



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 34 290 T2** 2006.07.06

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 963 200 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 34 290.5**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US97/20116**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **97 946 884.0**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1998/019649**

(86) PCT-Anmeldetag: **04.11.1997**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **14.05.1998**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **15.12.1999**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **28.09.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **06.07.2006**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 31/44** (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

A61K 31/185 (2006.01)

A61K 31/20 (2006.01)

A61K 31/60 (2006.01)

A61K 31/62 (2000.01)

A61K 31/56 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

28708 P **05.11.1996** **US**

963058 **03.11.1997** **US**

(73) Patentinhaber:

**The Children's Medical Center Corp., Boston,
Mass., US**

(74) Vertreter:

Jones, Day und Kollegen, 80538 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,
LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

D'AMATO, J., Robert, Cambridge, US

(54) Bezeichnung: **MITTEL ZUR HEMMUNG VON ANGIOGENESE ENTHALTEND THALODOMID UND EINEN NSAID**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Zusammensetzungen und Medikamente für die Anwendung zur Vermeidung unerwünschter Angiogenese beim Menschen oder beim Tier. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung Zusammensetzungen und ihre Verwendung zur Vermeidung unerwünschter Angiogenese, insbesondere bei Krankheiten, die von Angiogenese abhängig oder damit verbunden sind, welche Zusammensetzungen wie beispielsweise Thalidomid und verwandte Verbindungen umfassen.

[0002] Wie hier verwendet, bedeutet der Begriff "Angiogenese" die Erzeugung neuer Blutgefäße in einem Gewebe oder in einem Organ. Unter normalen physiologischen Bedingungen sind Menschen oder Tiere nur unter sehr speziellen eingeschränkten Gegebenheiten der Angiogenese ausgesetzt. Beispielsweise wird Angiogenese normalerweise bei der Wundheilung, bei der fötalen und embryonalen Entwicklung und bei der Bildung des Corpus luteum, des Endometrium und der Plazenta beobachtet. Die Beherrschung der Angiogenese erfolgt durch ein hoch reguliertes System von Stimulatoren und Inhibitoren für die Angiogenese. Es ist bereits gefunden worden, dass sich die Beherrschbarkeit der Angiogenese bei bestimmten Krankheitszuständen veränderte und sich in vielen Fällen die pathologische Schädigung, die mit der Krankheit verknüpft ist, auf die nicht-beherrschbare Angiogenese bezog.

[0003] Es wird angenommen, dass sich sowohl die beherrschbare wie auch die nicht-beherrschbare Angiogenese in einer ähnlichen Art und Weise weiter fortentwickeln. Die endothelischen Zellen und Perizyten, die von einer Basismembran umgeben sind, bilden kapillare Blutgefäße. Die Angiogenese beginnt mit der Erosion der Basismembran durch Enzyme, die durch endothelische Zellen und Leukozyten freigesetzt werden. Die endothelischen Zellen, welche das Lumen der Blutgefäße säumen, stoßen dann durch die Basismembran hindurch. Die Stimulantien für die Angiogenese regen die endothelischen Zellen zur Wanderung durch die erodierte Basismembran an. Die wandernden Zellen bilden einen "Trieb", der vom Stammbloodgefäß weg gerichtet ist, und an dem die endothelischen Zellen Mitose und Proliferation durchmachen. Die endothelischen Triebe mischen sich miteinander unter Bildung von Kapillarschleifen und erzeugen die neuen Blutgefäße. Im Krankheitszustand könnte die Verhütung der Angiogenese die Schädigung verhüten, die durch das Eindringen des neuen mikrovaskulären Systems erzeugt wird.

[0004] Die persistierende nicht-beherrschbare Angiogenese kommt bei einer Vielzahl von krankhaften Zuständen, bei der Tumormetastase und beim anormalen Wachstum durch endothelische Zellen vor und unterstützt die pathologische Schädigung, die für diese Zustände beobachtet wird. Die verschiedenen pathologischen Zustände, die durch die nicht-beherrschbare Angiogenese erzeugt werden, sind als Angiogenese zusammengefasst worden, die von Krankheiten abhängig ist oder als Angiogenese, die mit Krankheiten verknüpft ist. Therapien, die auf die Beherrschung der Angiogenese-Verläufe gerichtet sind, könnten zur Aushebung oder Abschwächung dieser Krankheiten führen.

[0005] Ein Beispiel einer Krankheit, die durch Angiogenese vermittelt wird, ist eine okuläre neovaskuläre Erkrankung. Diese Krankheit wird durch das Eindringen neuer Blutgefäße in die Strukturen des Auges, wie beispielsweise in die Retina oder in die Kornea, charakterisiert. Sie ist die häufigste Ursache für Blindheit und spielt bei ungefähr zwanzig Augenerkrankungen eine Rolle. Bei altersbezogener Makuladegeneration werden die damit verknüpften visuellen Probleme durch ein Einwachsen choroidaler Kapillaren durch Defekte in der Bruchschschen Membran mit Vermehrung des fibrovaskulären Gewebes in der Nähe des retinalen Pigmentepitheliums verursacht. Die Schädigung durch Angiogenese ist gleichfalls verknüpft mit diabetischer Retinopathie, Frühgeborenenretinopathie, Abstoßung von Hornhauttransplantaten, mit neovaskulärem Glaukom und retrolentaler Fibroplasie. Andere Krankheiten, die mit der neovaskulären Bildung von Augenhornhaut verknüpft sind, beinhalten ohne aber darauf beschränkt zu sein, die epidemische Keratokonjunktivitis, Vitamin A-Mangel, Abnützung durch Kontaktlinsen, die atopische Keratitis, die obere limbische Keratitis, Pterygium keratitis sicca, das Sjögren-Syndrom, Akne rosacea, Phlyktenulosis, Syphilis, Infektionen durch Mykobakterien, Fettdegeneration, chemische Verbrennungen, bakterielle Geschwüre, Pilzgeschwüre, Herpes simplex-Infektionen, Herpes zoster-Infektionen, Protozoen-Infektionen, Kaposi-Sarkom, Mooren-Ulkus, Terrien-Marginaldystrophie, Marginalkeratolyse, rheumatische Arthritis, systemischer Lupus, Polyarthritis, Traumata, Wegener-Sarkoidose, Skleritis, Stevens-Johnson-Syndrom, periphigoide Radialkeratotomie und Abstoßung von Hornhauttransplantaten.

[0006] Krankheiten, die mit der retinalen/choroidalen Bildung neovaskulären Gewebes verknüpft sind, beinhalten ohne aber darauf beschränkt zu sein, die diabetische Retinopathie, Makuladegeneration, Sichelzellenanämie, Sarkoide, Syphilis, Pseudoxanthoma elastikum, Paget-Krebs, Venenverschluss, Arterienverschluss, obstruktive Karotisstenose, chronische Uveentzündung/Vitritis, Infektionen durch Mykobakterien, Ly-

me-Krankheit, systemischer Lupus erythematoses, Frühgeborenenretinopathie, Eale-Krankheit, Behcet-Krankheit, Krankheiten, die durch eine Retinitis oder Choroiditis bei vermuteter okularer Histoplasmose verursacht werden, Best-Krankheit, Kurzsichtigkeit, Augentrichter, Stargardt-Syndrom, Pars planitis, chronische Netzhautablösung, Hyperviskositätssyndrome, Taxoplasmose, Traumata und Komplikationen bei Postlaserbehandlung. Andere Krankheiten beinhalten ohne aber darauf begrenzt zu sein, Krankheiten, die mit Rubrose verknüpft sind (Neovaskularisation in Winkeln), und Krankheiten, die durch eine anormale Vermehrung von fibrovaskulärem oder fibrösem Gewebe verursacht werden, beinhalten alle Formen von proliferativer Vitreoretinopathie.

[0007] Eine weitere Krankheit, von der angenommen wird, dass daran Angiogenese beteiligt ist, ist die rheumatische Arthritis. Hier gehen die Blutgefäße in der synovialen Anordnung der Gelenke Angiogenese ein. Zusätzlich zur Bildung neuer vaskulärer Netzwerke setzen die endothelischen Zellen Faktoren und reaktive Sauerstoffspezies frei, welche zum Pannus-Wachstum und zur Knorpelschädigung führen. Die Faktoren, welche bei der Angiogenese involviert sind, können aktiv beitragen und dazu helfen, den chronischen entzündeten Zustand der rheumatischen Arthritis aufrecht zu erhalten.

[0008] Faktoren, welche mit Angiogenese verknüpft sind, können auch eine Rolle bei der Osteoarthritis spielen. Die Aktivierung der Chondrozyten durch Angiogenese-bezogene Faktoren trägt zur Schädigung des Gelenks bei. Zu einem späteren Zustand fördern die Angiogenese-Faktoren die Bildung neuer Knochen. Ein therapeutischer Eingriff, welcher die Knochenschädigung verhindert, könnte den Krankheitsprozess aufhalten und den Personen, die an Arthritis leiden, eine Erleichterung bringen.

[0009] Eine chronische Entzündung kann gleichfalls pathologische Angiogenese beinhalten. Solche krankhaften Zustände wie die ulcerative Kolitis und die Crohn-Krankheit zeigen histologische Veränderungen mit dem Einwachsen neuer Blutgefäße in die entzündeten Gewebe. Bartonellose, eine Bakterien-Infektion, welche in Südamerika auftritt, kann zu einem chronischen Zustand führen, der durch Vermehrung der vaskulären endothelischen Zellen charakterisiert ist. Eine weitere pathologische Funktion, die mit Angiogenese verknüpft ist, wird bei der Arteriosklerose gefunden. Von den Belägen, die im Lumen der Blutgefäße gebildet werden, ist gezeigt worden, dass sie eine die Angiogenese stimulierende Wirkung haben.

[0010] Eine der in der Kindheit am häufigsten auftretenden Erkrankungen durch Angiogenese ist das Hämangiom. In den meisten Fällen sind diese Tumore gutartig und entwickeln sich ohne Eingriff zurück. In ernsteren Fällen wachsen die Tumore zu großen kavernenösen und infiltrativen Formen an und erzeugen klinische Komplikationen. Die systemischen Formen von Hämangiomen, die Hämangiomatosen, weisen eine hohe Sterblichkeitsrate auf. Es existieren therapieresistente Hämangiome, die mit den gegenwärtig in Verwendung befindlichen Therapeutika nicht behandelt werden können.

[0011] Die Angiogenese ist auch verantwortlich für die Schädigung, welche bei Erbkrankheiten, wie beispielsweise der Osler-Weber-Rendu-Krankheit oder bei der vererbten hämorrhagischen Teleangiektasie gefunden werden. Diese ist eine vererbte Krankheit, die durch eine Vielzahl kleiner Angiome, Tumore der Blut- oder Lymphgefäße, charakterisiert ist. Die Angiome werden in der Haut und den mukosen Membranen gefunden und werden oft von Epistaxis (Nasenbluten) oder gastrointestinalen Blutungen und manchmal auch pulmonalen oder häpatischen arteriovenösen Fisteln begleitet.

[0012] Die Angiogenese kommt vorwiegend bei Bildung fester Tumore und bei Metastasen vor. Es ist gefunden worden, dass Angiogenesefaktoren mit einigen festen Tumoren wie beispielsweise Rhabdomyosarkomen, Retinoblastomen, dem Ewing-Sarkom, Neuroblastomen und Osteosarkomen verknüpft sind. Ein Tumor kann sich nicht ohne eine Blutversorgung zur Versorgung mit Nährstoffen und zur Entfernung zellulärer Abfälle ausdehnen. Tumore, bei denen Angiogenese wichtig ist, beinhalten feste Tumore und gutartige Tumore wie beispielsweise die Akustikus-Geschwulst, das Neurofibrom, die Bindehautentzündung (Trachom) und eiterbildende Granulome. Die Verhütung von Angiogenese könnte das Wachstum dieser Tumore und die resultierende Schädigung des Lebewesens als Folge der Anwesenheit des Tumors aufhalten.

[0013] Es sollte festgehalten werden, dass Angiogenese mit hämatogenen Tumoren wie beispielsweise Leukämie verknüpft worden ist, mit beliebigen der vielfältigen akuten oder chronischen neoplastischen Erkrankungen des Knochenmarks, in welchen eine unbegrenzte Vermehrung der weißen Blutzellen auftritt, welche gewöhnlich von Anämie, beeinträchtigter Blutgerinnung und Vergrößerung der Lymphknoten, der Leber und der Milz begleitet wird. Es wird angenommen, dass die Angiogenese eine Rolle bei den Missbildungen im Knochenmark spielt, welche Anlass zu Leukämie-ähnlichen Tumoren geben.

[0014] Die Angiogenese ist für zwei Stufen der Tumormetastase wichtig. Die erste Stufe für die die Anregung der Angiogenese wichtig ist, ist die Vaskularisation des Tumors, welche es den Tumorzellen erlaubt in den Blutstrom einzutreten und durch den Körper zu zirkulieren. Nachdem die Tumorzellen den primären Mutationsort verlassen und sich am sekundären, metastatischen Mutationsort angesiedelt haben, muss Angiogenese eintreten bevor der neue Tumor wachsen und sich ausdehnen kann. Daher kann die Verhütung von Angiogenese zur Verhütung der Metastase der Tumore führen und könnte möglicherweise das neoplastische Wachstum am primären Mutationsort eindämmen.

[0015] Die Kenntnis der Rolle der Angiogenese bei der Aufrechterhaltung und der Metastase von Tumoren hat zu einem Prognoseindikator für Brustkrebs geführt. Das Ausmaß an Neovaskularisation, die im Primärtumor gefunden wird, wurde durch Zählung der Mikrogefäßdichte im Bereich der intensivsten Neovaskularisation im invasiven Brustkarzinom bestimmt. Es wurde gefunden, dass ein hohes Maß der Mikrogefäßdichte mit der periodischen Wiederkehr von Tumoren korreliert. Die Kontrolle der Angiogenese durch therapeutische Mittel könnte wahrscheinlich zum Stillstand der periodischen Wiederkehr der Tumore führen.

[0016] Die Angiogenese ist gleichfalls in normalen physiologischen Prozessen involviert, wie beispielsweise bei der Fortpflanzung und der Wundheilung. Die Angiogenese ist ein wichtiger Schritt bei der Ovulation und gleichfalls bei der Implantation der Blastula nach der Befruchtung. Die Vermeidung der Angiogenese könnte dazu verwendet werden, die Amenorrhoe einzuleiten, die Ovulation zu unterbinden oder die Implantation durch die Blastula zu verhüten.

[0017] Bei der Wundheilung kann die übermäßige Heilung oder Fibroplasie ein schädlicher Nebeneffekt chirurgischer Prozeduren sein und kann durch Angiogenese hervorgerufen oder verschlimmert werden. Die Adhäsionen sind eine häufige Komplikation des chirurgischen Eingriffs und führen zu Problemen wie beispielsweise zur Verstopfung kleiner Därme.

[0018] Es sind bereits verschiedene Verbindungstypen dazu verwendet worden, um die Angiogenese zu verhüten. Taylor et al. haben Protamin verwendet um die Angiogenese zu inhibieren (vgl. Taylor et al., Nature 297: 307 (1982)). Die Toxizität des Protamins begrenzt seine praktische Verwendung als Therapeutikum. Folkman et al. haben die Verwendung von Heparin und von Steroiden zur Kontrolle der Angiogenese offenbart (vgl. Folkman et al., Science 221: 719 (1983) und die US-Patente der Nummern 5,001,116 und 4,994,443). Bei Steroiden, wie beispielsweise dem Tetrahydrocortisol, welches keine glukosische und mineralische Cortikoidwirkung besitzt, wurden gefunden, dass sie als Angiogenese-Inhibitoren wirken.

[0019] Andere Faktoren, die endogen in Lebewesen gefunden werden, wie beispielsweise ein 4 kDa-Glykoprotein aus glasartiger Körperflüssigkeit von Rindern und einem Knorpel-abgeleiteten Faktor, sind dazu verwendet worden, die Angiogenese zu inhibieren. Zelluläre Faktoren wie beispielsweise Interferon inhibieren die Angiogenese. Es ist gezeigt worden, dass beispielsweise Interferon α oder menschliches Interferon β Tumor-induzierte Angiogenese in Mäusehaut inhibiert, welche durch menschliche neoplastische Zellen stimuliert wurde. Interferon β ist gleichfalls ein wirksamer Inhibitor der Angiogenese, die durch allogene Milzzellen induziert wird (vgl. Sidky et al., Cancer Research 47: 5155–5161 (1987)). Es wurde berichtet, dass menschliches rekombinantes α -Interferon (α/A) erfolgreich bei der Behandlung von pulmonaler Hämangiomatose, einer Angiogenese-induzierten Krankheit, eingesetzt wurde (vgl. White et al., New England J. Med. 320: 1197–1200 (1989)).

[0020] Andere Wirkstoffe, die verwendet wurden um die Angiogenese zu inhibieren, beinhalten Ascorbinsäureäther und verwandte Verbindungen (vgl. Japan Kokai Tokkyo Koho Nummer 58-131978). Sulfatiertes Polysaccharid DS 4152 zeigt gleichfalls eine Inhibierung der Angiogenese (vgl. Japan Kokai Tokkyo Koho Nummer 63-119500). Ein Pilzprodukt, das Fumagillin, ist ein in vitro wirksames Mittel zur Verhütung von Angiogenese. Die Verbindung ist in vivo toxisch, aber ein synthetisches Derivat, das AGM 12470 ist in vivo dazu verwendet worden, Kollagen II-Arthritis zu behandeln. Fumagillin und O-substituierte Fumagillinderivate werden in den EPO-Publikationen der Nummern 0 325 199 A2 und 0 357 061 A1 offenbart.

[0021] Die PCT-Anmeldung WO 92/14455 (Kaplan et al.) ist auf ein Verfahren zur Steuerung der anormalen Konzentration des TNF- α durch Verabreichung von Thalidomid oder von Thalidomidderivaten mit toxischen Konzentrationen von TNF- α an einen Patienten gerichtet.

[0022] Die obigen Substanzen sind entweder topische oder injizierbare Therapeutika. Deshalb bestehen Nachteile bezüglich ihrer Verwendung als einem allgemeinen Inhibitor der Angiogenese und es fehlt ihnen eine adäquate Wirksamkeit. Beispielsweise beinhaltet bei der Verhütung übermäßiger Wundheilung ein chirurgi-

scher Eingriff in innere Körperorgane den Einschnitt in verschiedene Strukturen, die in der Körperhöhle enthalten sind. Diese Wunden sind für lokale Anwendungen der Angiogenese-Inhibitoren nicht zugänglich. Örtliche Zuführungssysteme beinhalten häufig Verbände, die für innere Wunden nicht anwendbar sind, und die das Risiko einer Infektion oder einer Schädigung empfindlicher Gewebegranulation für Oberflächenwunden erhöhen.

[0023] Deshalb werden ein Verfahren und eine Zusammensetzung benötigt, welche in der Lage sind, die Angiogenese zu inhibieren und welche leicht angewendet werden können. Eine einfache und wirkungsvolle Methode zur Behandlung würde der orale Weg sein. Wenn ein Angiogenese-Inhibitor durch einen oralen Weg verabreicht werden könnte, könnten viele Arten der oben diskutierten Krankheiten und andere pathologische Zustände, die von Angiogenese abhängig sind, leicht behandelt werden. Die optimale Dosis könnte in einer Form verteilt werden, die sich der Patient selbst verabreichen könnte.

[0024] Erfindungsgemäß werden Zusammensetzungen und Medikamente zur Verfügung gestellt, die zur Inhibierung der unerwünschten Angiogenese verwendet werden können. Diese Zusammensetzungen können leicht über verschiedene Wege verabreicht werden, einschließlich des oralen Weges, und können in Dosierungen gegeben werden, welche sicher sind und eine Inhibierung der Angiogenese an inneren Lokalisationen ermöglichen. Die vorliegende Erfindung stellt Zusammensetzungen und Medikamente für die Verwendung in der Behandlung von Krankheiten bei Säugetieren zur Verfügung, welche durch unerwünschte und nicht beherrschbare Angiogenese vermittelt werden, wobei die Zusammensetzungen und Medikamente eine Verbindung gegen Angiogenese in einer Dosierung umfassen, welche ausreichend ist, Angiogenese zu inhibieren.

[0025] Die vorliegende Erfindung umfasst Verbindungen, welche die Angiogenese inhibieren, welche eine Epoxidgruppe enthalten. Diese die Angiogenese inhibierenden Verbindungen können einem Menschen oder einem Tier alleine oder zusammen mit Verbindungen, welche die Epoxid-Hydrolase inhibieren, verabreicht werden.

[0026] Die vorliegende Erfindung umfasst gleichfalls Zusammensetzungen, welche eine Verbindung gegen Angiogenese und eine antiinflammatorische Verbindung umfassen. Die antiinflammatorische Verbindung kann entweder eine steroidale oder eine nichtsteroidale antiinflammatorische Verbindung sein. Nichtsteroidale antiinflammatorische Verbindungen, sogenannte NSAIDs, sind bevorzugt.

[0027] Die erfindungsgemäße Zusammensetzung und Medikamente können zur Behandlung bestimmter okularer neovaskulärer Krankheiten wie beispielsweise der Makuladegeneration verwendet werden. Die Verbindungen, welche als Teil der vorliegenden Erfindung betrachtet werden, können dem Patienten vorzugsweise oral gegeben werden und halten dadurch das Fortschreiten der Krankheit auf. Andere Erkrankungen, welche unter Verwendung der Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung behandelt werden können, sind die diabetische Retinopathie, das neovaskuläre Glaukom und die retrolentale Fibroplasie.

[0028] Unter einem ersten Aspekt der Erfindung wird eine pharmazeutische Zusammensetzung zur Verfügung gestellt, welche eine Menge an Thalidomid und eine Menge eines nichtsteroidalen antiinflammatorisch wirkenden Medikaments (NSAID), ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Esculetin, Phenidon, Quercetin, Nordihydroguaiätersäure (NDGA), Sulindacsulfon, Sulindacsulfid, N-[2-Cyclohexyloxy-4-nitrophenyl]methansulfonamid, Methylheptylimidazol, Furegrelat-Natrium, N,N-Diethylaminoethyl-2,2-diphenylvalerat-HCl, Toradol, Salsalat, Diflunisal, Floctafenin, Phenylbutazon, Oxyphenbutazon, Azapropazon, Nabumeton, Piroxicam, Salicylat und Tenoxicam in einem pharmazeutisch akzeptablen Träger.

[0029] Gemäß eines zweiten Aspekts der Erfindung wird die Verwendung von Thalidomid und eines nichtsteroidalen, antiinflammatorisch wirkenden Medikaments (NSAID) zur Verfügung gestellt, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Acetaminophen, Esculetin, Phenidon, Quercetin, Ketoprofen, Nordihydroguaiätersäure (NDGA), Sulindac, Sulindacsulfon, Sulindacsulfid, Indomethacin, N-[2-Cyclohexyloxy-4-nitrophenyl]methansulfonamid, HS-398 (ein Cyclooxygenase-2-Inhibitor) und Cyclooxygenase-1-Inhibitoren Methylheptylimidazol, Furegrelat-Natrium, N,N-Diethylaminoethyl-2,2-diphenylvalerat-HCl, Thromboxaninhibitoren, Toradol, ECASA, Salsalat, Diflunisal, Mefenaminsäure, Naproxen, Floctafenin, Meclofenamat, Phenylbutazon, Oxyphenbutazon, Diclofenac, Etodolac, Fenoprofen, Flufenaminsäure, Flurbiprofen, Pirprofen, Tolmetin, Azapropazon, Fenbufen, Nabumeton, Oxaprozin, Piroxicam, Salicylat und Tenoxicam bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung einer Angiogenese-abhängigen Krankheit ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Makuladegeneration, diabetische Retinopathie, Neovaskularisationsglaukom, retrolentale Fibroplasie, Retinopathia diabetica haemorrhagia proliferans, feste Tumore, hämatogene Tumore, Leukämie, Hämangiom, Schuppenflechte, Kaposi-Sarkom, Colitis ulcerosa, Krebs, Frühgeborenenretinopathie, epi-

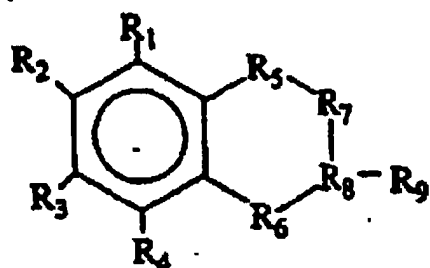
demische Keratokonjunktivitis, atopische Hornhautentzündung, obere limibische Keratitis, Pterygium keratitis sicca, Sjögren-Syndrom, Acne rosacea, Phlyctenulosis, Syphilis, Mykobakterieninfektionen, chemische Verbrennungen, bakterielle Geschwüre, Pilzgeschwüre, Mohren-Ulcus, Terriensche Marginaldystrophie, Marginalkeratolyse, Polyarthrit, Lederhautentzündung, Stevens-Johnson-Syndrom, Radialkeratotomie, Sichelzellenanämie, Phseudoxanthoma elasticum, Pemphigoid, Paget-Krebs, Carotisstenose, chronische Uvaentzündung, chronische Vitritis, Lyme-Krankheit, Eales-Krankheit, Behcet-Krankheit, angenommene okuläre Histoplasmose, Best-Krankheit, Kurzsichtigkeit, Augentrichter, Stargardt-Syndrom, Pars planitis, chronische Netzhautablösung, Hyperviskositätssyndrome, Taxoplasmose, Post-Laser-Komplikationen und Rubeosis bei einem Menschen oder einem Tier.

[0030] Unter einem vierten Aspekt der Erfindung wird die Verwendung von Thalidomid und ECASA bei der Herstellung eines Medikament zur Verwendung bei der Behandlung einer Angiogenese-abhängigen Krankheit zur Verfügung gestellt, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Makuladegeneration, diabetische Retinopathie, Neovaskularisationsglaukom, retrolentale Fibroplasie, Retinopathia diabetica haemorrhagia proliferans, feste Tumore, hämatogene Tumore, Leukämie, Hämangiom, Schuppenflechte, Kaposi-Sarkom, Colitis ulcerosa, Krebs, Frühgeborenenretinopathie, epidemische Keratokonjunktivitis, atopische Hornhautentzündung, obere limibische Keratitis, Pterygium keratitis sicca, Sjögren-Syndrom, Acne rosacea, Phlyctenulosis, Syphilis, Mykobakterieninfektionen, chemische Verbrennungen, bakterielle Geschwüre, Pilzgeschwüre, Mohren-Ulcus, Terriensche Marginaldystrophie, Marginalkeratolyse, Polyarthrit, Lederhautentzündung, Stevens-Johnson-Syndrom, Radialkeratotomie, Sichelzellenanämie, Phseudoxanthoma elasticum, Pemphigoid, Paget-Krebs, Carotisstenose, chronische Uvaentzündung, chronische Vitritis, Lyme-Krankheit, Eales-Krankheit, Behcet-Krankheit, angenommene okuläre Histoplasmose, Best-Krankheit, Kurzsichtigkeit, Augentrichter, Stargardt-Syndrom, Pars planitis, chronische Netzhautablösung, Hyperviskositätssyndrome, Taxoplasmose, Post-Laser-Komplikationen und Rubeosis bei einem Menschen oder einem Tier.

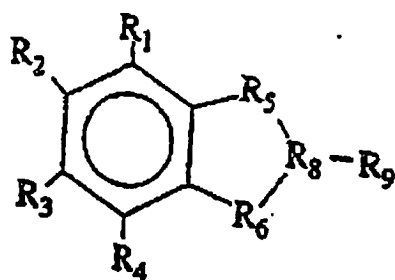
[0031] Bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung unter einem beliebigen ihrer mannigfachen Aspekten werden unten beschrieben oder in den Unteransprüchen definiert.

[0032] Die [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) stellen eine Liste repräsentativer Verbindungen unter dem Oberbegriff dar, der durch die folgenden allgemeinen Formeln repräsentiert wird:

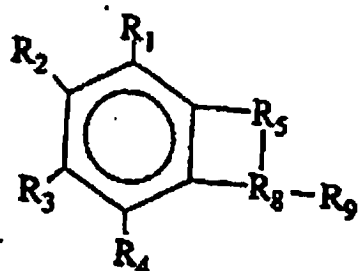
A)



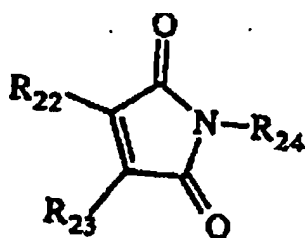
B)



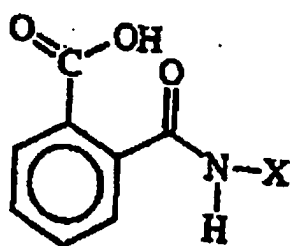
C)



[0033] [Fig. 4](#) stellt eine Aufzählung repräsentativer Verbindungen unter dem Oberbegriff dar, der durch die folgende allgemeine Formel dargestellt wird:



[0034] [Fig. 5](#) stellt eine Auflistung repräsentativer Verbindungen unter dem Oberbegriff dar, der durch die folgende allgemeine Formel dargestellt wird:



[0035] [Fig. 6](#) zeigt die Wirkung von Thalidomid und von EM12 auf die Angiogenese in einem Kaninchen-Angiogenese-Hornhautmodell.

[0036] [Fig. 7](#) zeigt die Wirkung von Thalidomid auf den Bereich der kornealen Vaskularisation in einem Kaninchen-Angiogenese-Hornhautmodell.

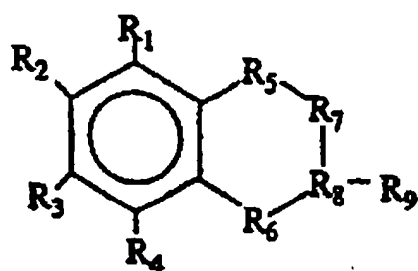
[0037] [Fig. 8](#) zeigt die Wirkung von Thalidomid, Sulindac oder einer Kombination der beiden auf die Inhibition des Tumorwachstums eines V2-Karzinoms in weiblichen Kaninchen vom New Zealand White-Typ.

[0038] Die vorliegende Erfindung umfasst Zusammensetzungen und Medikamente zur Verwendung bei der Behandlung von Krankheiten, welche durch Angiogenese übermittelt werden. Eine Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung von Thalidomid oder von Metaboliten von Thalidomid wie hierin offenbart, um unerwünschte Angiogenese zu inhibieren. Die vorliegende Erfindung umfasst auch Verbindun-

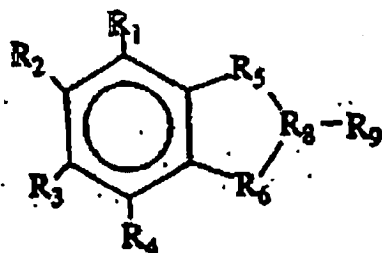
gen, welche Dysmelia im sich entwickelnden Fötus verursachen und welche Wirksamkeit gegen Angiogenese aufweisen. Die vorliegende Erfindung umfasst die Verwendung dieser Zusammensetzungen und Medikamente zur Verwendung bei der Behandlung unerwünschter Angiogenese in einem Menschen oder einem Tier. Solche Zusammensetzungen und Medikamente umfassen eine wirksame Menge einer teratogenen Verbindung, welche gegen Angiogenese wirkt.

[0039] Verbindungen, welche erfindungsgemäß verwendet werden können, umfassen Verbindungen, welche von der folgenden allgemeinen Formel umfasst werden. Beispiele von Verbindungen, welche Eigenschaften gegen Angiogenese aufweisen, haben eine der folgenden drei Formeln (A), (B) oder (C):

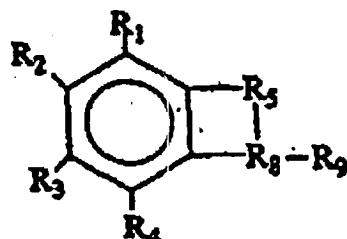
A)



B)



C)



[0040] In den obigen Formeln A), B) und C) können R_1 , R_2 , R_3 und R_4 ausgewählt werden aus: -H; OH; =O, unverzweigte und verzweigte Alkane, Alkene, Alkine; cyclische Alkane, Alkene und Alkine; Kombination von cyclischen und acyclischen Alkanen, Alkenen und Alkinen; Alkohol, Aldehyd, Keton, Carbonsäuren, Ester, oder Ether-Einheiten in Kombination mit acyclischen, cyclischen Einheiten, oder eine Kombination mit acyclischen/cyclischen Einheiten; Aza; Amino; $-XO_n$ oder $-O-XO_n$, wobei $X = N$ und $n = 2$; $X = S$ und $n = 2$ oder 3 ; oder $X = P$ und $n = 1-3$; und Halogene; R_5 , R_6 , R_7 und R_8 werden jeweils unabhängig voneinander ausgewählt aus:

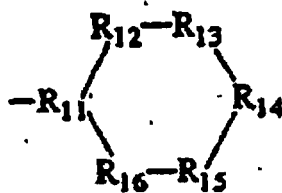


oder -O-, wobei Y optional ist und dieselbe Bedeutung aufweist wie oben definiert für R_1 ; und R_{10} die gleiche Bedeutung wie oben für R_1 aufweist, oder wenn Y fehlt, $R_{10} = O$ ist; und R_9 ist eine Einheit, welche die Formeln D), E), F), G) oder H) aufweist:

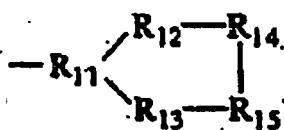
D)



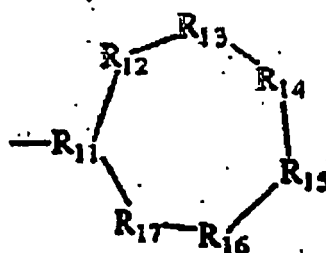
F)



E)

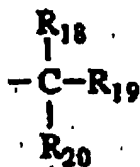


G)

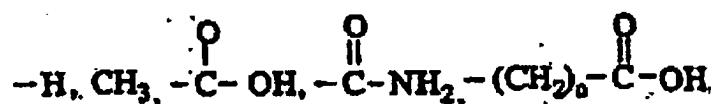


wobei jeder der Reste R_{11} – R_{17} unabhängig die gleiche Bedeutung aufweist wie oben für R_5 definiert;

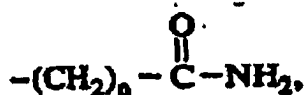
H)



wobei R_{18} , R_{19} und R_{20} unabhängig voneinander ausgewählt werden aus



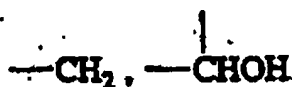
oder



und $n = 1$ bis 4.

[0041] Demgemäß stellt ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung die Inhibierung von Angiogenese in einem Säugetier heraus durch Verabreichung einer therapeutischen Zusammensetzung, welche eine der oben beschriebenen Verbindungen umfasst, in einer Dosierung, welche ausreichend ist, Angiogenese zu inhibieren. In bevorzugten Ausführungsformen weist die Verbindung die Formel (B) auf, wobei R_5 und R_6 ausgewählt sind

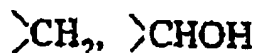
aus der Gruppe bestehend aus:



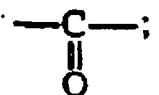
und



und R_9 besitzt die Formel F) oder H); und R_{14} und R_{16} werden ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:



oder

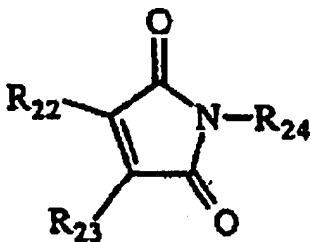


und R_{15} ist -O- oder



wobei R_{21} -H, -CH₃ oder -OH ist. Typisch bevorzugte Verbindungen gemäß diesem Aspekt der vorliegenden Erfindung umfassen Thalidomid, seine Vorstufen, Metabolite und Analoge. Besondere Analoge umfassen EM-12, N-Phthaloyl-DL-Glutaminsäure (PGA) oder N-Phthaloyl-DL-glutaminsäureanhydrid. Beispiele von Verbindungen, welche Mitglieder dieses Oberbegriffs sind, werden in den [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) aufgeführt. Es ist selbstverständlich, dass die Verbindungen, die als Teil der vorliegenden Erfindung umfasst werden, nicht auf jene Verbindungen beschränkt sind, welche in den [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) gezeigt sind, und alle anderen Verbindungen umfassen, welche Mitglieder des Oberbegriffs sind, der hierin durch die allgemeinen Formeln dargestellt wird.

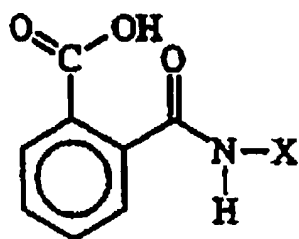
[0042] Verbindungen der folgenden Formel, welche gegen Angiogenese wirkende Eigenschaften aufweisen:



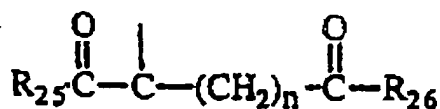
wobei R_{22} und R_{23} (unabhängig von einander) sind: -H, -F, -Cl, -Br, -I, -CH₃ oder -CH₂-CH₂; und R_{24} ist -H, -CH₃ oder -CH₂-CH₃.

[0043] Die vorliegende Erfindung stellt auch die Inhibierung der Angiogenese heraus in einem Säugetier durch Verabreichung einer Verbindung gemäß der obigen Formeln in einer Dosierung, welche ausreichend ist, die Angiogenese zu inhibieren. Beispiele an typischen Verbindungen, welche Mitglieder dieses Oberbegriffs sind, werden in der [Fig. 4](#) aufgelistet.

[0044] Hydrolyseprodukte des Thalidomids für die Angiogeneseinhibierung, welche die folgende allgemeine Formel aufweisen, können bei der Ausführung der vorliegenden Erfindung verwendet werden:

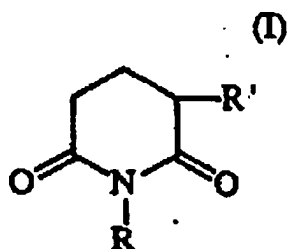


wobei X gleich R_6 ist, wie oben definiert, oder X

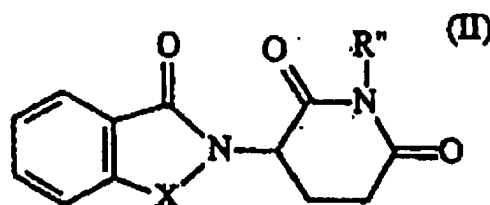


ist, und R_{25} und R_{26} unabhängig voneinander -OH, -H oder NH_2 und $n = 1$ bis 4 sind. Beispiele für solche Verbindungen werden in [Fig. 5](#) gezeigt.

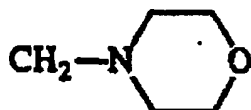
[0045] Verbindungen, welche die Angiogenese inhibieren und welche die folgenden allgemeinen Formeln aufweisen, können bei der Durchführung der vorliegenden Erfindung verwendet werden:



und

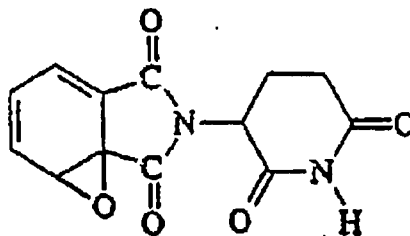
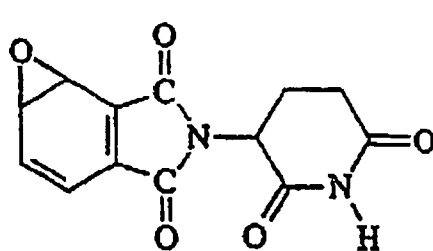


wobei R ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Wasserstoff, Alkylresten mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, dem Phenylrest und dem Benzylrest; wobei R' ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus dem Phthalimid-Rest und dem Succinimid-Rest; wobei X gleich CH_2 oder $C=O$ ist; und wobei R'' gleich H, $-CH_2CH_3$, $-C_6H_5$, $-CH_2C_6H_5$, $-CH_2CH=CH_2$ oder

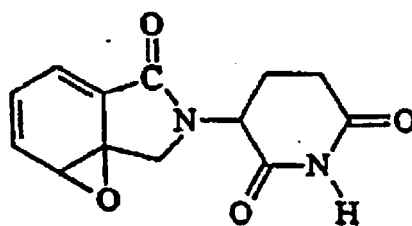
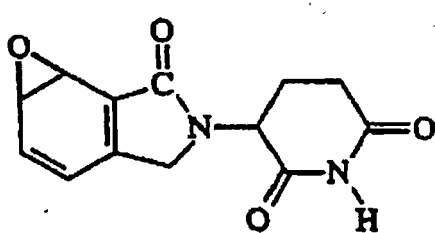


ist; und Hydrolyseprodukte der Verbindungen, wobei R'' gleich H ist, und der Piperidin-Ring oder sowohl der Piperidin- wie auch der Imid-Ring hydrolysiert sind.

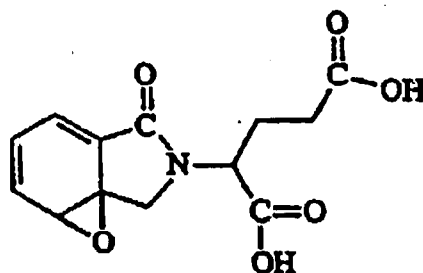
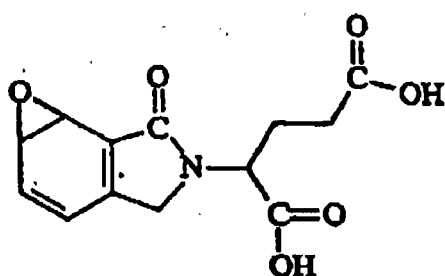
[0046] Ein weiterer Satz an Verbindungen, welche als Teil der vorliegenden Erfindung angesehen werden, sind die Epoxide von Thalidomid, EM-12 und EM-138. Repräsentative Epoxidverbindungen werden gezeigt wie folgt:



Epoxide von Thalidomid



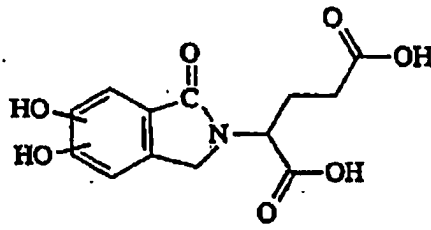
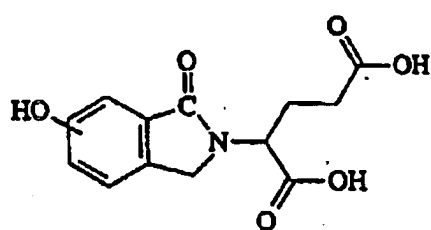
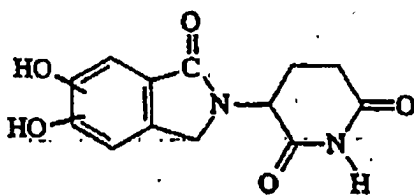
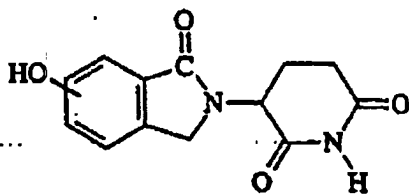
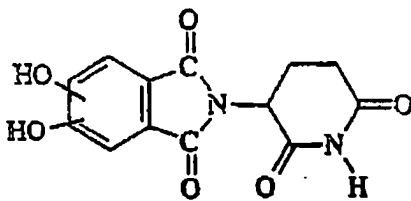
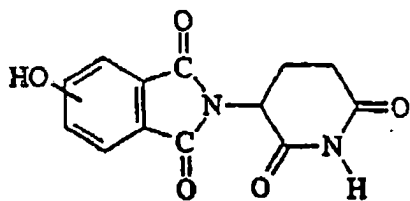
Epoxide von EM 12



Epoxide von EM 138

[0047] Es versteht sich, dass das Epoxid an der 6,1-Stelle des Benzolrings, der 1,2-Stelle, der 2,3-Stelle, der 3,4-Stelle oder der 4,5-Stelle angebracht sein kann. Alle diese Verbindungen werden als Teil der vorliegenden Erfindung betrachtet.

[0048] Die Epoxide des Thalidomids, von EM-12 und EM-138 können in die folgenden Verbindungen hydrolysiert werden:



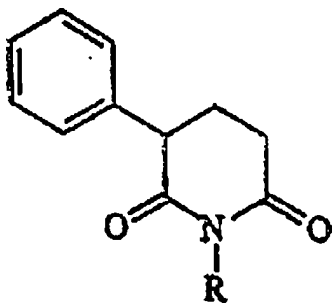
[0049] Es versteht sich, dass die Hydroxylgruppe an den Kohlenstoffatomen 1, 2, 3, 4, 5 und 6 des Benzolrings angebracht sein kann. Gleichfalls als Teil der vorliegenden Erfindung betrachtet sind Dihydroxyl-Verbindungen, bei denen die zwei Hydroxylgruppen in Bis-Stellung zueinander an den Kohlenstoffatomen 1, 2, 3, 5 und 6 der obigen Verbindungen angeordnet sind. Die Epoxide, die Hydrolyseprodukte der Epoxide und die Hy-

hydrolyseprodukte des Thalidomids werden als Teil der vorliegenden Erfindung betrachtet.

[0050] Es ist bekannt, dass Epoxide durch eine Gruppe von Enzymen hydrolysiert werden, welche als Epoxid-Hydrolasen bekannt sind. Es gibt eine Klasse von Verbindungen, welche Inhibitoren der Epoxid-Hydrolase sind. Beispiele dieser Verbindungen sind Valpromid (2-Propylpentanamid) und Valproinsäure (2-Propylpentansäure). Da Epoxide wichtige Inhibitoren der Angiogenese darstellen, werden Verbindungen, welche irgendeine der Verbindungen für die Inhibierung der Angiogenese, die hier aufgeführt sind, in Kombination mit Inhibitoren für die Epoxid-Hydrolase als Teil der vorliegenden Erfindung betrachtet. Die Inhibitoren der Epoxid-Hydrolase können einem Menschen oder einem Tier zusammen oder aufeinander folgend verabreicht werden. Es scheint so, dass die Epoxidgruppe ein wichtiger Substituent ist, der einigen Inhibitoren für die Angiogenese gemeinsam ist. Die Verwendung von Epoxid-Hydrolase-Inhibitoren zur Steigerung der Wirksamkeit eines beliebigen Angiogenese-Inhibitors, der ein Epoxid enthält, wird als Teil der vorliegenden Erfindung betrachtet. Beispielsweise können Inhibitoren der Epoxid-Hydrolase mit den folgenden Epoxid-enthaltenden Verbindungen gegen Angiogenese verabreicht werden: AGM 1470, Eponimycin, mikrobiische Metabolite von *Scolecobasidium arenarium*, welche als f/2015, fr/111142 und fr/18487 bezeichnet werden (vergleiche Oikawa, Biochem. Biophys. Res. Comm., Vol. 81: 1070 (1971) und Otsuka, J. Microbiol. Biotech., Vol. 1: 163 (1991)).

[0051] Die Verwendung der Epoxid-enthaltenden Angiogenese-Inhibitoren mit oder ohne Epoxid-Hydrolase-Inhibitoren in Zusammensetzungen und bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Krankheiten, welche durch erhöhte oder toxische Levels an TNF- α vermittelt werden, werden als eine Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrachtet. Es ist bereits erkannt worden, dass TNF- α eine Dosis-abhängige Toxizität aufweist. Wenn es langfristig in niedrigen Dosierungen vorhanden ist, kann TNF- α zu Kachexia führen. Kachexia ist ein allgemeiner Gewichtsverlust und Kräfteverfall, der im Verlauf einiger chronischer Erkrankungen wie beispielsweise Krebs, opportunistischen Infektionen von AIDS, inflammatorischen Erkrankungen, parasitischen Erkrankungen, Tuberkulose und Therapie mit hoher Dosierung an IL-2 auftritt. Die Angiogenese-Inhibitoren welche Epoxid enthalten, sind mit oder ohne Epoxid-Hydrolase-Inhibitoren gleichfalls wirksam bei der Behandlung von Krankheiten wie beispielsweise dem septischen Schock, der Lepra und der Transplantat-Gegen-Wirt-Reaktion.

[0052] Auch andere Ausführungsformen werden von der vorliegenden Erfindung umfasst. Beispielsweise können andere Dysmelia-verursachende Verbindungen erfindungsgemäß verwendet werden, beispielsweise 4-Methylphthalsäure, Pyridoxin, Vasopressin, Acetazolamid oder eine Verbindung, welche die folgende Formel aufweist (wobei R=H, -OH oder -CH₃ ist):



[0053] Andere Verbindungen, welche Teratogene sind, wie beispielsweise Valproinsäure (2-Propylpentansäure), die Retinoide, wie beispielsweise die cis-Retinsäure und Rifampin können gleichfalls erfindungsgemäß verwendet werden.

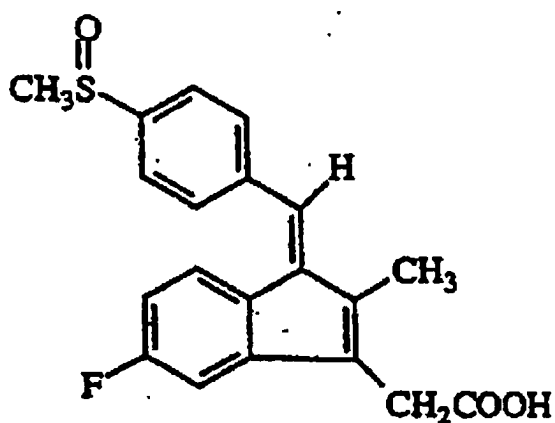
[0054] Zusammenfassend sind die bevorzugten Verbindungen Thalidomid ebenso wie Analoge, Hydrolyseprodukte, Metabolite und Vorstufen von Thalidomid, welche teratogen sind, und noch typischer Verbindungen, welche Dysmelia verursachen. Es ist jedoch selbstverständlich, dass eine Verbindung nicht notwendiger Weise sowohl teratogene Wirksamkeit als auch eine Wirksamkeit zur Inhibierung der Angiogenese aufweisen muss, um als Teil der vorliegenden Erfindung betrachtet zu werden. Dysmelia-verursachende Verbindungen können nach den allgemeinen Verfahren von Helm, Arzneimittelforschung 31(i/6): 941-949 (1981) identifiziert werden, bei welchen Kaninchenjunge getestet werden, nachdem sie der Verbindung im Uterus ausgesetzt wurden. Die Verbindungen können im Allgemeinen zugekauft werden, beispielsweise von Andrus Pharmaceuticals, Beltsville, MD, oder können gemäß der bekannten Verfahren hergestellt werden. Es versteht sich, dass die Verbindungen der vorliegenden Erfindung als Enantiomere vorliegen können, und dass die racemische Mischung der Enantiomere oder die isolierten Enantiomere alle als im Umfang der vorliegenden Erfindung liegend betrachtet werden.

[0055] Viele der Verbindungen, welche als Teil der vorliegenden Erfindung betrachtet werden, können in optisch aktiven Enantiomeren der oben spezifizierten Verbindungen angereichert werden. Besonders Blaschke hat berichtet, dass die S-Enantiomere unverhältnismäßig stark für die Dismelia-erzeugende Wirkung dieser Verbindungen verantwortlich sein können (vergleiche allgemein Blaschke, Arzneimittelforschung 29: 1640–1642 (1979)). Die oben beschriebenen Artikel beschreiben im Allgemeinen Verfahren um optisch aktive Präparationen der interessierenden Verbindungen zu erhalten (vergleiche beispielsweise Shealy et al., Chem. Indus. 1030 (1965); und Casini et al., Farmaco Ed. Sci. 19: 563 (1964)).

[0056] In einer weiteren Ausführungsform können antiinflammatorisch wirkende Verbindungen entweder alleine oder in Kombination mit anderen Verbindungen für die Angiogenese-Inhibierung, wie beispielsweise die oben beschriebenen, in der Zusammensetzung und bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung zur Inhibierung der Angiogenese oder zur Behandlung der Angiogenese verwendet werden. Diese antiinflammatorisch wirkenden Verbindungen können entweder Steroide oder nichtsteroidale antiinflammatorisch wirkende Medikamente (NSAIDs) sein. Beispiele von Steroiden, die in der Erfindung verwendet werden können, beinhalten, ohne aber darauf beschränkt zu sein, Cortison, Cortisol, Corticosteron, Hydrocortison, Hydrocortisol, Prednison, Prednisolon, Dexamethason, Beclomethason, Betamethason, Mometason, Mometason-Furoat, Budesonid, Triamcinolon-Acetonid und Fluticason. Bevorzugte Steroide sind Prednison, Hydrocortison, Cortisol, Dexamethason, Betamethason und Beclomethason. Besonders bevorzugte Steroide sind Hydrocortison, Dexamethason und Betamethason.

[0057] Beispiele von NSAIDs, welche für die Erfindung verwendet werden können, umfassen, ohne aber darauf begrenzt zu sein, Aspirin, Acetaminophen, Ibuprofen, Esculetin, Phenidon, Quercitin, Ketoprofen, Nordihydroguaiarsäure (NDGA), Sulindac, Sulindacsulfon, Sulindacsulfid, Indomethacin, NS-398 (ein Cyclooxygenase-2-Inhibitor), Cyclooxygenase-1-Inhibitoren, Methylheptylimidazol, Furegrelat-Natrium, SKF525AHCL, Thromboxan-Inhibitoren, Thoradol, ECASA, Salsalat, Diflunisal, Mefenaminsäure, Naproxen, Naproxen-Natrium, Floctafenin, Meclofenamat, Phenylbutazon, Oxyphenbutazon, Diclofenac, Etodolac, Fenoprofen, Flufenaminsäure; Flurbiprofen, Pirprofen, Tolmetin, Apazon, Fenbufen, Nabumeton, Oxaprozin, Piroxicam, Salicylat und Tenoxicam. Bevorzugte NSAIDs sind Sulindac, Sulindacsulfon, Sulindacsulfid, Indomethacin, NS-398, Methylheptylimidazol, Furegrelat-Natrium und SKF525AHCL. Besonders bevorzugte NSAIDs sind Indomethacin und Sulindac.

[0058] Sulindac, welches (Z)-5-Fluor-2-methyl-1-[[4-(methylsulfinyl)phenyl]methylen]-1H-inden-3-essigsäure beziehungsweise cis-5-Fluor-2-methyl-1-[p-(methylsulfinyl)benzyliden]inden-3-essigsäure umfasst, hat die folgende Struktur:



[0059] Solche Verbindungen können zur Behandlung von Angiogenese-abhängigen Krankheiten verwendet werden. Solche Verbindungen können alleine oder in Kombination mit anderen Verbindungen, welche die Angiogenese inhibieren, verwendet werden, um Angiogenese-abhängige Krankheiten zu behandeln, wie beispielsweise Krebs.

[0060] Die oben beschriebenen Verbindungen können als pharmazeutisch verträgliche Formulierungen unter Verwendung von Formulierungsverfahren verwendet werden, die dem Fachmann bekannt sind. Diese Formulierungen können über Standardwege verabreicht werden. Im Allgemeinen können die Kombinationen über den topischen, den transdermalen, den oralen, den rektalen oder den parenteralen (beispielsweise intravenös, subkutan oder intramuskulär) Weg verabreicht werden. Zusätzlich können die Kombinationen in bioabbaubare Polymere eingearbeitet werden, die die anhaltende Freisetzung der Verbindung erlauben, wobei die Polymere

in Nachbarschaft zum gewünschten Verabreichungsort des Medikaments implantiert werden, beispielsweise am Orte eines Tumors. Die bioabbaubaren Polymere und ihre Verwendung werden beispielsweise in Brehm et al., J. Neurosurg. 74: 441–446 (1991) beschrieben.

[0061] Die Dosierung der Verbindung wird abhängen vom Zustand, der behandelt werden soll, von der bestimmten Verbindung und anderen klinischen Faktoren, wie beispielsweise dem Gewicht und Zustand des Menschen oder des Tieres und dem Verabreichungsweg der Verbindung. Es ist selbstverständlich, dass die vorliegende Erfindung sowohl die Anwendung für den Menschen und für das Tier umfasst. Für die orale Verabreichung an Menschen ist im Allgemeinen eine Dosierung zwischen ungefähr 0,1 bis 300 mg/kg/Tag, vorzugsweise zwischen ungefähr 0,5 und 50 mg/kg/Tag und noch mehr bevorzugt zwischen ungefähr 1 bis 10 mg/kg/Tag ausreichend.

[0062] Die Formulierungen umfassen jene, die für die orale, rektale, ophthalmische (einschließlich intravitreale oder intracamereale), nasale, topische (einschließlich bukkale und sublinguale), vaginale oder parenterale (einschließlich subkutane, intramuskuläre, intravenöse, intradermale, intratracheale und epidurale) Verabreichung geeignet sind. Die Formulierungen können bequem in einer Einheitsdosierungsform dargereicht und durch konventionelle pharmazeutische Techniken hergestellt werden. Solche Techniken umfassen den Schritt des In-Verbindung-Bringens des wirksamen Bestandteils und des pharmazeutischen Trägers/der Träger oder des Hilfsstoffs/Hilfsstoffe. Im Allgemeinen werden die Formulierungen durch gleichmäßiges und enges In-Verbindung-Bringen des wirksamen Bestandteils mit den Trägern oder den fein verteilten festen Trägern oder beiden hergestellt, und dann wird, falls notwendig, das Produkt geformt.

[0063] Formulierungen der vorliegenden Erfindung, die für die orale Verabreichung geeignet sind, können als diskrete Einheiten wie beispielsweise Kapseln, Obladenkapseln oder Tabletten dargereicht werden, von denen jede eine festgelegte Menge des wirksamen Bestandteils enthält; als ein Pulver oder Granulat; als eine Lösung oder Suspension in einer wässrigen Flüssigkeit oder einer nicht-wässrigen Flüssigkeit; oder als eine flüssige Öl-in-Wasser-Emulsion oder als eine Wasser-in-Öl-Emulsion oder als ein Bolus, etc.

[0064] Eine Tablette kann durch Kompression oder durch Formen hergestellt werden, gegebenenfalls mit einem oder mehreren zusätzlichen Bestandteilen. Komprimierte Tabletten können durch Kompression des wirksamen Bestandteils in einer frei-fließenden Form, beispielsweise als Pulver oder Granulat, gegebenenfalls gemischt mit einem Bindemittel, einem Gleitmittel, einem inerten Verdünnungsmittel, einem Konservierungsmittel, einem oberflächenaktiven Mittel oder einem dispergierend wirkenden Mittel, in einer geeigneten Maschine hergestellt werden. Geformte Tabletten können durch Formen einer Mischung der gepulverten Verbindung, die mit einem inerten flüssigen Verdünnungsmittel angefeuchtet ist, in einer geeigneten Maschine hergestellt werden. Die Tabletten können gegebenenfalls beschichtet oder gekerbt und so formuliert werden, dass sie eine langsame oder kontrollierte Freisetzung des darin enthaltenen wirksamen Bestandteils ermöglichen.

[0065] Formulierungen, welche für die topische Verabreichung im Mund geeignet sind, umfassen Pastillen, welche die Bestandteile in einer Grundlage mit Geschmack umfassen, gewöhnlich Rohrzucker und Akazien-gummi oder Tragantgummi; Pastillen, welche den wirksamen Bestandteil in einer inerten Grundlage wie beispielsweise Gelatine und Glycerin oder Rohrzucker und Akaziengummi enthalten; und Mundwässer, welche den zu verabreichenden Wirkstoff in einem geeigneten flüssigen Träger enthalten.

[0066] Formulierungen, welche für die topische Verabreichung auf die Haut geeignet sind, können als Salben, Cremes, Gele und Pasten dargestellt werden, welche den zu verabreichenden Wirkstoff in einem pharmazeutisch akzeptablem Träger enthalten. Ein bevorzugtes topisches Zuführungssystem ist ein transdermales Pflaster, welches den zu verabreichenden Wirkstoff enthält.

[0067] Formulierungen für die rektale Verabreichung können als Zäpfchen mit einer geeigneten Grundlage dargestellt werden, welche beispielsweise Kakaobutter oder ein Salicylat umfasst.

[0068] Formulierungen, welche für die nasale Verabreichung geeignet sind, wobei der Träger ein Feststoff ist, enthalten ein grobes Pulver, welches eine Teilchengröße von beispielsweise im Bereich von 20 bis 500 Mikron aufweist, welches in einer Weise verabreicht wird, in welcher auch Schnupftabak verabreicht wird, das heißt durch schnelle Inhalation durch die Nasenwege aus einem Behälter mit dem Pulver, der nahe an die Nase gehalten wird. Geeignete Formulierungen für die Verabreichung, wobei der Träger eine Flüssigkeit ist, wie beispielsweise ein Nasenspray oder Nasentropfen, umfassen wässrige oder ölige Lösungen des Wirkstoffs.

[0069] Formulierungen, welche für die vaginale Verabreichung geeignet sind, können als Pessar, Tampon,

Creme, Gel, Paste, Schaum oder Sprayformulierung dargereicht werden, welche zusätzlich zum Wirkstoff solche Träger enthalten, wie sie im Stand der Technik als geeignet bekannt sind.

[0070] Formulierungen, die für die parenterale Verabreichung geeignet sind, umfassen wässrige und nicht-wässrige sterile Injektionslösungen, welche Antioxidantien, Puffer, Bakteriostatika und Lösungen enthalten können, welche die Formulierung zum Blut des beabsichtigten Empfängers isotonisch machen; und wässrige und nicht-wässrige sterile Suspensionen, welche suspendierend wirkende Substanzen und Verdicker enthalten. Die Formulierungen können in Behältern mit einer Einheitsdosis oder einer Mehrfachdosis dargereicht werden, beispielsweise in verschlossenen Ampullen und Violen, und können in gefriergetrockneter (lyophilisierter) Form aufbewahrt werden, welche nur den Zusatz des sterilen flüssigen Trägers erfordert, beispielsweise von Wasser für Injektionen unmittelbar vor der Verwendung. Improvisierte Injektionslösungen und Suspensionen können aus sterilen Pulvern, Granulaten und Tabletten der vorstehend beschriebenen Art hergestellt werden.

[0071] Bevorzugte Einheitsdosierungsformulierungen sind jene, welche eine tägliche Dosis oder Einheit des verabreichten Bestandteils, eine tägliche Unterdosis wie oben vorgetragen oder einen geeigneten Anteil davon enthalten.

[0072] Es ist selbstverständlich, dass zusätzlich zu den Bestandteilen, besonders den oben beschriebenen, die Formulierungen der vorliegenden Erfindung andere Wirkstoffe enthalten können, welche beim Stand der Technik üblich sind, welche den in Frage kommenden Formulierungstyp berücksichtigen, beispielsweise können jene, die für die orale Verabreichung geeignet sind, Geschmackswirkstoffe beinhalten.

[0073] Erkrankungen, welche mit der kornealen Neovaskularisation verbunden sind, welche unter Verwendung der Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung behandelt werden können, beinhalten ohne jedoch darauf begrenzt zu sein, die diabetische Retinopathie, Frühgeborenenretinopathie, die Abstoßung von Hornhautimplantaten, neovaskuläre Glaukome und retrolentale Fibroplasie, epidemische Keratokonjunktivitis, Vitamin-A-Mangel, Abnutzung durch Kontaktlinsen, atopische Keratitis, obere limbische Keratitis, Pterygium keratitis sicca, Sjögren-Syndrom, Acne rosacea, Phlyctenulose, Mykobakterieninfektionen, Fettdegeneration, chemische Verbrennungen, bakterielle Geschwüre, Pilzgeschwüre, Herpes simplex-Infektionen, Herpes zoster-Infektionen, Protozoeninfektionen, Kaposi-Sarkom, Mhoren-Ulcus, Terriensche Marginaldystrophie, Marginalkeratolyse, Traumata, rheumatische Arthritis, systemischer Lupus, Polyarthritis, Wegener-Sarkoidose, Scleritis, Stevens-Johnson-Krankheit, Radialkeratotomie, Pemphigoid und die Abstoßung von Hornhautimplantat.

[0074] Krankheiten, welche mit der retinalen/choroidalen Neovaskularisation verbunden sind, welche unter Verwendung der Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung behandelt werden können, beinhalten, ohne aber darauf begrenzt zu sein, die diabetische Retinopathie, Makuladegeneration, Sichelzellenanämie, Sarkoid, Syphilis, Pseudoxanthoma elasticum, Paget-Krebs, Venenverschluss, Arterienverschluss, obstruktive Karotisstenose, chronische Uveitis/Vitritis, Mykobakterieninfektionen, Lyme-Krankheit, systemischer Lupus erythematosus, Frühgeborenenretinopathie, Eale-Krankheit, Behcet-Krankheit, Infektionen, welche eine Retinitis oder Choroiditis hervorrufen, vermutete okuläre Histoplasmose, Best-Krankheit, Kurzsichtigkeit, Augentrichter, Stargardt-Krankheit, Pars planitis, chronische Hornhautablösung, Hyperviskositätssyndrome, Taxoplasmose, Traumata und Post-Laser-Komplikationen. Andere Krankheiten beinhalten, ohne aber darauf begrenzt zu sein, Erkrankungen, die mit Rubeose (Neovaskularisation in Winkeln) verknüpft sind und Krankheiten, die durch die abnormale Vermehrung des fibrovaskulären oder fibrösen Gewebes verbunden sind, einschließlich aller Formen der proliferativen Vitreoretinopathie, die mit Diabetes verbunden oder nicht mit Diabetes verbunden sein kann.

[0075] Erkrankungen, welche mit chronischer Entzündung verbunden sind, können durch die Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung behandelt werden.

[0076] Erkrankungen mit Symptomen einer chronischen Entzündung beinhalten entzündliche Darmerkrankungen, wie beispielsweise Crohn-Krankheit und ulcerative Colitis, Schuppenflechte, Sarkoidose und rheumatische Arthritis. Angiogenese ist ein Schlüsselement, welches diese chronischen inflammatorisch wirkenden Krankheiten gemeinsam haben. Die chronische Entzündung ist abhängig von der kontinuierlichen Bildung von Kapillartrieben, um das Einströmen von inflammatorisch wirkenden Zellen aufrecht zu erhalten. Der Einstrom und die Gegenwart von inflammatorisch wirkenden Zellen erzeugt Granulome und hält daher den chronischen entzündeten Zustand aufrecht. Die Inhibierung der Angiogenese durch die Zusammensetzungen und Methoden der vorliegenden Erfindung wird die Bildung der Granulome verhindern und die Krankheit lindern.

[0077] Die Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung können zur Behandlung von Patienten mit inflammatorisch wirkenden Erkrankungen der Därme verwendet werden, beispielsweise wie die Crohn-Krankheit und die ulcerative Colitis. Sowohl die Crohn-Krankheit wie auch die ulcerative Colitis sind durch eine chronische Entzündung und Angiogenese an verschiedenen Orten im gastrointestinalen Trakt gekennzeichnet. Die Crohn-Krankheit ist durch eine chronische granulomatöse Entzündung des gastrointestinalen Trakts gekennzeichnet, welche aus neuen Kapillartrieben besteht, welche zylindrisch von inflammatorisch wirkenden Zellen umgeben sind. Die Vermeidung der Angiogenese durch die Zusammensetzungen und Verfahren der vorliegenden Erfindung inhibiert die Bildung der Triebe und verhindert die Bildung der Granulome.

[0078] Die Crohn-Krankheit tritt als eine chronische transmurale inflammatorisch wirkende Erkrankung auf, welche den distalen Krummdarm und den Dickdarm beeinträchtigen, welche aber ebenso in einem beliebigen Teil des Verdauungstraktes vom Mund zum Anus und dem perianalen Bereich auftreten kann. Patienten mit Crohn-Krankheit haben im Allgemeinen chronischen Durchfall, der mit Unterleibsschmerzen, Fieber, Appetitlosigkeit, Gewichtsverlust und Anschwellen des Unterleibs verbunden ist. Die ulcerative Colitis ist gleichfalls eine chronische, nicht spezifische, inflammatorische und ulcerative Erkrankung, die in der Schleimhaut des Dickdarms auftritt und durch die Anwesenheit von blutigem Durchfall charakterisiert ist. Die inflammatorisch wirkenden Erkrankungen des Darms drücken sich auch in extraintestinalen Erscheinungsformen wie beispielsweise Hautläsionen aus. Solche Läsionen sind durch Entzündung und Angiogenese gekennzeichnet und können an vielen anderen Orten als dem Verdauungstrakt auftreten. Die Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung sind gleichfalls in der Lage, diese Läsionen durch Verhütung der Angiogenese zu behandeln, wobei dadurch das Einströmen inflammatorisch wirkender Zellen und dadurch die Bildung von Läsionen reduziert wird.

[0079] Sarkoidose ist eine weitere chronische inflammatorische Erkrankung, welche durch eine multisystemische granulomatöse Funktionsstörung gekennzeichnet ist. Die Granulome dieser Erkrankung können irgendwo im Körper gebildet werden, und daher sind die Symptome vom Orte der Granulome abhängig und abhängig davon, ob die Krankheit aktiv ist. Die Granulome werden in den mit Angiogenese behafteten Kapillartrieben erzeugt, wobei eine konstante Zufuhr von entzündeten Zellen ermöglicht wird.

[0080] Die Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung können gleichfalls chronische entzündete Zustände behandeln, die mit Schuppenflechte verbunden sind. Schuppenflechte, eine Hautkrankheit, ist eine weitere chronische und wiederkehrende Krankheit, die durch Papula und Plaques verschiedener Größe gekennzeichnet ist. Die Vermeidung der Bildung der neuen Blutgefäße ist notwendig, um die charakteristischen Läsionen aufrecht zu erhalten, die zur Erleichterung von den Symptomen führen.

[0081] Eine weitere Erkrankung, die unter Verwendung der Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung behandelt werden kann, ist die rheumatische Arthritis. Rheumatische Arthritis ist eine chronische Entzündung, die durch eine nicht-spezifische Entzündung der peripheren Gelenke gekennzeichnet ist. Es wird angenommen, dass die Blutgefäße in der synovialen Anordnung der Gelenke der Angiogenese ausgesetzt sind. Zusätzlich zur Bildung neuer vaskulärer Netzwerke setzen die endothelischen Zellen Faktoren und reaktive Sauerstoffspezies frei, die zum Pannuswachstum und zur Zerstörung des Knochenmarks führen. Die Faktoren, welche in der Angiogenese involviert sind, können aktiv beitragen und dazu helfen, den chronisch entzündeten Zustand der rheumatischen Arthritis beizubehalten.

[0082] Andere Erkrankungen, welche unter Verwendung der Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung behandelt werden können, sind Hemangiome, die Osler-Weber-Rendu-Krankheit oder die vererbte hämorrhagische Teleangiectasie, feste oder hämatogene Tumore und erworbene Immunabgeschwäche.

[0083] Die Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung umfassen Verbindungen, welche die Angiogenese inhibieren und antiinflammatorisch wirkende Verbindungen, beispielsweise Steroide oder nichtsteroidale antiinflammatorisch wirkende Arzneimittel (NSAIDs). Die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung umfassen die Kombination der Verbindungen, welche die Angiogenese inhibieren, beispielsweise Thalidomid oder Thalidomid-ähnliche Analoge oder AMG-1470, EM-12 oder EM-138 mit antiinflammatorisch wirkenden Verbindungen, beispielsweise Steroide oder nichtsteroidale antiinflammatorisch wirkende Medikamente (NSAIDs). Die Zusammensetzungen und Medikamente der vorliegenden Erfindung umfassen auch antiinflammatorisch wirkende Verbindungen alleine. Diese Zusammensetzungen können zur Behandlung von Krankheiten, welche von der Angiogenese abhängig sind, verwendet werden.

[0084] Beispielsweise wurde bereits gefunden, dass Indomethacin (5 mg/kg) die durch bFGF induzierte An-

giogenese um 59% und die durch VEGF induzierte Angiogenese um 61% inhibiert. Ähnlich wurde bereits gefunden, dass Sulindac (25 mg/kg) die durch bFGF induzierte Angiogenese um 50% und die durch VEGF induzierte Angiogenese um 55% inhibiert. Sulindac wird in vivo zu zwei Metabolite metabolisiert: in Sulindacsulfid und Sulindacsulfon. Sulindacsulfid inhibiert wirksam die Prostaglandinsynthese, während dies Sulindacsulfon nicht macht; es wurde jedoch gefunden, dass beide Angiogenese-Inhibitoren sind. Es wurde gefunden, dass Sulindacsulfid die durch bFGF induzierte Neovaskularisation um 34% inhibiert und dass Sulindacsulfon eine Inhibierung um 31% zeigte.

[0085] Von anderen NSAIDs ist gleichfalls bereits gefunden worden, dass sie die mit Neovaskularisation verbundene Angiogenese inhibieren. Beispielsweise inhibieren Carbomethylheptylimidazol und Furegrelat-Natrium, welche beide Thromboxaninhibitoren sind, die durch bFGF induzierte Neovaskularisation jeweils um 32% und 22%. Von einem anderen Thromboxaninhibitor, SKF525AHCL, welcher die Prostaglandinerzeugung fördert, wurde gefunden, dass er die bFGF-induzierte Neovaskularisation um 25% inhibiert. Der spezifische Cyclooxygenase-2-Inhibitor NS-398 inhibierte gleichfalls die durch bFGF induzierte Neovaskularisation um 25%.

[0086] Wenn Sulindac mit Thalidomid kombiniert wird, tritt ein additiver Effekt in der Inhibierung der Angiogenese ein. Wenn Sulindac mit anderen Verbindungen kombiniert wird, welche die Angiogenese inhibieren, beispielsweise mit AMG 1470, EM-12 oder EM-138, tritt ein additiver Effekt in der Inhibierung der Angiogenese ein. Angiogenese im Auge, wie im Assay, der in Beispiel 2 beschrieben wird, wird durch die Anwesenheit von bFGF (basischer fibroplastischer Wachstumsfaktor) und VEGF (vaskulärer endothelischer Zellwachstumsfaktor) erzeugt. Die Inhibierung einer solchen Angiogenese wurde mit den NSAIDs, Steroiden, Thalidomid oder der Kombination von Thalidomid und einem NSAID, nämlich Sulindac, gezeigt.

Wirkstoff	Dosis	bFGF ¹	VEGF ²
Asprin	100 mg/kg	8	-
Acetaminophen	100 mg/kg	0	0
Ibuprofen	20 mg/kg	7	11
Hydrocortison	20 mg/kg	50	40
Sulindac	25 mg/kg	52	54
Thalidomid	200 mg/kg	42	44
Thalidomid + Sulindac	200 mg/kg (Thal) + 25 mg/kg (Sulindac)	65	74
AGM 1470	30 mg/kg qod	48	
AGM 1470 + Sulindac	30 mg/kg qod (AGM) + 25 mg/kg (Sulindac)	70	

¹ Inhibierung der durch bFGF induzierten Angiogenese in %

² Inhibierung der durch VEGF induzierten Angiogenese in %

[0087] Die Inhibierung von VEGF um 74% zeigt den additiven Effekt, wenn Thalidomid und Sulindac kombiniert werden. Die Daten für Hydrocortison, Sulindac, Thalidomid und Thalidomid + Sulindac weichen signifikant von den Kontrollwerten ab ($p < 0,0001$). Untersuchungen mit der Zusammensetzung umfassend Thalidomid und Sulindac an V2-Karzinomen in Kaninchen haben einen T/C-Wert (behandelt/Kontroll-Verhältnis) von 0,32 nach 18 Tagen der oralen Behandlung mit Thalidomid in einer Menge von 200 mg/kg kombiniert mit 25 mg/kg Sulindac gezeigt.

[0088] Ein additiver Effekt wird gleichfalls bei der Kombination von nichtsteroidalen antiinflammatorisch wirkenden Medikamenten und anderen Verbindungen, welche die Angiogenese inhibieren, wie beispielsweise die Kombination von Sulindac und AMG-1470, gesehen. Es ist bekannt, dass AMG-1470 eine Verbindung ist, welche die Angiogenese inhibiert, wie es von Brem et al. gezeigt wurde. Nach einer fortgesetzten Therapie der Angiogenese mit AMG-1470 tritt eine minimale Medikamentenresistenz ein (vergleiche Surgical Forum 45 (0), 1994, Seiten 674–677, welche als Referenz eingefügt wird). Wie in obigem Diagramm gezeigt, zeigt Sulidac + AMG-1470 einen größeren inhibierenden Effekt bei der Angiogenese als jede Verbindung alleine.

[0089] Die Erfindung wird weiter durch die folgenden Beispiele erläutert, welche nicht so ausgelegt werden dürfen, dass sie den Umfang der Erfindung begrenzen. Es ist im Gegenteil selbstverständlich, dass man auf vielfältige andere Ausführungsformen, Modifikationen und Äquivalente davon zugreifen kann, die, nachdem man die Beschreibung gelesen hat, für den Fachmann naheliegend sind, ohne vom Geist der vorliegenden Erfindung und/oder dem Umfang der angefügten Patentansprüche abzuweichen.

Beispiel I

[0090] Der Assay mit einer Chorioallantoin-Membran eines Hühnerembryos wie er beschrieben wird von Crum et al., Science 230: 1375 und folgende (1985), wird zur Identifizierung von Verbindungen verwendet, welche keine weitere metabolische Umwandlung benötigen (vergleiche auch US-Patent 5,001,116, das durch Bezugnahme aufgenommen wird, welches den CAM-Assay in Spalte 7 des Patents beschreibt). Kurz gesagt wurden befruchtete Hühnerembryos am dritten oder vierten Tag aus ihrer Schale entfernt und eine Scheibe aus Methylcellulose, welche die Verbindung enthielt, wurde in die Chorioallantoin-Membran implantiert. Die Embryos wurden 48 Stunden später untersucht, und sobald eine deutliche avaskuläre Zone um die Methylcellulose-scheibe herum auftrat, wurde der Durchmesser der Zone ausgemessen.

Beispiel 2

Angiogenese-Assay der Kaninchen-Hornhaut

[0091] Es wurden Pellets zur Implantation in die Augenhornhaut von Kaninchen durch Mischen von 110 µl einer Salzlösung, welche 12 µg rekombinante bFGF (Takeda Pharmaceuticals, Japan) enthielt mit 40 mg Sucralfat (Bukh Meditec, Dänemark) hergestellt. Diese Suspension wurde zu 80 µl von 12% Hydron (Interferon Sciences) in Ethanol hinzugefügt. 10 µl Aliquote dieser Mischung wurden dann auf Teflonstöpsel pipettiert, und es wurde diesen Aliquoten erlaubt, aufzutrocknen, wobei ungefähr 17 Pellets erzeugt wurden. Ein Pellet wurde in eine korneale Mikrotasche eines jeden Auges eines betäubten weiblichen Kaninchens vom New Zealand White-Typ implantiert, 2 mm vom Limbus entfernt, gefolgt von topischer Anwendung einer Salbe mit Erythromycin auf die Oberfläche der Augenhornhaut. Die Tiere wurden 2 Tage nach der Implantation täglich durch eine Magenspülung mit entweder einem Arzneimittel, welches in 0,5% Carboxymethylcellulose suspendiert war, oder mit 0,5% Carboxymethylcellulose alleine gefüttert. Das Thalidomid wurde von Andrus Pharmaceuical (Maryland) zugekauft, und das EM-12 und das Supidimid wurden freundlicherweise von Grünenthal GmbH (Deutschland) zur Verfügung gestellt. Die Tiere wurden mit einer Spaltlampe alle 2 Tage in einer maskierten Art und Weise durch den gleichen Hornhautspezialisten untersucht. Der Bereich der kornealen Neovaskularisation wurde durch Messung der Gefäßlänge (L) mit einer Strichplatte vom Limbus und der Anzahl der vollen Stunden (C) des beteiligten Limbus gemessen. Zur Bestimmung der Fläche eines kreisförmigen Bandsegments wurde folgende Formel verwendet: $C/12 \cdot 3.1416 [r^2 - (r - L)^2]$, worin $r = 6$ mm des gemessenen Radius der Augenhornhaut des Kaninchens bedeutet. Es wurden verschiedene mathematische Modelle verwendet, um die Menge der vaskularisierten Hornhaut zu bestimmen, und es wurde gefunden, dass diese Formel die genaueste Annäherung der Fläche des Bandes der Neovaskularisation ermöglicht, welches gegen das Pellet wächst.

[0092] Es ist wichtig, festzustellen, dass der Assay der Kaninchenhornhaut bevorzugt wird, da er im Allgemeinen Verbindungen erkennt, welche per se inaktiv sind, welche aber metabolisiert werden, um wirksame Verbindungen zu ergeben. Verbindungen, welche mit Thalidomid verwandt sind, wie unten in Beispiel III gezeigt wird, sind als Teratogene bekannt und sind Kandidaten zur Anwendung in der vorliegenden Erfindung.

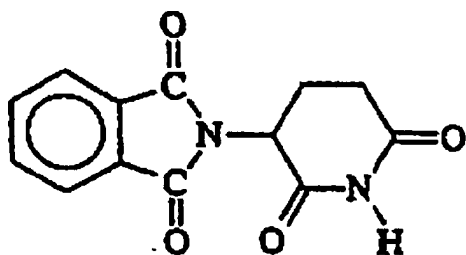
Beispiel III

[0093] Inhibierung der kornealen Neovaskularisation, welche durch bFGF induziert wird, durch Thalidomid und verwandter Analoge, ausgedrückt in Prozent einer gemittelten Kontrolle am 8. Tag

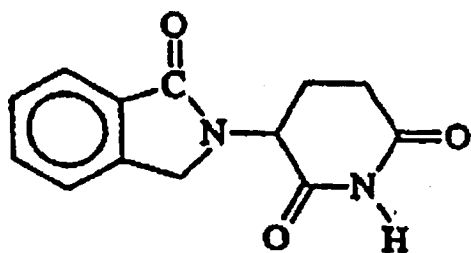
[0094] Pellets, welche bFGF und Sucralfat enthielten, wurden in Mikrotaschen beider Augenhornhäute von Kaninchen gemäß Beispiel II implantiert. Das Einwachsen der Gefäße in die klare Hornhaut vom Limbus wurde erstmals am 2. Tag und nach den Behandlungen (200 mg/kg, oral), welche an diesem Tag begann, festgestellt. Die Fläche der kornealen Neovaskularisation wurde vom 4. bis zum 12. Tag gemessen. Die Messungen am 8. Tag wurden zum Vergleich zwischen den Gruppen verwendet. Zu diesem Zeitpunkt wurde keine Regression der Gefäße und nahezu maximale Neovaskularisation gesehen.

[0095] Eine statistische Analyse wurde mit ANOVA mit Datenrang durchgeführt, um die interexperimentelle Schwankung zu berücksichtigen, und um sich gegen eine nicht-normale Datenverteilung (das heißt gegen Ausreißer) durch Verwendung einer nicht-parametrischen Methode abzusichern.

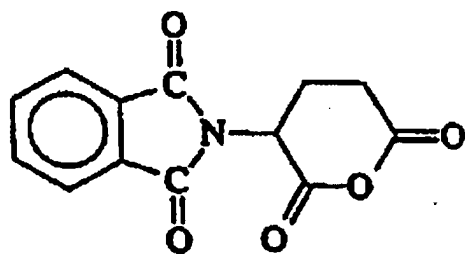
[0096] Die getesteten Verbindungen waren:



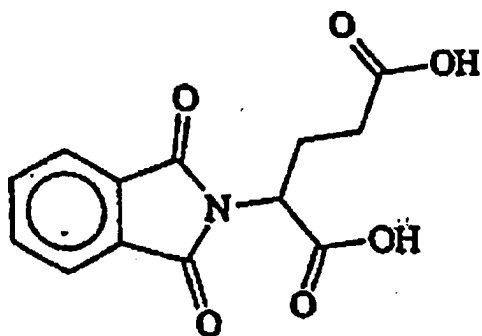
Thalidomid



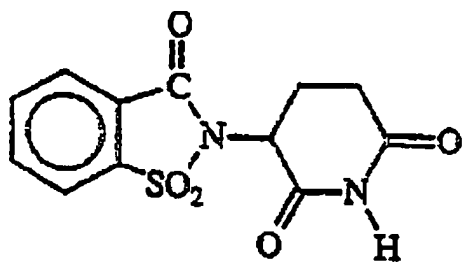
EM-12



Phthaloylglutaminsäureanhydrid (PGA)



Phthaloylglutaminsäure (PG-Säure)



Supidimid

[0097] Die Behandlung mit einer Dosis von 200 mg/kg Thalidomid resultierte in einer Inhibierung der Fläche der vaskularisierten Hornhaut, welche in drei Experimenten im Bereich von 30 bis 51% mit einer mittleren Inhibierung von 36% lag ([Fig. 6](#)) ($n = 30$ Augen, $p = 0,0001$, 2-Wege-ANOVA mit Datenrang). Die Inhibierung der Angiogenese durch Thalidomid wurde bereits nach nur 2 Dosierungen gesehen ([Fig. 7](#)). Die Kaninchen zeigten keine offensichtliche Sedierung, und es gab keine Anzeichen von Toxizität oder Gewichtsverlust. Das teratogene Analoge EM-12, welches die anderen Eigenschaften des Thalidomids teilt, wirkte gleichfalls inhibierend mit einer mittleren Inhibierung von 42% ($n = 10$ Augen, $p = 0,002$, 1-Wege-ANOVA mit Datenrang). Supidimid, ein nicht-teratogenes Analoges des Thalidomids, welches die sedativen Eigenschaften des Thalidomids erhält, zeigte keine Wirkung (Fläche 107% der Kontrolle, $n = 10$ Augen, statistisch nicht unterschiedlich zur Kontrolle). Die anderen Analoga PGA und PG-Säure zeigten schwächere inhibitorische Effekte als Thalidomid (Daten werden nicht gezeigt). Die Dichte des Einwachsens der Gefäße in Tieren, die mit Thalidomid behandelt waren, war gleichfalls markant reduziert.

Beispiel IV

EM-12 in einem Kaninchenhornhaut-Assay

[0098] EM-12 wurde im Kaninchenhornhaut-Assay getestet wie in Beispiel II beschrieben mit einer Dosierung von 100 mg/kg/Tag, und zeigte 21% Inhibierung, und ein Assay mit einer Menge von 200 mg/kg/Tag zeigte 43% Inhibierung.

Beispiel V

Phthaloylglutaminsäure in CAM

[0099] Phthaloylglutaminsäure wurde in dem oben beschriebenen CAM-Assay getestet und zeigte eine avaskuläre Zone mit einer weichen Narbe.

Beispiel VI

Phthaloylglutaminsäure in einem Kaninchenhornhaut-Assay

[0100] Phthaloylglutaminsäure wie oben beschrieben, zeigte in einer Dosierung von 200 mg/kg 29% Inhibierung der Angiogenese.

Beispiel VII

Phthaloylglutaminsäurehydrid in einem CAM-Assay

[0101] Phthaloylglutaminsäurehydrid wurde im CAM-Assay wie oben beschrieben getestet und zeigte eine avaskuläre Zone.

Beispiel VIII

Behandlung der Crohn-Krankheit

[0102] Eine 32 jährige weibliche Patientin mit Crohn-Krankheit wurde unter Verwendung der Methoden der vorliegenden Erfindung behandelt. Die Patientin zeigte die charakteristischen Symptome der Crohn-Krankheit, das heißt schwere gastrointestinale Verwicklungen (einschließlich Durchfall und Krämpfe) und eine große

Hautläsion am Unterschenkel. Thalidomid wurde ihr oral in einer Dosierung von 100 mg zweimal am Tag verabreicht. Nachdem die Behandlung eine Woche lang fortgesetzt wurde, verringerten sich die gastrointestinalen Symptome einschließlich des Durchfalls und der Bauchkrämpfe, und die Hautläsion löste sich auf.

Beispiel IX

Hornhaut-Mikrotaschen-Assay

[0103] Männliche C57B16-Mäuse, welche 6 bis 8 Wochen alt waren, wurden aus den Jackson Laboratories, MA, erhalten. Die Mäuse wurden betäubt und Taschen der Größe 0,4 × 0,4 mm im Stroma der Mäusehornhaut benachbart zum Limbus angelegt. Pellets, welche 80 ng von entweder bFGF oder VEGF enthielten wurden in den Pellets implantiert. Die Pellets, welche bFGF enthielten, wurden in einem Abstand von 1,0 bis 1,2 mm von den Gefäßen des Limbus implantiert, während die Pellets, welche das VEGF enthielten, in einem Abstand von 0,5 bis 0,7 mm von den Gefäßen des Limbus implantiert wurden. Dann wurde Erythromycin topisch appliziert.

[0104] Die Mäuse wurden dann mit verschiedenen Dosierungen von antiinflammatorisch wirkenden Medikamenten behandelt, wie in der unteren Tabelle gezeigt. Das vaskuläre Ansprechverhalten auf die Pellets wurde durch Messung der maximalen Gefäßlänge und der Anzahl der geraden Stunden der Neovaskularisation 5 Tage nach der Implantation der bFGF-Pellets und 6 Tage nach der Implantation der VEGF-Pellets gemessen. Die Fläche der kornealen Neovaskularisation wurde durch die folgende Formel berechnet, welche am besten die Fläche der Neovaskularisation annäherte: Fläche (mm²) = [n × Anzahl der vollen Stunden × Länge (mm) × 0,2 (mm)]. Die Ergebnisse werden in der folgenden Tabelle gezeigt.

Wirkstoff	Dosis	bFGF ¹	VEGF ²	n	p-Wert
Aeataminophen	100 mg/kg	0	-	8	ns
Aspirin	10-160 mg/kg	0-11	-	8	ns
NDGA	25 mg/kg	30	-	8	ns
Esculetin	200 mg/kg	15	-	8	0,02
Phenidon	100 mg/kg	17	-	8	<0,01
Quercetin	300 mg/kg	18	-	8	<0,01
Ibuprofen	25 mg/kg	6	8	23/8	ns/ns
Ketoprofen	80 mg/kg	30	41	8/8	< 0,1
Indomethacin	5 mg/kg	59	61	15/21	< 0,01/< 0,1
Sulindac	25 mg/kg	50	55	15/15	< 0,01< 0,1

¹ Inhibierung der Angiogenese, die durch bFGF induziert wurde in %

² Inhibierung der Angiogenese, die durch VEGF induziert wurde in %

[0105] Der Inhibitoreffekt wird in % ausgedrückt und stellt die Fläche der kornealen Neovaskularisation entweder von bFGF oder VEGF dar verglichen mit den Kontrollen (n = 8/Versuch) der Versuche, in denen das jeweilige Medikament getestet wurde. N ist die Anzahl der Augen, welche getestet wurden, und Medikamente, wurden einmal am Tag entweder sc, ip oder oral wie beschrieben gegeben.

Beispiel X

[0106] Männliche C57B16-Mäuse, welche sechs bis acht Wochen alt waren, wurden aus den Jackson Laboratories, MA, erhalten. Die Mäuse wurden betäubt und 0,4 × 0,4 mm große Taschen im Stroma der Mäusehorn-

haut benachbart zum Limbus angelegt. Es wurden Pellets implantiert, welche 80 ng entweder an bFGF oder VEGF enthielten. Die Pellets, welche bFGF enthielten, wurden in einem Abstand von 1,0 bis 1,2 mm zu den Limbusgefäßen implantiert, während die Pellets, welche VEGF enthielten, in einem Abstand von 0,5 bis 0,7 mm zu den Limbusgefäßen implantiert wurden. Dann wurde Erythromycin topisch angewendet.

[0107] Die Mäuse wurden dann mit Thalidomid, Indomethacin, Sulindac oder Kombinationen von Thalidomid mit entweder Indomethacin oder Sulindac behandelt. Das vaskuläre Ansprechverhalten auf die Pellets wurde durch die maximale Gefäßlänge und die Anzahl der vollen Stunden der Neovaskularisation 5 Tage nach der Implantation der bFGF-Pellets und 6 Tage nach der Implantation der VEGF-Pellets gemessen. Die Fläche der kornealen Neovaskularisation wurde unter Verwendung der folgenden Formel berechnet, welche am besten die Fläche der Neovaskularisation annäherte: Fläche (mm²) = [n × Anzahl der vollen Stunden × Länge (mm) × 0,2 (mm)]. Die Ergebnisse werden in der folgenden Tabelle gezeigt.

Wirkstoff	Dosis	bFGF ¹	VEGF ²	n
Thalidomid	200 mg/kg	41	40	31/39
Indomethacin	5 mg/kg	59	61	15/21
Sulindac	25 mg/kg	50	55	15/15
Thalidomid + Indomethacin	200 mg/kg + 5 mg/kg	67	61	15/21
Thalidomid + Sulindac	200 mg/kg + 25 mg/kg	63 ³	74 ³	15/16

¹ Inhibierung der durch bFGF induzierten Angiogenese in

² Inhibierung der durch VEGF induzierten Angiogenese in %

³ der Inhibitoreffekt ist signifikant unterschiedlich von den alleine verwendeten Wirkstoffen (p < 0,01, mit ANOVA getestet)

[0108] Der Inhibitoreffekt ausgedrückt in % stellt die Fläche der kornealen Neovaskularisation entweder von bFGF oder VEGF dar verglichen mit den Kontrollen (n 8/Versuch) der Versuche, in denen das jeweilige Medikament getestet wurde. N ist die Anzahl der Augen, welche getestet wurden, wobei die Medikamente einmal täglich entweder sc, ip oder oral wie beschrieben verabreicht wurden.

Beispiel XI

[0109] Männliche C57B16-Mäuse, welche sechs bis acht Wochen alt waren, die von den Jackson Laboratories, MA, erhalten wurden, wurden betäubt und 0,4 × 0,4 mm große Taschen im Stroma der Mäusehornhaut benachbart zum Limbus angelegt.

[0110] Pellets, welche 80 ng an bFGF enthielten, wurden in einem Abstand von 1,0–1,2 mm zu den Limbusgefäßen implantiert. Erythromycin wurde dann topisch angewendet.

[0111] Die Mäuse wurden dann mit Sulindac oder mit einem der Sulindacderivate, mit Sulindacsulfon oder Sulindacsulfid, behandelt. Das vaskuläre Ansprechverhalten auf die Pellets wurde durch die maximale Gefäßlänge und die Anzahl der vollen Stunden der Neovaskularisation 5 Tage nach der Implantation der bFGF-Pellets gemessen. Die Fläche der kornealen Neovaskularisation wurde unter Verwendung der folgenden Formel berechnet, welche am besten die Fläche der Neovaskularisation annähert: Fläche (mm²) = [n × Anzahl der vollen Stunden × Länge (mm) × 0,2 (mm)]. Die Ergebnisse werden in der folgenden Tabelle gezeigt:

Wirkstoff	Dosis	Inhibierung in %	n
Sulindac	25 mg/kg	50	15
Sulindacsulfid	25 mg/kg	31	8
	50 mg/kg	34	8
Sulindacsulfon	25 mg/kg	31	16

[0112] Der Inhibitoreffekt wird in % ausgedrückt und stellt die Fläche der kornealen Neovaskularisation durch bFGF dar verglichen mit den Kontrollen (n = 8/Versuch). N ist die Anzahl der Augen, welche getestet wurden, und die Medikamente wurden einmal am Tag entweder sc, ip oder oral wie beschrieben gegeben.

Beispiel XII

Tumor-Assay

[0113] Weibliche Kaninchen vom New Zealand White-Typ, welche ungefähr 1,5 kg wogen und von Charles River, MA, erhalten wurden, wurden dazu verwendet, die V2-Karzinome zu vermehren. Dieser Tumor stammt von einem Papillom, das vom Shope-Virus induziert wird. Kleine 0,5 × 0,5 cm große Stücke wurden intramuskulär im rechten Oberschenkel implantiert. Die Behandlung mit 200 mg/kg/Tag Thalidomid (n = 14), 60 mg/kg/Tag Sulindac (n = 5) oder einer Kombination von Thalidomid und Sulindac (n = 10) wurde am 10. Tag nach der Tumorimplantation begonnen sobald das mittlere Volumen des Tumors 6 cm³ betrug. Die Kontrolltiere (n = 13) wurden mit Methylcellulose behandelt. Die Kaninchen wurden 17 Tage nach dem Beginn der Behandlung getötet als das mittlere Volumen der Kontrollgruppe 100 cm³ betrug. Die Resultate dieses Experiments ([Fig. 8](#)) zeigen, dass die Kombination von Thalidomid und Sulindac effektiver für die Reduzierung der Größe der V2-Karzinom-Tumore ist als Thalidomid oder Sulindac alleine. Die Kombination von Thalidomid und Sulindac inhibierte das Tumorstadium um 75% und war signifikant unterschiedlich vom jeweiligen Wirkstoff alleine oder von der Kontrollgruppe. Die orale Behandlung mit Sulindac oder Thalidomid inhibierte das Tumorstadium um jeweils 35% (n = 5, p < 0,01) und 55% (n = 14, p < 0,01). Die Daten wurden in drei separaten Experimenten gesammelt; jeder Balken stellt die Standardabweichung vom Mittel dar.

Patentansprüche

1. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend eine Menge Thalidomid und eine Menge eines nichtsteroidalen, antiinflammatorisch wirkenden Medikaments (NSAIM) ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Esculetin, Phenidon, Quercetin, Nordihydroguaiarsäure (NDGA), Sulindacsulfon, Sulindacsulfid, N-[2-cyclohexyloxy-4-nitrophenyl]methansulfonamid, Methylheptylimidazol, Furegrelat-Natrium, N,N-Diethylaminoethyl-2,2-diphenylvalerat-HCL, Toradol, Salsalat, Diflunisal, Floctafenin, Phenylbutazon, Oxyphenbutazon, Azapropazon, Nabumeton, Piroxicam, Salicylat und Tenoxicam in einem pharmazeutisch akzeptablen Träger.

2. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das nichtsteroidale, antiinflammatorisch wirkende Medikament (NSAIM) Sulindacsulfon oder Sulindacsulfid ist.

3. Verwendung von Thalidomid und einem nichtsteroidalen, antiinflammatorisch wirkenden Medikament (NSAIM) ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Acetaminophen, Esculetin, Phenidon, Quercetin, Ketoprofen, Nordihydroguaiarsäure (NDGA), Sulindac, Sulindacsulfon, Sulindacsulfid, Indomethacin, N-[2-Cyclohexyloxy-4-nitrophenyl]methansulfonamid, NS-398 (einem Cyclooxygenase-2-Inhibitor) und Cyclooxygenase-1-Inhibitoren Methylheptylimidazol, Furegrelat-Natrium, N,N-Diethylaminoethyl-2,2-diphenylvalerat-HCl, Thromboxaninhibitoren, Toradol, ECASA, Salsalat, Diflunisal, Mefenaminsäure, Naproxen, Floctafenin, Meclufenamat, Phenylbutazon, Oxyphenbutazon, Diclofenac, Etodolac, Fenoprofen, Flufenaminsäure, Flurbiprofen, Pirprofen, Tolmetin, Azapropazon, Fenbufen, Nabumeton, Oxaprozin, Piroxicam, Salicylat und Tenoxicam bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung einer Angiogenese-abhängigen Krankheit ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Makuladegeneration, diabetischer Retinopathie, Neovaskularisationsglaukom, retrolentaler Fibroplasie, Retinopathia diabetica haemorrhagica proliferans, festen Tumoren, hämatogenen Tumoren, Leukämie, Hämangiom, Schuppenflechte, Kaposi-Sarkom, Colitis ulcerosa, Krebs, retrolentaler Fibroplasie, epidemischer Keratokonjunktivitis, atopischer Hornhautentzündung, obe-

rer limbischer Keratitis, Pterygium keratitis sicca, Sjögren-Syndrom, Akne roseacea, Phlyctenulosis, Syphilis, Mykobakterieninfektionen, chemischen Verbrennungen, bakteriellen Geschwüren, Pilzgeschwüren, Mooren-Ulkus, Terrienschen Marginaldystrophie, Marginalkeratolyse, Polyarthrit, Lederhautentzündung, Stevens-Johnson-Syndrom, Radialkeratotomie, Sichelzellenanämie, Pseudoxanthoma elasticum, Pemphigoid, Paget-Krebs, Karotisstenose, chronischer Uveit, chronischer Vitritis, Lyme-Krankheit, Eales-Krankheit, Behcet-Krankheit, angenommener okulärer Histoplasmose, Best-Krankheit, Kurzsichtigkeit, Augentrichtern, Stargardt-Syndrom, Pars planitis, chronischer Netzhautablösung, Hyperviskositätssyndromen, Taxoplasmose, Postlaserkomplikationen und Rubeosis bei einem Menschen oder Tier.

4. Verwendung von Thalidomid und ECASA bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung einer Angiogenese-abhängigen Krankheit ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Makuladegeneration, diabetischer Retinopathie, Neovaskularisationsglaukom, retrolentaler Fibroplasie, Retinopathia diabetica haemorrhagica proliferans, festen Tumoren, hämatogenen Tumoren, Leukämie, Hämangiom, Schuppenflechte, Kaposi-Sarkom, Colitis ulcerosa, Krebs, retrolentaler Fibroplasie, epidemischer Keratokonjunktivitis, atopischer Hornhautentzündung, oberer limbischer Keratitis, Pterygium keratitis sicca, Sjögren-Syndrom, Akne roseacea, Phlyctenulosis, Syphilis, Mykobakterieninfektionen, chemischen Verbrennungen, bakteriellen Geschwüren, Pilzgeschwüren, Mooren-Ulkus, Terrienschen Marginaldystrophie, Marginalkeratolyse, Polyarthrit, Lederhautentzündung, Stevens-Johnson-Syndrom, Radialkeratotomie, Sichelzellenanämie, Pseudoxanthoma elasticum, Pemphigoid, Paget-Krebs, Karotisstenose, chronischer Uveit, chronischer Vitritis, Lyme-Krankheit, Eales-Krankheit, Behcet-Krankheit, angenommener okulärer Histoplasmose, Best-Krankheit, Kurzsichtigkeit, Augentrichtern, Stargardt-Syndrom, Pars planitis, chronischer Netzhautablösung, Hyperviskositätssyndrom, Taxoplasmose, Postlaserkomplikationen und Rubeosis bei einem Menschen oder Tier.

5. Verwendung nach Anspruch 3 oder Anspruch 4, wobei die Menge an bei dieser Behandlung verwendetem Thalidomid zwischen 0,1 und 300 mg/kg/Tag liegt.

6. Verwendung nach Anspruch 3 oder 4, wobei die Menge an bei dieser Behandlung verwendetem Thalidomid zwischen 0,5 und 50 mg/kg/Tag liegt.

7. Verwendung nach Anspruch 3 oder Anspruch 4, wobei die Menge an bei dieser Behandlung verwendetem Thalidomid zwischen 1 und 10 mg/kg/Tag liegt.

8. Verwendung nach Anspruch 3 oder Anspruch 4, wobei die Zusammensetzung oral, rektal, ophthalmisch, nasal, topisch, vaginal oder parenteral verabreicht wird.

9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei die orale Verabreichung durch eine Kapsel, Obladenkapsel, Tablette, Pastille, Mundwasser oder einen Trochiskos erfolgt.

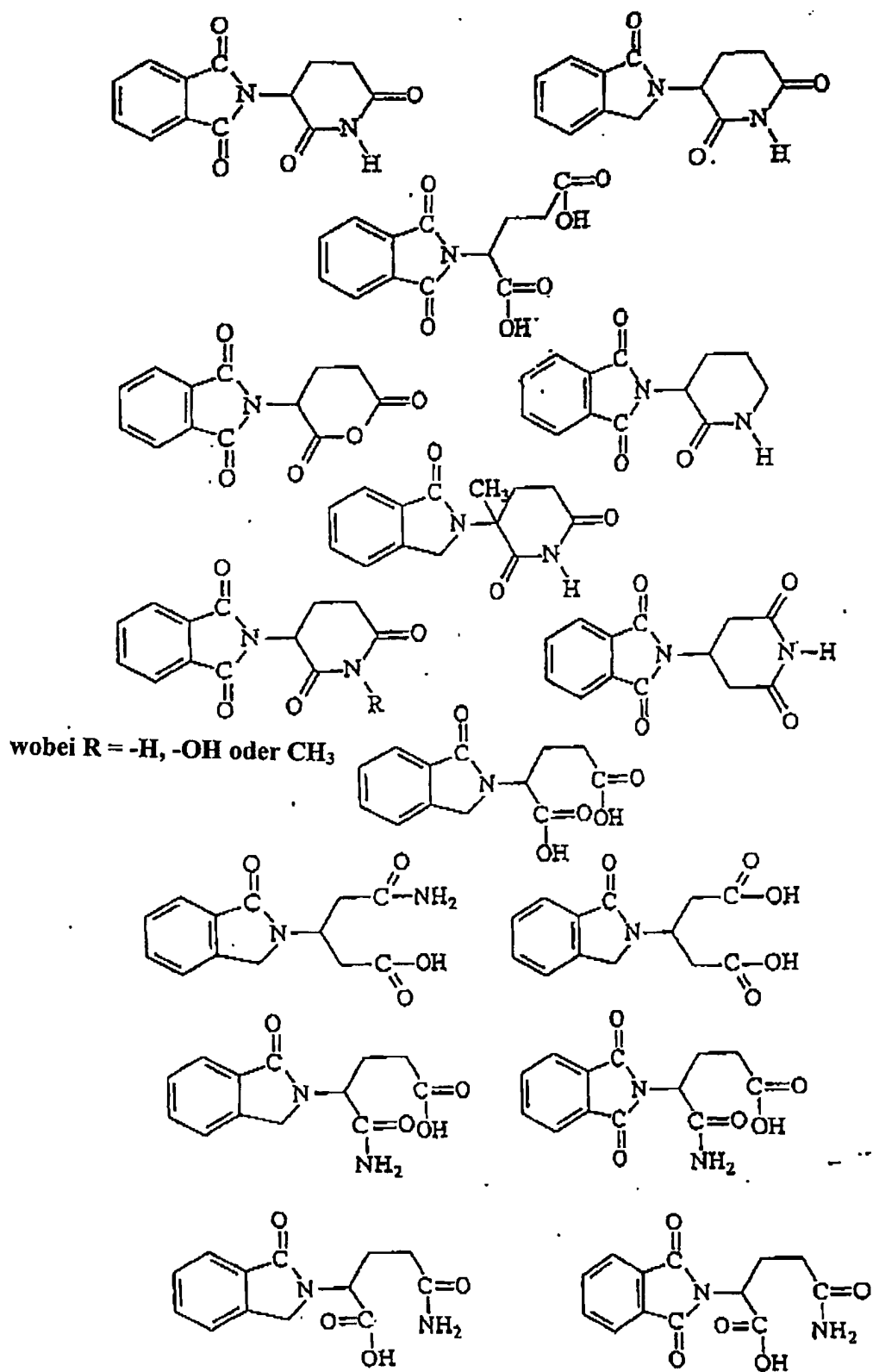
10. Verwendung nach Anspruch 8, wobei die topische Verabreichung durch eine Salbe, Creme, ein Gel, eine Paste oder ein transdermales Pflaster erfolgt.

11. Verwendung nach Anspruch 3 oder Anspruch 4, wobei die Zusammensetzung unter nachhaltiger Wirkung verabreicht wird.

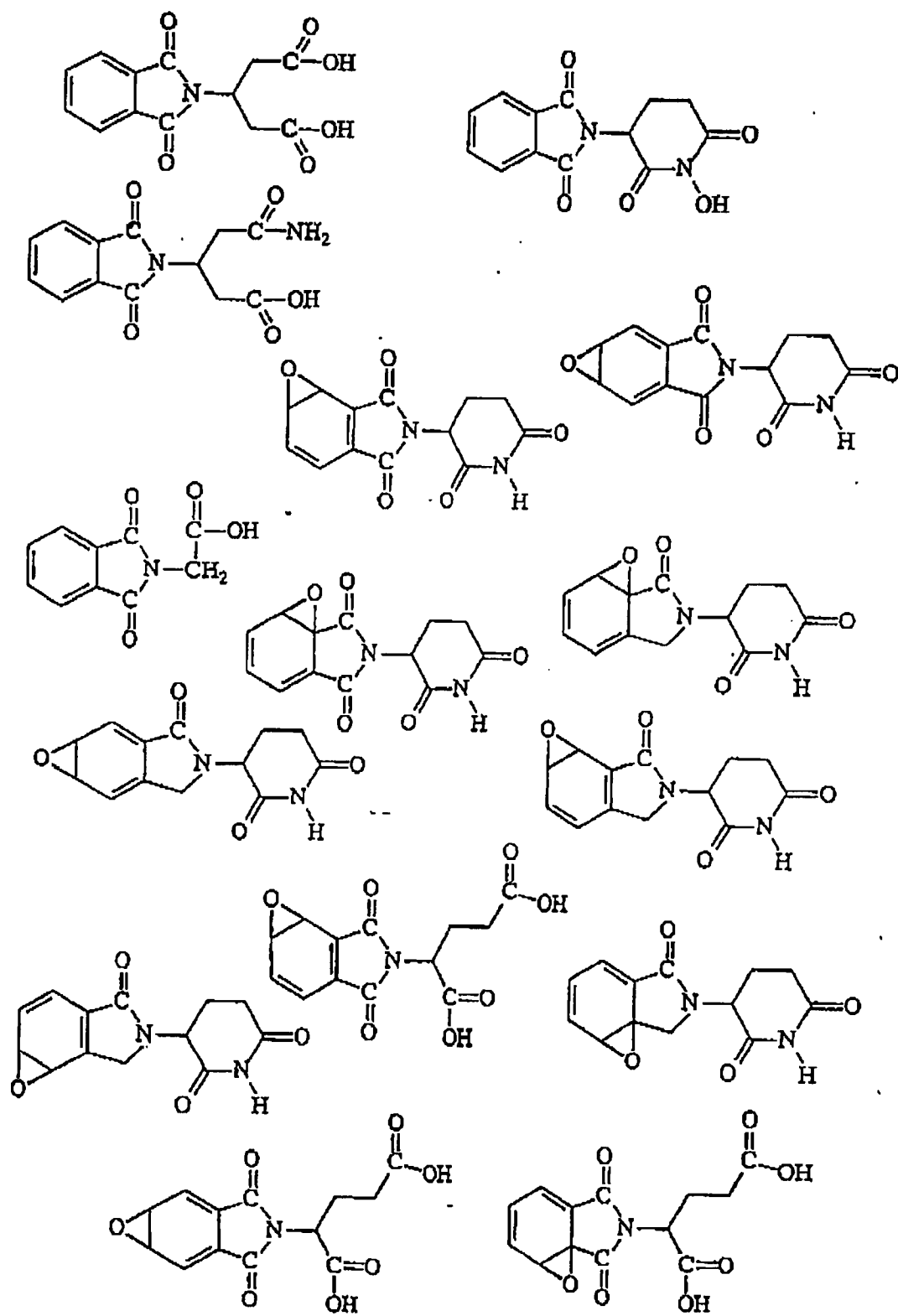
12. Verwendung nach Anspruch 8, wobei die parenterale Verabreichung subkutan, intramuskulär, intravenös, intradermal, intratracheal oder epidural erfolgt.

Es folgen 7 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



FIGUR 1



Figur 2

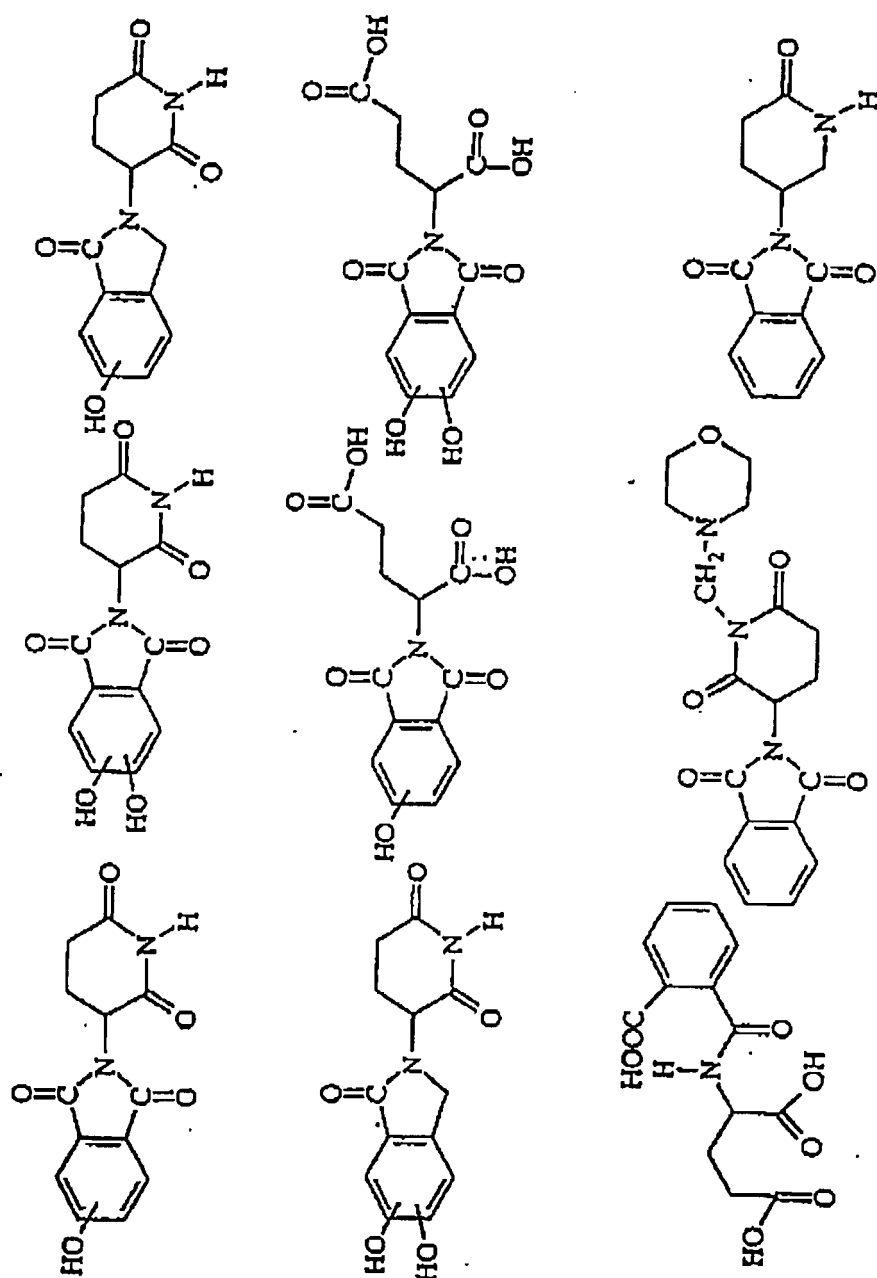
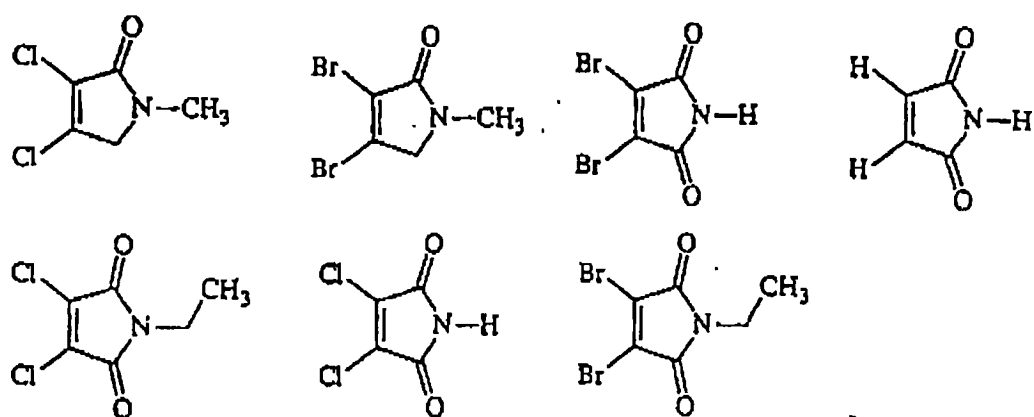
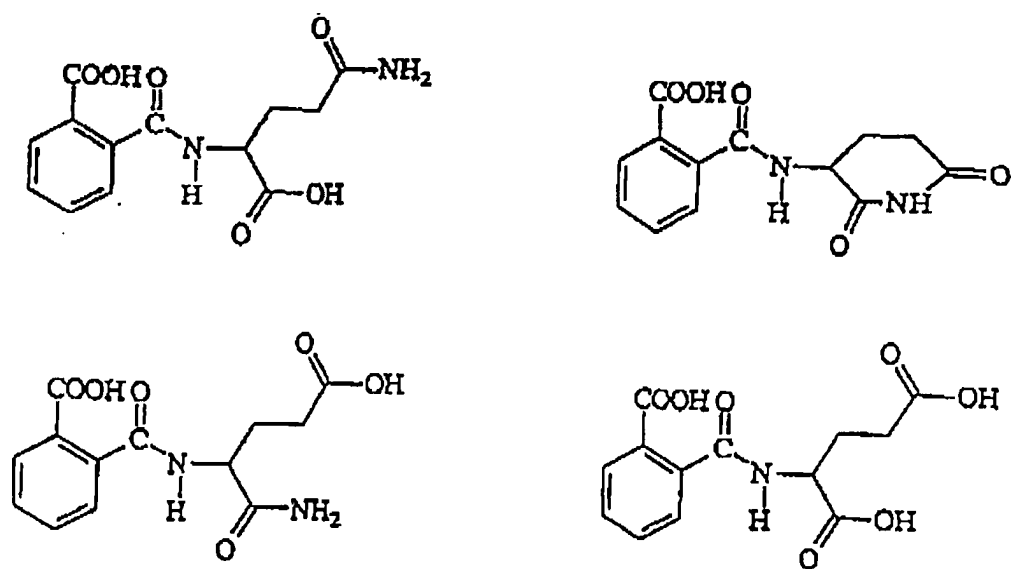


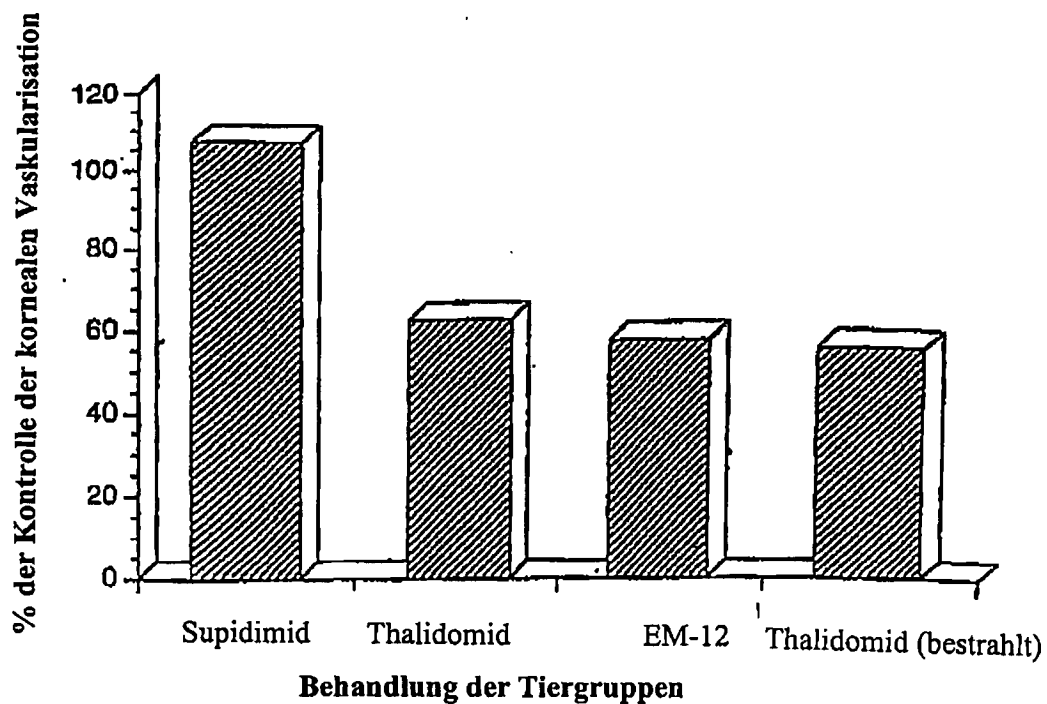
Figure 3



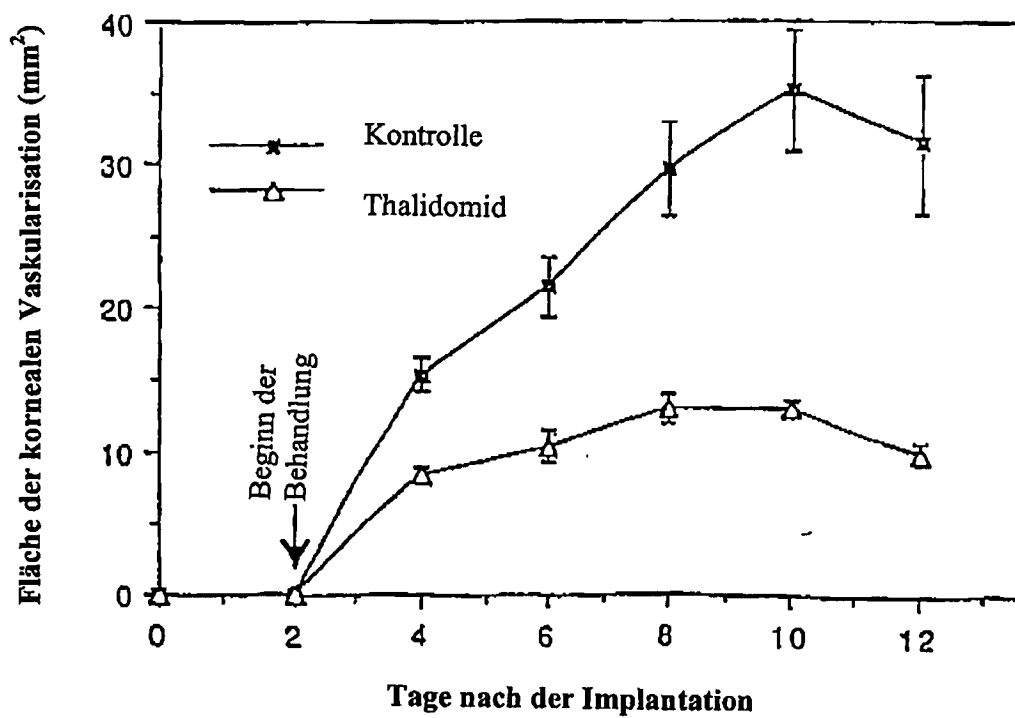
Figur 4



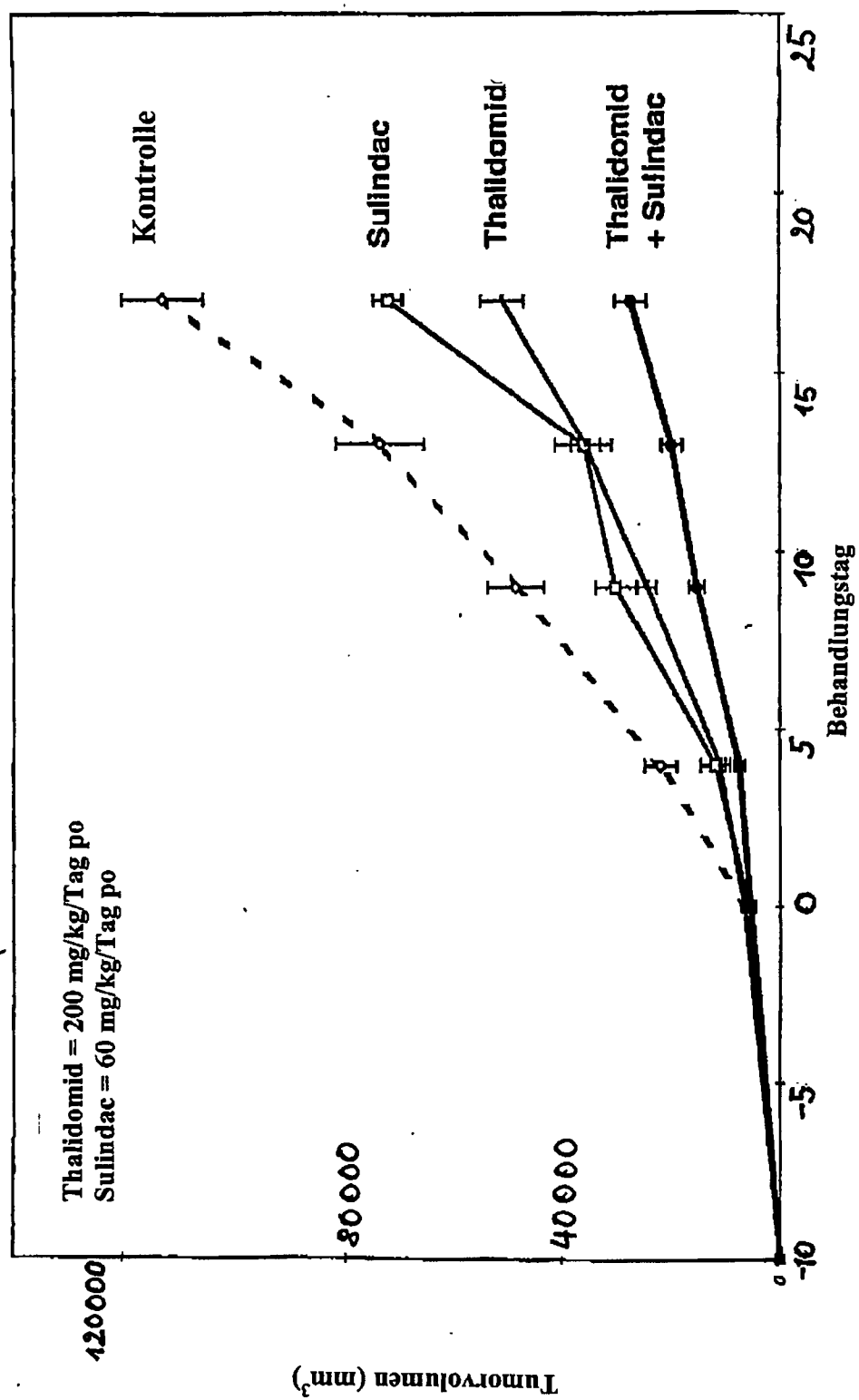
Figur 5



Figur 6



Figur 7



Figur 8