



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 38 033 T2** 2008.04.30

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 312 359 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 38 033.5**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 025 422.3**

(96) Europäischer Anmeldetag: **17.11.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **21.05.2003**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **15.08.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **30.04.2008**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 31/137** (2006.01)

A61K 31/131 (2006.01)

A61K 31/133 (2006.01)

A61K 31/436 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

9624038 **19.11.1996** **GB**

(73) Patentinhaber:

Novartis AG, Basel, CH

(74) Vertreter:

Spott, Weinmiller & Böhm, 80336 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

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

(72) Erfinder:

**Cottens, Sylvain, 4108 Witterswil, CH; Hof, Robert
Paul, 4460 Gelterkinden, CH; Wenger, Roland,
4125 Riehen, CH**

(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG VON 1,3-PROPANEDIOL DERIVATEN**

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 eine neue Verwendung für ein 2-Amino-1,3-propandiolderivat.

[0002] Die Verbindung zur Verwendung gemäß der Erfindung ist 2-Amino-2-[2-(4-octylphenyl)ethyl]-1,3-propandiol in freier Form oder in pharmazeutisch annehmbarer Salzform.

[0003] Beispiele der pharmazeutisch verträglichen oder annehmbaren oder tolerierbaren Salze der Verbindungen der Erfindung schließen Salze ein mit anorganischen Säuren, wie zum Beispiel Hydrochlorid, Hydrobromid und Sulfat, Salze mit organischen Säuren, wie zum Beispiel Acetat, Fumarat, Maleat, Benzoat, Citrat, Malst, Methansulfonat und Benzolsulfonatsalze, und wenn eine Carboxygruppe vorliegt, Salze mit Metallen, wie zum Beispiel Natrium, Kalium, Calcium und Aluminium, Salze mit Aminen, wie zum Beispiel Triethylamin und Salze mit zweibasigen Aminosäuren, wie zum Beispiel Lysin. Die Verbindungen und Salze der vorliegenden Erfindung umfassen Hydrat- und Solvatformen.

[0004] Wenn die Verbindung der vorliegenden Erfindung ein oder mehrere asymmetrische Zentren in dem Molekül aufweist, ist die vorliegende Erfindung so zu verstehen, dass sie die verschiedenen optischen Isomere umfasst, sowie sie auch Racemate, Diastereoisomere und Mischungen davon umfasst.

[0005] 2-Amino-2-[2-(4-octylphenyl)ethyl]-1,3-propandiol (im Folgenden Verbindung A) kann zum Beispiel in Hydrochloridform vorliegen.

[0006] Von der Verbindung A wurde auf der Basis der beobachteten Aktivität, zum Beispiel wie in EP 0 627 406 A1 beschrieben, gefunden, dass sie brauchbar ist als Immuno- oder Immunsuppressivum, zum Beispiel bei der Behandlung von akuter Allotransplantatabstoßung.

[0007] Organtransplantationen von Leber, Niere, Lunge und Herz werden nun regelmäßig durchgeführt als Behandlung für Organkrankheiten im Endstadium. Allopfropf- oder Allotransplantat- sowie Xenopfropf- oder Xenotransplantattransplantationen wurden durchgeführt. Jedoch wegen Problemen hinsichtlich der langfristigen chronischen Abstoßung ist eine Organtransplantation noch keine dauerhafte Lösung für eine irreversible Organkrankheit. Eine chronische Abstoßung, die sich als fortschreitende oder progressive und irreversibel Pfropf- oder Transplantatfehlfunktion manifestiert oder äußert, ist der führende oder Hauptgrund eines Verlusts eines Organtransplantats, in einigen Fällen schon nach dem ersten postoperativen Jahr. Das klinische Problem der chronischen Abstoßung ergibt sich klar aus der Anzahl des Überlebens der Transplantation; etwa die Hälfte der Nierenallotransplantate oder -pfropfe werden innerhalb von fünf Jahren nach der Transplantation verloren, und ein ähnlicher Wert wird beobachtet bei Patienten mit einem Herzallotransplantat oder -pfropf.

[0008] Eine chronische Abstoßung wird als ein Prozess mit einer Mehrzahl oder Vielzahl von Faktoren betrachtet, in dem nicht nur die Immunreaktion gegen das Transplantat oder den Pfropf, sondern auch die Antwort der Blutgefäßwand in dem transplantierten oder gepfropften Organ auf eine Verletzung ("Antwort-auf-Verletzung"- oder „response-to-injury“-Reaktion) eine Rolle spielt. Die Variante der chronischen Abstoßung mit der schlimmsten Prognose ist eine arterioskleroseartige Veränderung, auch genannt oder bezeichnet als Transplantat-Vasculopathie, Pfropf- oder Transplantatgefäßkrankheit, Pfropf- oder Transplantatarteriosklerose, Transplantatkoronarkrankheit, etc. Diese Gefäßläsion ist gekennzeichnet durch Wanderung und Proliferation von glatten Muskelzellen unter dem Einfluss von Wachstumsfaktoren, die unter anderem hergestellt werden vom Endothel. Sie scheint fortzuschreiten auch durch wiederholte Endothelverletzung, die induziert wird unter anderen durch Wirtsantikörper- oder Antigen-Antikörperkomplexe, durch Intimaproliferation und -verdickung, Reparatur oder Rückführung einer Hypertrophie glatter Muskelzellen und schließlich bis hin zu einer schrittweisen Obliteration luminaler Strukturen oder Luminalobliteration. Auch sogenannte nicht-immunologische Faktoren, wie Hypertonie, Hyperlipidämie, Hypercholesterolemie etc., spielen eine Rolle.

[0009] Eine chronische Abstoßung scheint unerbittlich und unkontrollierbar oder nicht steuerbar zu sein, weil es keine bekannte wirksame Behandlungs- oder Vermeidungsmittel gibt. Daher gibt es weiterhin einen Bedarf für eine Behandlung, die wirksam ist bei der Vermeidung, Kontrolle oder Steuerung oder Umkehrung der Manifestationen oder Symptome von chronischen Pfropf- oder Transplantatgefäßkrankheiten.

[0010] Gemäß der vorliegenden Erfindung wurde nun überraschenderweise gefunden, dass die Verbindung A in freier Form oder in pharmazeutisch annehmbarer oder verträglicher oder tolerierbarer Salzform eine Pfropf- oder Transplantatgefäßkrankheit inhibiert und insbesondere indiziert oder angezeigt ist, um eine chronische Abstoßung bei einem transplantierten Organ zu vermeiden oder zu behandeln.

[0011] Außerdem wurde gefunden, dass die Verbindung A in freier Form oder in pharmazeutisch annehmbarer oder verträglicher oder tolerierbarer Salzform eine Xenopropf- oder Xenotransplantatabstoßung unterdrückt.

[0012] Gemäß den besonderen Gesichtspunkten der vorliegenden Erfindung wird eine Verwendung der Verbindung A, wie sie in Anspruch 1 beschrieben ist, bereitgestellt.

[0013] Die Verwendbarkeit der Verbindung A in freier Form oder in pharmazeutisch annehmbarer Salzform bei einer chronischen Abstoßung, sowie die Verwendbarkeit bei der Behandlung von Krankheiten und Bedingungen oder Zuständen, wie sie oben spezifiziert sind, kann durch Tierversuche gezeigt werden, zum Beispiel gemäß den Verfahren, die im Folgenden beschrieben sind, sowie in der Klinik, wo zum Beispiel das transplantierte Organ oder Gewebe regelmäßigen Biopsiekontrollen unterzogen oder unterworfen werden kann, und im Fall eines Herztransplantats zusätzlich einem Ultraschall-Scannen.

A. Vermeidung einer Pfropf- oder Transplantatgefäßkrankheit

Tiere für die Experimente:

[0014] Natürliche oder durch Inzucht erzeugte Rattenstämme DA (RT1^a, Spender) und Lewis (RT1¹, Empfänger der Allopfpfropfe oder -transplantate), die zwischen 200 und 350 g wogen, wurden verwendet. Den Tieren ließ man ungehinderten Zugang zu Nahrung und Wasser vor und nach der Operation.

Karotisarterien Transplantation:

[0015] Die Ratten wurden mit Isofluran (Abbott) anästhesiert (4 bis 5% zur Induktion, 1,5 bis 2% zur Beibehaltung), und 300 µg Atropinsulfat wird nachfolgend auf die Induktion subkutan injiziert. Die linke Karotisarterie wird freigelegt. Die Arterie wird proximal und distal geklammert, und ein Abschnitt von etwa 7 bis 10 mm entfernt. Die Lücke wird überbrückt durch einen Allopfpfropf oder ein Allotransplantat, das ebenfalls einer 45 minütigen kalten Ischämie unterworfen worden war. Ethilon 10/0 Nähfäden wurden verwendet. Schließlich wird die Haut mit 4/0 Nähfäden geschlossen. Sofern benötigt, wird dann eine osmotische Alzet Minipumpe (Alza Corp. Palo Alto, Kalifornien) subkutan über den Rücken implantiert (alternativ werden die Tiere oral behandelt).

[0016] Die Ratten werden einer der folgenden Behandlungen unterworfen: Eine Verbindung der Formel I alleine mit Dosen von 0,1 bis 10 mg/kg, oder in Kombination mit Cyclosporin A bei der Dosis von 0,03, 0,3 oder 1 mg·kg⁻¹·Tag⁻¹ wird 8 Wochen lang verabreicht, entweder unter Verwendung der subkutan implantierten osmotischen Alzet Minipumpen oder alternativ durch orale Verabreichung. Nach 8 Wochen werden die Ratten getötet. Die Karotisarterien werden 1 min lang mit 0,1 M Phosphat gepufferter Lösung (PBS, pH 7,4) und dann 15 min lang mit 2,5% Glutaraldehyd in Phosphatpuffer (pH 7,4) durchschwemmt. Die Karotisarterien werden dann herausgeschnitten und gefärbt in Giemsa Lösung für eine histologische Bewertung.

[0017] Eine morphometrische Analyse schließt die Messung der Dicke der Media und Intima ein. Eine qualitative Analyse der morphologischen Veränderungen schließt ein Zählen ein auf einer 0 bis 3 Skala für hinzukommende Infiltration von mononuklearen Zellen und Nekrose Vakuolen-Degeneration, Hypertrophie von Zellen, die Anzahl von glatten Muskelzellen (SMC)-Kernen in der Media (0 bis 10, < 100, > 100 und >> 100 Kerne für die Zählwerte 0, 1,2 bzw. 3, SMC Nekrose (Vakuolen-Degeneration und Hypertrophie von SMC) und die Intima-Infiltration von mononuklearen Zellen (13).

[0018] In beiden Experimenten inhibieren die Verbindungen der Formel I, insbesondere Verbindung A in der Hydrochloridform, signifikant oder wesentlich die Transplantatinfiltration und Neo- oder Neuintimabildung.

B. In vivo Herz-Xenotransplantation (Hamster zur Ratte)

[0019] Die Kombination der Xenotransplantation von Hamster zu Ratte ist eine sogenannte schwierige übereinstimmende oder harmonische Kombination. Ratten weisen keine natürlichen Anti-Hamster Antikörper in ausreichenden Mengen auf, um eine unmittelbar hyperakute Abstoßung zu erzeugen, wie es beobachtet wird bei übereinstimmenden oder harmonischen Kombinationen; jedoch eine Abstoßung bei unbehandelten Empfängern tritt innerhalb von 3 bis 4 Tagen auf durch Antikörper in Kombination mit dem Komplement. Dies wird in der Histologie visualisiert durch die Zerstörung von Blutgefäßen, Exsudation und Extravasat von Erythrozyten und einem Einfluss oder Zuströmen von polymorphonuklearen Granulozyten; oft gibt es Anzeichen von Hämorrhagie und einer Thrombose. Sobald diese Abstoßung überwunden wurde durch wirksame Inhibierung der

Antikörpersynthese oder Komplementinaktivierung, kann einen zelluläre Abstoßung später auftreten. Dies wird in der Histologie visualisiert durch ein Zuströmen oder einen Einfluss von mononuklearen Zellen, einschließlich Lymphozyten, lymphoblastoide Zellen und Makrophagen, und Zerstörung des Muskelzellenparenchyms. Die Inhibierung oder Inhibition einer zellulären Abstoßung benötigt mehr Immuno- oder Immunsuppression als die von Allotransplantaten oder Allopfpfen. Kongenitale athymische (rnu/rnu) Ratten weisen kein angemessenes oder ausreichendes oder beständiges (Thymus abhängiges) Zellimmunsystem auf und sind in der Regel nicht in der Lage, Allotransplantate oder Allopfpfe abzustoßen. Solche Tiere stoßen ein Hamster-Xenotransplantat oder -Xenopropf innerhalb von 3 bis 4 Tagen in einer ähnlichen Art und Weise ab, wie euthymische Ratten, was anzeigt, dass (zumindest ein Teil der) Anti-Hamster Antikörpersynthese in Ratten stattfindet nachfolgend einer Thymus abhängigen B-Zellen Antwort. Solche Empfänger sind geeignet für eine Hamster-Xenotransplantation, um eine Abstoßung durch Thymus abhängige, über Antikörper vermittelte Abstoßung zu bewerten.

[0020] Das Herz eines syrischen Hamsters wird heterotopisch transplantiert in das Abdomen oder den Unterleib einer männliche Lewis (RT1⁻)-Ratte mit Anastomosen zwischen der Spender- und Empfänger-Aorta und der rechten Spenderlungenarterie zu der unteren Hohlvene oder Vena cava inferior des Empfängers. Der Pfropf oder das Transplantat wird täglich überwacht durch Palpation oder Abtasten des Abdomens. Eine Abstoßung wird angenommen im Fall eines Stillstands des Herzschlags. Die Tiere werden wöchentlich gewogen. In der vorliegenden Reihe von Experimenten ist der Endpunkt auf 28 Tage gesetzt. Die Tiere werden einer Autopsie unterworfen; neben dem Transplantat oder Pfropf werden Gewicht und Histologie bestimmt für Thymus, Milz, Leber, Samenbläschen und Testikel. Blut wird entnommen und zu Serum verarbeitet für die Bestimmung der cytolytischen Anti-Hamster Erythrozytenantikörper und hämolytischen Komplementaktivität.

[0021] Die Verbindungen werden in Wasser gelöst und täglich oral verabreicht in einem Volumen von 2 ml/kg Körpergewicht. Die Verabreichung von 5 bis 30 ml/kg/Tag der Verbindung A, zum Beispiel in Hydrochloridform, führt zu einer verlängerten Pfropf- oder Transplantatüberlebenszeit sowohl bei athymischen als auch euthymischen Empfängern.

[0022] Die täglichen Dosen oder Dosierungen, die benötigt werden bei der Ausführung oder in der Praxis des Verfahrens der vorliegenden Erfindung sind verschieden in Abhängigkeit von zum Beispiel der Verbindung A, die eingesetzt wird, des Wirts, des Modus oder der Art und Weise der Verabreichung oder der Darreichungsform, der Schwere oder dem Grad des Zustands, der behandelt wird, und des gleichzeitig oder begleitend verwendeten immuno- oder immunsuppressiven Arzneimittels. Ein bevorzugter täglicher Dosisbereich liegt bei von 0,03 bis 2,5 mg/kg pro Tag, insbesondere 0,1 bis 2,5 mg/kg pro Tag, zum Beispiel 0,5 bis 2,5 mg/kg pro Tag als eine Einzeldosis oder bei aufgeteilten Dosen. Geeignete tägliche Dosierungen für Patienten liegen in dem Bereich von zum Beispiel 1 bis 100 mg p.o. Geeignete Einheitsdarreichungsformen zur oralen Verabreichung umfassen von 1 bis 50 mg, in der Regel 5 bis 30 mg des wirksamen Inhaltsstoffs der Verbindung A, zum Beispiel in Hydrochloridform, zusammen mit ein oder mehreren pharmazeutisch annehmbaren oder verträglichen Verdünnungsmitteln oder Trägern dafür. Bei einer weiteren Ausführungsform oder alternativ kann die Verbindung A in freier Form oder in pharmazeutisch annehmbarer Salzform auch zwei- oder dreimal in einer Woche, d.h. bei einer Dosierung, wie oben angegeben, verabreicht werden.

[0023] Die Verbindung A kann nach einer herkömmlichen Art und Weise verabreicht werden, insbesondere enteral, zum Beispiel oral, zum Beispiel in der Form von Lösungen zum Trinken, Tabletten oder Kapseln oder parenteral, zum Beispiel in der Form von injizierbaren Lösungen oder Suspensionen. Pharmazeutische Zusammensetzungen, die die Verbindung A umfassen, können auf herkömmliche Art und Weise hergestellt werden, wie zum Beispiel in EP 0 627 406 A1 beschrieben.

[0024] Die Verbindung A kann verabreicht werden zusammen mit anderen Arzneimitteln bei immuno- oder immunmodulierenden Behandlungen oder Kuren. Die Verbindung A wird in Kombination oder zusammen mit 40-O-(2-Hydroxy)ethyl-rapamycin verwendet.

[0025] Die Verbindung A wird im Zusammenhang mit einer anderen immunsuppressiven/immunmodulatorischen Therapie, zum Beispiel zur Vermeidung oder Behandlung chronischer Abstoßung, wie oben spezifiziert, verabreicht, die Dosierungen oder Darreichungsformen des zusammen verabreichten Immuno- oder Immunsuppressivums oder der immuno- oder immunmodulatorischen Verbindung wird natürlich verschieden sein in Abhängigkeit von dem Typ des eingesetzten Co-Arzneimittels oder des zusammen eingesetzten Arzneimittels, in Abhängigkeit von dem speziell eingesetzten Arzneimittel, in Abhängigkeit von dem Zustand, der behandelt wird usw.

Formulierungsreferenzbeispiel: weiche Kapseln

Verbindung der Formel I, z.B. Verbindung A	30 mg
Polyethylenglycol 300	300 mg
Polysorbat 80	<u>20 mg</u>
Gesamt	350 mg

[0026] Die Verbindung A in freier Form oder in pharmazeutisch annehmbarer Salzform wird bei Dosierungen, die zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung benötigt werden, gut toleriert oder vertragen. Zum Beispiel beträgt der akute LD₅₀-Wert > 10 mg/kg p.o. bei Ratten und Affen.

Patentansprüche

1. Verwendung von 2-Amino-2-[2-(4-octylphenyl)ethyl]-1,3-propandiol in freier Form oder in pharmazeutisch annehmbarer Salzform zusammen mit 40-O-(2-Hydroxyethyl)-rapamycin zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung bei immunomodulatorischen Behandlungen.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei 2-Amino-2-[2-(4-octylphenyl)ethyl]-1,3-propandiol in der Hydrochloridsalzform verwendet wird.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen