



⑫ A **Terinzagelegging** ⑪ **8502100**

Nederland

⑲ NL

⑤4 **Middel voor de behandeling van hypotrofe toestanden.**

⑤1 Int.Cl⁴.: A61K37/02, C07K5/06.

⑦1 Aanvrager: Société Cortial te Parijs, Frankrijk.

⑦4 Gem.: Ir. G.F. van der Beek c.s.
NEDERLANDSCH OCTROOIBUREAU
Joh. de Wittlaan 15
2517 JR 's-Gravenhage.

②1 Aanvraag Nr. 8502100.

②2 Ingediend 22 juli 1985.

③2 Voorrang vanaf 24 juli 1984.

③3 Land van voorrang: Frankrijk (FR).

③1 Nummer van de voorrangsaanvraag: 8411835 .

⑥2 - -

④3 Ter inzage gelegd 17 februari 1986.

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

Middel voor de behandeling van hypotrofe toestanden.

De uitvinding betreft een middel voor de behandeling van hypotrofe toestanden, d.w.z. de toepassing van arginine-asparaginaat voor de bereiding van een geneesmiddel voor de behandeling van hypotrofe toestanden, in het bijzonder groeivertragingen bij kinderen, die een gevolg zijn van een gedeeltelijk afscheidingstekort van groeihormoon. Volgens de uitvinding is het mogelijk dergelijke hypotrofe toestanden te behandelen door herhaalde toedieningen van arginine-asparaginaat.

Arginine-asparaginaat is een bekend produkt. Het wordt bijvoorbeeld beschreven in de Franse geneesmiddel-octrooischriften 1625 M en 106 CAM van 15.9.1961 en 21.12.1964. Dit produkt is het zout dat wordt verkregen door omzetting equimolaire hoeveelheden L-asparaginezuur met L-arginine.

In dezelfde octrooischriften worden fysiologische effecten en een mogelijke werkingswijze van het produkt beschreven, op grond waarvan het werd gebruikt voor de therapie van:

- toestanden van hyperammoniaemie,
- psychische en fysieke asthenie,
- toestanden van involutie van de activiteit en seniliteit.

Tot dusver konden de door toediening van argininezouten teweeggebrachte variaties van de hormoongehalten alleen langs intraveneuze weg worden verkregen en de resultaten waren niet constant. Er bestond bovendien slechts weinig informatie over de effecten van de chronische toediening van arginine en het effect daarvan op de secretie van groeihormoon. Gevonden werd nu, dat het gebruik van arginine-asparaginaat langs orale weg en volgens de bepalingen van een zeer nauwkeurig voorschrift de groeisnelheid van kinderen of van adolescenten, die wat betreft de groei zijn achtergebleven, op belangrijke wijze verhoogt.

- De behandeling betreft in hoofdzaak kinderen of adolescenten met:
- een lichamelijke groeivertraging van minder dan -2,5
 - een vertraging van de botrijping (bot-leeftijd minder dan of gelijk aan de postuurleeftijd)
 - een vertraging van de groeisnelheid (groeisnelheid minder dan 4 cm per jaar)
 - piek-maxima van STH tussen 5 en 10 ng/ml, verkregen tijdens 2 farmacologische stimulatieproeven "insuline-arginine" en "glucagon-propolanolol".

TOXICOLOGISCHE RESULTATEN

Aan de hand van de orale toediening van verschillende, doserings-

8502100

eenheden van arginine-asparaginaat aan Sprague Dawley-ratten of aan Swiss-muizen is aangetoond, dat de letale dosis bij 50% (LD 50) zowel bij de ene als bij de andere soort meer dan 20 g/kg lichaamsgewicht draagt.

- 5 Bij intraperitoneale toediening zijn de LD 50-waarden bij rat en de muis achtereenvolgens:

Soort : LD 50 (g/kg) (95% betrouwbaarheidsgrens)

10	muis : 9,637 (9,381 - 9,90)
	rat : 8,530 (8,178 - 8,896)

Het onderzoek van de subacute toxiciteit is uitgevoerd door orale toediening aan ratten in dagelijkse doses van 1, 2,5 en 5 g/kg gedurende 15 de 4 weken. Er werd geen enkele ontregeling van de biochemische of hematologische balans waargenomen. Anatomisch-pathologisch onderzoek van de belangrijkste organen bracht geen beschadigingen van toxische herkomst aan het licht.

Het onderzoek van de chronische toxiciteit is uitgevoerd bij de 20 beagle-hond. De toediening van arginine-asparaginaat werd langs orale weg uitgevoerd met dagelijkse doses van 1, 5 en 10 g/kg gedurende 6 maanden. Het in een dosis van 10 g/kg toegediende arginine-asparaginaat bracht binnen enkele weken de dood van 2 dieren teweeg. Deze dosis werd teruggebracht tot 7,5 g/kg/dag. Na deze wijziging werd nog in een 25 geval de dood geconstateerd. In het geval van 2 sterke doses werd een duidelijke toename van de frequentie van diarree en de aanwezigheid van een aanzienlijke speekselvloed waargenomen. Er werd geen enkele biologische ontregeling en geen enkele anatomisch-pathologische beschadiging waargenomen; er werd alleen in het geval van hoge doses een lichte neiging tot hyperglycemie gevonden. Aan de hand van een omkeerbaarheids- 30 proef werd aangetoond dat het complex van klinische en biologische symptomen verdween zodra met de behandeling gestopt werd en er manifesteerde zich geen enkel ander verschijnsel van toxiciteit. Over een periode van 6 maanden ligt de onschadelijkheidsgrens bij de beagle-hond 35 tussen 1 en 5 g/kg/dag.

FARMACOLOGISCHE RESULTATEN

Farmacologie bij dieren

Het arginine-asparaginaat dat in een dosis van 100 mg/kg oraal aan mannelijke Wistar EOPS-ratten werd toegediend, bracht een significante 40 vermindering van het gehalte aan groeihormoon in het plasma teweeg.

Terwijl het normale gehalte 104,8 ng/ml bedraagt, wordt deze waarde 66,9, 59,2 en 44,6 mg/ml na achtereenvolgens 45, 60 en 75 min. na de toediening van het arginine-asparaginaat. Het gehalte aan groeihormonen na 75 min bedraagt slechts 42,6% van de normale waarde. Aangezien de
5 reactie van de rat, zoals van alle knaagdieren, tegengesteld is aan die van de mens, is deze significante vermindering van groeihormoon in overeenstemming met een verhoging van het gehalte van dit hormoon, die bij de mens wordt waargenomen.

De in vivo bij de rat verkregen resultaten worden bevestigd door
10 het onderzoek van de directe werking van het arginine-asparaginaat op hypofysaire adenoomcellen GH3 van ratten. Ook daar werd een remming van de secretie van groeihormoon onder invloed van het arginine-asparaginaat waargenomen (vergelijk tabel A).

Tabel A

GH₃-CULTUREN

Controle (ng)	10 ⁻⁷ M		10 ⁻⁹ M		10 ⁻⁷ M		10 ⁻⁹ M		10 ⁻⁹ M	
	arginine-base (ng)		arginine-base (ng)		arginine-asparaginaat (ng)		arginine-asparaginaat (ng)		arginine-asparaginaat (ng)	asparaginezuur (ng)
596 ± 56	419 ± 35 t = 5,17 n = 9 0,001 >2 p		365 ± 14 t = 6 n = 7 0,001 >2 p		402 ± 26 t = 5,49 n = 8 0,001 >2 p		478 ± 49 t = 2,82 n = 9 0,02 >2 p >0,01		649 ± 100 t = 1,63 n = 8 0,2 >2 p >0,1	

Men meet het aantal ng groeihormoon van de rat/mg proteïne/24 uren.

Volgens een ander groei-model, waarbij geen STH wordt gebruikt, is aangetoond dat het asparaginezuur leidt tot een significante toename van de opname van ^{35}S in het kraakbeen van kippe-embryo's terwijl het arginine volgens dit model leidt tot een niet-significante toename (vergelijk tabel B).

8502100

Tabel B

OPNAME VAN ^{35}S IN HET KRAAKBEEN

Controle (cpm)	10^{-7} M arginine-base (cpm)	10^{-9} M arginine-base (cpm)	10^{-7} M asparaginezuur (cpm)	10^{-9} M asparaginezuur (cpm)
62520 $\pm$ 9758	67792 $\pm$ 9817 t = 1,35 n = 17 0,2 > 2 p > 0,1	68346 $\pm$ 10341 t = 1,30 n = 18 0,3 > 2 p > 0,2	72179 $\pm$ 7382 t = 2,41 n = 17 0,05 > 2 p > 0,025	67515 $\pm$ 7033 t = 1,37 n = 17 0,2 > 2 p > 0,1

Het anabole effect werd vastgesteld door onderzoek van de ontwikkeling van de gewichtskrommen van oude ratten met een gewicht van ten minste 450 g, waarbij toediening van arginine-asparaginaat in een dosering van 250 mg/kg/dag gedurende 30 dagen een significante verhoging van het lichaamsgewicht teweeg bracht, betrokken op het gewicht van controledieren, die fysiologische zoutoplossing ontvingen.

Aan de hand van een farmaco-kinetisch onderzoek bij ratten, waarbij een dosis van 0,1 mmol/dier oraal en intraveneus werd toegediend, kon een zeer significante toename van de twee vrije aminozuren in het plasma, de hersenen, de lever en de testikels worden aangetoond.

Klinische farmacologie

De orale toediening van arginine-asparaginaat in een afzonderlijke dosis van 250 mg/kg aan 5 mannen en 7 vrouwen (gezonde vrijwilligers) bracht significante variaties van de secretie van STH, insuline en glucagon teweeg. Aan de andere kant veroorzaakt de toediening van 9 o/oo NaCl onder dezelfde experimentele omstandigheden geen enkele hormonale verandering.

De opname van arginine-asparaginaat doet het gehalte aan STH in het bloed ongeveer in de daaropvolgende 150-180 min. toenemen en deze toename is het meest significant bij de vrouwen.

Hetzelfde is het geval bij de secretie van insuline en van glucagon, die onafhankelijk van de drempelwaarde toenemen, maar waarbij het effect veel eerder optreedt (vanaf 15 min. voor het insuline en van 30-60 min. voor het glucagon).

Bij orale toediening brengt het arginine-asparaginaat, zelfs in lage dosis, dus een secretie van STH, insuline en glucagon teweeg zoals een intraveneus infuus van arginine dat ook doet. De invloed van het geslacht wordt eveneens teruggevonden bij de bevorderende rol, die oestrogenen spelen.

De doseringseenheid van 250 mg/kg is bij de mens gekozen op grond van de eerder aan dieren toegediende doses. Vervolgens is gebleken, dat voor het manifest worden van het therapeutische effect een hogere dosering (een orde van grootte van 500 mg/kg) nodig is, wat meer in overeenstemming is met de doses aan arginine, die gebruikelijk waren bij de onderzoekingen van het vermogen tot secretie van STH van de hypofyse.

THERAPEUTISCHE RESULTATEN

Deze hebben betrekking op 10 kinderen, waarbij een groeivertraging was opgetreden die te wijten was aan een partiële somatrote deficiëntie en beantwoordde aan het boven gedefinieerde samenstel van criteria.

8502100

Deze 10 kinderen ontvingen gedurende 3 maanden elke dag s'avonds voor het slapen een enkele dosis arginine-asparaginaat van ongeveer 500 mg/kg.

De klinische doservatie omvatte:

- 5 - het vaststellen van de groeisnelheid in centimeters (3 maanden voor de behandeling en na toediening van het produkt gedurende 3 maanden)
- het vaststellen van de botleeftijd op dezelfde tijdstippen.

De biologische doservatie omvatte het meten van de fysiologische STH-piek tijdens de slaap voor en na de behandeling.

- 10 De resultaten worden weergegeven in tabel C.

Tabel C

Namen	nr.	eerste test piek HGH ng/ml	tweede test piek HGH ng/ml	Groeisnelheid cm/3 maanden voor de behandeling	Groeisnelheid cm/3 maanden eind eerste A.A.-kuur	Botleeftijd voor de behandeling	Botleeftijd aan het eind van de eerste A.A.-kuur	HGH slaap voor de behan- deling	HGH slaap aan het eind van de eerste A.A.-kuur
-------	-----	--	--	---	---	---------------------------------------	---	---	--

AB... Mustapha 20.10.65 ♂	1	6,5	4,7	1	1	12,5	13	9	34,4
BA... Severine 9.11.72 ♀	2	4,1	4,7	0,5	1,5	4,5	5	7,5	40
DA... Alexia 25.01.69 ♀	3	4,1	9,2	1	2,5	9	9	11,4	7,9
MA... J.M. 15.07.64 ♂	4	7,6	8,9	1	3	13	13	3,5	31,8
ME... Stephane 20.01.68 ♂	5	5,2	9,6	1	3	10,5	11	10,9	15,7
OR... Sylvie 12.09.64 ♀	6	7,4	9,3	1,5	1,5	10	10,5	7,9	25,3
RI... J.M. 9.11.65 ♂	7	6,3	6,1	1	2	13	13	15,4	40
CA... Chantal 8.08.67 ♀	8	1,2	12,5	1	1	10,5	11	9,4	17,9
DE... Nicolas 28.01.75 ♂	9	5,9	7,6	1	1,5	2	2,5	9,1	18,6
CH... Cyril 3.11.72 ♂	10	7	10	1	2	5	5	9,4	16
resultaten		5,53 ± 1,86	8,26 ± 2,36	1 ± 0,22	1,9 ± 0,7	9 ± 3,67	9,3 ± 3,62	9,35 ± 2,88	24,76 ± 10,65

♂ niet gewogen

t = 3,673
0,001 < p < 0,01

t = 3,75
0,001 < p < 0,01

t = 4,09
0,001 < p < 0,01

Het arginine-asparaginaat blijkt dus bij orale toediening secreties van hormonen te kunnen stimuleren, zoals STH en insuline, bij personen, waarbij een gedeeltelijke deficiëntie aanwezig is, waarbij zo de effecten van deze hormonen op het algemene metabolisme van het organisme en op diverse fysiologische functies, zoals bijvoorbeeld de groei, worden genormaliseerd.

Volgens de onderhavige uitvinding kunnen dus behandelingen voor anabole doeleinden op lange termijn worden overwogen, die niet langs veneuze weg toegepast kunnen worden. De uitvinding is ook bestemd voor kinderen, die lijden aan groeivertragingen, die te wijten zijn aan een partiële deficiëntie van de secretie van STH, aan hypotrofe toestanden, onafhankelijk van de leeftijd en onafhankelijk van de oorzaak, d.w.z. alle syndromen, waarbij het nodig is het eiwit-anabolisme weer op gang te brengen.

De doelmatige dosis aan arginine-asparaginaat bedraagt ongeveer 500 mg/kg in een enkele dosis per dag gedurende 3 maanden. Het innemen van het produkt geschiedt bij voorkeur op het moment van het slapen gaan, zo laat mogelijk na het avondmaal.

Conclusies

1. Toepassing van arginine-asparaginaat voor de bereiding van een geneesmiddel voor de behandeling van hypotrofe toestanden, in het bijzonder groeivertraging bij kinderen.
2. Werkwijze ter bereiding van een geneesmiddel voor de behandeling van hypotrofe toestanden, in het bijzonder groeivertraging bij kinderen, met het kenmerk, dat men arginine-asparaginaat in een voor orale toediening geschikte vorm brengt.
3. Geneesmiddel voor de behandeling van hypotrofe toestanden, in het bijzonder groeivertraging bij kinderen, omvattende arginine-asparaginaat in voor orale toediening geschikte vorm.
4. Werkwijze voor de behandeling van hypotrofe toestanden, in het bijzonder groeivertragingen bij kinderen, met het kenmerk, dat men een dagelijkse dosis arginine-asparaginaat oraal toedient.
5. Werkwijze volgens conclusie 4, met het kenmerk, dat men de dagelijkse dosis in een keer op het moment van het slapen gaan en zo laat mogelijk na het avondmaal toedient, waarbij deze dosis gedurende 3 maanden elke dag in een hoeveelheid van 500 mg/kg wordt toegediend.

+++++++