avicel" (marque commerciale déposée), pH 102, à travers un tamis à 40 mailles, on mélange pendant 20 minutes, puis on forme des cylindres. On désintègre les cylindres en les chassant à travers un

tamis n° 11, on mélange avec le reste de stéarate de magnésium et on forme des comprimés.

5 Un comprimé administré par voie orale une ou quatre fois par jour est utile pour soulager les maladies provoquées par une altération pathologique de l'agglomération des plaquettes.

EXEMPLE II

On prépare 5.000 capsules pour utilisation par voie orale, contenant chacune 75 mg du composé de formule I ci-dessus, à partir des ingrédients suivants :

10	Ingrédient actif	375 g
	Acide silicique colloïdal	30 g
	Stéarate de magnésium (Pharmacopée des Etats-Unis d'Amérique)	30 g
15	Cellulose microcristalline	215 g
	Lactose	100 g.

20 Suivant le pouvoir de l'ingrédient actif, on règle la quantité de lactose pour obtenir un poids de 130 mg pour chaque capsule. On fait passer les ingrédients à travers un tamis à 40 mailles et on les mélange pendant 30 minutes. On remplit des capsules de gélatine dures (gélules) et on les conditionne dans des récipients étanches à l'air et résistant à la lumière.

25 Cette combinaison de matières actives est efficace pour traiter des altérations de l'agglomération des plaquettes chez les êtres humains. La dose est de 1 à 8 capsules administrées par voie orale, suivant la gravité de l'état.

EXEMPLE III

30 On prépare 1.000 suppositoires pesant chacun 3 g et contenant 300 mg du composé de formule I à partir des ingrédients suivants :

	Ingrédient actif	300 g
35	Glycérides naturels hydrogénés	3.000 g.

On ajoute l'ingrédient actif en poudre aux glycérides naturels hydrogénés que l'on a préalablement fait fondre. On agite le mélange et on le maintient à une température de 45-50°C pendant 30 minutes. On
5 verse la suspension dans des moules, puis on la laisse se refroidir et se solidifier.

Ces suppositoires sont utiles pour le traitement d'états pathologiques en relation avec un vice de fonctionnement dans l'agglomération des plaquettes,
10 en administrant une dose de 1 suppositoire deux fois par jour par voie rectale.

REVENTICATIONS

1. Composition thérapeutique exerçant une activité anti-agglomération des plaquettes, cette composition comprenant, comme ingrédient actif et sûr,
5 l'ester 3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-ylique de l'acide 2-acétyloxybenzoïque, ainsi qu'un support thérapeutiquement acceptable.

2. Composition thérapeutique suivant la revendication 1, sous une forme de dosage unitaire, chaque
10 dose unitaire contenant 0,075 à 0,9 g de l'ingrédient actif.

3. Composition thérapeutique exerçant une activité anti-agglomération des plaquettes, substantiellement telle que décrite précédemment.

p.pon de : Société dite : LABORATORIOS BAGO S.A.
Anvers le 11 octobre 1983.

p.pon de : Bureau des Brevets et des
Marques M.F.J. Bockstael S.A.

