

405393



Int. Cl.: A61K, A61J 405393

## MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un...<sup>a</sup>

### PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: BEECHAM GROUP LIMITED

RESIDENCIA: Beecham House, Great West Road,

BRENTFORD, Middlesex, Inglaterra

ENUNCIADO: "UN METODO PARA LA PREPARACION DE UNA COM  
POSICION FARMACEUTICA ADECUADA PARA USO  
EN EL TRATAMIENTO Y/O PROFILAXIS DE ESTA  
DOS ALEGICOS".

Prioridad: Patente Británica n.º 36379/71 del 3-8-71

RJ.

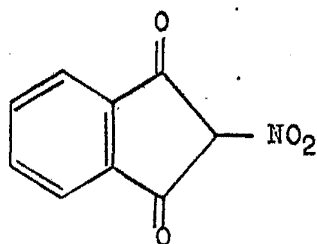


1           Esta invención se refiere a composiciones farmacéu-  
ticas que son útiles en la inhibición de los efectos de cier-  
tos tipos de reacciones antígeno-anticuerpo y, por lo tanto,  
son útiles en la profilaxis y tratamiento de las enfermeda-  
5           des asociadas con las reacciones alérgicas o inmunológicas,  
por ejemplo ciertos tipos de asma y fiebre del heno y tam-  
bién en el tratamiento de la rinitis y bronquitis.

          De acuerdo con esta invención, se proporciona una com-  
posición farmacéutica que comprende como ingrediente activo  
10           2-nitroindan-1,3-diona o una sal de la misma farmacéutica-  
mente aceptable y uno o más vehículos farmacéuticamente acep-  
tables, encontrándose dicha composición en una forma adecua-  
da para la administración a los seres humanos.

          Las sales de 2-nitroindan-1,3-diona comprenden las  
15           sales de metales alcalinos, v.g. sodio o potasio y las sales  
con bases orgánicas como aminas o aminoderivados.

          El compuesto 2-nitroindan-1,3-diona tiene la fórmu-  
la estructural:



20           y es un compuesto conocido. En el pasado, ha sido utilizado  
en química preparativa y en química analítica (donde su prin-  
25           cipal aplicación ha sido en la formación de sales cristali-  
nas con bases orgánicas y aminoácidos). Que nosotros sepa-  
mos, no se ha indicado ninguna forma de actividad biológica  
útil para el compuesto o sus sales y, por lo tanto, nunca ha  
30           sido incorporado a las composiciones farmacéuticas.

405393



1 Sin embargo, para colocar esta invención en la pers-  
pectiva adecuada, quizá deba mencionarse que se sabe que al-  
gunos otros compuestos que son derivados de indandiona po-  
seen actividad anticoagulante. No se encuentra nada en la  
5 bibliografía publicada que pueda conducir a sospechar que  
la 2-nitroindan-1,3-diona presentaría los efectos inhibito-  
rios ahora observados.

La composición de esta invención puede ser presenta-  
da como polvo microfino para insuflaciones, por ejemplo para  
10 aspirar o en cápsulas de gelatina dura. También puede ser  
presentada junto con un vehículo líquido estéril para inyec-  
ción. La composición de este invento es eficaz cuando se  
administra oralmente y en estos casos la composición puede  
estar en forma de tabletas, cápsulas o jarabes. Preferible-  
mente, las composiciones de este invento se presentan en for-  
18 ma de dosis unitarias o en una forma en la que el paciente  
pueda administrarse una dosis unitaria única. Si se desea,  
puede incorporarse a las composiciones de esta invención una  
pequeña cantidad de un compuesto broncodilatador como la  
isoprenalina, tanto para inhibir la respuesta tusiva si la  
20 composición es insuflada como para proporcionar el alivio in-  
mediato durante un ataque de asma.

La dosis efectiva de 2-nitroindan-1,3-diona neces-  
ria en la profilaxis del asma, por ejemplo, puede variar se-  
gún el estado del paciente. Sin embargo, es eficaz una do-  
25 sis diaria comprendida entre 8 y 12 mg/kg de la 2-nitroindan-  
1,3-diona (o del equivalente de 8 a 12 mg/kg si se emplea  
una sal). Para un ser humano adulto medio, esto asciende a  
una dosis diaria de 400 a 700 mg.

30 La naturaleza exacta del vehículo farmacéutico utili-

40539331



1 zado en las composiciones de esta invención carece de impor-  
tancia. Puede seguirse la práctica farmacéutica habitual en  
la formulación de los compuestos de esta invención, pero  
quizá conviene observar que si la composición ha de ser ad-  
5 ministrada por insuflación, se prefiere un polvo microfino  
en el que prácticamente la totalidad de las partículas tie-  
nen diámetros inferiores a 50 micras. Por ejemplo, en la  
preparación de estos compuestos, la 2-nitroindan-1,3-diona  
puede ser mezclada con un vehículo sustancialmente no hi-  
10 grosópico como la lactosa o el manitol y la mezcla resultan-  
te puede ser granulada y micronizada para dar un polvo en  
el que por lo menos el 90 % en número de las partículas  
tienen unos diámetros inferiores a 5 micras. El polvo pue-  
de ser después introducido en cápsulas perforables de gela-  
15 tina dura para uso en dispositivos de insuflación como los  
descritos en las memorias de las patentes inglesas números  
1.182.779 y 1.122.284.

Los siguientes ejemplos ilustran esta invención.

EJEMPLO 1

Preparación de sal disódica de 2-nitroindan-1,3-diona

20 Se suspenden 38 g de 2-nitroindan-1,3-diona en 100 ml  
de agua y se añaden a una solución de 8 g de hidróxido só-  
dico en 100 ml de agua. La mezcla se agita hasta que es  
transparente y después se deja en reposo durante la noche  
25 a 5°. Se forman cristales amarillos que se separan por fil-  
tración, se lavan con un poco de agua y se recristalizan  
disolviéndolos en agua hirviendo y dejando enfriar, repi-  
tiéndose las recristalizaciones hasta que se obtiene un só-  
lido que forma una solución neutra en agua. El sólido final  
30 se seca a vacío sobre pentóxido de fósforo para dar la sal

405393<sup>31</sup>



1       sódica de 2-nitroindan-1,3-diona (27 g), p.f. >300°. (En-  
contrado: C, 50,4; H, 1,9; N, 6,6; Na, 10,7; C<sub>9</sub>H<sub>4</sub>NNaO<sub>4</sub> re-  
quiere: C, 50,7; H, 1,9; N, 6,6; Na, 10,8 %).

EJEMPLO 2

5       El compuesto 1,3-bis(2-carboxicromon-5-iloxi)-2-hidro-  
xipropano (nombre aprobado cromoglicato disódico) es uti-  
lizado actualmente para la profilaxis y tratamiento del  
asma y está siendo recomendado para el tratamiento de la  
rinitis. Produce muy pocas reacciones farmacológicas, pero  
10       el efecto principal de la droga que ha sido demostrado es  
que si se encuentra presente en un sistema cuando se utili-  
za un antígeno para atacar las células, que han sido previa-  
mente sensibilizadas con un anticuerpo reagínico, entonces  
reduce la liberación de materiales como histamina, que son  
15       responsables de la mediación en las reacciones alérgicas.  
En los sistemas in vitro e in vivo descritos más abajo uti-  
lizados para demostrar ésto, la 2-nitroindan-1,3-diona ha  
resultado por lo menos tan activa como el cromoglicato disó-  
dico. En el sistema in vivo, la 2-nitroindan-1,3-diona es  
20       eficaz durante más tiempo que el cromoglicato disódico y es  
efectiva cuando se administra por vía oral.

a) Ensayo de anafilaxis cutánea pasiva en ratas (ACP)

25       El ensayo in vivo utilizado para comparar el cromogli-  
cato disódico con la 2-nitroindan-1,3-diona fue el ensayo  
cutáneo pasivo en ratas. Se utilizaron siempre unas ratas  
macho Carworth Wistar, de 250-300 g.

i) Producción de suero conteniendo anticuerpo homocitotró-  
pico

30       El suero conteniendo anticuerpo con propiedades simi-  
lares a la reagina humana fue criado en ratas por un método

405393



1 similar al descrito anteriormente (I. Mota, Life Science,  
1963, 12, 917-927).

5 Las ratas fueron inyectadas intraperitonealmente con  
vacuna Bordatella pertussis (0,5 ml conteniendo  $40 \times 10^9$   
organismos muertos por mililitro) e inyectadas subcutánea-  
mente con una emulsión de albúmina de huevo (0,5 ml de solu-  
ción al 5 %) en coadyuvante de Freund incompleto.

10 Al cabo de 18 días se recogió la sangre de las ratas  
por punción cardíaca. Se separó el suero y se almacenó a  
-20° hasta su utilización.

ii) Anafilaxis cutánea pasiva (véase J. Goose y A.M.J.N.  
Blair, Immunology, 1969, 16, 749-760)

15 Se prepararon 6 diluciones seriadas del suero desde  
1/4 a 1/128 en solución salina al 0,9 %. Cada una de las  
diluciones (0,1 ml) fue inyectada intradérmicamente en pun-  
tos distintos situados sobre la superficie dorsal afeitada  
de una rata. Setenta y dos horas más tarde, las ratas fue-  
ron tratadas por inyección intravenosa de una solución de  
20 albúmina de huevo (0,3 ml de una solución al 1 % preparada  
en salmuera al 0,9 %) previamente mezclada con una solu-  
ción de azul cielo de pontamina (0,2 ml de solución al 5 %).  
La composición de albúmina de huevo con un anticuerpo simi-  
lar a la reagina de esta especificidad en el punto de la  
inyección de esta última, produjo una serie compleja de  
25 reacciones que condujeron a la dilatación capilar y extra-  
vasación del colorante azul observado como cardenal azul.  
Las ratas fueron sacrificadas 20 minutos después de ser  
atacadas por inyección de Euthatal. Entonces se midieron  
los diámetros de los cardenales azules en milímetros.

30 Se determinó la capacidad de los compuestos para re-

405393



ducir el diámetro de los cardenales azules. Los compuestos  
 bajo ensayo fueron administrados antes del ataque por la  
 vía indicada, a los tiempos antes del ataque indicados en  
 la Tabla I. La 2-nitroindan-1,3-diona fue administrada en  
 forma de sal sódica en agua, es decir, neutralizada con  
 $\text{NaHCO}_3$ .

TABLA I

Actividades de la sal sódica de 2-nitroindan-1,3-diona (NID)  
y del cromoglicato disódico (DCG) en el ensayo AGP en

ratas

Dosis mg/kg	Vía de ad- ministración	Tiempo entre la dosificación y el ataque, min.	% de inhibición de la respuesta AGP	
			NID	DCG
3	subcutánea	0	15	14
5		38	24	
7		40	60	
10		36	49	
14		74	79	
20		88	83	
50 para NID 40 para DCG	subcutánea	0	100	65
		10	66	84
		20	43	42
		30	49	26
		40	34	9
		50	36	0
		60	26	-16
		120	-15	-22
100	oral	0	23	-17
		10	66	
		15	48	
		20	43	
		30	71	- 6
		40	34	
		45	42	
		50	36	
	60	26		
		120	15	

En la Tabla I, la actividad de la droga viene expre-  
 sada en función de su capacidad para reducir el tamaño de  
 los cardenales azules como porcentaje de inhibición de la  
 respuesta en el grupo de control de ratas. El porcentaje  
 de inhibición se calcula utilizando los resultados obteni-

405393<sup>1</sup>



1 dos en los puntos de las dos diluciones más bajas de anticuer  
po a las cuales todos los controles son positivos. Estos re-  
sultados son sumados para el control y los grupos de ensa-  
5 po (habitualmente 6 ratas en cada grupo) y la media del gru-  
po de ensayo es expresada como porcentaje de la media del  
grupo de control. La cifra obtenida se resta de 100 y los  
resultados son expresados entonces como % de inhibición.

$$\% \text{ de inhibición de la respuesta ACP} = 100 \left(1 - \frac{a}{b}\right)$$

10 a es la media de la suma de los diámetros de los cardena-  
les del grupo de animales de ensayo, utilizando solamen-  
te los cardenales producidos a las diluciones más bajas  
de antisuero a las que todos los controles son positi-  
vos.

15 b es la media de la suma de los diámetros de los cardena-  
les del grupo de animales de control, utilizando sola-  
mente los cardenales producidos a las diluciones más ba-  
jas de antisuero a las cuales todos los controles son po-  
sitivos.

20 b) Pulmón humano cortado sensibilizado pasivamente

El método in vitro utilizado para comparar el cromog-  
licato disódico con la sal sódica de 2-nitroindan-1,3-dio-  
na es una modificación del descrito por: Sheard, P., Killings-  
back, P.G., y Blair, A.M.J.N., Nature, Lond., 1967, 216,  
283; Sheard, P., y Blair, A.M.J.N., Int. Arch. Allergy Appl.  
25 Immun. 1970, 38, 217.

30 Se utilizó un tejido de pulmón humano fresco de las  
zonas aparentemente no afectadas de tejido recogidas de pa-  
cientes que han sufrido cirugía por carcinoma. Dentro de  
1 hora después de la extirpación del paciente, el tejido  
fue colocado en una solución de Tyrode previamente bien oxi-

405393<sup>1</sup>



1 genada (solución de Tyrode de la que se han omitido los  
iones de calcio y magnesio) a 5°. Tan pronto como es posi-  
ble después, las membranas de la pleura y el tejido duro  
son separados de la muestra y el tejido blando restante se  
5 corta en una cortadora mecánica en trozos de 1 mm cuadrado  
aproximadamente.

Se pierde el menor tiempo posible. El pulmón cortado  
se suspende en solución Tyrode incompleta continuamente oxi-  
genada. Después se separa el tejido por filtración suave y  
se lava hasta que el filtrado es transparente con solución  
10 de Tyrode incompleta oxigenada.

Se suspenden aproximadamente 40 muestras (cada una de  
300 mg) del tejido lavado y cortado en 3 ml cada una de so-  
lución de Tyrode incompleta bien oxigenada. Algunas de las  
muestras se conservan como controles negativos. A cada una  
15 de las restantes muestras se añade suero humano, procedente  
de una persona atópica con hipersensibilidad a un antígeno  
conocido, de manera que se diluye una parte de suero en  
10 de la suspensión final. A las muestras de control nega-  
20 tivas se añade solución Tyrode suficiente para que el volu-  
men final sea igual al de las otras muestras. Las muestras  
se dejan en reposo durante la noche a la temperatura ambien-  
te, seguido de 2 horas a 37° con agitación. Después las  
muestras se lavan con 40 ml de solución de Tyrode y se sepa-  
25 ran por decantación.

A las muestras se añade después solución incompleta  
de Tyrode (hasta un volumen final de 3 ml) y para algunas  
muestras se disuelven cantidades diferentes del compuesto  
bajo examen en la solución incompleta de Tyrode. Las suspen-  
siones se calientan a 37° durante 10 minutos. A cada una de  
30

405593<sup>3</sup>



1 ellas se añade después a 37° una solución del antígeno per-  
 tinente disuelto en solución completa de Tyrode. Para los  
 resultados indicados en la Tabla II, el suero humano utili-  
 zado para sensibilizar el pulmón procedía de un paciente que  
 5 presentaba hipersensibilidad a pólenes herbáceos mezclados.  
 El antígeno utilizado para atacar era una mezcla de extrac-  
 ción en glicerol de pólenes herbáceos mezclados (60.000 uni-  
 dades Noon/ml) diluidos en solución completa de Tyrode (300  
 unidades Noon hasta un volumen final de 3 ml). Después de  
 10 10 minutos a 37°, se separa el líquido que sobrenada por de-  
 cantación y se mantiene a -20° hasta su análisis al día si-  
 guiente para determinar el contenido en histamina.

15 La histamina se determina comparando los efectos de  
 las soluciones sobre una tira de íleo de cobaya con las con-  
 tracciones producidas sobre la tira por soluciones patrón  
 de histamina. El contenido de histamina de las soluciones  
 se calcula en mg/ml.

20 Las concentraciones de los compuestos bajo examen  
 fueron determinadas previamente sólo en solución de Tyrode  
 sobre la tira de íleo de cobaya para asegurarse de que no  
 producían ningún efecto directo. A las concentraciones uti-  
 lizadas, la sal sódica de 2-nitroindan-1,3-diona y el cro-  
 moglicato disódico no lo producían. El porcentaje de inhi-  
 bición de la liberación de histamina fue calculado como si-  
 25 gue:

$$\% \text{ de inhibición de la liberación de histamina} = 100 \left( 1 - \frac{\text{concentración de histamina en la solución de ensayo} - \text{control negativo}}{\text{control positivo} - \text{control negativo}} \right)$$

30 El control negativo es la concentración de histamina  
 en la solución decantada de la muestra tratada sin suero y

405393<sup>3</sup>



1 sin droga pero a la que se ha añadido antígeno. El control positivo es la concentración de histamina en la solución procedente de la muestra tratada con suero pero sin droga y atacada con antígeno.

5 Los resultados se encuentran en la Tabla II:

TABLA II

Liberación de histamina de pulmón humano cortado y sensibilizado pasivamente

Muestra nº	Tratamiento de la muestra	Contenido en histamina del líquido sobrenadante		% de inhibición de la liberación de histamina
		ng/ml	media ng/ml	
<u>Control negativo</u>				
1	Sensibilización nula. Sin droga. Atacada	20		
15	2 " " " "	17,5	19,8	
	3 " " " "	22		
<u>Control positivo</u>				
	4 Sensibilizado. Sin droga. Atacado	163		
	5 " " " "	135	166	
20	6 " " " "	200		
<u>Muestras de ensayo</u>				
	7 Sensibilizado 1 mg/ml NID atacado	94		
	8 " " " "	75	89	46
	9 " " " "	100		
25	10 " 100 µg/ml NID	105		
	11 " " " "	150	115	31
	12 " " " "	100		
	13 " 10 µg/ml NID	123		
	14 " " " "	75	118	29
30	15 " " " "	156		

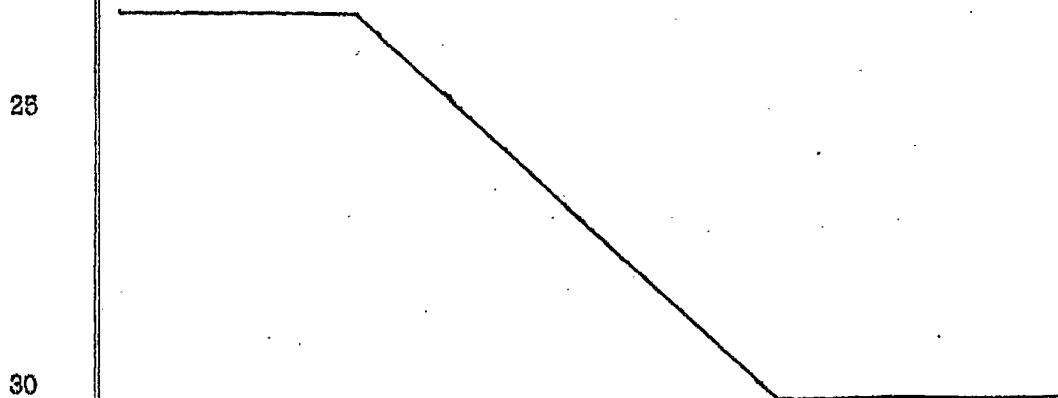
405393



TABLA II (continuación)

Muestra nº	Tratamiento de la muestra	Contenido en histamina del líquido sobrenadante	media	% de inhibición de la liberación de histamina
		ng/ml	ng/ml	ng
16	Sensibilizado 1 µg/ml NID atacado	156		
17	" " " "	156	156	7
18	" " " "	perdido		
19	" 0,1 µg/ml NID	168		
20	" " " "	187	168	-1
21	" " " "	149		
22	" 0,01 µg/ml NID	149		
23	" " " "	121	171	-3
24	" " " "	243		
25	" 1 mg/ml DCG	93		
26	" " " "	125	118	29
27	" " " "	137		
28	" 100 µg/ml DCG	63		
29	" " " "	119	104	37
30	" " " "	132		

En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:



405393



REIVINDICACIONES

1  
5  
1. Un método para la preparación de una composición farmacéutica adecuada para uso en el tratamiento y/o profilaxis de estados alérgicos como asma y fiebre del heno, cuyo procedimiento consiste en mezclar 2-nitroindan-1,3-diona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

10  
2. Un método según la Reivindicación 1, en el que la mezcla resultante se introduce en cápsulas o se compacta en forma de píldoras o tabletas.

15  
3. Un método según la Reivindicación 1, en el que la mezcla resultante es micronizada hasta que por lo menos el 90 % del número de las partículas tienen un diámetro inferior a 5 micras y el polvo resultante se introduce en cápsulas de gelatina dura perforables.

20  
4. Un método según la Reivindicación 1, en el que la mezcla resultante se lleva a una forma de dosis unitaria, conteniendo cada dosis unitaria de 400 a 700 mg de 2-nitroindan-1,3-diona o, cuando se emplea una sal de la misma, el equivalente a 400-700 mg de 2-nitroindan-1,3-diona.

25  
5. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: "UN METODO PARA LA PREPARACION DE UNA COMPOSICION FARMACEUTICA ADECUADA PARA USO EN EL TRATAMIENTO Y/O PROFILAXIS DE ESTADOS ALERGICOS".

30

4053938



1972

1            Todo conforme queda descrito y reivindicado en la pre  
sente Memoria descriptiva que consta de catorce páginas me  
canografiadas.

Madrid, 31 de Julio de 1.972

5            BERNARDO UNGRIA

P.P.

10

15

20

25

30