



(12) **PATENT**

(19) **NO**

(11) **333968**

(13) **B1**

NORGE

(51) **Int Cl.**

A61K 31/397 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20041598	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2002.09.19 PCT/US2002/29756
(22)	Inng.dag	2004.04.20	(85)	Videreføringsdag	2004.04.20
(24)	Løpedag	2002.09.19	(30)	Prioritet	2001.09.21, US, 323937
(41)	Alm.tilgj	2004.06.17			
(45)	Meddelt	2013.11.04			
(73)	Innehaver	Merck Sharp & Dohme Corp, 126 East Lincoln Avenue, US-NJ07065 RAHWAY, USA			
(72)	Oppfinner	Harry R Davis, 64 River Bend Road, US-NJ07922 BERKELEY HEIGHTS, USA			
(74)	Fullmektig	Tandbergs Patentkontor AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge			

(54)	Benevnelse	Anvendelse av en kombinasjon av minst én sterolabsorpsjonsinhibitor, og minst én HMG-CoA-reduktaseinhibitor for fremstilling av et medikament for behandling eller profylakse av vaskulær betennelse hos et individ som har et blodnivå av c-reaktivt protein som er mer enn ca. 0,4 mg/dl.			
(56)	Anførte publikasjoner	H. R. Davis et al.: J. American College of Cardiology 2000, vol. 35, suppl. A, side 252A, sammendrag 1044-56 WO 9508532 A1 NO 20033355 A			
(57)	Sammendrag				

Den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer fremgangsmåter for behandling eller profylakse av vaskulær betennelse eller for å redusere blodnivåer av c-reaktivt protein ved å administrere minst én sterolabsorpsjonsinhibitor og/eller minst én 5-stanolabsorpsjonsinhibitor.

Oppfinnelsens område

Den foreliggende oppfinnelse vedrører anvendelse som definert i kravene for behandling eller profylakse av vaskulær betennelse hos et individ som har et blodnivå av c-reaktivt protein som er mer enn ca. 0,4 mg/dl, som omfatter å administrere til individet et preparat som omfatter en kombinasjon av (1) minst én sterolabsorpsjonsinhibitor og (2) minst én HMG-CoA-reduktaseinhibitor.

Oppfinnelsens bakgrunn

Vaskulær betennelse er en etiologisk hendelse som ofte kommer forut for utviklingen av og den vedvarende prosess ved aterosklerotisk, koronar hjertesykdom. Vaskulær betennelse som begynner med en skade eller endring i endotelveggen til arterien, kan forårsake en endring i det indre lag som øker blodplateadhesjon til endotelet.

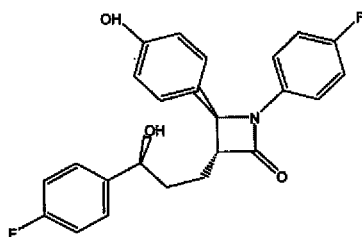
Vaskulære stimuli for pattedyr, slik som cellulær skade eller betennelse, kan føre til fremstillingen av forskjellige proteiner, vanligvis kalt akutte responsproteiner, i kroppen. Én bestemt type akutfase-protein er c-reaktivt protein (CRP). Fremstilt i leveren og avsatt i skadd vev, finnes CRP ved høye nivåer i inflammatoriske væsker og både i det indre lag av den aterosklerotiske arterie og i lesjonene med aterosklerotisk plakk.

Studier har vist en positiv forbindelse mellom CRP og koronararteriesykdom. I en oversikt over 388 britiske menn i alderen 50-69 år økte f.eks. forekomsten av koronararteriesykdom 1,5 ganger for hver fordobling av CRP-nivå (Mendall MA, Patel P, Ballam L et al., "C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factor: A population based cross sectional study", BMJ. 1996; 312:1061-1065). Flere prospektive studier har også vist at grunnlinje-CRP er en god markør for fremtidige kardiovaskulære hendelser (Riker P, Haughe P., Prospective studies of C-reactive protein as a risk factor for cardiovascular disease. J Investig Med. 1998; 46:391-395).

Det er således et behov innenfor teknikken for preparater og behandlinger for profylakse eller behandling av vaskulær betennelse. Dessuten er det et behov innenfor teknikken for å redusere eller behandle c-reaktivt protein i vaskulære systemer.

Oppsummering av oppfinnelsen

Én utførelsesform av den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer anvendelse av en kombinasjon av (1) minst én sterolabsorpsjonsinhibitor og (2) minst én HMG-CoA-reduktaseinhibitor for fremstilling av et medikament for behandling eller profylakse av vaskulær betennelse, eller for å redusere nivåer av c-reaktivt protein, som omfatter trinnet med å administrere blandingen til et individ som har et nivå av c-reaktivt protein som er mer enn ca. 0,4 mg/dl, hvor den minst én sterolabsorpsjons-inhibitor er valgt fra gruppen av forbindelser representert ved formel (II):



(II)

eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og hvor den minst ene HMG-CoA-reduktaseinhibitor er valgt fra gruppen bestående av lovastatin, pravastatin, fluvastatin, simvastatin, cerivastatin og blandinger derav.

5

Nærmere beskrivelse

Den foreliggende oppfinnelse er rettet mot anvendelse av en kombinasjon av (1) minst én sterolabsorpsjonsinhibitor og (2) minst én HMG-CoA-reduktaseinhibitor for fremstilling av et medikament for behandling eller profylakse av vaskulær betennelse ved å administrere til et individ som har et blodnivå av c-reaktivt protein som er mer enn ca. 0,4 mg/dl, en terapeutisk effektiv mengde av blandingen, hvor minst én (én eller flere) sterolabsorpsjonsinhibitor, slik som, substituerte azetidinon- eller substituerte β -laktamsterolabsorpsjonsinhibitor er omtalt nærmere nedenunder.

Kolesterylester er en hovedkomponent i aterosklerotiske lesjoner som kan resultere i vaskulær betennelse og i en økning i plasmanivåer av c-reaktivt protein. Kolesterylester er også en hovedkomponent i og hovedlagringsformen for kolesterol i arterieveggceller. Dannelse av kolesterylester er også et trinn i tarmabsorpsjonen av kostkolesterol. Inhibering av kolesterylesterdannelse og reduksjon av serumkolesterol kan således hemme progresjonen av aterosklerotisk lesjonsdannelse og derved behandle eller forhindre vaskulær betennelse.

Den foreliggende oppfinnelse er også rettet mot anvendelse som definert i kravene for profylakse eller behandling av vaskulær betennelse og/eller senking av plasmanivåer av c-reaktivt protein hos et individ som har et blodnivå av c-reaktivt protein som er mer enn ca. 0,4 mg/dl. Administreringen av sterolabsorpsjonsinhibitorpreparatene ifølge den foreliggende oppfinnelse forhindrer eller behandler vaskulær betennelse ved å hemme progresjonen av aterosklerotisk lesjonsdannelse. Med slik administrering reduseres også nivåene av c-reaktivt protein.

Pasienter med nivåer av c-reaktivt protein som er høyere enn ca. 0,4 mg/dl, er blitt rapportert å ha økt vaskulær betennelse og økt risiko for vaskulær sykdom sammenlignet med pasienter med nivåer som er lavere enn 0,4 mg/dl (L. Gruberb, "Inflammatory Markers in Acute Coronary Syndromes: C-reactive Protein (CRP) and Chlamydia", American Heart Assoc. Scientific Sessions 2000). Pasienter med nivåer som er høyere enn 3,4 mg/dl av c-reaktivt protein, ble rapportert å være i den øverste kvartil for risiko. Pasienter i den andre kvartil (0,4-1,0 mg/dl c-reaktivt protein) og den tredje kvartil (1,0-3,4 mg/dl c-reaktivt protein) har også forøkt risiko for vaskulær sykdom sammenlignet med pasienter i den nederste kvartil (<0,4 mg/dl c-reaktivt protein).

Analysen av c-reaktivt protein og metoder for disse er tilgjengelige fra Behring Diagnostics Inc., Somerville, NJ. Fremgangsmåter for analysing av c-reaktive proteiner er dessuten beskrevet i US patentskrifter nr. 5 358 852, 6 040 147 og 6 277 584. Én bestemt, anvendbar fremgangsmåte er beskrevet i en del av denne beskrivelsen vedrørende analytisk prosedyre.

Uttrykket "terapeutisk effektiv mengde" betyr den mengden av et terapeutisk middel av preparatet, slik som sterolabsorpsjonsinhibitoren(e) og andre farmakologiske eller terapeutiske midler som er beskrevet nedenunder, som vil utløse en biologisk eller medisinsk respons i et vev, system eller individ, som søkes av den som administrerer det (slik som en forsker, lege eller veterinær), og som omfatter lindring av symptomene på tilstanden eller sykdommen som behandles, og forhindringen, nedsettelsen eller stansen av progresjon av den vaskulære betennelsestilstand og/eller senking av nivået av plasma-c-reaktivt protein hos et individ.

Eksempler på egnede individer som kan behandles i henhold til fremgangsmåtene ifølge den foreliggende oppfinnelse, omfatter pattedyr, slik som mennesker eller hunder, og andre dyr.

Slik det er brukt her, betyr "vaskulær" relatert til blodkar, inkludert arterier og/eller vener, og omfatter kardiovaskulær, cerebrovaskulær, perifer vaskulær og kombinasjoner derav. Uttrykket "betennelse" henviser generelt til skade eller den kroppslige respons på en skade. Uttrykket "vaskulær betennelse" henviser mer spesielt til arteriell skade og kroppslig respons på denne som kan føre til aterosklerose eller koronar hjertesykdom. Aterosklerose indikeres ofte av en fortykning og oppbygning av plakk i arteriene og inntreffer vanligvis når det innerste laget av en arterie, endotelet, blir skadet av kolesterol, toksiner, oksidanter, infeksionse midler og lignende. De skadede endotelceller i arterievegger produserer adhesjonsmolekyler som lar hvite blodlegemer akkumulere i karveggen. Fettstoffer og kolesterol bygges også opp sammen med de hvite blodlegemene, noe som forårsaker betennelse i arterien. Slik oppbygning kan fortykkes til et punkt hvor arterien blir sårbar for blokkering fra en levring som resulterer i hjerteinfarkt eller slag.

Slik det her er brukt, betyr "kombinasjonsterapi" eller "terapeutisk kombinasjon" administreringen av to eller flere terapeutiske midler, slik som sterolabsorpsjonsinhibitor(er), og andre farmakologiske eller terapeutiske midler omtalt nedenunder, for å forhindre eller behandle vaskulær betennelse. Slik administrering omfatter samadministrering av disse terapeutiske midlene på en i det vesentlige simultane måte, slik som i en enkelttablett eller -kapsel med et bestemt forhold mellom aktive bestanddeler, eller i multippel-, separate kapsler for hvert terapeutisk middel. Slik administrering omfatter også bruk av hver type terapeutisk middel på en sekvensvis måte. I begge tilfeller vil behandlingen hvor det brukes kombinasjonsterapi gi gunstige effekter ved behandling av vaskulær betennelse. En potensiell fordel ved kombinasjonsterapien som er beskrevet her, kan være en reduksjon i den nødvendige mengde av en individuell terapeutisk forbindelse eller den totale mengde terapeutiske forbindelser som er effektive ved behandling av vaskulær betennelse. Ved å bruke en kombinasjon av terapeutiske midler kan

bivirkningene av de enkelte forbindelsene reduseres sammenlignet med en monoterapi, noe som kan forbedre pasientaksept. Terapeutiske midler kan også velges for å tilveiebringe et bredere spekter av komplementære effekter eller komplementære virkningsmåter.

Som omtalt ovenfor, omfatter preparatene, de farmasøytiske preparatene og de terapeutiske kombinasjonene ifølge den foreliggende oppfinnelse én eller flere sterolabsorpsjonsinhibitorer, slik som det er omtalt nærmere nedenunder. Slik det her er brukt, betyr "sterolabsorpsjonsinhibitor" en forbindelse som er i stand til å inhibere absorpsjonen av én eller flere steroler, inkludert kolesterol og fytosteroler (slik som sitosterol, campesterol, stigmasterol og avenosterol), og blandinger derav, når de administreres i en terapeutisk effektiv (sterolabsorpsjonsinhiberende) mengde til et pattedyr eller menneske.

Disse sterolabsorpsjonsinhibitorer kan være anvendbare ved behandling eller profylakse av vaskulær betennelse. Dessuten kan disse sterolabsorpsjonsinhibitorene være anvendbare til senking eller regulering av nivåer av c-reaktivt protein i blod hos et individ til mindre enn ca. 3,4 mg/dl. Nivåene av det c-reaktive protein i blod hos et individ reduseres fortrinnsvis eller kontrolleres til mindre enn 1,0 mg/dl ved hjelp av fremgangsmåten ifølge den foreliggende oppfinnelse. Nærmere bestemt reduseres eller kontrolleres nivåene av c-reaktivt protein i blod hos et individ til mindre enn 0,4 mg/dl ved hjelp av fremgangsmåtene ifølge den foreliggende oppfinnelse.

Slik det her er brukt, betyr uttrykket "alkyl" eller "lavere alkyl" rettkjedede eller forgrenede alkylkjeder med 1-6 karbonatomer, og "alkoksy" betyr alkoksygrupper med 1-6 karbonatomer. Eksempler på lavere alkylgrupper omfatter f.eks. metyl-, etyl-, propyl- og butylgrupper.

"Alkenyl" betyr rettkjedede eller forgrenede karbonkjeder med én eller flere dobbeltbindinger i kjeden, konjugert eller ukonjugert. Likeledes betyr "alkynyl" rettkjedede eller forgrenede karbonkjeder som har én eller flere trippelbindinger i kjeden. Når en alkyl-, alkenyl- eller alkynylkjede knytter sammen to andre variable symboler og derfor er toverdig, brukes uttrykkene alkylen, alkenylen og alkynylen.

"Sykloalkyl" betyr en mettet karbonring med 3-6 karbonatomer, mens "sykloalkylen" henviser til en tilsvarende toverdig ring, hvor bindingspunktene til andre grupper omfatter alle stillingsisomerene.

"Halogeno" henviser til fluor-, klor-, brom- eller jodradikaler.

"Aryl" betyr fenyl, naftyl, indenyl, tetrahydronaftyl eller indanyl.

"Fenylene" betyr en toverdig fenylgruppe, inkludert orto-, meta- og parasubstitusjon.

Angivelsene hvor f.eks. R , R^1 , R^2 og R^3 angis å være uavhengig av hverandre valgt fra en gruppe av substituent, betyr at R , R^1 , R^2 og R^3 er valgt uavhengig av hverandre, men også at når et variabelt R -, R^1 -, R^2 - og R^3 -symbol opptrer mer enn én gang i et molekyl, kan hver forekomst være uavhengig valgt (f.eks. dersom R er $-OR^6$, hvor R^6 er hydrogen, kan R^2 være $-OR^6$ hvor R^6 er lavere alkyl). Fagfolk innen teknikken vil forstå at størrelsen på og typen av substituenten(e) vil påvirke antallet substituent som kan være til stede.

Forbindelser ifølge beskrivelsen har minst ett asymmetrisk karbonatom, og alle isomerer, inkludert enantiomerer, stereoisomerer, rotamerer, tautomerer og racemater av forbindelsene med formelen II er derfor ment å være en del av denne oppfinnelsen. Oppfinnelsen omfatter d- og l-isomerer både i ren form og i blanding, inkludert racemiske blandinger. Isomerer kan fremstilles ved å anvende vanlige teknikker, enten ved å omsette optisk rene eller optisk anrikede utgangsmaterialer, eller ved å separere isomerer av en forbindelse med formlene II. Isomerer kan også omfatte geometriske isomerer, f.eks. når en dobbeltbinding er til stede.

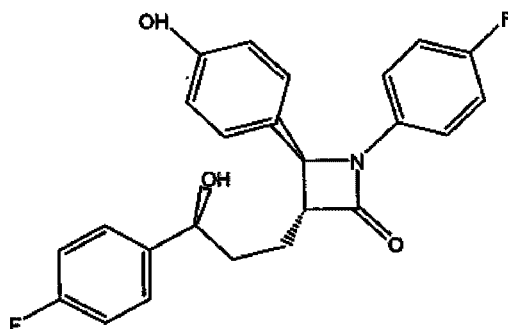
Fagfolk innen teknikken vil forstå at for noen av forbindelsene ifølge formlene II vil én isomer oppvise større farmakologisk aktivitet enn andre isomerer.

Forbindelser ifølge beskrivelsen med en aminogruppe kan danne farmasøytisk akseptable salter med organiske og uorganiske syrer. Eksempler på egnede syrer for saltdannelse er saltsyre, svovelsyre, fosforsyre, eddiksyre, sitronsyre, oksalsyre, malonsyre, salisylsyre, eplesyre, fumarsyre, ravsyre, askorbinsyre, maleinsyre, metansulfonsyre og andre mineral- og karboksylsyrer som er godt kjent for fagfolk innen teknikken. Saltet fremstilles ved å bringe den frie baseform i kontakt med en tilstrekkelig mengde av den ønskede syre til å fremstille et salt. Den frie baseform kan regenereres ved å behandle saltet med en egnet, fortynnet, vandig baseoppløsning, slik som fortynnet, vandig natriumbikarbonat. Den frie baseform atskiller seg noe fra sin respektive saltform med hensyn til visse fysikalske egenskaper, slik som oppløselighet i polare oppløsningsmidler, men saltet er ellers ekvivalent med sine respektive frie baseformer for oppfinnelsens formål.

Visse forbindelser ifølge beskrivelsen er sure (f.eks. de forbindelsene som har en karboksylgruppe). Disse forbindelsene danner farmasøytisk akseptable salter med uorganiske og organiske baser. Eksempler på slike salter er natrium-, kalium-, kalsium-, aluminium-, gull- og sølvsaltene. Også salter dannet med farmasøytisk akseptable aminer, slik som ammoniakk, alkylaminer, hydroksyalkylaminer, N-metylglukamin og lignende, er inkludert.

Slik det her er brukt, betyr "solvat" et molekylært eller ionisk kompleks av molekyler eller ioner av oppløsningsmiddel med de til det oppløste middel (f.eks. forbindelser med formelen II eller isomerer av forbindelsen med formelen II). Eksempler på anvendbare oppløsningsmidler omfatter polare, protiske oppløsningsmidler, slik som vann og/eller alkoholer (f.eks. metanol).

Foreliggende oppfinnelse gjelder en sterolinhibitor med formel (II) (ezetimibe) som kan anvendes i preparatene, de terapeutiske kombinasjonene og fremgangsmåtene ifølge den foreliggende oppfinnelse:



(II)

eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat derav. Forbindelsen med formel (II) kan være i vannfri eller hydratisert form.

Den daglige dose av sterolabsorpsjonsinhibitoren(e) som administreres til individet, kan ligge i området fra ca. 0,1 til ca. 1 000 mg pr. dag, fortrinnsvis ca. 0,25 til ca. 50 mg/dag, og mer foretrukket ca. 10 mg pr. dag, gitt i en enkeltdose eller 2-4 oppdelte doser. Den nøyaktige dose bestemmes imidlertid av den behandlende lege og er avhengig av styrken til forbindelsen som administreres, alderen, vekten, tilstanden og responsen til pasienten.

For administrering av farmasøytisk akseptable salter av de ovenfor nevnte forbindelser henviser vektene angitt ovenfor, til vekten av syreekvivalenten eller baseekvivalenten av den terapeutiske forbindelse avledet fra saltet.

Ved en utførelsesform ifølge den foreliggende oppfinnelse kan anvendelsen, preparatene eller de terapeutiske kombinasjonene videre omfatte ett eller flere farmakologiske eller terapeutiske midler eller legemidler, slik som lipidsenkende midler omtalt nedenunder.

Eksempler på kolesterolbiosynteseinhibitorer for anvendelse ved fremgangsmåtene for behandling eller profylakse av vaskulær inflammasjon eller for å redusere blodnivåer av c-reaktivt protein, omfatter kompetitive inhibitorer for HMG-CoA-reduktase, det hastighetsbegrensende trinn i kolesterolbiosyntese, squalensyntaseinhibitorer, squalenepoksidaseinhibitorer og blandinger derav. Eksempler på egnede HMG-CoA-reduktaseinhibitorer omfatter statiner, slik som lovastatin (f.eks. MEVACOR som er tilgjengelig fra Merck & Co.), pravastatin (f.eks. PRAVACHOL som er tilgjengelig fra Bristol Meyers Squibb), fluvastatin, simvastatin (f.eks. ZOCOR som er tilgjengelig fra Merck & Co.) og cerivastatin, Cl-981, Foretrukne HMG-CoA-reduktaseinhibitorer omfatter lovastatin, pravastatin og simvastatin. Den mest foretrukne HMG-CoA-reduktaseinhibitor er simvastatin.

Generelt kan en total daglig dosering av kolesterolbiosynteseinhibitor(er) være i området fra ca. 0,1 til ca. 160 mg pr. dag, fortrinnsvis ca. 0,2 til ca. 80 mg/dag i enkelt- eller 2-3 oppdelte doser.

Preparatene og de terapeutiske kombinasjonene ifølge den foreliggende oppfinnelse kan administreres til et pattedyr som trenger slik behandling, i en terapeutisk effektiv mengde for å behandle vaskulær betennelse eller for å redusere nivåer av c-reaktivt protein. Preparatene og behandlingene kan administreres ved hjelp av hvilke som helst egnede midler som gir kontakt

mellom disse forbindelsene og virkningsstedet i kroppen, f.eks. i plasmaet, leveren eller tynntarmen til et pattedyr.

Den daglige dosering for de forskjellige preparatene og de terapeutiske kombinasjonene som er beskrevet ovenfor, kan administreres til en pasient i en enkeltdose eller i flere underdoser, alt etter hva som er ønsket. Underdoser kan administreres f.eks. 2 til 6 ganger pr. dag. Doseringer med langvarig frigivelse kan brukes. Når sterolabsorpsjonsinhibitoren(e) og det andre terapeutiske middel administreres i separate doseringer, behøver antallet av doser av hver komponent gitt pr. dag, ikke nødvendigvis være det samme, f.eks. kan én komponent ha en lengre aktivitetsvarighet og vil derfor måtte administreres mindre hyppig.

Preparatene, de terapeutiske kombinasjonene eller medikamentene ifølge den foreliggende oppfinnelse kan videre omfatte én eller flere farmasøytisk akseptable bærere, én eller flere eksipienser og/eller ett eller flere additiver. De farmasøytiske preparatene kan omfatte ca. 1 til ca. 99 vekt% aktiv bestanddel (forbindelser med formel II), og fortrinnsvis ca. 5 til ca. 95% aktiv bestanddel.

Anvendbare farmasøytisk akseptable bærere kan være enten faststoff, væske eller gass. Eksempler på farmasøytisk akseptable bærere omfatter faste stoffer og/eller væsker, slik som magnesiumkarbonat, magnesiumstearat, talkum, sukker, laktose, etanol, glyserol, vann og lignende. Mengden av bærer i behandlingspreparatet eller den terapeutiske kombinasjon kan variere fra ca. 5 til ca. 99 vekt% av totalvekten av behandlingspreparatet eller den terapeutiske kombinasjon. Eksempler på egnede farmasøytisk akseptable eksipienser og additiver omfatter ikke-toksiske, kompatible fyllstoffer, bindemidler, slik som stivelse, polyvinylpyrrolidon eller celluloseetere, desintegrasjonsmidler, slik som natriumstivelsesglykolat, kryssbundet polyvinylpyrrolidon eller krysskarmellosenatrium, bufferstoffer, konserveringsmidler, antioksidanter, smøremidler, smaksmidler, fortykningsmidler, fargemidler, fuktemidler, slik som natriumlaurylsulfat, emulgeringsmidler og lignende. Mengden av eksipiens eller additiv kan variere fra ca. 0,1 til ca. 95 vekt% av totalvekten av behandlingspreparatet eller den terapeutiske kombinasjon. Fagfolk innen teknikken vil forstå at mengden av bærer(e), eksipienser og additiver (dersom det er til stede) kan variere. Ytterligere eksempler på farmasøytisk akseptable bærere og fremgangsmåter for fremstilling av forskjellige preparater kan finnes i A. Gennaro (red.), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20. utg., (2000), Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

Anvendbare fastformpreparater omfatter pulvere, tabletter, dispergerbare granulater, kapsler, kapsler med pulver og suppositorier. Et eksempel på et preparat av en foretrukket doseringsformulering i fast form er gitt nedenunder.

Anvendbare væskeformpreparater omfatter oppløsninger, suspensjoner og emulsjoner. Som et eksempel kan det nevnes vann eller vann-propylenglykol-oppløsninger for parenteral injeksjon eller tilsetning av søtningsstoffer og opakgjøringsmidler for orale oppløsninger, suspensjoner og emulsjoner. Væskeformpreparater kan også omfatte oppløsninger for intranasal administrering.

Aerosolpreparater som er egnet for inhalasjon, kan omfatte oppløsninger og faste stoffer i pulverform som kan være i kombinasjon med en farmasøytisk akseptabel bærer, slik som en inert, komprimert gass, f.eks. nitrogen.

Også anvendbare er fastformpreparater som er ment til å bli omdannet kort tid før bruk til væskeformpreparater enten for oral eller parenteral administrering. Slike væskeformer omfatter oppløsninger, suspensjoner og emulsjoner.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan også være avleverbare transdermalt. De transdermale preparatene kan ha form av kremer, lotions, aerosoler og/eller emulsjoner, og kan være inkludert i et transdermalt plaster av matriks- eller reservoartypen, slik det er vanlig innenfor teknikken for dette formål.

Fortrinnsvis administreres forbindelsen oralt.

ANALYTISKE FREMGANGSMÅTER FOR CRP-MÅLING

Fremgangsmåte: For måling av c-reaktivt protein (CRP) i serum ved å anvende et Behring nefelometer II

Prinsipp

Polystyrenpartikler belagt med antistoffer mot CRP, agglutineres når de blandes med prøver som inneholder CRP. Styrken på lyset som spres i nefelometeret, er proporsjonal med konsentrasjonen av CRP i prøven. Resultater evalueres ved sammenligning med en standard av kjente konsentrasjoner av CRP (og ASL og RF). Konserveringsmiddel: natriumazid (<1 g/l). N/T-reumatologikontrollene leveres klare til bruk og er stabile inntil datoen på merkelappen når de lagres ved 2-8 °C. Når de først er åpnet, er de stabile i 14 dager når de lagres tett lukket ved 2-8 °C. Reagensene N-CRP Latex Mono katalog nr. OQIY 20/21 (suspensjon av polystyrenpartikler belagt med monoklonale museantistoffer mot CRP), N-Supplementary Reagent/Precipitation katalog nr. OUMU (fosfatbufferoppløsning inneholdende natriumklorid), N Rheumatology Standard SL katalog nr. OQKZ13 (inneholdende konsentrasjon av CRP angitt på pakningsinnlegg), N-Diluent katalog nr. 61 (fosfatbufret saltoppløsning) og N-Reaction buffer katalog nr. OUMS61 (oppløsning av polyetylglykol og natriumklorid i fosfatbuffer) er tilgjengelige fra Behring Diagnostics, Inc.

Behring nefelometer II er tilgjengelig fra Behring Diagnostics, Inc., Somerville, NJ.

Testingsprosedyrer

Vorteksprøver:

Velg "ROUTINE"-menyen og velg "ENTER JOB LIST".

Skriv inn den korrekte pasientidentifikasjon som Study\Sequence\ID.

Velg analyse nr. 71 for CRP-måling.

Når alle prøver som skal kjøres, er blitt anmodet om, gå ut av "ROUTINE"-meny.

Velg "LOADING"-ikon. Fyll reagenser og prøver på analyseapparatet i de korrekte stillinger.
Velg "LAB JOURNAL"-oversiktskontroller.

Til grensesnitt: marker resultater som skal sendes. Velg kontrollmerkeikonet. Et kontrollmerke vil komme til syne etter resultatene som skal sendes. En H vil komme til syne til høyre når
5 resultatene er blitt sendt til verten. Velg skriverikonet for å skrive ut resultater.

For enhver CRP-verdi som gir en konsentrasjon $<0,2$ mg/l, ordnes prøves ved å anvende høysensitivitetsanalysen nr. 99.

Resultatene beregnes automatisk ved å anvende en "logit-log"-funksjon.

10 Referanseområde: 0,0-8,4 mg/l

Referanseområde etableres ved å analysere 216 vilkårlig valgte serumprøver fra en pasientpopulasjon med varierende alder og kjønn.

Rapportering av resultater:

15 CRP-verdier som er høyere enn eller lik 0,2 mg/l, rapporteres med én desimal.

CRP-verdier som er lavere enn 0,2 mg/l, og som er blitt analysert på nytt ved å anvende høysensitivitetsmetoden, rapporteres med 3 desimaler.

Prosedyreanmerkninger

20 Reagenser må ikke bli brukt etter sine utløpsdatoer. Reagenser og prøver behøver ikke å bli brukt ved romtemperatur. Apparatet tillater den direkte bruk av reagenser og prøver lagret ved 2-8 °C.

Begrensninger på prosedyren

25 Sensitiviteten til analysen bestemmes ved den nedre grense for referansekurven og avhenger således av CRP-konsentrasjonen til standarden. Det er derfor mulig å ha en annen sensitivitet for hver referansekurve.

Målingsområdet er utformet for å måle CRP-konsentrasjoner opp til 1 100 mg/l ved å anvende fortynningen på 1:2 000.

30 Prøver med CRP-konsentrasjoner som er høyere enn 1 100 mg/l, bør fortynnes med N-fortynner før de blir analysert på nefelometeret. Fortynningsfaktoren må brukes for å korrigere CRP-konsentrasjon.

Hemoglobin opp til 350 mg/dl oppviste ingen signifikant interferens.

35 Svært lipemiske prøver (triglyserid >500 mg/dl) som ikke kan klares ved sentrifugering (10 minutter ved 15 000 g), må holdes utenfor analysen.

FORMULERING

Den følgende formulering eksemplifiserer én av doseringsformene ifølge denne oppfinnelsen. I formuleringen betegner uttrykket "aktiv forbindelse I" en sterol- eller 5 α -stanolabsorpsjonsinhibitor, slik som beskrevet ovenfor.

5

EksempelTabletter

Nr.	Bestanddel	mg/tablett
1	Aktiv forbindelse I	10
2	Laktosemonohydrat, NF	55
3	Mikrokrystallinsk cellulose, NF	20
4	Povidon USP (K29-32)	4
5	Krysskarmellosenatrium, NF	8
6	Natriumlaurylsulfat, NF	2
7	Magnesiumstearat, NF	1
Totalt		100

Ved den foreliggende oppfinnelse kan den ovenfor beskrevne tablett samadministreres med en tablett, kapsel, etc., som omfatter administrering av aktiv forbindelse II, f.eks. et terapeutisk middel, slik som et kardiovaskulært middel eller blodmodifiseringsmiddel som beskrevet ovenfor.

10

Fremstillingsfremgangsmåte

15

Bland bestanddel nr. 4 med rensset vann i egnet blandeapparat for å danne bindemiddeloppløsning. Spray bindemiddeloppløsningen og så vannet over bestanddelene 1, 2 og 6 og en porsjon av bestanddel 5 i en prosessor med fluidisert lag for å granulere bestanddelene. Fortsett fluidisering for å tørke de fuktige partiklene. Sikt det tørkede granulat og bland med bestanddel nr. 3 og det gjenværende av bestanddel nr. 5. Tilsett bestanddel nr. 7 og bland. Press blandingen til passende størrelse og vekt på en egnet tablettmaskin.

20

For samadministrering i separate tabletter eller kapsler er det godt kjent innen teknikken representative formuleringer som omfatter en kolesterolabsorpsjonsinhibitor slik som det er omtalt ovenfor, og representative formuleringer som omfatter andre kardiovaskulære midler eller blodmodifiseringsmidler, slik som omtalt ovenfor, er velkjente innenfor teknikken.

25

Når de to aktive bestanddelene administreres som et enkeltpreparat, forventes det at

doseringsformene beskrevet ovenfor for sterolabsorpsjonsinhibitorer, lett kan modifiseres ved å anvende kunnskapene til en person med fagkunnskaper på området.

Ettersom den foreliggende oppfinnelse vedrører behandling av vaskulær betennelse eller for å kontrollere eller redusere nivået av c-reaktivt protein ved behandling med en kombinasjon av aktive bestanddeler hvor de aktive bestanddelene kan administreres hver for seg, vedrører oppfinnelsen også å kombinere separate farmasøytiske preparater i settform. Det er således omfattet et sett hvor to separate enheter er kombinert: et farmasøytisk preparat som omfatter minst én sterolabsorpsjonsinhibitor som beskrevet ovenfor, og ett eller flere terapeutiske midler, slik som kardiovaskulære midler, blodmodifiseringsmidler eller andre aktive bestanddeler som omtalt ovenfor. Settet vil fortrinnsvis omfatte retningslinjer for administreringen av de separate bestanddelene. Settformen er særlig fordelaktig når de separate bestanddelene må administreres i forskjellige doseringsformer (f.eks. oralt og parenteralt), eller administreres ved forskjellige doseringsintervaller.

Behandlingspreparatene og de terapeutiske kombinasjonene ifølge den foreliggende oppfinnelse kan behandle vaskulær betennelse og/eller kontrollere eller redusere nivået av c-reaktivt protein i blodet, og kan være anvendbare ved behandlingen samt profylaksen av vaskulære tilstander, slik som aterosklerose, hyperkolesterolemi og sitosterolemi, slag, fedme og lavere plasmanivåer av steroler hos et individ, særlig hos mennesker, slik som fytosteroler (slik som sitosterol, campesterol, stigmasterol og avenosterol), kolesterol og blandinger derav. Plasma-konsentrasjonen kan reduseres ved å administrere til et individ som trenger slik behandling, en effektiv mengde av minst ett behandlingspreparat eller én terapeutisk kombinasjon som omfatter minst én sterolabsorpsjonsinhibitor beskrevet ovenfor. Reduksjonen i plasmakonsentrasjon av steroler kan variere fra ca. 1 til ca. 70 %, og fortrinnsvis fra ca. 10 til ca. 50 %. Fremgangsmåter for å måle totalt blodserumkolesterol og totalt LDL-kolesterol er velkjente for fagfolk innenfor teknikken, og omfatter f.eks. de som er beskrevet i PCT WO 99/38498, side 11. Fremgangsmåter for å bestemme nivåer av andre steroler i serum er beskrevet i H. Gylling et al., "Serum Sterols During Stanol Ester Feeding in a Mildly Hypercholesterolemic Population", J. Lipid Res. 40:593-600 (1999).

Det følgende eksempel på fremstilling av en forbindelse med formel (II) illustrerer oppfinnelsen. Med mindre annet er angitt, er alle deler og prosentandeler i eksemplet samt i beskrivelsen for øvrig, basert på vekt.

EKSEMPEL

Fremstilling av forbindelse med formel (II)

Trinn 1): Til en oppløsning av (S)-4-fenyl-2-oksazolidinon (41 g, 0,25 mol) i CH_2Cl_2 (200 ml) ble det tilsatt 4-dimetylamino-pyridin (2,5 g, 0,02 mol) og trietylamin (84,7 ml, 0,61 mol), og reaksjonsblandingen ble avkjølt til 0 °C. Metyl-4-(klorformyl)butyrat (50 g, 0,3 mol) ble tilsatt som en oppløsning i CH_2Cl_2 (375 ml) dråpevis i løpet av 1 time, og reaksjonsblandingen fikk varmes opp til 22 °C. Etter 17 timer ble vann og H_2SO_4 (2 N, 100 ml)

tilsatt, lagene ble separert, og det organiske lag ble vasket sekvensvis med NaOH (10%), NaCl (mettet) og vann. Det organiske lag ble tørket over MgSO_4 og konsentrert, hvorved man fikk et halvkrySTALLINSK produkt.

Trinn 2): Til en oppløsning av TiCl_4 (18,2 ml, 0,165 mol) i CH_2Cl_2 (600 ml) ved 0 °C ble det tilsatt titanisopropoksid (16,5 ml, 0,055 mol). Etter 15 minutter ble produktet av trinn 1 (49,0 g, 0,17 mol) tilsatt som en oppløsning i CH_2Cl_2 (100 ml). Etter 5 minutter ble diisopropyletylamin (DIPEA) (65,2 ml, 0,37 mol) tilsatt, og reaksjonsblandingen ble omrørt ved 0 °C i 1 time, reaksjonsblandingen ble avkjølt til -20 °C, og 4-benzylloksybenzylidin(4-fluor)anilin (114,3 g, 0,37 mol) ble tilsatt som et fast stoff. Reaksjonsblandingen ble kraftig omrørt i 4 timer ved -20 °C, så ble eddiksyre dråpevis tilsatt som en oppløsning i CH_2Cl_2 i løpet av 15 minutter, reaksjonsblandingen fikk varmes opp til 0 °C, og H_2SO_4 (2 N) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble omrørt i ytterligere 1 time, lagene ble separert, vasket med vann, separert og det organiske laget ble tørket. Råproduktet ble krystallisert fra etanol/vann, hvorved man fikk det rene mellomprodukt.

Trinn 3): Til en oppløsning av produktet fra trinn 2 (8,9 g, 14,9 mmol) i toluen (100 ml) ved 50 °C ble det tilsatt N,O-bis(trimetylsilyl)acetamid (BSA) (7,50 ml, 30,3 mmol). Etter 0,5 time ble fast TBAF (0,39 g, 1,5 mmol) tilsatt, og reaksjonsblandingen ble omrørt ved 50 °C i ytterligere 3 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 22 °C, og CH_3OH (10 ml) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble vasket med HCl (1 N), NaHCO_3 (1 N) og NaCl (mettet), og det organiske lag ble tørket over MgSO_4 .

Trinn 4): Til en oppløsning av produktet fra trinn 3 (0,94 g, 2,2 mmol) i CH_3OH (3 ml) ble det tilsatt vann (1 ml) og $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (102 mg, 2,4 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 22 °C i 1 time, og så ble ytterligere $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (54 mg, 1,3 mmol) tilsatt. Etter i alt 2 timer ble HCl (1 N) og EtOAc tilsatt, lagene ble separert, det organiske laget ble tørket og konsentrert under vakuum. Til en oppløsning av det resulterende produkt (0,91 g, 2,2 mmol) i CH_2Cl_2 ved 22 °C ble det tilsatt ClCOCOCl (0,29 ml, 3,3 mmol), og blandingen ble omrørt i 16 timer. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum.

Trinn 5): Til en effektivt omrørt suspensjon av 4-fluorfenylsinkklorid (4,4 mmol) fremstilt fra 4-fluorfenylmagnesiumbromid (1 M i THF, 4,4 ml, 4,4 mmol) og ZnCl_2 (0,6 g, 4,4 mmol) ved 4 °C, ble det tilsatt tetrakis(trifenylfosfin)palladium (0,25 g, 0,21 mmol) etterfulgt av produktet fra trinn 4 (0,94 g, 2,2 mmol) som en oppløsning i THF (2 ml). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 time ved 0 °C og så i 0,5 time ved 22 °C. HCl (1 N, 5 ml) ble tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med EtOAc. Det organiske lag ble konsentrert til en olje og renses ved hjelp av silikagelkromatografi, hvorved man fikk 1-(4-fluorfenyl)-4(S)-(4-hydroksyfenyl)-3(R)-(3-okso-3-fenylpropyl)-2-azetidinon:

HRMS beregnet for $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{F}_2\text{NO}_3 = 408,1429$, funnet 408,1411.

Trinn 6): Til produktet fra trinn 5 (0,95 g, 1,91 mmol) i THF (3 ml) ble det tilsatt (R)-tetrahydro-1-metyl-3,3-difenyl-1H,3H-pyrrolo[1,2c][1,3,2]oksazaborol (120 mg, 0,43 mmol), og blandingen ble avkjølt til -20 °C. Etter 5 minutter ble borhydriddimetylsulfidkompleks (2 M i

THF, 0,85 ml, 1,7 mmol) tilsatt dråpevis i løpet av 0,5 time. Etter i alt 1,5 time ble CH₃OH tilsatt, etterfulgt av HCl (1 N), og reaksjonsblandingen ble ekstrahert med EtOAc, hvorved man fikk 1-(4-fluorfenyl)-3(R)-[3(S)-(4-fluorfenyl)-3-hydroksypropyl]-4(S)-[4-(fenylmetoksy)fenyl]-2-azetidinon (forbindelse 6A-1) som en olje. ¹H i CDCl₃ d H₃ = 4,68. J = 2,3 Hz. Cl (M⁺H) 500.

5 Anvendelse av (S)-tetrahydro-1-metyl-3,3-difenyl-1H,3H-pyrrolo[1,2-c][1,3,2]oksazaborol gir det tilsvarende 3(R)-hydroksypropylazetidinon (forbindelse 6B-1). ¹H i CDCl₃ d H₃ = 4,69. J = 2,3 Hz. Cl (M⁺H) 500.

Til en oppløsning av forbindelse 6A-1 (0,4 g, 0,8 mmol) i etanol (2 ml) ble det tilsatt 10% Pd/C (0,03 g), og reaksjonsblandingen ble omrørt under et trykk (60 psi) av H₂-gass i 10 16 timer. Reaksjonsblandingen ble filtrert, og oppløsningsmidlet ble konsentrert, hvorved man fikk forbindelse 6A. Smp. 164-166 °C; Cl (M⁺H) 410. [α]_D²⁵ = -28,1° (c 3, CH₃OH). Elementæranalyse: beregnet for C₂₄H₂₁F₂NO₃: C 70,41; H 5,17; N 3,42; funnet C 70,25; H 5,19; N 3,54.

Forbindelse 6B fås ved å behandle forbindelse 6B-1 på lignende måte.

15 Smp.: 129,5-132,5 °C; Cl (M⁺H) 410. Elementæranalyse, beregnet for C₂₄H₂₁F₂NO₃: C 70,41; H 5,17; N 3,42; funnet C 70,30; H 5,14; N 3,52.

Trinn 6' (alternativ): Til en oppløsning av produktet fra trinn 5 (0,14 g, 0,3 mmol) i 2 ml etanol ble det tilsatt 10% Pd/C (0,03 g), og reaksjonsblandingen ble omrørt under et trykk (60 psi) av H₂-gass i 16 timer. Reaksjonsblandingen ble filtrert, og oppløsningsmidlet ble 20 konsentrert, hvorved man fikk en blanding av forbindelsene 6A og 6B i forholdet 1:1.

Studie av pasienter med hyperkolesterolemi

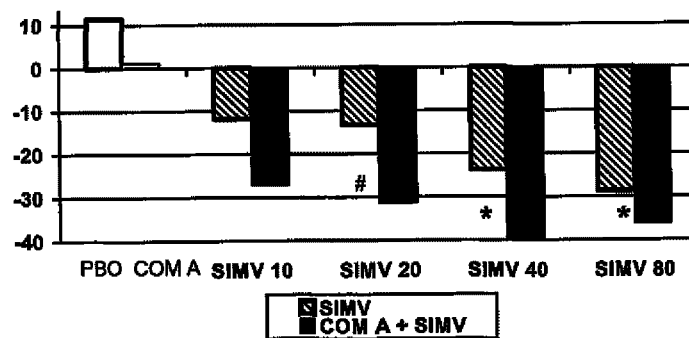
En analyse av funn fra en dobbeltblind, randomisert, placebokontrollert studie av pasienter med primær hyperkolesterolemi (n=668) ble utført. Etter å ha fulgt NCEP-kostretnings- 25 linjer, en legemiddelutskylling og 4 uker med enkeltblind, placebo-innledningsperiode, ble pasienter med basis-LDL-C ≥145 til ≤250 mg/dl og -TG ≤350 mg/dl fordelt vilkårlig til én av de følgende administreringer gitt daglig i 12 på hverandre følgende uker: en tablettformulering som beskrevet ovenfor med 10 mg av forbindelsen med formel (II) "Preparat A"; SIMVASTATIN 10, 20, 40 eller 80 mg (tilgjengelig fra Merck & Co., Inc.); samadministrering av preparat A + 30 SIMVASTATIN 10, 20, 40 eller 80 mg; eller placebo.

Resultatene av studiene er vist i tabell 1 nedenunder.

Tabell 1

35 *P<0,05 for preparat A + SIMVASTATIN vs. SIMVASTATIN ved hvert dosenivå; #P=0,09 vs. SIMVASTATIN 20

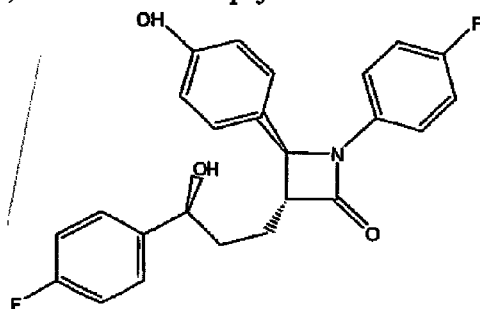
Median-% CRP-endringer fra basis



- Grupper med individer behandlet med preparat A + SIMVASTATIN, hadde
- 5 redusert LDL-C fra basis med 49,9% vs. gruppen med individer behandlet med SIMVASTATIN alene (36,1%, $P < 0,01$) og samadministrert med preparat A + SIMVASTATIN var bedre enn statin alene ved hver SIMVASTATIN-dose. Totalt var medianprosentreduksjoner i CRP fra basis nesten 2 ganger større hos gruppen med preparat A + SIMVASTATIN vs. gruppen med
- 10 preparat A + SIMVASTATIN til 0,180 mg/dl og med SIMVASTATIN til 0,215 mg/dl ($P=0,03$). CRP-reduksjoner med preparat A + SIMVASTATIN var sammenlignbare med de for SIMVASTATIN 80.

P a t e n t k r a v

1. Anvendelse av en kombinasjon av (1) minst én sterolabsorpsjonsinhibitor, og (2) minst én HMG-CoA-reduktaseinhibitor for fremstilling av et medikament for behandling eller
 5 profylakse av vaskulær betennelse hos et individ som har et blodnivå av c-reaktivt protein som er mer enn ca. 0,4 mg/dl, hvor sterolabsorpsjonsinhibitoren har formel (II) nedenunder:



(II).

eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og hvor den minst ene HMG-CoA-reduktaseinhibitor er valgt fra gruppen bestående av lovastatin, pravastatin, fluvastatin, simvastatin, cerivastatin og
 10 blandinger derav.

2. Anvendelse ifølge krav 1, hvor blodnivået av c-reaktivt protein er høyere enn ca. 1,0 mg/dl.

15 3. Anvendelse ifølge krav 1, hvor blodnivået av c-reaktivt protein er høyere enn ca. 3,4 mg/dl.

4. Anvendelse ifølge krav 1, hvor individet er et menneske.

20 5. Anvendelse ifølge krav 1, hvor behandlingen reduserer blodnivået av c-reaktivt protein til ca. 3,4 mg/dl eller lavere.

6. Anvendelse ifølge krav 1, hvor behandlingen reduserer blodnivået av c-reaktivt protein til ca. 1,0 mg/dl eller lavere.

25 7. Anvendelse ifølge krav 1, hvor behandlingen reduserer blodnivået av c-reaktivt protein til ca. 0,4 mg/dl eller lavere.