

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
24. Dezember 2008 (24.12.2008)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2008/155035 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:

A61K 31/422 (2006.01) A61P 11/00 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER HEALTHCARE AG;
Law and Patents, Patents and Licensing, 51368 Leverkusen
(DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2008/004565

(22) Internationales Anmeldedatum:
7. Juni 2008 (07.06.2008)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2007 028 318.2 20. Juni 2007 (20.06.2007) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): BAYER HEALTHCARE AG [DE/DE]; 51368 Lev-
erkusen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DEGENFELD,
Georges [DE/DE]; Carl-Rumpff-Strasse 41, 51373 Lev-
erkusen (DE). PERZBORN, Elisabeth [DE/DE]; Am
Tescher Busch 13, 42327 Wuppertal (DE). HIRTH-DI-
ETRICH, Claudia [DE/DE]; Stockmannsmühle 127,
42115 Wuppertal (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ,
LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM,
SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF,
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,
TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

(54) Title: OXAZOLIDINONES FOR THE TREATMENT AND PROPHYLAXIS OF SEPSIS

(54) Bezeichnung: OXAZOLIDINONE ZUR BEHANDLUNG UND PROPHYLAXE VON SEPSIS

(57) Abstract: The invention relates to the use of factor Xa inhibitors, in particular of oxazolidinones of formula (I), for the treat-
ment and/or prophylaxis of sepsis, disseminated intravascular coagulation, septic shocks, septic organ dysfunction, septic organ
failure and/or ARD and use thereof for production of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of sepsis, disseminated
intravascular coagulation, septic shocks, septic organ dysfunction, septic organ failure and/or ARD.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Faktor Xa-Inhibitoren, insbesondere von Oxa-
zolidinonen der Formel (I), zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des
septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS sowie ihre Verwendung
zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung,
des Septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS.

WO 2008/155035 A2

Oxazolidinone zur Behandlung und Prophylaxe von Sepsis

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Faktor Xa-Inhibitoren, insbesondere von Oxazolidinonen der Formel (I), zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des septischen Schocks, der septischen
5 Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS sowie ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des Septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS.

Oxazolidinone der Formel (I) sind aus WO 01/047919 bekannt und wirken insbesondere als
10 selektive Inhibitoren des Blutgerinnungsfaktors Xa und als Antikoagulantien.

Oxazolidinone der Formel (I) sind selektive Faktor Xa Inhibitoren und hemmen spezifisch nur FXa. Eine antithrombotische Wirkung von Faktor Xa-Inhibitoren konnte in zahlreichen Tiermodellen nachgewiesen werden (vgl. U. Sinha, P. Ku, J. Malinowski, B. Yan Zhu, RM. Scarborough, C K. Marlowe, PW. Wong, P. Hua Lin, SJ. Hollenbach, Antithrombotic and
15 hemostatic capacity of factor Xa versus thrombin inhibitors in models of venous and arteriovenous thrombosis, European Journal of Pharmacology 2000, 395, 51-59; A. Betz, Recent advances in Factor Xa inhibitors, Expert Opin. Ther. Patents 2001, 11, 1007; K. Tsong Tan, A. Makin, G. YH Lip, Factor X inhibitors, Exp. Opin. Investig. Drugs 2003, 12, 799; J. Ruef, HA. Katus, New antithrombotic drugs on the horizon, Expert Opin. Investig. Drugs 2003, 12, 781; MM. Samama,
20 Synthetic direct and indirect factor Xa inhibitors, Thrombosis Research 2002, 106, V267; ML. Quan, JM. Smallheer, The race to an orally active Factor Xa inhibitor, Recent advances, J. Current Opinion in Drug Discovery & Development 2004, 7, 460-469) sowie in klinischen Studien an Patienten (The Ephesus Study, Blood 2000, 96, 490a; The Penthifra Study, Blood 2000, 96, 490a; The Pentamaks Study, Blood 2000, 96, 490a-491a; The Pentathlon 2000 Study, Blood 2000, 96,
25 491a). Faktor Xa-Inhibitoren können deshalb bevorzugt eingesetzt werden in Arzneimitteln zur Prophylaxe und/oder Behandlung von thromboembolischen Erkrankungen. Selektive FXa-Inhibitoren zeigen ein breites therapeutisches Fenster. In zahlreichen tierexperimentellen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass FXa Inhibitoren in Thrombosemodellen eine antithrombotische Wirkung zeigen ohne, oder nur geringfügig, verlängernd auf Blutungszeiten zu
30 wirken (vergl. RJ Leadly, Coagulationfactor Xa inhibition: biological background and rationale, Curr Top Med Chem 2001; 1, 151-159). Eine individuelle Dosierung bei Antikoagulation mit selektiven FXa Inhibitoren ist daher nicht notwendig.

Sepsis (oder Septikämie) ist eine häufige Erkrankung mit hoher Letalität. Anfängliche Symptome der Sepsis sind typischerweise unspezifisch (z.B. Fieber, reduziertes Allgemeinbefinden), im weiteren Verlauf kann es jedoch zur generalisierten Aktivierung des Gerinnungssystems kommen ("Disseminated Intravascular coagulation", oder "Verbrauchskoagulopathie", nachfolgend als

5 "DIC" bezeichnet) mit Mikrothrombosierung in verschiedenen Organen und sekundärer Blutungskomplikationen. Außerdem kann es zur endothelialen Schädigung mit Erhöhung der Gefäßpermeabilität und Austritt von Flüssigkeit und Proteinen in den Extravasalraum kommen. Im weiteren Verlauf kann es zur Dysfunktion oder dem Versagen eines Organs (z.B. Nierenversagen, Leberversagen, Atemversagen, zentralnervöse Defizite und Herz-/Kreislaufversagen) bis hin zum

10 Multiorganversagen kommen. Hiervon kann prinzipiell jedes Organ betroffen sein, am häufigsten tritt Organdysfunktion und -Versagen bei der Lunge, der Niere, dem Herz-Kreislaufsystem, dem Gerinnungssystem, dem zentralnervösen System, endokrinen Drüsen und der Leber auf. Eine Sepsis kann mit einem „Acute Respiratory Distress Syndrome“ (nachfolgend als ARDS bezeichnet) einhergehen. Ein ARDS kann auch unabhängig von einer Sepsis auftreten. "Septischer

15 Schock" bezeichnet das Auftreten einer behandlungspflichtigen Blutdruckerniedrigung, die eine weitere Organschädigung begünstigt und mit einer Verschlechterung der Prognose einhergeht.

Krankheitserreger können Bakterien (gram-negativ und gram-positiv), Pilze, Viren und/oder Eukaryonten sein. Eintrittspforte bzw. Primärinfektion können z.B. Pneumonie, Harnwegsinfekt, Peritonitis sein. Die Infektion kann, muß aber nicht zwingend, mit einer Bakteriämie einhergehen.

20 Sepsis wird definiert als das Vorliegen einer Infektion und eines "systemic inflammatory response syndrome" (nachfolgend mit "SIRS" bezeichnet). SIRS tritt im Rahmen von Infekten, aber auch von anderen Zuständen wie Verletzungen, Verbrennungen, Schock, Operationen, Ischämie, Pankreatitis, Reanimation oder Tumoren auf. Nach der Definition des ACCP/SCCM Consensus Conference Committee von 1992 (Crit Care Med 1992;20:864-874) werden die zur Diagnose

25 "SIRS" erforderlichen Symptome zur Diagnose und Meßparameter beschrieben (u.a. veränderte Körpertemperatur, erhöhte Herzfrequenz, Atemschwierigkeiten und verändertes Blutbild). In der späteren (2001) SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference wurden die Kriterien im Wesentlichen beibehalten, in Details jedoch verfeinert (Levy et al., Crit Care Med 2003;31:1250-1256).

30 DIC und SIRS können im Rahmen einer Sepsis, aber auch infolge von Operationen, Tumorerkrankungen, Verbrennungen oder anderen Verletzungen auftreten. Bei der DIC kommt es an der Oberfläche von geschädigten Endothelzellen, Fremdkörperoberflächen oder verletztem extravaskulärem Gewebe zur massiven Aktivierung des Gerinnungssystems. Als Folge kommt es zur Gerinnung in kleinen Gefäßen verschiedener Organe mit Hypoxie und anschließender

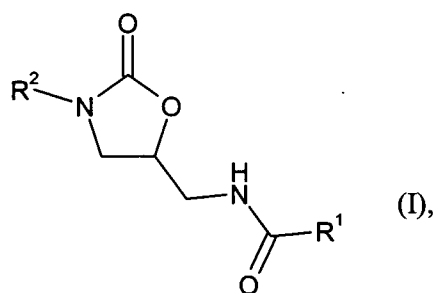
Organdysfunktion. Sekundär kommt es zum Verbrauch von Gerinnungsfaktoren (z.B. Faktor X, Prothrombin, Fibrinogen) und Plättchen, wodurch die Gerinnungsfähigkeit des Blutes herabgesetzt wird und schwere Blutungen auftreten können.

Die Therapie der Sepsis besteht einerseits in der konsequenten Beseitigung der infektiösen Ursache, z.B. durch operative Herdsanierung und Antibiose. Andererseits besteht sie in der temporären intensivmedizinischen Unterstützung der beeinträchtigten Organsysteme. Therapien der verschiedenen Stadien dieser Erkrankung sind z.B. in folgender Publikation beschrieben (Dellinger et al., Crit Care Med 2004;32:858-873). Für die DIC existieren keine erwiesenermaßen effektive Therapien.

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass selektive Faktor Xa-Inhibitoren, insbesondere Oxazolidinone der Formel (I), auch zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS geeignet sind.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung von selektiven Faktor Xa-Inhibitoren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist insbesondere die Verwendung von Verbindungen der Formel (I)



in welcher

R^1 für 2-Thiophen steht, das in der 5-Position substituiert ist durch einen Rest ausgewählt aus der Gruppe Chlor, Brom, Methyl und Trifluormethyl,

R^2 für D-A- steht,

wobei

der Rest „A“ für Phenylen steht,

wobei

die Gruppe „A“ in der meta-Position bezüglich der Verknüpfung zum Oxazolidinon gegebenenfalls ein- oder zweifach substituiert sein kann mit einem Rest ausgewählt aus der Gruppe von Fluor, Chlor, Nitro, Amino, Trifluormethyl, Methyl und Cyano,

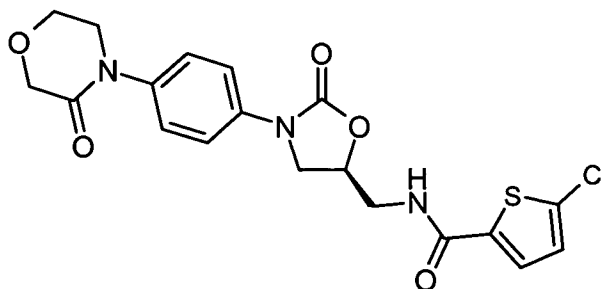
und

der Rest „D“ für einen gesättigten 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus steht, der über ein Stickstoffatom mit „A“ verknüpft ist und der in direkter Nachbarschaft zum verknüpfenden Stickstoffatom eine Carbonylgruppe besitzt und in dem ein Ring-Kohlenstoffglied durch ein Heteroatom aus der Reihe S, N und O ersetzt sein kann,

sowie ihrer Salze, Solvate und Solvate der Salze zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS.

Besonders bevorzugt ist die Verwendung der Verbindungen der Formel (I) sowie ihrer Salze, Solvate und Solvate der Salze zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, des septischen Schocks und/oder des septischen Organversagens.

Ganz besonders bevorzugt ist hierbei die Verwendung der Verbindung 5-Chlor-*N*-({(5*S*)-2-oxo-3-[4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl]-1,3-oxazolidin-5-yl}methyl)thiophen-2-carboxamid (Beispiel 1) mit der folgenden Formel

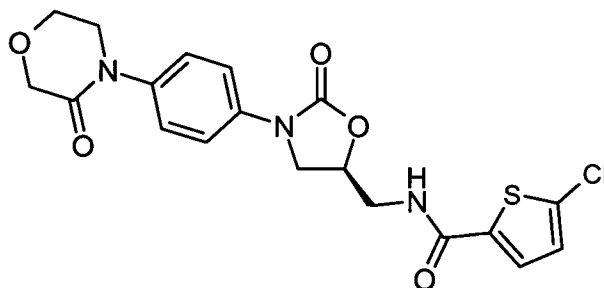


sowie ihrer Salze, Solvate und Solvate der Salze zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des

septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS.

Ganz besonders bevorzugt ist auch die Verwendung der Verbindung 5-Chlor-*N*-({(5*S*)-2-oxo-3-[4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl]-1,3-oxazolidin-5-yl}methyl)thiophen-2-carboxamid (Beispiel 1) mit

5 der folgenden Formel



sowie ihrer Salze, Solvate und Solvate der Salze zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, des septischen Schocks und/oder des septischen Organversagens.

- 10 Oxazolidinone wurden ursprünglich im wesentlichen nur als Antibiotika, vereinzelt auch als MAO-Hemmer und Fibrinogen-Antagonisten beschrieben (Übersicht: Riedl, B., Endermann, R., Exp. Opin. Ther. Patents **1999**, 9 (5), 625), wobei für die antibakterielle Wirkung eine kleine 5-[Acyl-aminomethyl]-gruppe (bevorzugt 5-[Acetyl-aminomethyl]) essentiell zu sein scheint.

- 15 Substituierte Aryl- und Heteroarylphenyloxazolidinone, bei denen an das N-Atom des Oxazolidinonrings ein ein- oder mehrfach substituierte Phenylrest gebunden sein kann und die in der 5-Position des Oxazolidinonrings einen unsubstituierten N-Methyl-2-thiophencarboxamid-Rest aufweisen können, sowie ihre Verwendung als antibakteriell wirkende Substanzen sind bekannt aus den U.S.-Patentschriften US 5 929 248, US 5 801 246, US 5 756 732, US 5 654 435, US 5 654 428 und US 5 565 571.

- 20 Darüber hinaus sind benzamidinhaltige Oxazolidinone als synthetische Zwischenstufen bei der Synthese von Faktor Xa-Inhibitoren bzw. Fibrinogenantagonisten bekannt (WO 99/31092, EP 0 623 615).

- Erfindungsgemäß verwendbare Verbindungen, nachstehend auch als erfindungsgemäße Verbindungen bezeichnet, sind die Verbindungen der Formel (I) und deren Salze, Solvate und
- 25 Solvate der Salze, die von Formel (I) umfassten Verbindungen der nachfolgend genannten Formeln und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze sowie die von Formel (I) umfassten, nachfolgend

als Ausführungsbeispiele genannten Verbindungen und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze, soweit es sich bei den von Formel (I) umfassten, nachfolgend genannten Verbindungen nicht bereits um Salze, Solvate und Solvate der Salze handelt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in Abhängigkeit von ihrer Struktur in stereo-
5 isomeren Formen (Enantiomere, Diastereomere) existieren. Die Erfindung umfasst deshalb die Verwendung der Enantiomeren oder Diastereomeren und ihrer jeweiligen Mischungen.

Sofern die erfindungsgemäßen Verbindungen in tautomeren Formen vorkommen können, umfasst die vorliegende Erfindung die Verwendung sämtlicher tautomere Formen.

Als Salze sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung physiologisch unbedenkliche Salze der er-
10 findungsgemäßen Verbindungen bevorzugt. Umfasst sind auch Salze, die für pharmazeutische Anwendungen selbst nicht geeignet sind, jedoch beispielsweise für die Isolierung oder Reinigung der erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden können.

Physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen umfassen Säure-
additionssalze von Mineralsäuren, Carbonsäuren und Sulfonsäuren, z.B. Salze der Chlorwasser-
15 stoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Naphthalindisulfonsäure, Essigsäure, Trifluor-essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Maleinsäure und Benzoesäure.

Physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen umfassen auch Salze
20 üblicher Basen, wie beispielhaft und vorzugsweise Alkalimetallsalze (z.B. Natrium- und Kaliumsalze), Erdalkalisalze (z.B. Calcium- und Magnesiumsalze) und Ammoniumsalze, abgeleitet von Ammoniak oder organischen Aminen mit 1 bis 16 C-Atomen, wie beispielhaft und vorzugsweise Ethylamin, Diethylamin, Triethylamin, Ethyldiisopropylamin, Monoethanolamin, Diethanolamin, Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Prokain, Dibenzylamin, N-Methyl-
25 morpholin, Arginin, Lysin, Ethylendiamin und N-Methylpiperidin.

Als Solvate werden im Rahmen der Erfindung solche Formen der erfindungsgemäßen Verbindungen bezeichnet, welche in festem oder flüssigem Zustand durch Koordination mit Lösungsmittelmolekülen einen Komplex bilden. Hydrate sind eine spezielle Form der Solvate, bei denen die Koordination mit Wasser erfolgt. Als Solvate sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung
30 Hydrate bevorzugt.

Außerdem umfasst die vorliegende Erfindung auch die Verwendung von Prodrugs der erfindungsgemäßen Verbindungen. Der Begriff "Prodrugs" umfasst Verbindungen, welche selbst

biologisch aktiv oder inaktiv sein können, jedoch während ihrer Verweilzeit im Körper zu erfindungsgemäßen Verbindungen umgesetzt werden (beispielsweise metabolisch oder hydrolytisch).

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung haben die Substituenten, soweit nicht anders spezifiziert,
5 die folgende Bedeutung:

Ein gesättigter 5- oder 6-gliedriger Heterocyclus, der über ein Stickstoffatom verknüpft ist und der in direkter Nachbarschaft zum verknüpfenden Stickstoffatom eine Carbonylgruppe besitzt und in dem ein Ring-Kohlenstoffglied durch ein Heteroatom aus der Reihe S, N und O ersetzt sein kann, ist beispielsweise 2-Oxo-pyrrolidin-1-yl, 2-Oxo-piperidin-1-yl, 2-Oxo-piperazin-1-yl, 2-Oxo-
10 morpholin-1-yl, 3-Oxo-thiomorpholin-4-yl, 2-Oxo-1,3-oxazolidin-1-yl, 2-Oxo-1,3-oxazinan-1-yl, 2-Oxo-imidazolidin-1-yl und 2-Oxo-tetrahydropyrimidin-1-yl.

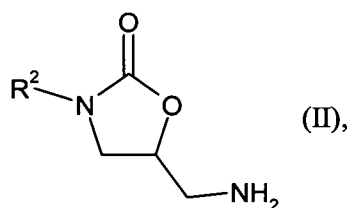
Erklärungen zu den Figuren:

Abb. 1: TAT 90 min nach LPS

Abb. 2: Fibrinogen 4 h nach LPS

15 Die Verbindungen der Formel (I) können hergestellt werden, indem man entweder

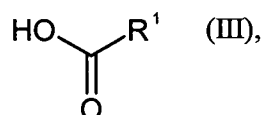
[A] Verbindungen der allgemeinen Formel



in welcher

R² die oben angegebene Bedeutung hat,

20 mit Carbonsäuren der allgemeinen Formel



in welcher

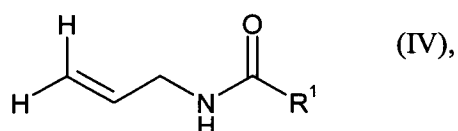
R^1 die oben angegebene Bedeutung hat,

oder aber mit den entsprechenden Carbonsäurehalogeniden, vorzugsweise Carbonsäurechloriden, oder aber mit den entsprechenden symmetrischen oder gemischten Carbonsäureanhydriden der zuvor definierten Carbonsäuren der allgemeinen Formel (III)

5 in inerten Lösungsmitteln, gegebenenfalls in Gegenwart eines Aktivierungs- oder Kupplungsreagenzes und/oder einer Base, umgesetzt,

oder

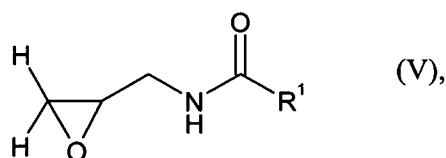
[B] Verbindungen der allgemeinen Formel



10 in welcher

R^1 die oben angegebene Bedeutung hat,

mit einem geeigneten selektiven Oxidationsmittel in einem inerten Lösungsmittel in das entsprechenden Epoxid der allgemeinen Formel



15 in welcher

R^1 die oben angegebene Bedeutung hat,

überführt,

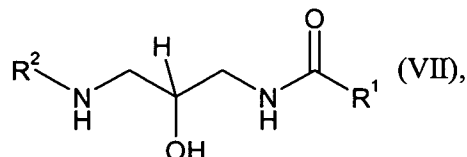
und durch Umsetzung in einem inerten Lösungsmittel gegebenenfalls in Gegenwart eines Katalysators mit einem Amin der allgemeinen Formel

20 $R^2 - NH_2$ (VI),

in welcher

R^2 die oben angegebene Bedeutung hat,

zunächst die Verbindungen der allgemeinen Formel



in welcher

5 R^1 und R^2 die oben angegebene Bedeutung haben,

herstellt und

anschließend in inertem Lösungsmittel in Anwesenheit von Phosgen oder Phosgenäquivalenten wie z.B. Carbonyldiimidazol (CDI) zu den Verbindungen der allgemeinen Formel (I) cyclisiert.

10 Als Lösemittel für die zuvor beschriebenen Verfahren eignen sich hierbei organische Lösemittel, die unter den Reaktionsbedingungen inert sind. Hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, 1,2-Dichlorethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethylen oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Alkohole wie
15 Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan oder Cyclohexan, Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid, Acetonitril, Pyridin, Hexamethylphosphorsäuretriamid oder Wasser. Ebenso ist es möglich, Lösemittelgemische der zuvor genannten Lösemittel einzusetzen.

Als Aktivierungs- oder Kupplungsreagenzien für die zuvor beschriebenen Verfahren eignen
20 hierbei die hierfür üblicherweise verwendeten Reagenzien, beispielsweise *N'*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N*-ethylcarbodiimid · HCl, *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid, 1-Hydroxy-1H-benzotriazol · H₂O und dergleichen.

Als Basen eignen sich die üblichen anorganischen oder organischen Basen. Hierzu gehören bevorzugt Alkalihydroxide wie beispielsweise Natrium- oder Kaliumhydroxid oder
25 Alkalicarbonat wie Natrium- oder Kaliumcarbonat oder Natrium- oder Kaliummethanolat oder Natrium- oder Kaliummethanolat oder Kalium-tert.-butylat oder Amide wie Natriumamid, Lithium-bis-(trimethylsilyl)amid oder Lithiumdiisopropylamid oder Amine wie Triethylamin, Diisopropylethylamin, Diisopropylamin, 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin oder Pyridin.

Die Base kann hierbei in einer Menge von 1 bis 5 Mol, bevorzugt von 1 bis 2 Mol, bezogen auf 1 Mol der Verbindungen der allgemeinen Formel (II), eingesetzt werden.

Die Reaktionen erfolgen im allgemeinen in einem Temperaturbereich von -78°C bis zur Rückflusstemperatur, bevorzugt im Bereich von 0°C bis Rückflusstemperatur.

- 5 Die Umsetzungen können bei normalem, erhöhtem oder erniedrigtem Druck durchgeführt werden (z.B. im Bereich von 0.5 bis 5 bar). Im allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Als geeignete selektive Oxidationsmittel sowohl für die Herstellung der Epoxide als auch für die gegebenenfalls durchgeführte Oxidation zum Sulfon, Sulfoxid oder N-Oxid kommen beispielsweise m-Chlorperbenzoesäure (MCPBA), Natriummetaperiodat, N-Methylmorpholin-N-oxid (NMO), Monoperoxyphthalsäure oder Osmiumtetroxid in Betracht.

Hinsichtlich der Herstellung der Epoxide werden die hierfür üblichen Herstellungsbedingungen angewandt.

Hinsichtlich der näheren Verfahrensbedingungen für die gegebenenfalls durchgeführte Oxidation zum Sulfon, Sulfoxid oder N-Oxid kann verwiesen werden auf die folgende Literatur: M. R. Barbachyn et al., J. Med. Chem. **1996**, 39, 680 sowie WO 97/10223.

Die Verbindungen der Formeln (II), (III), (IV) und (VI) sind dem Fachmann an sich bekannt oder nach üblichen Methoden herstellbar. Für Oxazolidinone, insbesondere die benötigten 5-(Aminomethyl)-2-oxooxazolidine, vgl. WO 98/01446; WO 93/23384; WO 97/03072; J. A. Tucker et al., J. Med. Chem. **1998**, 41, 3727; S. J. Brickner et al., J. Med. Chem. **1996**, 39, 673; W. A. Gregory et al., J. Med. Chem. **1989**, 32, 1673.

Die Verfahren zur Synthese von Oxazolidinonen der Formel (I) sind ausführlich beschrieben in WO 01/047919.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen kommen für die Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis (oder Septikämie), Septischer Schock und DIC ("Disseminated Intravascular coagulation", oder "Verbrauchskoagulopathie") in Betracht.

"Sepsis" wird definiert als das Vorliegen einer Infektion und eines "systemic inflammatory response syndrome" (nachfolgend mit "SIRS" bezeichnet). SIRS tritt im Rahmen von Infekten, aber auch von anderen Zuständen wie Verletzungen, Verbrennungen, Schock, Operationen, Ischämie, Pankreatitis, Reanimation oder Tumoren auf. Nach der Definition des ACCP/SCCM Consensus Conference Committee (Critical Care Med 1992;101:1644) werden die zur Diagnose

“SIRS” erforderlichen Symptome zur Diagnose und Meßparameter beschrieben (u.a. veränderte Körpertemperatur, erhöhte Herzfrequenz, Atemschwierigkeiten und verändertes Blutbild).

Im Verlauf einer Sepsis kann es zur generalisierten Aktivierung des Gerinnungssystems kommen (“Disseminated Intravascular coagulation”, oder “Verbrauchskoagulopathie”, nachfolgend als
5 “DIC” bezeichnet) mit Mikrothrombosierung in verschiedenen Organen und sekundärer Blutungskomplikationen. Außerdem kann es zur endothelialen Schädigung mit Erhöhung der Gefäßpermeabilität und Austritt von Flüssigkeit und Proteinen in den Extravasalraum kommen. Im weiteren Verlauf kann es zur Dysfunktion oder dem Versagen eines Organs (z.B. Nierenversagen, Leberversagen, Atemversagen, zentralnervöse Defizite und Herz-/Kreislaufversagen) bis hin zum
10 Multiorganversagen kommen. Hiervon kann prinzipiell jedes Organ betroffen sein, am häufigsten tritt Organdysfunktion und -Versagen bei der Lunge, der Niere, dem Herz-Kreislaufsystem, dem Gerinnungssystem, dem zentralnervösen System, endokrinen Drüsen und der Leber auf. Eine Sepsis kann mit einem „Acute Respiratory Distress Syndrome“ (nachfolgend als ARDS bezeichnet) oder einem „Acute Lung Injury“ (nachfolgend als ALI bezeichnet) einhergehen. Ein
15 ARDS kann auch unabhängig von einer Sepsis auftreten. “Septischer Schock” bezeichnet das Auftreten einer behandlungspflichtigen Blutdruckerniedrigung, die eine weitere Organschädigung begünstigt und mit einer Verschlechterung der Prognose einhergeht.

Krankheitserreger können Bakterien (gram-negativ und gram-positiv), Pilze, Viren und/oder Eukaryonten sein. Eintrittspforte bzw. Primärinfektion können z.B. Pneumonie, Harnwegsinfekt,
20 Peritonitis sein. Die Infektion kann, muß aber nicht zwingend, mit einer Bakteriämie einhergehen.

DIC kann im Rahmen einer Sepsis, aber auch infolge von Operationen, Tumorerkrankungen, Verbrennungen oder anderen Verletzungen auftreten. Hierbei kommt es an der Oberfläche von geschädigten Endothelzellen, Fremdkörperoberflächen oder verletztem extravaskulärem Gewebe zur massiven Aktivierung des Gerinnungssystems. Als Folge kommt es zur Gerinnung in kleinen
25 Gefäßen verschiedener Organe mit Hypoxie und anschließender Organdysfunktion. Sekundär kommt es zum Verbrauch von Gerinnungsfaktoren (z.B. Faktor X, Prothrombin, Fibrinogen) und Plättchen, wodurch die Gerinnungsfähigkeit des Blutes herabgesetzt wird und schwere Blutungen auftreten können.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Behandlung und/oder
30 Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS in Menschen und Tieren durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens eines selektiven Faktor Xa-

Inhibitors oder eines Arzneimittels, enthaltend mindestens einen selektiven Faktor Xa-Inhibitor in Kombination mit einem inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoff.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS in Menschen und Tieren durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer erfindungsgemäßen Verbindung oder eines Arzneimittels, enthaltend mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung in Kombination mit einem inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoff.

Die entsprechend der erfindungsgemäßen Verwendung herzustellenden oder erfindungsgemäß zu verwendenden Arzneimittel enthalten mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung, üblicherweise zusammen mit einem oder mehreren inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, enthaltend eine erfindungsgemäße Verbindung und einen oder mehrere weitere Wirkstoffe, insbesondere zur Behandlung und/oder Prophylaxe der zuvor genannten Erkrankungen. Als geeignete Kombinationswirkstoffe seien beispielhaft und vorzugsweise genannt:

- Antibiotische und antimykotische Therapie

Verschiedene Antibiotika oder antifungale Medikamenten-Kombinationen kommen in Frage, entweder als kalkulierte Therapie (vor Vorliegen des mikrobiellen Befundes) oder als spezifische Therapie.

- Flüssigkeitstherapie
z.B. Kristalloide oder kolloidale Flüssigkeiten.

- Vasopressoren
z.B. Norepinephrine, Dopamine oder Vasopressin

- Inotrope Therapie
z.B. Dobutamin

- Kortikosteroide
z.B. Hydrokortison, oder Fludrokortison

- rekombinantes humanes aktivierte Protein C
Xigris
- Blutprodukte
z.B. Erythrozytenkonzentrate, Thrombozytenkonzentrate, Erythropoietin, Prothrombin Komplex
- 5 Konzentrate (PPSB) oder Plasma (Fresh Frozen Plasma (FFP))
- Maschinelle Beatmung bei sepsis-induziertem Acute Lung Injury (ALI)
bzw. Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)
z.B. Permissive Hyperkapnie, niedrigere Tidalvolumina
- Sedierung, Analgesierung und neuromuskuläre Blockade
- 10 Sedierung: z.B. Diazepam, Lorazepam, Midazolam oder Propofol. Opioide: z.B. Fentanyl, Hydromorphon, Morphin, Meperidin oder Remifentanyl. NSAIDs: z.B. Ketorolac, Ibuprofen oder Acetaminophen. Neuromuskuläre Blockade: z.B. Pancuronium
- Glukose-Kontrolle
z.B. Insulin, Glukose
- 15 • Nierenersatzverfahren
z.B. kontinuierliche veno-venöse-Hämodialyse oder intermittierende Hämodialyse. Dopamin niedrig-dosiert zur renalen Protektion.
- Antikoagulantien
z.B. zur Thromboseprophylaxe oder bei Nierenersatzverfahren, z.B. unfractionierte Heparine, low
20 molecular weight Heparine, Heparinoide, Hirudin, Bivalirudin oder Argatroban.
- Bikarbonat-Therapie
- Streßulkusprophylaxe
z.B. H₂-Rezeptorinhibitoren, Antazida
- Surfactants
- 25 Die erfindungsgemäßen Verbindungen können systemisch und/oder lokal wirken. Zu diesem Zweck können sie auf geeignete Weise appliziert werden, wie z.B. oral, parenteral, pulmonal, nasal, sublingual, lingual, buccal, rectal, dermal, transdermal, conjunctival, otisch oder als Implantat bzw. Stent.

Für diese Applikationswege können die erfindungsgemäßen Verbindungen in geeigneten Applikationsformen verabreicht werden.

Für die orale Applikation eignen sich nach dem Stand der Technik funktionierende, die erfindungsgemäßen Verbindungen schnell und/oder modifiziert abgebende Applikationsformen, die die erfindungsgemäßen Verbindungen in kristalliner und/oder amorphisierter und/oder gelöster Form enthalten, wie z.B. Tabletten (nicht-überzogene oder überzogene Tabletten, beispielsweise mit magensaftresistenten oder sich verzögert auflösenden oder unlöslichen Überzügen, die die Freisetzung der erfindungsgemäßen Verbindung kontrollieren), in der Mundhöhle schnell zerfallende Tabletten oder Filme/Oblaten, Filme/Lyophilisate, Kapseln (beispielsweise Hart- oder Weichgelatinekapseln), Dragees, Granulate, Pellets, Pulver, Emulsionen, Suspensionen, Aerosole oder Lösungen.

Die parenterale Applikation kann unter Umgehung eines Resorptionsschrittes geschehen (z.B. intravenös, intraarteriell, intrakardial, intraspinal oder intralumbal) oder unter Einschaltung einer Resorption (z.B. intramuskulär, subcutan, intracutan, percutan oder intraperitoneal). Für die parenterale Applikation eignen sich als Applikationsformen u.a. Injektions- und Infusionszubereitungen in Form von Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Lyophilisaten oder sterilen Pulvern.

Für die sonstigen Applikationswege eignen sich z.B. Inhalationsarzneiformen (u.a. Pulverinhalatoren, Nebulizer), Nasentropfen, -lösungen oder -sprays, lingual, sublingual oder buccal zu applizierende Tabletten, Filme/Oblaten oder Kapseln, Suppositorien, Ohren- oder Augenpräparationen, Vaginalkapseln, wässrige Suspensionen (Lotionen, Schüttelmixturen), lipophile Suspensionen, Salben, Cremes, transdermale therapeutische Systeme (z.B. Pflaster), Milch, Pasten, Schäume, Streupuder, Implantate oder Stents.

Bevorzugt sind die orale oder parenterale Applikation, insbesondere die orale Applikation.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in die angeführten Applikationsformen überführt werden. Dies kann in an sich bekannter Weise durch Mischen mit inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen geschehen. Zu diesen Hilfsstoffen zählen u.a. Trägerstoffe (beispielsweise mikrokristalline Cellulose, Lactose, Mannitol), Lösungsmittel (z.B. flüssige Polyethylenglycole), Emulgatoren und Dispergier- oder Netzmittel (beispielsweise Natriumdodecylsulfat, Polyoxysorbitanoleat), Bindemittel (beispielsweise Polyvinylpyrrolidon), synthetische und natürliche Polymere (beispielsweise Albumin), Stabilisatoren (z.B. Antioxidantien wie beispielsweise Ascorbinsäure), Farbstoffe (z.B. anorganische Pigmente wie beispielsweise Eisenoxide) und Geschmacks- und/oder Geruchskorrigentien.

Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei parenteraler Applikation Mengen von etwa 0.001 bis 1 mg/kg, vorzugsweise etwa 0.01 bis 0.5 mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen. Bei oraler Applikation beträgt die Dosierung etwa 0.01 bis 100 mg/kg, vorzugsweise etwa 0.01 bis 20 mg/kg und ganz besonders bevorzugt 0.1 bis 10 mg/kg Körpergewicht.

Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von Körpergewicht, Applikationsweg, individuellem Verhalten gegenüber dem Wirkstoff, Art der Zubereitung und Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Applikation erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

Die nachfolgenden Ausführungsbeispiele erläutern die Erfindung. Die Erfindung ist nicht auf die Beispiele beschränkt.

Die Prozentangaben in den folgenden Tests und Beispielen sind, sofern nicht anders angegeben, Gewichtsprozent; Teile sind Gewichtsteile. Lösungsmittelverhältnisse, Verdünnungsverhältnisse und Konzentrationsangaben von flüssig/flüssig-Lösungen beziehen sich, sofern nicht anders angegeben, jeweils auf das Volumen.

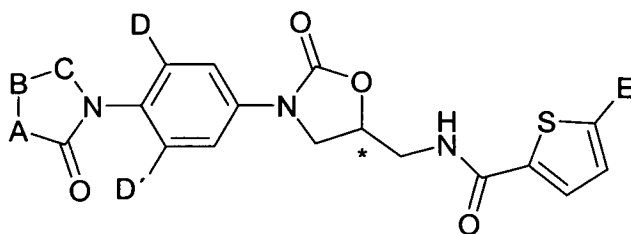
Beispiele

A. Herstellungbeispiele

Ausgangsverbindungen

Die Synthesen der Ausgangsverbindungen sind ausführlich beschrieben in WO 01/047919.

5 Ausführungsbeispiele



Beispiel	A-B-C	D	D'	E
1	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	H	H	Cl
2	CH ₂ CH ₂ CH ₂	H	H	Cl
3	CH ₂ CH ₂ CH ₂	H	H	CH ₃
4	CH ₂ CH ₂ CH ₂	H	H	Br
5	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	H	H	CH ₃
6	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	H	H	Br
7	OCH ₂ CH ₂	H	H	Cl
8	CH ₂ CH ₂ CH ₂	H	H	Br
9	CH ₂ CH ₂ CH ₂	H	H	CH ₃
10	OCH ₂ CH ₂ CH ₂	H	H	Cl
11	CH ₂ CH ₂ CH ₂	F	H	Cl
12	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	H	H	Cl
13	CH ₂ CH ₂ CH ₂	CF ₃	H	Cl
14	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	Cl	H	Cl
15	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	CF ₃	H	Cl

Beispiel	A-B-C	D	D'	E
16	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	CH ₃	H	Cl
17	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	CN	H	Cl
18	CH ₂ CH ₂ CH ₂	Cl	H	Cl
19	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	Cl
20	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	NH ₂	H	Cl
21	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	F	H	Br
22	CH ₂ CH ₂ CH ₂	F	H	Br
23	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂	H	H	Br
24	CH ₂ CH ₂ CH ₂	F	H	Cl
25	CH ₂ OCH ₂ CH ₂	F	H	Cl
26	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂	H	H	Cl

Die Synthesen der Ausführungsbeispiele sind ausführlich beschrieben in WO 01/047919.

B. Bewertung der physiologischen Wirksamkeit

Die Verbindungen der Formel (I) wirken insbesondere als selektive Inhibitoren des Blutgerinnungsfaktors Xa und hemmen nicht oder erst bei deutlich höheren Konzentrationen auch andere Serinproteasen wie Plasmin oder Trypsin.

- 5 Als „selektiv“ werden solche Inhibitoren des Blutgerinnungsfaktors Xa bezeichnet, bei denen die IC_{50} -Werte für die Faktor Xa-Inhibierung gegenüber den IC_{50} -Werten für die Inhibierung anderer Serinproteasen, insbesondere Plasmin und Trypsin, um mindestens das 100-fache kleiner sind, wobei bezüglich der Testmethoden für die Selektivität Bezug genommen wird auf die im folgenden beschriebenen Testmethoden der Beispiele A.a.1) und A.a.2).
- 10 Vorteilhafte pharmakologische Eigenschaften der erfindungsgemäß verwendbaren Verbindungen können durch folgende Methoden festgestellt werden.

a) Testbeschreibung (in vitro)**a.1) Messung der Faktor Xa-Hemmung****a.1.1) Chromogener Assay**

- 15 Die enzymatische Aktivität von humanem Faktor Xa (FXa) wird über die Umsetzung eines für den FXa-spezifischen chromogenen Substrats gemessen. Dabei spaltet der Faktor Xa aus dem chromogenen Substrat p-Nitroanilin ab. Die Bestimmungen werden wie folgt in Mikrotiterplatten durchgeführt.

- Die Prüfsubstanzen werden in unterschiedlichen Konzentrationen in DMSO gelöst und für 10
- 20 Minuten mit humanem FXa (0.5 nmol/l gelöst in 50 mmol/l Tris-Puffer [C,C,C-Tris(hydroxymethyl)-aminomethan], 150 mmol/l Natriumchlorid, 0.1 % BSA (bovine serum albumine), pH = 8.3) bei 25°C inkubiert. Kontrollproben enthalten DMSO als Lösungsmittel. Anschließend wird das chromogene Substrat (150 µmol/l Pefachrome® FXa von der Firma Pentapharm) hinzugefügt. Nach 20 Minuten Inkubationsdauer bei 25°C wird die Extinktion bei
- 25 405 nm bestimmt. Die Extinktionen der Testansätze mit Prüfsubstanz werden mit den Kontrollansätzen ohne Prüfsubstanz verglichen und daraus die IC_{50} -Werte berechnet.

a.1.2) Fluorogener Assay

Die enzymatische Aktivität von humanem Faktor Xa (FXa) wird über die Umsetzung eines für den FXa spezifischen fluorogenen Substrats gemessen. Dabei spaltet FXa aus dem peptischen Substrat

Aminomethylcoumarin ab, das fluorescent gemessen wird. Die Bestimmungen werden in Mikrotiterplatten durchgeführt.

Zu testende Substanzen werden in unterschiedlichen Konzentrationen in Dimethylsulfoxid gelöst und 15 min mit humanem FXa (1.3 nmol/l gelöst in 50 mmol/l Tris-Puffer [C,C,C-Tris(hydroxymethyl)-aminomethan], 100 mmol/l Natriumchlorid, 0.1% BSA [bovines Serumalbumin], pH 7.4) bei 22°C inkubiert. Anschließend wird das fluorogene Substrat (5 µmol/l Boc-Ile-Glu-Gly-Arg-AMC von der Firma Bachem) hinzugefügt. Nach einer Inkubation von 30 min wird die Probe bei einer Wellenlänge von 360 nm angeregt und die Emission bei 460 nm gemessen. Die gemessenen Emissionen der Testansätze mit Prüfsubstanz werden mit den Kontrollansätzen ohne Prüfsubstanz (ausschließlich Dimethylsulfoxid anstatt Prüfsubstanz in Dimethylsulfoxid) verglichen und aus den Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen IC₅₀-Werte berechnet.

a.2) Bestimmung der Selektivität

a.2.1) Chromogener Assay

Zum Nachweis der selektiven FXa-Inhibition werden die Prüfsubstanzen auf ihre Hemmung anderer humaner Serinproteasen wie Trypsin und Plasmin hin untersucht. Zur Bestimmung der enzymatischen Aktivität von Trypsin (500 mU/ml) und Plasmin (3.2 nmol/l) werden diese Enzyme in Tris-Puffer (100 mmol/l, 20 mmol/l Calciumdichlorid, pH = 8.0) gelöst und für 10 Minuten mit Prüfsubstanz oder Lösungsmittel inkubiert. Anschließend wird durch Zugabe der entsprechenden spezifischen chromogenen Substrate (Chromozym Trypsin® und Chromozym Plasmin®; Fa. Roche Diagnostics) die enzymatische Reaktion gestartet und die Extinktion nach 20 Minuten bei 405 nm bestimmt. Alle Bestimmungen werden bei 37°C durchgeführt. Die Extinktionen der Testansätze mit Prüfsubstanz werden mit den Kontrollproben ohne Prüfsubstanz verglichen und daraus die IC₅₀-Werte berechnet.

a.2.2) Fluorogener Assay

Zum Nachweis der Selektivität der Substanzen bezüglich Faktor Xa-Hemmung werden die Prüfsubstanzen auf ihre Hemmung anderer humaner Serinproteasen wie Trypsin und Plasmin hin untersucht. Zur Bestimmung der enzymatischen Aktivität von Trypsin (83 mU/ml von Sigma) und Plasmin (0.1 µg/ml von Kordia) werden diese Enzyme gelöst (50 mmol/l Tris-Puffer [C,C,C-Tris(hydroxymethyl)-aminomethan], 100 mmol/l Natriumchlorid, 0.1% BSA [bovines Serumalbumin], 5 mmol/l Calciumchlorid, pH 7.4) und für 15 min mit Prüfsubstanz in verschiedenen Konzentrationen in Dimethylsulfoxid sowie mit Dimethylsulfoxid ohne

Prüfsubstanz inkubiert. Anschließend wird die enzymatische Reaktion durch Zugabe der entsprechenden Substrate gestartet (5 µmol/l Boc-Ile-Glu-Gly-Arg-AMC von Bachem für Trypsin und 50 µmol/l MeOSuc-Ala-Phe-Lys-AMC von Bachem für Plasmin). Nach einer Inkubationszeit von 30 min bei 22°C wird die Fluoreszenz gemessen (Anregung: 360 nm, Emission: 460 nm). Die gemessenen Emissionen der Testansätze mit Prüfsubstanz werden mit den Kontrollansätzen ohne Prüfsubstanz (ausschließlich Dimethylsulfoxid anstatt Prüfsubstanz in Dimethylsulfoxid) verglichen und aus den Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen IC₅₀-Werte berechnet.

a.3) Bestimmung der antikoagulatorischen Wirkung

a.3.1) Prothrombinzeit (PT)

Die antikoagulatorische Wirkung der Prüfsubstanzen wird in vitro in Human- und Kaninchenplasma bestimmt. Dazu wird Blut unter Verwendung einer 0.11 molaren Natriumcitrat-Lösung als Vorlage in einem Mischungsverhältnis Natriumcitrat/Blut 1/9 abgenommen. Das Blut wird unmittelbar nach der Abnahme gut gemischt und 10 Minuten bei ca. 2500 g zentrifugiert. Der Überstand wird abpipettiert. Die Prothrombinzeit (PT, Synonyme: Thromboplastinzeit, Quick-Test) wird in Gegenwart variierender Konzentrationen an Prüfsubstanz oder dem entsprechenden Lösungsmittel mit einem handelsüblichen Testkit (Neoplastin® von der Firma Boehringer Mannheim oder Hemoliance® RecombiPlastin, Fa. von der Firma Instrumentation Laboratory) bestimmt. Die Testverbindungen werden 3 Minuten bei 37°C mit dem Plasma inkubiert. Anschließend wird durch Zugabe von Thromboplastin die Gerinnung ausgelöst und der Zeitpunkt des Gerinnungseintritts bestimmt. Es wird die Konzentration an Prüfsubstanz ermittelt, die eine Verdoppelung der Prothrombinzeit bewirkt.

a.3.2) aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT)

Die antikoagulatorische Wirkung der Prüfsubstanzen wird in vitro in Human-, Kaninchen- und Rattenplasma bestimmt. Dazu wird Blut unter Verwendung einer 0.11 molaren Natriumcitrat-Lösung als Vorlage in einem Mischungsverhältnis Natriumcitrat/Blut 1/9 abgenommen. Das Blut wird unmittelbar nach der Abnahme gut gemischt und 15 Minuten bei ca. 4000 g zentrifugiert. Der Überstand wird abpipettiert. Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT) wird in Gegenwart variierender Konzentrationen an Prüfsubstanz oder dem entsprechenden Lösungsmittel mit einem handelsüblichen Testkit (PTT Reagent von der Firma Roche) bestimmt. Die Testverbindungen werden 3 Minuten bei 37°C mit dem Plasma und dem PTT Reagenz (Cephalin, Kaolin) inkubiert. Anschließend wird durch Zugabe von 25 mM Calciumchlorid die Gerinnung ausgelöst und der Zeitpunkt des Gerinnungseintritts bestimmt. Es wird die Konzentration an Prüfsubstanz ermittelt, die eine Verdoppelung der APTT bewirkt.

a.3.3) Thrombin Generation Assay (Thrombogram)

Im Thrombin Generation Assay nach Hemker wird die Aktivität von Thrombin in gerinnendem Plasma durch die Messung der fluoreszenten Spaltprodukte des Substrats I-1140 (Z-Gly-Gly-Arg-AMC, Bachem) bestimmt. Die Reaktionen werden in 20 mM Hepes, 60 mg/ml BSA, 102 mM Calciumdichlorid, pH 7.5 bei 37°C durchgeführt. Die Reaktionen erfolgen in Immulon 2HB clear U-bottom 96-well plates (Thermo Electron) in einem Gesamtvolumen von 100µl. Um die Reaktionen in Plättchen armem Plasma (PPP) oder Plättchen reichem Plasma (PRP) zu starten werden Reagenzien der Firma Thrombinscope verwendet (PPP Reagenz: 30 pM recombinant tissue factor, 24 µM phospholipids in HEPES; PRP-Reagenz: 3 pM recombinant tissue factor).

Außerdem wird ein Calibrator benötigt, dessen amidolytische Aktivität zur Berechnung der Thrombinaktivität in einer Probe mit unbekannter Menge an Thrombin benötigt wird. Außerdem ermöglicht der Calibrator die Korrektur der Daten bezüglich der Spendervariabilität (unterschiedliche Färbung des Plasmas), der Variabilität durch das Meßgerät, des „inner filter effect“ und des Substratverbrauchs. Die Messung wird mit einem Fluorometer (Fluoroskan Ascent) der Firma Thermo Electron durchgeführt, der mit einem 390/460 nm Filterpaar und einem Dispenser ausgestattet ist. Testdurchführung: Lyophilisate lösen (PPP-Reagenz, PRP-Reagenz, Calibrator), MTP 5 min bei 37°C inkubieren, FluCa ansetzen (70 µl I-1140 + 2800 µl Fluo-Puffer (20 mM HEPES, 102 mM Calciumdichlorid, 60 mg/ml BSA, pH 7.5) pro Platte), Starten des Programms, Spülen des Dispensers und Befüllen des Systems mit FluoCa, Zugabe von 20µl FluoCa pro well und Messung der Thrombin Generierung, 120 min alle 20s (oder bei Tierplasma alle 10 s). Durch die Verwendung der „thrombinscope software“ wird das Thrombogramm berechnet und graphisch dargestellt. Die folgenden Parameter werden angegeben: lag time (Zeit bis zum Starten der Thrombin Generierung), ttPeak (time to peak, Zeit bis zum Erreichen des Maximums), Peak (maximale Thrombinkonzentration), ETP (endogenous thrombin potential, die Fläche unter der Kurve) and start tail (Zeitpunkt, an dem die Thrombinkonzentration auf 0 zurück geht).

a.4) Spezielle Diagnostik der Gerinnungsstörung und Organsfunktion bei endotoxämischen Mäusen und Ratten

a.4.1) Thrombin-Antithrombin-Komplexe

Thrombin-Antithrombin-Komplexe (nachfolgend als „TAT“ bezeichnet) sind ein Maß für das durch Gerinnungsaktivierung endogen gebildete Thrombin. TAT werden mittels eines ELISA-Assays bestimmt (Enzygnost TAT micro, Dade-Behring). Aus Zitratblut wird durch Zentrifugation Plasma gewonnen. Zu 50 µl Plasma wird 50 µl TAT-Probenpuffer gegeben, kurz geschüttelt und

- 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die Proben werden abgesaugt, und das Well 3-malig mit Waschpuffer gewaschen (300 µl/Well). Die Platte wird zwischen den Waschgängen abgeklopft. Es wird Konjugatlösung (100 µl) hinzugegeben und 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die Proben werden abgesaugt, und das Well dreimal mit Waschpuffer gewaschen (300 µl/Well).
- 5 Anschließend wird chromogenes Substrat hinzugegeben (100 µl/Well), 30 min im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert, Stopplösung hinzugegeben (100 µl/ Well), und die Farbbildung bei 492 nm gemessen (Saphire Plate reader).

a.4.2) Parameter für Organfunktion

- Es werden verschiedene Parameter bestimmt, aufgrund derer Rückschlüsse auf die Funktionseinschränkung verschiedener innerer Organe durch die LPS-Gabe gezogen werden können, und der therapeutische Effekt von Prüfsubstanzen abgeschätzt werden kann. Zitratblut oder ggf. Lithium-Heparin-Blut wird zentrifugiert, und die Parameter aus dem Plasma bestimmt. Folgende Parameter werden typischerweise erhoben: Kreatinin, Harnstoff, Aspartat-Aminotransferase (AST), Alanin-Aminotransferase (ALT), Gesamt-Bilirubin,
- 10 Laktatdehydrogenase (LDH), Gesamt-Protein, Gesamt-Albumin und Fibrinogen. Die Werte geben Aufschluss auf die Funktion der Niere, der Leber, des Kreislaufes und der Gefäße.
- 15

a.4.3) Parameter für Entzündung

- Das Ausmaß der durch Endotoxin ausgelösten Entzündungsreaktion lässt sich aus dem Anstieg von Entzündungsmediatoren im Plasma nachweisen, z.B. Interleukine (1, 6, 8 und 10), Tumornekrosefaktor alpha oder Monocyte Chemoattractant Protein-1. Hierzu können ELISAs oder
- 20 das Luminex-System verwendet werden.

b) Bestimmung der antithrombotischen Wirkung (in vivo)

b) Arteriovenöses Shunt-Modell (Ratte)

- Nüchterne männliche Ratten (Stamm: HSD CPB:WU) mit einem Gewicht von 200-250 g werden mit einer Rompun/Ketavet Lösung narkotisiert (12 mg/kg/50 mg/kg). Die Thrombusbildung wird in einem arteriovenösen Shunt in Anlehnung an die von Christopher N. Berry et al., Br. J. Pharmacol. (1994), 113, 1209-1214 beschriebene Methode ausgelöst. Dazu werden die linke Vena jugularis und die rechte Arteria carotis freipräpariert. Zur Erstellung des extracorporalen Shunts wird jeweils ein 10 cm langer Polyethylenschlauch (PE 60) in die beiden freipräparierten Gefäße
- 25 eingebunden. Der Shunt wird in der Mitte über einen 3 cm langen Polyethylenschlauch (PE 160), der zur Erzeugung einer thrombogenen Oberfläche einen aufgerauhten und zu einer Schlinge
- 30

gelegten Nylonfaden enthält, geschlossen. Der extrakorporale Kreislauf wird 15 Minuten lang aufrechterhalten. Dann wird der Shunt entfernt und der Nylonfaden mit dem Thrombus sofort gewogen. Das Leergewicht des Nylonfadens war vor Versuchsbeginn ermittelt worden. Die Prüfsubstanzen werden vor Anlegung des extrakorporalen Kreislaufs entweder intravenös über die Schwanzvene oder oral mittels Schlundsonde wachen Tieren verabreicht.

c) Bestimmung der Wirkung bei Endotoxinämie (in vivo)

Die Untersuchung wird an Ratten oder Mäusen durchgeführt. Im Modell an Mäusen (NMRI, männlich) wird LPS (*Escherichia coli* Serotyp 055:B5, Sigma-Aldrich) 50 mg/kg intraperitoneal injiziert. Die Prüfsubstanzen werden bis zu einer Stunde vor LPS-Injektion entweder intravenös über die Schwanzvene, subkutan, intraperitoneal oder oral mittels Schlundsonde verabreicht. Vier Stunden nach LPS-Applikation wird das Tier narkotisiert (Ketavet/Rompun) und das Abdomen operativ eröffnet. Natrium-Zitratlösung (3.2% w/v) (Formel: Körpergewicht in g / 13 mal 100 µl) wird in die untere Hohlvene injiziert, und nach 30 Sek. Blut entnommen (ca. 1 ml). Aus dem Blut werden verschiedene Parameter bestimmt, z.B. die zellulären Blutbestandteile (insbesondere Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten), der Laktatspiegel, die Gerinnungsaktivierung (TAT) oder Parameter der Organdysfunktion oder des Organversagens und Sterblichkeit.

d) Methodikbeschreibung zu DIC-Versuchen an der Ratte

Bei männlichen Wistar-Ratten wird LPS (*E. coli* O55 B5, Hersteller Sigma, gelöst in PBS) in einer Dosierung von 250 µg/kg intravenös in die Schwanzvene injiziert (Applikationsvolumen 2 ml/kg). Die Prüfsubstanz wird in PEG 400/Wasser 60%/40% gelöst und oral (Applikationsvolumen 5 ml/kg) 30 Minuten vor LPS-Injektion appliziert. 1, 5 oder 4 Stunden nach LPS-Injektion werden die Tiere in Terminalnarkose (Trapanal® 100 mg/kg i.p.) durch Herzpunktion entblutet und Citratplasma für die Bestimmung von Fibrinogen, PT, TAT und Plättchenzahl gewonnen. Optional wird Serum zur Bestimmung von Leberenzymen, Nierenfunktionsparametern und Cytokinen gewonnen. TNFα und IL-6 werden mit kommerziell erhältlichen ELISAs (R&D Systems) bestimmt.

Es können auch direkte Parameter der Organfunktion gemessen werden, z.B. links- und rechtsventrikuläre Drucke, arterielle Drucke, Urinausscheidung, Nierendurchblutung und Blutgase und Säure-/Basenstatus.

Der Effekt von LPS auf die Koagulation wird deutlich in einer Zunahme von TAT, die bereits nach 1.5 Stunden stark erhöht ist, und in einer Depletion von Fibrinogen und Plättchen um 25-30% nach 4 Stunden. Diese Wirkung von LPS wird durch die erfindungsgemäßen Verbindungen vermindert.

Tabelle 1 zeigt die Werte für einen Gerinnungsparameter mit kurzer Halbwertszeit (TAT) nach 1.5 Stunden und Tabelle 2 für einen Gerinnungsparameter mit langer Halbwertszeit (Fibrinogen) nach 4 Stunden.

Tabelle 1 (Fig. 1):

	TAT [$\mu\text{g/l}$]
Kontrolle (kein LPS)	0.50
Kontrolle (mit LPS)	17.30
Beispiel 1 [1 mg/kg/d]	6.90
Beispiel 1 [10 mg/kg/d]	6.40

5

Tabelle 2 (Fig. 2):

	Fibrinogen [g/l]
Kontrolle (kein LPS)	2.69
Kontrolle (mit LPS)	2.12
Beispiel 1 [0.1 mg/kg/d]	2.19
Beispiel 1 [1 mg/kg/d]	2.41
Beispiel 1 [3 mg/kg/d]	2.49
Beispiel 1 [10 mg/kg/d]	2.58

C. Ausführungsbeispiele für pharmazeutische Zusammensetzungen

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können folgendermaßen in pharmazeutische Zubereitungen überführt werden:

Tablette:5 **Zusammensetzung:**

100 mg der erfindungsgemäßen Verbindung, 50 mg Lactose (Monohydrat), 50 mg Maisstärke (nativ), 10 mg Polyvinylpyrrolidon (PVP 25) (Fa. BASF, Ludwigshafen, Deutschland) und 2 mg Magnesiumstearat.

Tablettengewicht 212 mg. Durchmesser 8 mm, Wölbungsradius 12 mm.

10 **Herstellung:**

Die Mischung aus erfindungsgemäßer Verbindung, Lactose und Stärke wird mit einer 5%-igen Lösung (m/m) des PVPs in Wasser granuliert. Das Granulat wird nach dem Trocknen mit dem Magnesiumstearat 5 Minuten gemischt. Diese Mischung wird mit einer üblichen Tablettenpresse verpresst (Format der Tablette siehe oben). Als Richtwert für die Verpressung wird eine Presskraft
15 von 15 kN verwendet.

Oral applizierbare Suspension:**Zusammensetzung:**

1000 mg der erfindungsgemäßen Verbindung, 1000 mg Ethanol (96%), 400 mg Rhodigel® (Xanthan gum der Firma FMC, Pennsylvania, USA) und 99 g Wasser.

20 Einer Einzeldosis von 100 mg der erfindungsgemäßen Verbindung entsprechen 10 ml orale Suspension.

Herstellung:

Das Rhodigel wird in Ethanol suspendiert, die erfindungsgemäße Verbindung wird der Suspension zugefügt. Unter Rühren erfolgt die Zugabe des Wassers. Bis zum Abschluß der Quellung des
25 Rhodigels wird ca. 6 h gerührt.

Oral applizierbare Lösung:**Zusammensetzung:**

500 mg der erfindungsgemäßen Verbindung, 2.5 g Polysorbat und 97 g Polyethylenglycol 400. Einer Einzeldosis von 100 mg der erfindungsgemäßen Verbindung entsprechen 20 g orale Lösung.

5 Herstellung:

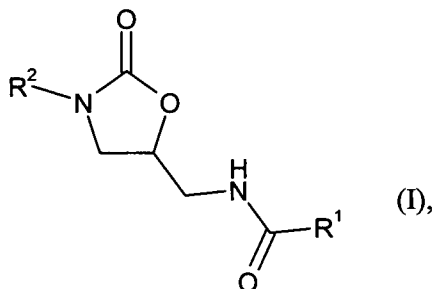
Die erfindungsgemäße Verbindung wird in der Mischung aus Polyethylenglycol und Polysorbat unter Rühren suspendiert. Der Rührvorgang wird bis zur vollständigen Auflösung der erfindungsgemäßen Verbindung fortgesetzt.

i.v.-Lösung:

- 10 Die erfindungsgemäße Verbindung wird in einer Konzentration unterhalb der Sättigungslöslichkeit in einem physiologisch verträglichen Lösungsmittel (z.B. isotonische Kochsalzlösung, Glucose-lösung 5% und/oder PEG 400-Lösung 30%) gelöst. Die Lösung wird steril filtriert und in sterile und pyrogenfreie Injektionsbehältnisse abgefüllt.

Patentansprüche

1. Verwendung einer Verbindung der Formel



in welcher

- 5 R¹ für 2-Thiophen steht, das in der 5-Position substituiert ist durch einen Rest ausgewählt aus der Gruppe Chlor, Brom, Methyl und Trifluormethyl,

R² für D-A- steht,

wobei

der Rest „A“ für Phenylen steht,

- 10 wobei

die Gruppe „A“ in der meta-Position bezüglich der Verknüpfung zum Oxazolidinon gegebenenfalls ein- oder zweifach substituiert sein kann mit einem Rest ausgewählt aus der Gruppe von Fluor, Chlor, Nitro, Amino, Trifluormethyl, Methyl und Cyano,

- 15 und

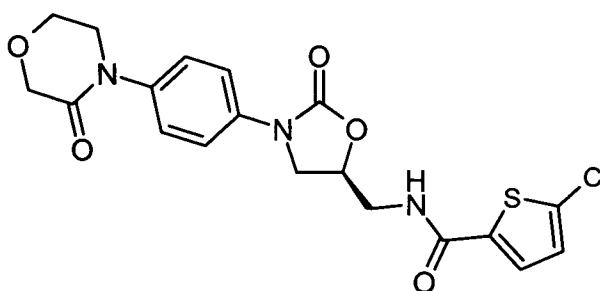
der Rest „D“ für einen gesättigten 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclen steht, der über ein Stickstoffatom mit „A“ verknüpft ist und der in direkter Nachbarschaft zum verknüpfenden Stickstoffatom eine Carbonylgruppe besitzt und in dem ein Ring-Kohlenstoffglied durch ein Heteroatom aus der Reihe S, N und O ersetzt sein kann,

- 20

oder eines ihrer Salze, Solvate und Solvate der Salze

zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS.

2. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung der Formel (I)
- 5 5-Chlor-*N*-({(5*S*)-2-oxo-3-[4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl]-1,3-oxazolidin-5-yl}-methyl)thiophen-2-carboxamid der Formel

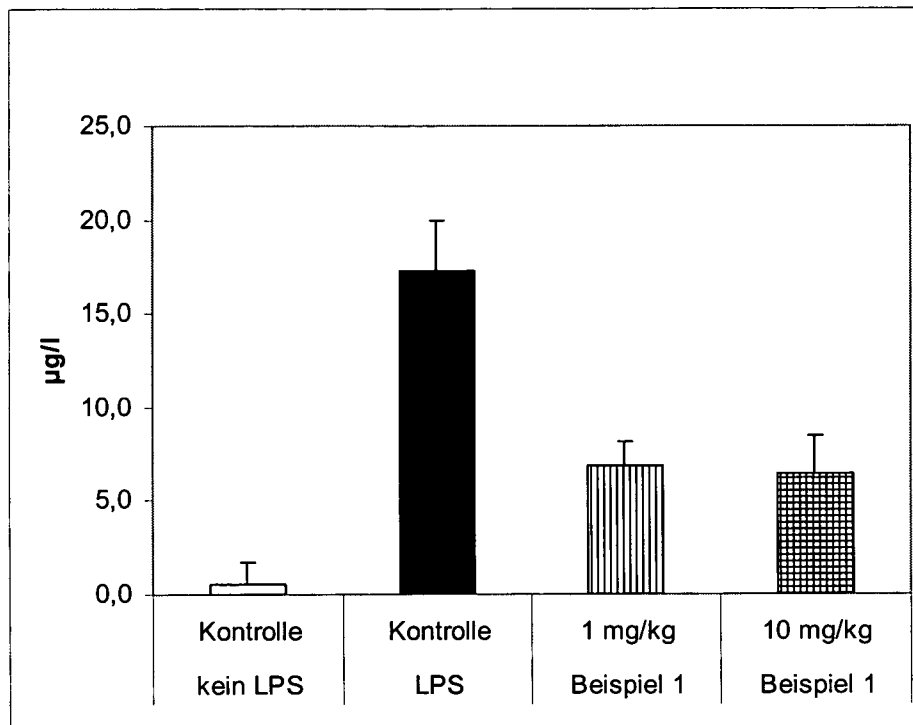


oder eines ihrer Salze, Solvate und Solvate der Salze ist.

3. Verwendung einer Verbindung der Formel (I), wie in Anspruch 1 oder 2 definiert, oder eines ihrer Salze, Solvate und Solvate der Salze zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, des septischen Schocks und/oder des septischen Organversagens.
- 10
4. Verfahren zur Bekämpfung von Sepsis, der disseminierten intravaskulären Gerinnung, des septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS in Menschen und Tieren durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer Verbindung, wie in Anspruch 1 oder 2 definiert, oder eines Arzneimittels, enthaltend mindestens eine Verbindung, wie in Anspruch 1 oder 2 definiert, in Kombination mit einem inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoff.
- 15
5. Verfahren zur Bekämpfung von Sepsis, des septischen Schocks und/oder des septischen Organversagens in Menschen und Tieren durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer Verbindung, wie in Anspruch 1 oder 2 definiert, oder eines Arzneimittels, enthaltend mindestens eine Verbindung, wie in Anspruch 1 oder 2 definiert, in Kombination mit einem inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoff.
- 20
6. Verbindung der Formel (I), wie in einem der Ansprüche 1 oder 2 definiert, zur Verwendung in einem Verfahren zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, der
- 25

disseminierten intravaskulären Gerinnung, des septischen Schocks, der septischen Organdysfunktion, des septischen Organversagens und/oder des ARDS.

7. Verbindung der Formel (I), wie in einem der Ansprüche 1 oder 2 definiert, zur Verwendung in einem Verfahren zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Sepsis, des septischen Schocks und/oder des septischen Organversagens.
- 5

Fig. 1Fig. 2