



(12) **PATENT**

(19) **NO**

(11) **334285**

(13) **B1**

NORGE

(51) **Int Cl.**

A61K 31/18 (2006.01)
A61K 47/18 (2006.01)
A61K 31/216 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20033273	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2002.01.30 PCT/EP2002/00946
(22)	Inng.dag	2003.07.18	(85)	Videreføringsdag	2003.07.18
(24)	Løpedag	2002.01.30	(30)	Prioritet	2001.02.02, IT, MI01A000206
(41)	Alm.tilgj	2003.07.18			
(45)	Meddelt	2014.01.27			

(73)	Innehaver	Dompé pha.r.ma SpA, Via Campo di Pile, IT-67100 L'AQUILA, Italia
(72)	Oppfinner	Riccardo Bertini, c/o Dompé SpA, Via Campo di Pile, IT-67100 L'AQUILA, Italia Francesco Colotta, c/o Dompé SpA, Via Campo di Pile, IT-67100 L'AQUILA, Italia Roberto Novellini, c/o Dompé SpA, Via Campo di Pile, I-67100 L'Aquila, Italia
(74)	Fullmektig	Onsagers AS, Postboks 1813 Vika, 0123 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Anvendelse av (R)-ibuprofen-metansulfonamid og salter derav til behandling og forhindring av avstøtning av transplanterte organer
------	------------	--

(56)	Anførte publikasjoner	WO 0024710 A LI, L. et al., The relationship between cytokines in MLC supernatants and acute rejection after renal transplantation, Transplantation proceedings. United states, 2000, vol. 32, no. 7, side 2531-34
(57)	Sammendrag	

Anvendelse av (R)-ibuprofen-metansulfonamid er beskrevet for fremstilling av legemidler til behandling eller forhindring av funksjonell skade som resultat av avstøtningsreaksjoner av transplanterte organer. Spesielt er anvendelse av ikke-toksiske salter av (R)-ibuprofen-metansulfonamid, såsom (L)-lysinsaltet, beskrevet til å forhindre eller behandle avstøtningsreaksjoner av transplanterte nyrer.

Den foreliggende oppfinnelse angår anvendelse av (R)-ibuprofen-
metansulfonamid og ikke-toksiske salter derav til fremstilling av legemiddel for
behandling og forhindring av funksjonell skade som resulterer fra
avstøtningsreaksjoner av transplanterte organer.

5

Organtransplantasjon, spesielt av renal type, har gjort betydelige fremskritt i
de siste få dekadene med innføring av forbedrede immunosuppressive regimer,
organpreservering og pre- og postoperativ behandling. Ikke desto mindre er det
betydelig rom for forbedring, spesielt med hensyn på å forbedre langtidsresultatet.
10 Initiell iskemi/reperfusjonsskade som skjer sekundært til organgjenoppretting,
lagring og transplantasjon er blitt assosiert med påfølgende nedbrytning og svikt av
transplantatet. I renal transplantasjon er fravær av øyeblikkelig allograftfunksjon
kjent som forsinket graftfunksjon (DGF) som er vanlig og bredt definert som behov
for dialyse i de første ukene etter transplantasjonen. Forsinket graftfunksjon er den
15 vanligste allografiske komplikasjonen i den umiddelbare perioden etter
transplanteringen, og påvirker opptil 50 % av primære
kadaverrenaltransplantasjoner (*Ojo AO et al., Delayed graft function: risk factors
and implications for renal allograft survival. Transplantation 63, 7:968-974, 1997;*
*Koning OHJ et al. Risk factors for delayed graft function in cadaveric kidney
20 transplantation. Transplantation 63, 11:1620-1628, 1997*). Skjønt forskjellige
etiologier kan forårsake DGF i implantert allograft, er det akkumulerende
eksperimentell og klinisk bevismateriale som foreslår at pist-iskemisk
reperfusjonsskade på allografter kan representere en viktig nøkkelhendelse som er
ansvarlig for at DGF skjer. Det er enstemmig enighet om at kombinasjonen av DGF
25 og tidlig avstøtning er en alvorlig indikator på dårlig graftoverlevelse og det at DGF
inntreffer fører til en økt risiko for akutt avstøtning (*Carmellini M et al. Delayed
graft function adversely affects one-year graft survival of cadaveric renal
transplants. Transplant Proc 28, 1:359-360, 1996*). Patogenesen ved
iskemi/reperfusjonsskade er nå kjent for å involvere cytokiner og spesielt
30 overflateadhesjonsmolekyler hvis ekspresjon igangsetter tilfesting av
inflammatoriske celler. Cytokiner, spesielt TNF-alfa, er kjent for å spille en kritisk
rolle i celle-mediert transplantasjonsimmunitet, og å utøve en immundempende
effekt mot transplantatavvisning (Li L. et al: «The relationship between cytokines in
MLC supernatants and acute rejection after renal transplantation» *Transplantation
35 Proceedings. United States Nov 2000, vol. 32, nr. 7, november 2000*).
Bevismateriale fra eksperimentdyr med akutt renal iskemi har vist at det
intercellulære adhesjonsmolekyl-1 (ICAM-1) blir øyeblikkelig oppregulert etter
skade og at nøytrofil-, T-celle-, og makrofaginfiltrasjoner deretter skjer.
Interleukin-8 (IL-8), et cytokin med en potent kjemotaktisk virkning for polymorfe
40 nukleære celler (PMN), kan dannes ved aktivering av endotelceller som følger
reperfusjon og kan bidra til de komplekse hendelsene som til slutt fører til forsinket
graftfunksjon på grunn av iskemi/reperfusjonsskade. Nylig er nye forbindelser som

selektivt inhiberer den biologiske aktiviteten til IL-8 blitt oppdaget. Blant disse er R (-)-N-[2-(4-isobutylfenyl)propionyl]-metansulfonamid, heretter referert til som (R)-ibuprofen-metansulfonamid og dets L-lysinsalt (heretter referert til som DF 1681B) blitt beskrevet i internasjonal patentsøknad WO 00/24710 som selektive in vitro

5 inhibitorer av kjemotaksis av nøytrofiler induisert av IL-8 og derfor ønskelig passende for behandling av nøytrofilavhengige patologier. DF 1681B er nå blitt vist å inhibere kjemotaksis in vivo i en musemodell og å inhibere PMN-infiltrasjon i forskjellige modeller av iskemi/reperfusjonsskade hos mus og rotter.

10 I henhold til den foreliggende kjente teknikk er virkelig den selektive inhibisjon av IL-8-indusert kjemotaksis ikke en tilstrekkelig betingelse for beskyttelse av et transplantert organ fra funksjonell skade. Faktum er at den vitenskapelige litteratur identifiserer tallrike faktorer involvert i etiologien til

15 forsinkelse i den funksjonelle konstitusjon av den transplanterte nyre, blant hvilke faktorer synes IL-8 absolutt ikke å være én av de viktigste. F.eks. er IL-8 sammen med IL-3 og oppløselig CD 23 (*Kutukculer N. et al., Transplantation, 1995, 59(3), 33-40*) rapportert å ikke ha noen diagnostisk anvendelse for organreavstøtning gitt at, i ethvert tilfelle, høye nivåer av disse markører også var tilstede hos

20 transplanterte pasienter som var totalt fri for avstøtningsfenomen. Videre, i tillegg til IL-3, IL-8 og CD 23 identifiserer den vitenskapelige litteraturen tallrike andre mulige pro-inflammatoriske molekyler som mulige patogene faktorer i forbindelse med forsinkelse i den funksjonelle restitusjon av det transplanterte organ, såsom f.eks. IL-1beta, IL-2, IL-10, IL-17, MIP-1betam MCP-1 etc. Det følger derfor fra

25 litteraturdata at en uspesifikk inhibitor av den inflammatoriske responsen eller minst av leukocyttraktering som ville synes nødvendig for inhibisjon av reperfusjonsskader i organtransplantasjon, spesielt når det gjelder nyrer.

30 Det er nå overraskende blitt funnet at i motsetning til enhver forventning i forhold til kjent teknikk diskutert ovenfor er (R)-ibuprofen-metansulfonamid og dets lysinsalt (L-lysin eller DL-lysin) effektive til å beskytte mot funksjonell skade ved organtransplantasjon, spesielt med hensyn på nyrene. Videre ble de samme forbindelser vist å være aktive til å forhindre iskemi/reperfusjonsskade.

35 En slik aktivitet er blitt demonstrert i en eksperimentell modell på nyretransplantasjon i rotter, beskrevet i detalj heretter, i hvilke DF 1681B viste seg å være aktiv til å preservere nyrefunksjon øyeblikkelig etter iskemi/reperfusjonsskade som følger syngeneisk nyretransplantasjon, og også å forhindre leukocytinfiltrasjon i transplantatet som skjer etter post-iskemisk reperfusjon.

40 Voksne hannlige Lewis rotter (RT11) (Charles River, Calco Italia S.p.A. Italia) ble brukt. Alle dyrene ble tillatt fri tilgang til mat og vann. Undersøkelsen ble

utført i en syngeneisk nyretransplantasjonsmodell ved å bruke slike rotter som givere og graftmottagere. Giverdyr ble anestesert med leptofen. Den venstre nyre ble preparert ved å frigjøre ureter fra festene. Den renale arterien ble adskilt fra den renale vene ved disseksjon. Givernyren og ureter ble fjernet «en bloc» og skyllet med Belzer (UW) som inneholdt 1000 U/ml heparin. Deretter ble nyren plassert i en Belzer (UW) oppløsning med is i 4-6 timer (kuldeiskemi) inntil transplantasjon. Mottagerne ble preparert ved å fjerne den venstre nyren. Dyrebehandling med DF 1681B er oppsummert nedenfor. Nyregrafts ble vasket med saltoppløsning før transplantasjonen. En anastomose ble dannet mellom arterien til mottageren og giveren såvel som nyrevenen med ende-til-ende anastomose. Vaskulære klemmer ble frigjort etter 30 min. (varm iskemi). Uretere fra giver og mottager ble festet ende-til-ende. Den opprinnelige høyre nyre ble deretter fjernet. Dyrene ble plassert i individuelle metabolske bur for måling av daglig urinutstrømning som en indeks på nyrefunksjonsgjenvinning. Etter 16 og 24 timer ble nyrefunksjonen vurdert ved å måle plasmakreatininkonsentrasjon. Tjuefire timer etter nyretransplantasjonen ble dyrene ofret. Nyregraft ble fjernet, skåret i skiver og plassert i Dubosq-Brazil oppløsning for analyse ved konvensjonell histologi med lysmikroskop. Videre ble ytterligere nyrefragmenter frosset i flytende nitrogen og brukt til immunohistokjemisk analyse av inflammatorisk celleinfiltrat (polymorfe nukleære celler, MHC klasse II positive celler). De følgende eksperimentelle grupper av dyr ble vurdert:

- Gruppe 1 (n.=3) rotter som mottar et nyregraft eksponert til 4 timers kuldeiskemi og behandlet med IL-8-inhibitor DF 1681B.
- Gruppe 2 (n.=3) rotter som mottar et nyregraft eksponert til 4 timers kuldeiskemi og behandlet med bæreren.
- Gruppe 3 (n.=3) rotter som mottar et nyregraft eksponert til 6 timers kuldeiskemi og behandlet med IL-8-inhibitor DF 1681B.
- Gruppe 4 (n.=3) rotter som mottar et nyregraft eksponert til 6 timers kuldeiskemi og behandlet med bæreren.

Mottakerne ble forbehandlet dagen før eksperimentet (15 mg/kg s.c.). Dyrene mottok en intravenøs injeksjon av DF 1681B (15 mg/kg) umiddelbart før reperfusjon av den transplanterte nyre. Ytterligere administrasjon av forbindelsen (15 mg/kg s.c.) ble utført to timer etter transplantasjonen. Kontrolldyr ble gitt bæreren på samme tidspunkt og utsatt for samme administrasjonsmetode som for dyr behandlet med DF 1681B.

I tillegg viste DF 1681B seg aktiv til preservering av nyrefunksjon øyeblikkelig etter iskemi/reperfusjonsskade som følger nyre allotransplantasjon. De følgende eksperimentelle grupper av dyr ble vurdert:

Gruppe 1 (n=9) brune norske rotter mottok et nyregraft fra Lewis rotter eksponert til 6 timers kuldeiskemi og behandlet med bærer.

Gruppe 2 (n=5) brune norske rotter mottok en nyregraft fra Lewis rotter eksponert til 6 timers kuldeiskemi og behandlet med IL-8-inhibitor DF 1681B.

Mottagerne ble forbehandlet dagen før eksperimentet (20 mg/kg s.c.). Dyrene mottok en intravenøs injeksjon av DF 1681B (20 mg/kg) umiddelbart før

5 reperfusjon av den transplanterte nyre. Ytterligere administrering av forbindelsen (20 mg/kg s.c.) ble utført 2 timer etter transplantasjonen. Kontrolldyr ble gitt bæreren på samme tidspunkt og det ble brukt samme administrasjonsmetode som for dyr behandlet med DF 1681B.

10 Data ble analysert ved å bruke den ikke-parametriske Kruskal-Wallis test for flertallssammenligninger av Tukey-Cicchetti testen.

Resultater

Fig. 1 og tabell 1 viser plasmakreatininkonsentrasjoner i Lewis rotter 16 og 24 timer etter å ha mottatt syngeneisk nyretransplantat, pre-eksponert til 4 og 6 timers kuldeiskemi. Hos dyr som mottok 4 timers iskeminyrer øket plasmakreatinin etter kirurgi og nådde verdier som på 16 og 24 timer var signifikant høyere enn verdiene observert i en kontrollgruppe av dyr som mottok et ikke-iskemisk syngeneisk nyretransplantat. Behandling med DF 1681B beskyttet dyrene mot nyrefunksjonsnedbrytning, og verdiene til plasmakreatinin ved 24 timer er i stor grad sammenlignbare med de for dyr som mottok et ikke-iskemisk syngeneisk nyretransplantat (tabell 2). Som forventet induerte 6 timers iskemi en mer alvorlig nyrefunksjonssvekkelse, som dokumentert ved signifikant høyere plasmakreatininnivåer enn i dyr som mottok et syngeneisk nyretransplantat etter 4 timers iskemi (fig. og tabell 1). DF 1681B reduserte signifikant plasmakreatininkonsentrasjonen til nivåer som imidlertid fremdeles var signifikant høyere enn de målt hos dyr som mottok et ikke-iskemisk syngeneisk nyretransplantat.

30 Detaljert immunohistologisk evaluering av leukocytinfiltrasjon i transplantert nyre, undersøkt 24 timer etter transplanteringen, er oppsummert i tabell 2. I nyrer som undergikk 4 timers kuldeiskemi ble et stort antall granulocytter funnet i interstitium og i en mindre grad i intra og peri-glomerulære områder. Forbindelsen reduserer PMN infiltratet og svekker de tubulære variasjoner induert ved iskemi/reperfusjon. Granulocytt-telling i det intraglomerulære området var numerisk men ikke signifikant senket av IL-8-inhibitoren. De cellulære infiltratene øket ikke

35 konsekvent etter 6 timers iskemi sammenlignet med verdier etter 4 timers iskemi. Igjen ble interstitielle inflammatoriske celler signifikant redusert ($p < 0,01$) ved DF 1681B. Med hensyn på nøytrofiler var antall MHC klasse II celler lavere i transplanterte nyrer etter 4 og 6 timers iskemi. Cellene ble detektert hovedsakelig i interstitie (tabell 3) og deres antall ble ikke påvirket av IL-8-inhibitoren.

40 Histologiske skår for glomerulær, interstitiell og tubulær skade observert i snitt fra transplanterte nyrer etter 4 og 6 timers kuldeiskemi og undersøkt 24 timer etter transplantasjonen er vist i tabell 4. Ved lysmikroskopi ble transplanterte nyrer

karakterisert ved degenerative forandringer av tubulære epitelceller hovedsakelig i proksimale tubuli, manifestert ved celledvelling, vakuolisering og nekrose (tabell 4). DF 1681B svekket men normaliserte ikke tubulære forandringer etter 4 timers iskemi. I tillegg ble tubulære avstøpninger (casts) funnet i alle nyrer. Fokale

5 iskemiske forandringer ble detektert i glomeruli bare i nyrer eksponert til 6 timers iskemi og de ble forhindret av DF 1681B.

DF 1681B er således i stand til å forhindre reduksjon av renal funksjon sekundært til kuldeiskemi. Forbindelsen reduserer antall cellulære infiltrater og svekker

10 tubulære forandringer induert av iskemi. Data er blitt konfirmert i andre dyr. Seks timers iskemi inducerer en meget alvorlig reduksjon i nyrefunksjonen.

Virkningen av DF 1681B på serumkreatininkonsentrasjoner i brune norske rotter 16 og 24 timer etter å ha mottatt en allogenisk nyretransplantat fra Lewis rotte er vist i tabell 5. En signifikant forhindring av økte serumkreatininnivåer ble observert konsekvent i alle rotter som mottok 20 mg/kg av behandlingen.

15 Ovenstående data viser klart hvordan (R)-ibuprofen-metansulfonamid eller dets lysinsalt (L-lysin eller DL-lysin) kan fordelaktig brukes i medisinsk praksis.

I denne hensikt vil (R)-ibuprofen-metansulfonamid eller dets lysinsalt egnet bli formulert i farmasøytiske sammensetninger som kan administreres oralt, parenteralt,

20 rektalt eller topisk før og etter transplantasjonskirurgi. Eksempler på egnede formuleringer inkluderer kapsler, tabletter, stikkpiller, sirup, dråper, suspensjoner, emulsjoner, injiserbare oppløsninger, ampuller med sterile lyofiliserte pulvere for injeksjon, formuleringer for kontrollert frigjøring, transdermale formuleringer, salver og lignende. Teknikker og bærere brukt for fremstilling av slike

25 formuleringer er helt konvensjonelle, som beskrevet f.eks. i Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook, Mack Pub. Co., New York, USA, XVII utgave. De farmasøytiske formuleringene skal fortrinnsvis administreres i enhetsdoseformer som inneholder fra 1-500 mg, mer fortrinnsvis fra 10-100 mg av (R)-ibuprofen-metansulfonamid eller det ekvivalente lysinsalt. Høyere doser kan også vurderes

30 avhengig av omstendighetene. Administrasjonen kan være en enkelt én eller oppdelt i flere administrasjoner spredt over en egnet tidsperiode, normalt fra 1 dags tid før kirurgi inntil noen uker etter. (R)-ibuprofen-metansulfonamid eller et akseptabelt salt derav, slik som et lysinsalt kan hvis nødvendig administreres i kombinasjon med andre legemidler med komplementær eller i ethvert tilfelle nyttig virkning, for

35 eksempel anti-inflammatoriske midler, immunosuppressive midler, analgetiske midler, antitrombotiske midler.

Eksempel 1

Fremstilling av R-ibuprofen-metansulfonamid.

40 Ens suspensjon av R(-)-2-(4-isobutylfenyl)-propionsyre (R-ibuprofen, 4 g, 0,019 mol) i tionylklorid (7,4 ml) ble underkastet tilbakeløp i 4 timer, deretter etterlatt for å avkjøles spontant ved romtemperatur. Overskudd av tionylklorid ble inndampet under vakuum. De siste spor av tionylklorid ble fjernet ved å vaske restmassen to

ganger med noen dråper dioksan og inndampe oppløsningsmidlet under vakuum. 4,66 g (0,019 mol) av R(-)-2-(4-isobutylfenyl)-propionylklorid ble oppnådd som en gul olje, som ble oppløst i noen ml vannfri tetrahydrofuran (THF).

5 Adskilt ble metansulfonamid (2,3 g, 0,0243 mol) tilsatt en suspensjon av kalium tert-butoksid (2,73 g, 0,0244 mol) i vannfri THF (28 ml) og blandingen ble omrørt i 30 min. ved romtemperatur. Etter dette ble oppløsningen av R(-)-2-(4-isobutylfenyl)-propionylklorid (4,66 g, 0,019) som oppnådd ovenfor, tilsatt under omrøring hvor reaksjonsblandingen ble holdt i omrørt tilstand natten over ved romtemperatur.

10 De separerte uorganiske salter ble filtrert av, oppløsningsmidlet ble inndampet under vakuum og den oljeaktige resten ble delt mellom CH₂Cl₂ (30 ml) og en oppløsning mettet med mononatriumfosfat. Den organiske fase ble vasket med vann (2x10 ml) og de vandige faser ble ekstrahert med CH₂Cl₂ (2x10 ml). De kombinerte organiske ekstrakter ble tørket over Na₂SO₄ og oppløsningsmidlet inndampet,

15 hvoretter oppløsningen av den oljeaktige rest i vannfri MeOH (10 ml) ble tilsatt med to mikrodåper av konsentrert svovelsyre for å esterifisere til metylester ethvert spor av uttransformert R(-)-2-(4-isobutylfenyl)-propionsyre. Blandingene ble holdt natten over ved romtemperatur, oppløsningsmidlet ble forsiktig inndampet under vakuum, resten ble delt mellom vann (10 ml) og metylenklorid (25 ml). De vandige

20 faser ble kastet og den organiske fase ekstrahert med en oppløsning mettet med NaHCO₃ (2x20 ml). De basiske faser ble kombinert, surgjort med konsentrert HCl og ekstrahert med CH₂Cl₂ (3x15 ml). Etter de vanlige vaskene til nøytralitet ble de kombinerte organiske ekstrakter tørket over Na₂SO₄ og oppløsningsmidlet ble inndampet under vakuum for å oppnå 1,86 g (0,0066 mol) av R(-)-N-[2-(4-

25 isobutylfenyl)propionyl]-metansulfonamid. Smeltepunkt 103-105°C (dec.); [α]_D²⁰ = -68 (c=1; CH₃OH); ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 7,3 (d, 2H J=8 Hz); 7,09 (d, 2H J=7 Hz); 3,42 (q, 1H, J=8 Hz); 2,8 (s, 3H); 2,45 (d, 2H, J=7 Hz); 1,55 (m, 1H); 1,3 (d, 3H, J=8 Hz), 0,95 (d, 6H, J=7 Hz).

30 Eksempel 2

Fremstilling av R-ibuprofen-metansulfonamid L(+)-lysinsalt (DF 1681B)

En oppløsning av L(+)-lysin (129 mg, 0,88 mmol) i vann (1,3 ml) ble tilsatt en oppløsning av R(-)-N-[2-(4-isobutylfenyl)propionyl]-metansulfonamid (250 mg, 0,88 mmol) i 1 ml metanol. Løsningsmidlet ble inndampet og restmassen ble tatt

35 opp med etyleter (5 ml) og omrørt natten over ved romtemperatur. Det krystallinske, meget hygroskopiske materialet som ble adskilt ble filtrert hurtig under nitrogenatmosfære, vasket på filteret med vannfri etyleter og tørket under vakuum ved 50°C i 2 timer for å gi 360 mg av R(-)-N-[2-(4-isobutylfenyl)propionyl]-metansulfonamidsalt av L(+)-lysin som et blekgult pulver. [α]_D²⁰ = -17,3° (c=1,15;

40 CH₃OH); ¹H-NMR (D₂O): δ 7,30 (dd, 4H, J=8 Hz), 3,77 (t, 1H, J=7 Hz), 3,65 (q,

1H, J=7 Hz), 3,05 (m, 5H), 2,52 (d, 2H, J=7 Hz), 1,92 (m, 2H), 1,75 (m, 2H), 1,50 (m, 3H), 1,40 (d, 3H, J=7 Hz), 0,90 (6H, d, J=7Hz).

Tabell 1

Virkning av DF 1681B på serumkreatinin i rotter som har mottatt syngeneisk nyretransplantat

Rotte	Gruppe	Plasmakreatinin (mg/dl)	
		16 timer	24 timer
10 gr 1	Bærer (4 timer)	2,27	2,58
11		1,82	1,14
12		2,24	2,49
13		2,30	2,09
		2,16 ± 0,23*	2,08 ± 0,66*
1A	DF 1681B (4 timer)	1,09	0,99
2A		0,74	0,64
3A		0,89	0,71
		0,91 ± 0,18°	0,78 ± 0,19°
2D	Bærer (6 timer)	2,76	2,91
3D		2,39	3,64
4D		3,58	3,27
		2,91 ± 0,61**	3,27 ± 0,37**
1E	DF 1681B (6 timer)	2,32	1,89
2E		2,54	1,87
3E		1,84	1,72
		2,23 ± 0,36*Δ	1,83 ± 0,09#
	Områdekontroll	0,5-0,6	
	(ikke-iskemisk syngeneisk nyre)		

Dataene er uttrykt som gjennomsnitt ± SD

5 * p<0,05, ** p<0,01 i forhold til kontroll

° p<0,05 i forhold til bærer 4 timer

p<0,05 i forhold til bærer 6 timer

Δ p<0,05 i forhold til DF 1681 4 timer

Tabell 2

Virkning av DF 1681B på antall granulocytter tellet i minst 10 tilfeldige utvalgte mikroskopiske felt høy forstørrelse (X400) for hvert dyr

Rotte		Granulocytter				
		<i>Intraglom</i>	<i>Periglom.</i>	<i>Intravasc.</i>	<i>Perivasc.</i>	<i>Intterstitiell</i>
10 gr 1	Bærer (4 timer)	6,2 ± 6	4 ± 4	0,3 ± 1	10 ± 6	21,6 ± 11
11		4,7 ± 4,4	5,3 ± 3,4	1,7 ± 2,9	9,7 ± 9,9	25,8 ± 11,6
12		18,1 ± 20,2	7,6 ± 8,1	15 ± 14,8	12 ± 7	39,8 ± 29,9
13		33 ± 11,3	74,3 ± 43,9	9,4 ± 7,2	48 ± 29	135,7 ± 31,5
		15,5 ± 13,1	22,8 ± 34,4	6,6 ± 6,9	19,9 ± 18,7	55,7 ± 53,9
1A	DF 1681B (4 timer)	7,4 ± 4,7	5,3 ± 4,5	1,5 ± 2,4	3 ± 0,8	9,1 ± 6,4
2A		14 ± 15,4	4	0	8 ± 2,6	11 ± 4,8
3A		7 ± 2,9	7 ± 8	8 ± 5,3	5,3 ± 4,6	16,2 ± 8,3
		9,5 ± 3,9	5,4 ± 1,5	3,2 ± 4,3	5,4 ± 2,5*	12,1 ± 3,7*
2D	Bærer (6)	10,4 ± 5,8	7,3 ± 4,3	3,3 ± 2,0	5,8 ± 3,3	25,4 ± 22
3D		12,3 ± 9,5	2,9 ± 1,1	1,4 ± 2,1	5,6 ± 2,7	23,6 ± 18
4D		10,5 ± 7,6	2,8 ± 2,1	0	1,3 ± 2,3	23,1 ± 6,0
		11,1 ± 1,1	4,3 ± 2,6	1,6 ± 1,7	4,2 ± 2,5	24 ± 1,2
1E	DF 1681B (6 timer)	5,0 ± 6,0	1,0 ± 1,8	0,2 ± 0,4	1,0 ± 1,3	2,5 ± 4,6
2E		3,7 ± 3,0	3,2 ± 1,9	0	6,8 ± 8,9	4,8 ± 5,6
3E		7,7 ± 6,5	2,2 ± 1,2	3,0 ± 4,0	4,5 ± 4,4	1,6 ± 1,2
		5,5 ± 2,0°	2,1 ± 1,1	1,1 ± 1,7	4,1 ± 2,9	3 ± 1,7°

Data er uttrykt som gjennomsnitt ± SD

5 * p<0,05 i forhold til bærer 4 timer

° p<0,05 i forhold til bærer 6 timer

Tabell 3

Virkning av DF 1681B på antall MHC II positive interstitielle celler tallet i minst 10 tilfeldig utvalgte mikroskopiske felt med høy forsterkning (X400) for hvert dyr

Rotte			MHC II +
10 gr 1	Bærer (4 timer)		11,5 ± 7
11			16,6 ± 5
12			7,7 ± 2,8
13			12,8 ± 7,2
			12,1 ± 3,7
1A	DF 1681B (4 timer)		5,1 ± 6,2
2A			9,1 ± 2
3A			11,9 ± 6,3
			8,7 ± 3,4
2D	Bærer (6 timer)		6,9 ± 2
3D			17,3 ± 8,9
4D			21,3 ± 3,6
			15,2 ± 7,4
1E	DF 1681B (6 timer)		10,5 ± 4,7
2E			13,1 ± 7
3E			19,7 ± 3,3
			14,4 ± 4,7

Dataene er uttrykt som gjennomsnitt ± SD

Tabell 4
Semi-kvantitativ skår for nyreskade

Rotte		Histologisk skade		
		<i>Glomerulær</i> (skår)	<i>Interstitiell</i> (skår)	<i>Tubulær</i> (skår)
10	Bærer (4 timer)	0	2	1,3
11		0	2	1
12		-	-	-
13		0	3	0,7
		0	2,3 ± 0,6	1 ± 0,3
1A	DF 1681B (4 timer)	0	2,5	1,5
2A		0	2	0,7
3A		0	2	0,5
		0	2 ± 0,3	0,7 ± 0,6
2D	Bærer (6 timer)	1	2	1,33
3D		1	2,5	1,33
4D		1	2,5	1,2
		1	2,3 ± 0,3	1,3 ± 0,1
1E	DF 1681B (6 timer)	0	3	1,7
2E		0	3	1,7
3E		0	3	1,2
		0	3	1,5 ± 0,3

Dataene er uttrykt som gjennomsnitt ± SD.

Tabell 5

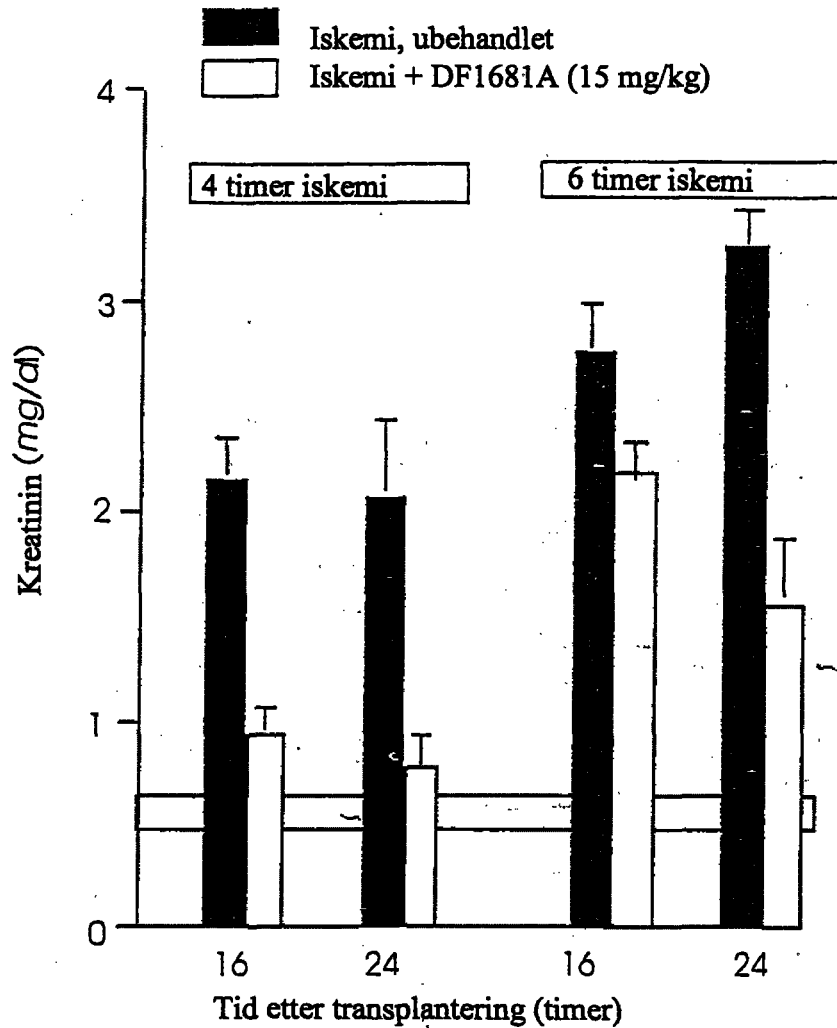
Virkning av DF 1681B på serumkreatinin i rotter som har mottatt alloge
nyretransplantat

Brun norsk rotte	Gruppe	Plasmakreatinin (mg/dl)	
		16 timer	24 timer
1T	Bærer	1,4	1,74
2T		1,27	1,20
3T		0,82	0,96
4T		2,23	2,28
5T		2,67	2,67
6T		2,23	2,29
7T		1,66	2,37
8T		1,67	1,6
9T		1,86	1,9
Gjennomsnitt \pm		1,76	1,86
SD		0,56	0,59
1Z	DF 1681B	1,05	1,3
2Z		1,2	1,39
3Z		1	0,87
4Z		0,84	0,69
5Z		1,01	0,85
Gjennomsnitt \pm		1,02	1,02
SD		0,12	0,3

Patentkrav

1. Anvendelse av (R)-ibuprofen-metansulfonamid eller et ikke-toksisk salt
derav, til fremstilling av legemidler til å forhindre eller behandle
5 iskemi/reperfusjonsskade i transplanterte organer.
2. Anvendelse av (R)-ibuprofen-metansulfonamid eller et ikke-toksisk salt
derav til fremstilling av legemidler til forhindring eller behandling av funksjonell
skade som resulterer fra avstøtningsreaksjoner av transplanterte organer.
3. Anvendelse som angitt i krav 1 eller 2, hvori det ikke-toksiske salt er L-lysin
10 eller DL-lysinsalt.
4. Anvendelse som angitt i krav 3, hvori det ikke-toksiske saltet er
L-lysinsaltet.
5. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-4, hvori nevnte transplanterte
organer er transplanterte nyrer.

15



Figur 1. Dataene er gjennomsnitt \pm SD. \square Område av serumkreatininverdier hos kontrolldyr som mottar en syngeneisk graft ikke eksponert for kulde-iskemi (kontroll ikke-iskemi)

Figur 1