

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: **A 1214/2007**

(22) Anmeldetag: **02.08.2007**

(43) Veröffentlicht am: **15.02.2009**

(51) Int. Cl.⁸: **A61K 31/661** (2006.01),
A61P 33/02 (2006.01)

(73) Patentinhaber:

ORPHANIDIS PHARMA RESEARCH
A-1160 WIEN (AT)

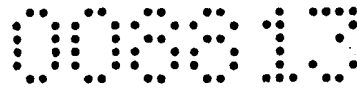
(72) Erfinder:

OBWALLER ANDREAS DR.
WIEN (AT)

(54) **VERWENDUNG VON MILTEFOSIN ZUR HERSTELLUNG EINES MEDIKAMENTS ZUR BEHANDLUNG DER CRYPTOSPORIDIOSE BEIM MENSCHEN**

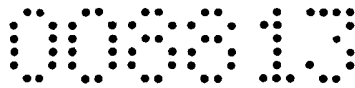
(57) Die Erfindung Cryptosporidien sind einzellige Parasiten, die schwere Durchfallserkrankungen bei Menschen und Tieren verursachen. In den im Rahmen dieser Erfindung durchgeführten Versuchen konnte erstmals gezeigt werden, dass Miltefosin eine hohe spezifische Toxizität gegen Cryptosporidium aufweist. Die vorliegende Erfindung beschreibt den Einsatz von Miltefosin als aktive Substanz eines Medikaments zur oralen Behandlung der Cryptosporidiose bei Menschen und Tieren.

AT 505 515 A1 2009-02-15



Zusammenfassung:

Die Erfindung Cryptosporidien sind einzellige Parasiten, die schwere Durchfallserkrankungen bei Menschen und Tieren verursachen. In den im Rahmen dieser Erfindung durchgeführten Versuchen konnte erstmals gezeigt werden, dass Miltefosin eine hohe spezifische Toxizität gegen Cryptosporidium aufweist. Die vorliegende Erfindung beschreibt den Einsatz von Miltefosin als aktive Substanz eines Medikamentes zur oralen Behandlung der Cryptosporidiose bei Menschen und Tieren.



Verwendung von Miltefosin zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung der Cryptosporidiose beim Menschen

Die Cryptosporidiose wird durch einzellige Parasiten der Gattung *Cryptosporidium* hervorgerufen und kommt weltweit vor. Die human- und veterinärmedizinisch wichtigsten Spezies sind *C. hominis* und *C. parvum*. Die Infektion erfolgt fäkal-oral über Wasser (Trinkwasser, Wasser aus Fließgewässern, die Oberflächenwasser enthalten, Swimming-Pools), als Schmierinfektion von Mensch zu Mensch, insbesondere bei Kleinkindern; seltener auch von Tier zu Mensch oder durch Aufnahme der Oozysten über kontaminierte Lebensmittel [1]. So kommt es immer wieder zu durch kontaminiertes Trinkwasser ausgelösten Ausbrüchen einer Cryptosporidiose [2]. In Milwaukee, Wisconsin kam es 1993 zu der bisher größten Epidemie einer durch kontaminiertes Trinkwasser ausgelösten Cryptosporidiose, von der 403.000 Menschen betroffen waren [3].

Die am häufigsten mit einer Cryptosporidiose in Verbindung stehenden klinischen Anzeichen sind schwere Durchfälle, die zu Gewichtsverlust und Dehydrierung führen können. Andere klinische Symptome sind Abdominalkrämpfe, Fieber, Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen, Müdigkeit, Myalgie und Appetitlosigkeit. Die Cryptosporidiose manifestiert sich hauptsächlich im Dünndarm, Infektionen der Lunge, des Ösophagus, Magen und in anderen Organen wurden ebenfalls beschrieben. Die Cryptosporidiose ist bei immunkompetenten Personen zwar in den meisten Fällen selbstheilend (Dauer der Symptome etwa 14 Tage), bei AIDS-Patienten treten allerdings schwere, selten therapierbare und oft sogar lebensbedrohende Durchfallserkrankungen auf.

Cryptosporidien haben als Durchfallerreger auch bei jungen Kälbern eine große pathologische und damit wirtschaftliche Bedeutung. Der Verlauf ist häufig letal.

Der Bedarf einer neuen, effektiveren Therapie ist daher sowohl zur Behandlung der Cryptosporidiose des Menschen wie bei Rindern gegeben.

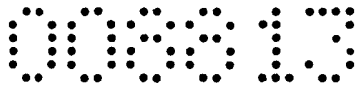
Die Cryptosporidiose ist zwar in vielen Ländern eine meldepflichtige Krankheit; 2004 wurden in den USA z.B. rund 3.500 [4], in UK 5.300 (2005) und in Deutschland (2003) 756 Krankheitsfälle gemeldet.

Bei immunsupprimierten Patienten wird davon ausgegangen, dass die Krankheit bei etwa 0,02% bis 0,9% der HIV-positiven Patienten auftritt [5] was eine Inzidenz von etwa 1200 (2400) Neuinfektionen in Europa (USA) pro Jahr bedeuten würde. Die Inzidenzen in Schwellenländern wie Brasilien oder Indien [6], sowie in Ländern der Dritten Welt liegen bei weitem höher [7]. Weltweit kann mit etwa 40.000 -80.000 Erkrankungen pro Jahr gerechnet werden.

Bisher konnte keine effektive, spezifische Therapie gefunden werden, die zur vollständigen Eliminierung von *C. parvum* führt. Einzig ein intaktes Immunsystem kann zur Bewältigung einer Cryptosporidiose beitragen. Da die Erkrankung bei immunkompetenten Individuen selbstlimitierend ist, reicht in schweren Verläufen eine unterstützende, symptomatische Behandlung durch Rehydratation und Elektrolytgabe.

Bei der Entwicklung eines Medikamentes zur Behandlung einer Cryptosporidiose wurden weit über hundert Chemotherapeutika getestet, Nur für eine geringe Anzahl konnte ein Effekt in Tiermodellen und in klinischen Studien am Menschen demonstriert werden [8]. Die meisten dieser Substanzen führten aber nicht zur vollständigen Eliminierung des Parasiten, sondern nur zur Reduktion der Parasitenausscheidung und der klinischen Symptome. Nitazoxanid besitzt ein breites Wirkspektrum gegen eine Vielzahl intestinaler Protozoen, Helminthen und anaerober Bakterien. *In vitro* inhibiert es die intrazelluläre Entwicklung von *C. parvum* und auch im Tiermodell zeigt es eine Effektivität. In klinischen Studien am Menschen konnte eine Reduktion der Oozystenausscheidung und ein Rückgang der Diarrhöe erreicht werden [9].

Nitazoxanid erhielt 2002 als erstes Medikament (Alinia®) eine Zulassung gegen Cryptosporidiose beim Menschen durch die FDA in den USA. Seit kurzem ist es nicht mehr nur für die Therapie bei Kindern im Alter von 1 bis 11 Jahren, sondern auch bei Erwachsenen zugelassen. In einer Studie an afrikanischen Kindern mit Cryptosporidiose



zeigte sich ein Effekt allerdings nur bei HIV-negativen, nicht jedoch bei HIV-infizierten Kindern [10]. Eine andere Substanz, Paramomycin, zeigte unterschiedliche Resultate [11-13]. Zum Teil werden eine günstige Auswirkung und eine Eliminierung des Parasiten beschrieben, wohingegen andere die Wirkung gegen Cryptosporidien in Frage stellen.

Die Substanz Monensin wirkt in-vitro zwar hervorragend, in Tiermodellen konnte allerdings kein positiver Effekt festgestellt werden und wirkt außerdem sehr toxisch [14].

Zur Behandlung von Kälbern ist in Europa das Mittel Halocur® (Halofuginon, Intervet) zugelassen. Halocur® hat eine cryptosporidiostatische Wirkung und wirkt vor allem auf die freien Stadien des Parasiten (Sporozoiten, Merozoiten) im Darmlumen. Halocur kann aber weder eine Infektion mit Cryptosporidien ganz verhindern, noch eine bestehende Cryptosporidien-Enteritis heilen.

Die Wirkung von Miltefosin (Hexadecylphosphocholin) gegen *Acanthamoeba* spp. Und *Leishmania* wurde bereits beschrieben [15, 16] und wird zur Behandlung der Leishmaniose eingesetzt.

Im Unterschied zu Cryptosporidose, das durch einzellige Parasiten hervorgerufen wird, wird die Leishmaniose durch Flagellaten der Gattung *Leishmania* hervorgerufen und durch verschiedene blutsaugende Insekten übertragen. Bei den Leishmaniosen unterscheidet man zwischen cutanen Formen ("Orientbeule") und viszerale Formen ("Kala Azar"). Bei der Orientbeule siedeln sich die Leishmanien bevorzugt in Makrophagen unter und im Hautgewebe an. Diese verläuft meist nicht tödlich. Wenn sie jedoch in innere Organe (Milz, Leber, Darm, Lymphknoten und Knochenmark) eindringen und dort Makrophagen befallen kann es zu Splenohepatomegalie-Symptomen (Krankhafte Vergrößerung von Milz und Leber) kommen, die unbehandelt in 90% der Fälle durch Störungen der Blutgerinnung und zusätzliche Sekundärinfektionen tödlich verlaufen.

Eine effiziente Behandlung von Cryptosporidose war Menschen oder auch bei Tieren trotz intensiver Forschungen bisher nur sehr eingeschränkt bzw. nicht möglich. Die Aufgabe der Erfindung besteht daher darin, eine neue Therapiemöglichkeit von Cryptosporidose zur Verfügung zu stellen.

Die Erfinder konnten überraschenderweise zeigen, dass Miltefosin auch eine ausgezeichnete Wirkung gegen Spezies der Gattung *Cryptosporidium* aufweist. Dieses Erkenntnis ermöglicht die Entwicklung einer neuen wirksameren Therapie der Cryptosporidose bei Wirbeltieren, insbesondere beim Menschen und bei Rindern.

Die Erfindung beschreibt die Verwendung von Miltefosin zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von intrazellulären Parasiten, insbesondere der Cryptosporidose bei Wirbeltieren, insbesondere Säugetieren. Miltefosin kann beispielsweise für die Behandlung von Cryptosporidose-Erkrankungen beim Menschen angewendet werden.

Alternativ wird aber auch die Verwendung von Miltefosin zur Herstellung eines Medikaments zur Prophylaxe oder Behandlung der Cryptosporidose bei Wirbeltieren beansprucht, insbesondere bei Rindern, insbesondere bei Jungtieren. Eine präventive Behandlung kann beispielsweise durch regelmäßige Gabe von Miltefosin, bevorzugt in einem Intervall von 2-6 Wochen ermöglicht werden.

Bevorzugt ist Miltefosin in einer Dosierungseinheit 5 bis 2000 mg, insbesondere 10— 500 mg in der medizinischen Präparation enthalten. Alternativ dazu kann die Dosierungseinheit auch 50 – 250 mg, insbesondere 50 – 150 mg betragen.

Miltefosin kann für die Behandlung sowohl in fester, beispielsweise als Tablette oder Kapsel, als auch in flüssiger Form für die Behandlung von Cryptosporidose verabreicht werden, bevorzugt als Trinklösung mit einer Tagesdosis zwischen 0,1 und 10 mg/kg (bevorzugt 0,5 und 2 mg). Bevorzugt sollte in einem möglichst frühen Erkrankungsstadium therapiert werden.

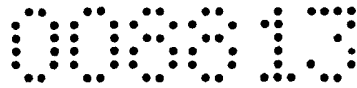
Die nachfolgenden Beispiele dienen dazu, die Erfindung weiter zu charakterisieren, sollen aber die Erfindung in keinster Weise einschränken.

Beispiele:**Beispiel:**

HTC-8 Zellen werden mit *C. parvum* infiziert und mit bestimmten Konzentrationen von Miltefosin und Monensin als Positivkontrolle über 48 h inkubiert. Die toxische Wirkung gegen die Wirtszellen wurde in einer analogen Versuchsreihe ohne Infektion der Wirtszellen mit *C. parvum* optisch beurteilt. Danach wurden die Zellen geerntet, die DNA isoliert und die vorhandene DNA von *Cryptosporidium* mittels quantitativer PCR ermittelt. Anhand einer Standarddeichkurve von *Cryptosporidium* DNA wurde die Wachstumshemmung vergleichend bestimmt. Dieser Test ergab eine signifikante Wachstumshemmung von *C. parvum* verglichen mit der unbehandelten Kontrollgruppe, bzw. eine vergleichbare Hemmung mit der Positivkontrolle Monensin.

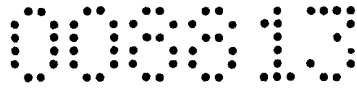
Beschreibung Abbildung 1

Verwendung von Miltefosin zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung der *Cryptosporidiose* beim Menschen



Referenzen:

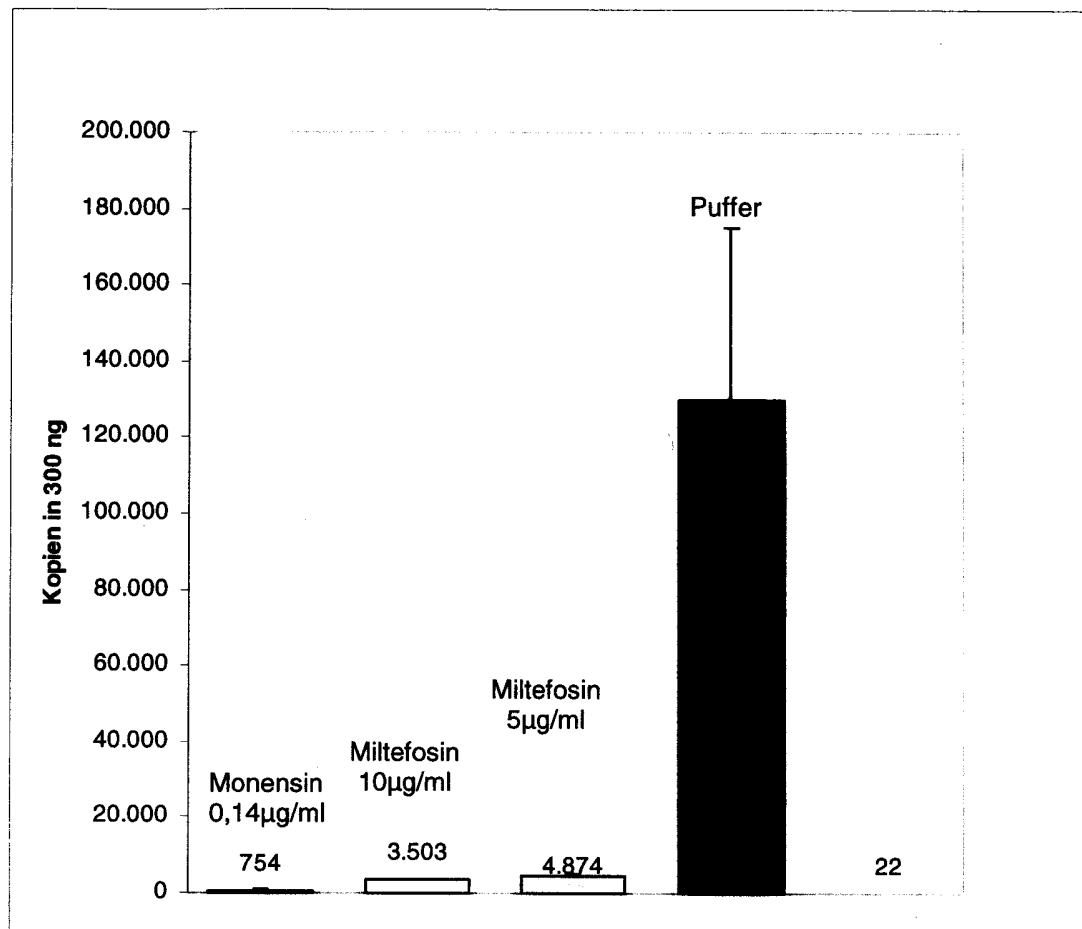
1. Hunter, P.R. and G. Nichols, *Epidemiology and clinical features of Cryptosporidium infection in immunocompromised patients*. Clin Microbiol Rev, 2002. **15**(1): p. 145-54.
2. Fayer, R., U. Morgan, and S.J. Upton, *Epidemiology of Cryptosporidium: transmission, detection and identification*. Int J Parasitol, 2000. **30**(12-13): p. 1305-22.
3. Eisenberg, J.N., et al., *An analysis of the Milwaukee cryptosporidiosis outbreak based on a dynamic model of the infection process*. Epidemiology, 1998. **9**(3): p. 255-63.
4. MMWR, *Summary of Notifiable diseases-United States, 2004*. Morbidity and Mortality Weekly Report, 2006. **53**(53): p. 1-84.
5. Cacciò, S.M. and E. Pozio, *Advances in the epidemiology, diagnosis and treatment of cryptosporidiosis*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2006. **4**(3): p. 429 - 43.
6. Dwivedi, K.K., et al., *Enteric Opportunistic Parasites among HIV Infected Individuals: Associated Risk Factors and Immune Status*. Jpn J Infect Dis, 2007. **60**(2-3): p. 76-81.
7. Gatei, W., et al., *Cryptosporidiosis: prevalence, genotype analysis, and symptoms associated with infections in children in Kenya*. Am J Trop Med Hyg, 2006. **75**(1): p. 78-82.
8. Thompson, R.C., et al., *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. Adv Parasitol, 2005. **59**: p. 77-158.
9. Rossignol, J.F., A. Ayoub, and M.S. Ayers, *Treatment of diarrhea caused by Cryptosporidium parvum: a prospective randomized, double-blind, placebo-controlled study of Nitazoxanide*. J Infect Dis, 2001. **184**(1): p. 103-6.
10. Amadi, B., et al., *Effect of nitazoxanide on morbidity and mortality in Zambian children with cryptosporidiosis: a randomised controlled trial*. Lancet, 2002. **360**(9343): p. 1375-80.
11. White, A.C., Jr., et al., *Paromomycin for cryptosporidiosis in AIDS: a prospective, double-blind trial*. J Infect Dis, 1994. **170**(2): p. 419-24.
12. Hewitt, R.G., et al., *Paromomycin: no more effective than placebo for treatment of cryptosporidiosis in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. AIDS Clinical Trial Group*. Clin Infect Dis, 2000. **31**(4): p. 1084-92.
13. White, A.C., Jr., S.G. Cron, and C.L. Chappell, *Paromomycin in cryptosporidiosis*. Clin Infect Dis, 2001. **32**(10): p. 1516-7.
14. Rehg, J.E., *Anticryptosporidial activity of lasalocid and other ionophorous antibiotics in immunosuppressed rats*. J Infect Dis, 1993. **168**(6): p. 1566-9.
15. Croft, S.L., K. Seifert, and M. Duchene, *Antiprotozoal activities of phospholipid analogues*. Mol Biochem Parasitol, 2003. **126**(2): p. 165-72.
16. Walochnik, J., et al., *Cytotoxic activities of alkylphosphocholines against clinical isolates of Acanthamoeba spp.* Antimicrob Agents Chemother, 2002. **46**(3): p. 695-701.
17. US05049552, 1991.
18. DE4235911A1, 1992.
19. DE4132344, 1993.



Patentansprüche:

1. Verwendung von Miltefosin zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung der Cryptosporidiose beim Menschen.
2. Verwendung von Miltefosin zur Herstellung eines Medikaments zur Prophylaxe oder Behandlung der Cryptosporidiose bei Wirbeltieren, insbesondere bei Rindern, insbesondere bei Jungtieren.
3. Verwendung nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass Miltefosin in einer Dosierungseinheit 5 bis 2000 mg, insbesondere 10— 500 mg enthalten ist.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 - 3, dadurch gekennzeichnet, dass Miltefosin in oraler Form als Tablette, Kapsel oder Trinklösung mit einer Tagesdosis zwischen 0,1 und 10 mg/kg formuliert wird.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass ein spezifischer Immunmodulator enthalten ist.

Abb. 1: Inhibition des Wachstums von *Cryptosporidium* in den Wirtszellen HTC8 nach Inkubation mit Miltefosin, Monensin und Kulturmedium.



009821

Ansprüche A 1214/2007

5. September 2008

1. Medikament enthaltend Miltefosin zur Behandlung der Cryptosporidiose.
2. Medikament gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Tablette, eine Kapsel oder eine Trinklösung ist.
3. Medikament gemäß den Ansprüchen 1-2, dadurch gekennzeichnet, dass Miltefosin in einer Menge von 5 bis 2000mg, insbesondere 10 bis 500mg enthalten ist.
4. Medikament gemäß den Ansprüchen 1-3, dadurch gekennzeichnet, dass es ferner einen spezifischen Immunmodulator enthält.
5. Verwendung von Miltefosin zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung der Cryptosporidiose.
6. Verwendung gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament in Form einer Tablette, einer Kapsel oder einer Trinklösung vorliegt.
7. Verwendung gemäß den Ansprüchen 5-6, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament Miltefosin in einer Menge von 5 bis 2000mg, insbesondere 10 bis 500mg enthält.
8. Verwendung gemäß den Ansprüchen 5-7, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament ferner einen spezifischen Immunmodulator enthält.

NACHGEREICHT

Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß IPC ⁸ : A61K 31/661 (2006.01); A61P 33/02 (2006.01)		
Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß ECLA: A61K31/661		
Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation):		
Konsultierte Online-Datenbank: TXTE, EPODOC		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den am 2. August 2007 eingereichten Ansprüchen 1-5 erstellt.		
Kategorie ⁹	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
X	WO 2007/071658 A2 (ZENTARIS GMBH) 28. Juni 2007 (28.06.2007) <i>Ansprüche 1,7,16,19,22</i> ----	1-4
Datum der Beendigung der Recherche: 2. April 2008		☐ Fortsetzung siehe Folgeblatt Prüfer(in): Dr. KRENN
⁹ Kategorien der angeführten Dokumente: X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung : der Anmeldungsgegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden. Y Veröffentlichung von Bedeutung : der Anmeldungsgegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist. A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert. P Dokument, das von Bedeutung ist (Kategorien X oder Y), jedoch nach dem Prioritätstag der Anmeldung veröffentlicht wurde. E Dokument, das von besonderer Bedeutung ist (Kategorie X), aus dem ein älteres Recht hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen). & Veröffentlichung, die Mitglied der selben Patentfamilie ist.		