

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-522747

(P2004-522747A)

(43) 公表日 平成16年7月29日(2004.7.29)

(51) Int.Cl.⁷

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 31/192

A 6 1 K 31/192

4 C O 7 6

A 6 1 K 9/08

A 6 1 K 9/08

4 C 2 O 6

A 6 1 K 9/48

A 6 1 K 9/48

4 H O O 6

A 6 1 K 9/72

A 6 1 K 9/72

A 6 1 P 9/04

A 6 1 P 9/04

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 52 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-560585 (P2002-560585)

(86) (22) 出願日 平成14年1月31日 (2002.1.31)

(85) 翻訳文提出日 平成15年7月31日 (2003.7.31)

(86) 国際出願番号 PCT/US2002/003162

(87) 国際公開番号 W02002/060389

(87) 国際公開日 平成14年8月8日 (2002.8.8)

(31) 優先権主張番号 09/774, 994

(32) 優先日 平成13年1月31日 (2001.1.31)

(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 502439382

ジ・アリゾナ・ボード・オブ・リージェン

ツ・オン・ビハーフ・オブ・ザ・ユニバー

シティー・オブ・アリゾナ

アメリカ合衆国、アリゾナ州 85004

-4593 フェニックス、スウィート

230、ノース・セントラル・アベニュー

2020

(74) 代理人 100092277

弁理士 越場 隆

(72) 発明者 ゴールドマン、スティーヴン

アメリカ合衆国 85742 アリゾナ州

ツーソン ウェスト フライング ダイ

ヤモンド 4425

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 3, 5-ジヨードチロプロピオン酸を用いた慢性心不全および/または高コレステロールの治療方法と、この酸の製造方法

(57) 【要約】

【課題】 うっ血性心不全の治療法および患者の血中コレステロール値を低くする方法。さらに、3, 5-ジヨードチロピオン酸の合成方法の改良。

【解決手段】 治療に有効な投与量の3, 5-ジヨードチロピオン酸を投与する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

うっ血性心不全の患者を治療する方法において、患者に有効治療投与量の 3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を投与することを特徴とする方法。

【請求項 2】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を液体製剤、固体製剤、カプセル製剤および移植製剤から成る群の中から選択される配合物として投与する請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

配合物が薬学的に許容されるキャリアをさらに含む請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

配合物が安定剤、賦形剤、可溶化剤、抗酸化剤、痛み緩和剤および等張剤の少なくとも 1 種をさらに含む請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を注射で非経口投与する請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を静脈注射で非経口投与する請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を経口投与する請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を患者の肺に直接投与する請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を経皮投与する請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を移植で投与する請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

患者の血中コレステロール値を下げる方法において、有効治療投与量の 3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を投与することを特徴とする方法。

【請求項 12】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を液体製剤、固体製剤、カプセル製剤および移植製剤から成る群の中から選択される配合物として投与する請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

配合物が薬学上許容されるキャリアをさらに含む請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

配合物が安定剤、賦形剤、可溶化剤、抗酸化剤、痛み緩和剤および等張剤の少なくとも 1 種をさらに含む請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を注射で非経口投与する請求項 11 に記載の方法。

【請求項 16】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を静脈注射で非経口投与する請求項 11 に記載の方法。

【請求項 17】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を経口投与する請求項 11 に記載の方法。

【請求項 18】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を患者の肺に直接投与する請求項 11 に記載の方法。

【請求項 19】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を経皮投与する請求項 11 に記載の方法。

【請求項 20】

3, 5 - ジョードチロプロピオン酸を移植によって投与する請求項 11 に記載の方法。

【請求項 21】

下記段階から成る 3, 5 - ジョードチロプロピオン酸の合成方法：

10

20

30

40

50

- (1) エチル - 3 - (3 , 5 - ジヨード - 4 - ヒドロキシフェニル) プロピオネートを作り、
(2) ジアニソールヨードニウムトリフルオロ酢酸を作り、
(3) 上記のエチル - 3 - (3 , 5 - ジヨード - 4 - ヒドロキシフェニル) プロピオネートとジアニソールヨードニウムトリフルオロ酢酸とを反応させてエチル - 3 - (4 ' - メトキシ - 3 , 5 - ジヨードチロ) プロピオネートを作り、
(4) 上記のエチル - 3 - (4 ' - メトキシ - 3 , 5 - ジヨードチロ) プロピオネートとヨウ化水素および氷酢酸とを反応させて 3 , 5 - ジヨードチロプロピオン酸を作る。

【請求項 2 2】

下記段階をさらに含む請求項 2 1 に記載の方法：

10

3 - (4 - ヒドロキシフェニル) - プロピオン酸を作り、
この 3 - (4 - ヒドロキシフェニル) - プロピオン酸をヨウ素と反応させて 3 - (3 , 5 - ジヨード - 3 - ヒドロキシフェニル) - プロピオン酸を作り、
この (3 , 5 - ジヨード - 3 - ヒドロキシフェニル) - プロピオン酸をエタノールと反応させて 3 - (3 , 5 - ジヨード - 3 - ヒドロキシフェニル) - プロピオネートを作る。

【請求項 2 3】

下記段階をさらに含む請求項 2 2 に記載の方法：

発煙硝酸、ヨウ素およびトリフルオロ酢酸を反応させてヨード(III)トリフルオロ酢酸を作り、このヨード(III)トリフルオロ酢酸をアニソールと反応させてジアニソールヨードニウムトリフルオロ酢酸を作る。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、うっ血性心不全 (congestive heart failure) の患者および / または血中コレステロール濃度が高い患者に治療に有効な量の 3 , 5 - ジヨードチロプロピオン酸 (3,5-dilodothyropropionic acid) を投与する治療方法に関するものである。

本発明はさらに、3 , 5 - ジヨードチロプロピオン酸の合成方法に関するものでもある。

【背景技術】

【0002】

うっ血性心不全は米国で約 4 6 0 万人の患者が患っている主要な健康問題であり、罹患率はこれから数十年間増加するであろうと予測されている。従って、心不全の拡大に対して臨床的な問題として新たな治療戦略を開発する必要性がさげばれている。

30

【0003】

その一つの方法は甲状腺ホルモンを用いる方法である。甲状腺ホルモンは独特な生理学的、生化学的作用を有するので心不全の治療に有用な新規な薬剤となり得る。甲状腺ホルモンは心筋のカルシウム循環プロテインの含有率に対して転写レベルの所で作用し、筋質細網によるカルシウムの吸収を刺激する。さらに、甲状腺ホルモンは心臓ミオシン重鎖 (MHC) のアイソフォーム発現において相互シフトを起こさせ、高活性 V_1 イソフォームの発現を増加させ、低活性 V_3 イソフォームの発現を減少させる。甲状腺ホルモンによって心室圧の上昇および下降の速度を増加させる能力はこうした生化学的な変化によるものと思われる。

40

【0004】

甲状腺ホルモンには L 型のチロキシン (3 , 5 , 3 ' , 5 ' - L - チロニン ; 以下、チロキシンまたは T_4 という) およびトリヨードチロニン (3 ' , 3 , 5 - L - トリヨードチロニン ; 以下、トリヨードチロニンまたは T_3 という) が含まれる。3 ' , 5 ' , 3 - L - トリヨードチロニン (以下、逆 T_3 または rT_3 という) は T_4 の一般的な代謝産物である。 T_4 は甲状腺で合成され、血漿中に見られる循環型のホルモンである。少量の T_3 は甲状腺で合成されるが、大部分の T_3 は 5 ' - モノデヨージナーゼ酵素による周辺組織中のチロキシン代謝によって生成される。甲状腺ホルモンの分子レベルの作用原理は T_3 がクロマチン結合核レセプターに結合することによって起こると考えられる。チロイドホルモンレセ

50

プターには2つの主要な亜類型すなわちTR とTR がある。これらは2つの異なる遺伝子の産物である。これらの遺伝子はc-erbAプロトオンコジーンファミリーのメンバーで、多数のステロイドおよびペプチドホルモンレセプター（ステロイド - 甲状腺ホルモンスーパーファミリーと総称される）に属する。TR およびTR の亜類型は種々の組織で別々に発現する。

【0005】

現在、臨床的に用いられる主要な甲状腺ホルモンは下記文献に記載の方法で合成したチロキシンである。

【特許文献1】米国特許第2,803,654号明細書

【0006】

その理由はその半減期が6～7日と長いためである。トリヨードチロニンはチロキシンより血漿タンパク質との結合が弱く、作用の開始が急であり、静脈投与に用いることができる。しかし、T₃の半減期は短く、2日以下である。

天然ホルモンの作用を模倣する甲状腺ホルモン類似物を合成するための研究が種々なされている。これらの研究の目的の大部分は心臓に対して副作用を引き起こさないで血漿コレステロールを下げるチロミメティック（thyromimetics）を開発することにある。下記文献には一連の甲状腺類似物とその合成方法が記載されている。

【特許文献2】米国特許第3,109,023号明細書

【0007】

下記文献には甲状腺ホルモンレセプターの 亜類型に特に選択的な甲状腺ホルモン作用薬が記載されている。

【特許文献3】米国特許第5,883,294号明細書

【0008】

下記文献にはビフェニル核にあるスルホニル架橋に特徴があるチロミメティックが記載されている。

【特許文献4】米国特許第5,284,971号明細書

【0009】

心臓血管コンプロマイズ（compromise）の治療に甲状腺ホルモンを利用する研究が最近開発された。下記文献には急性心臓血管コンプロマイズの患者へ甲状腺ホルモンを投与する治療方法が記載されている

【特許文献4】米国特許第5,158,978号明細書

【0010】

この方法では心停止後に静脈、肺循環または心臓へ直接、中心静脈カテーテルを入れ、T₄とT₃を投与する。

進行したうっ血性心不全患者にT₃を短期間静脈内投与すると心拍出量が改善され、動脈の血管抵抗が小さくなる。L - チロキシンを経口投与すると、突発性拡張型心筋症の患者の心臓の働きおよび運動容量が2週間から3ヶ月の間改善される。これらの研究の患者数は少ないが、好ましい結果が得られており、甲状腺ホルモンまたは甲状腺ホルモン類似物の心不全治療での安全性および潜在的価値をさらに研究するための基礎は確立されている。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

甲状腺ホルモンには副作用、例えば代謝刺激および頻脈があるため、副作用の少ない甲状腺ホルモン類似物が必要である。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本出願人は3,5 - ジヨードチロプロピオン酸（DITPA）はL - チロキシンの約半分の変時作用（chronotropic effect）およびそれより小さな代謝刺激で心臓機能を増加させる甲状腺ホルモン類似物であることを見出した。このDITPAは甲状腺ホルモンと

10

20

30

40

50

同様にプロトオンコジーンファミリーc-erbAの核レセプター T_3 に結合する。

【発明の効果】

【0013】

DITPAを単独またはアンギオテンシンI型変換酵素阻害剤と組み合わせて投与すると、心不全のポスト梗塞形成実験モデルにおける左心室の機能が改善されることが証明された。

甲状腺ホルモンは周知の心臓での変時作用および変力作用に加えて、動脈抵抗、静脈抵抗および静脈コンプライアンスを低下させる。これら作用の総合作用として心拍出量が動脈圧より増加し、その結果、動脈の計算血管抵抗値が低下する。心不全の実験モデルにDITPAを用いた場合にはDITPAは甲状腺ホルモンと同様の作用を示し、心臓とその周辺循環器に作用を与える。正の力-頻度関係とよばれる心拍に対する収縮性の正常上昇ロスがヒトの心筋不全患者でも動物の心筋不全モデルでも見られる。DITPAの投与によってウサギの梗塞心臓が単一心筋細胞の平坦な収縮-頻度関係になるのを阻止できる。

10

【0014】

また、DITPAは心筋細胞の機能を改善し、筋小胞体(SR)中のカルシウム輸送を促進し、ウサギの梗塞形成後の心不全に伴うSRタンパク質の発現低下を阻止する。一般的な霊長類では、DITPAは甲状腺ホルモンと同じように生体の力-頻度関係および弛緩-頻度関係をインビボで促進させる。DITPAの投与で心臓をほとんど肥大させず(心室の寸法に悪影響を与えず)に、血流に変化を起こすことができる。DITPAを投与した梗塞ラットでは梗塞部の周りの境界領域の毛細血管成長が増加するということが細胞測定分析から分かる。

20

【0015】

本出願人は、3,5-ジヨードチロプロピオン酸(DITPA)はL-チロキシンの約半分の変時作用およびそれより小さい代謝刺激で心臓機能を上昇させる甲状腺ホルモン類似物であるということを見出した。DITPAは甲状腺ホルモンと同様にc-erbAプロトオンコジーンファミリーの核レセプター T_3 に結合する。DITPAは単独投与またはアンギオテンシンI型変換酵素阻害剤と組合せて投与したときに梗塞形成後の心不全実験モデルで左心室(LV)の機能を改良するということが分かった。

【0016】

甲状腺ホルモンは、周知の心臓での変時作用および筋収縮作用に加えて、動脈抵抗、静脈抵抗および静脈コンプライアンスを低下させる。これらの作用の総合として心拍出量が動脈圧より増加し、その結果、動脈の計算血管抵抗値が低下する。

30

心不全の実験モデルにDITPAを用いた場合、DITPAは甲状腺ホルモンと同様の作用をし、心臓とその周辺の循環器の両方に影響を与える。正の力-頻度関係とよばれる心拍に対する収縮性の正常上昇ロスがヒトの心筋不全患者でも動物の心筋不全モデルでも見られる。DITPAの投与によってウサギの梗塞心臓が単一心筋細胞の平坦な収縮-頻度関係になるのを阻止できる。また、DITPAは心筋細胞の機能を改善し、筋小胞体(SR)中のカルシウム輸送を促進し、ウサギの梗塞形成後の心不全に伴うSRタンパク質の発現低下を阻止する。

【0017】

一般的な霊長類では、DITPAは甲状腺ホルモンと同じように生体の力-頻度関係および弛緩-頻度関係をインビボで促進させる。DITPAの投与で心臓をほとんど肥大させず(心室の寸法に悪影響を与えず)に、血流に変化を起こすことができる。DITPAを投与した梗塞ラットでは梗塞部の周りの境界領域の毛細血管成長が増加するということが細胞測定分析から分かる。

40

【発明を実施するための最良の形態】

【0018】

DITPAの投与量範囲を研究するために、7人の健常なボランティアでテストを実施した。さらに、この化合物が医薬として十分に許容されることが確立された後に、19人の患者に対して二重盲検でDITPA対偽薬の効果を調べた。

50

D I T P A は本発明の好ましい製造プロセスを用いて合成した。すなわち、ジアニソールオジウムトリフルオロアセテート (dianisoleiodium trifluoroacetate) をエチル - 3 - (3 , 5 - ジヨード - 4 - ヒドロキシフェニル) - プロピオネートとカップリングさせた後、メチルおよびエチル保護基を外す。このカップリング方法では T₃ または T₄ が副産物として生成することはない。なぜならば、外側リングとなる化合物にはヨードが含まれず、内側リングの反応物にはアミノ基が無いためである。

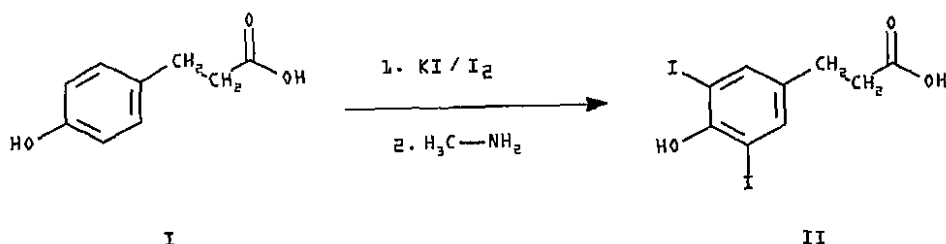
この合成方法で得られた D I T P A の構造をプロトン N M R で確認し、逆相 H P L C でその純度を検査した。主要な不純物は D I T P A のエチルエステルであることが特定された。研究では最終化合物の純度が 9 5 % 以上であるバッチのみを用いた。

【 0 0 1 9 】

本発明の D I T P A の合成方法では出発物質として下記の 3 - (4 - ヒドロキシフェニル) - プロピオン酸 (化合物 I) を用いる。合成の最初の段階でこの化合物 I をヨー化カリウム / ヨードカリウムと反応させ、次にメチルアミンと反応させて、3 - (3 , 5 - ジヨード - 4 - ヒドロキシフェニル) プロピオン酸 (化合物 II) を作る。

【 0 0 2 0 】

【 化 1 】

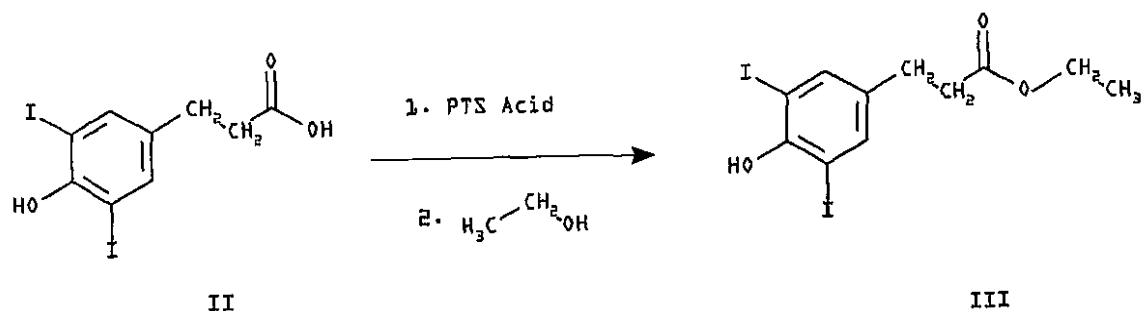


【 0 0 2 1 】

次に、触媒として p - トルエンスルホン酸を用いて、化合物 II をエタノールと反応させて、エチル - 3 - (3 , 5 - ジヨード - 4 - ヒドロキシフェニル) プロピオネート (化合物 III) を作る。

【 0 0 2 2 】

【 化 2 】



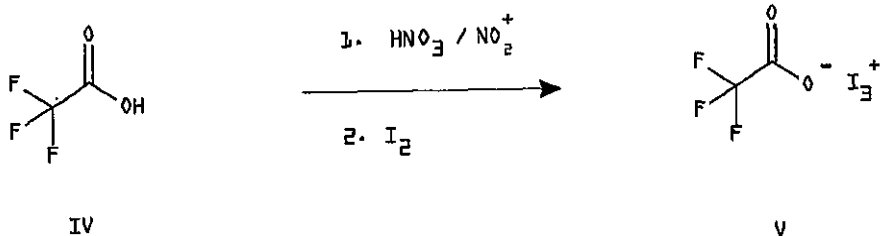
【 0 0 2 3 】

続いて、化合物 III をカップリング剤のジアニソールヨードニウムトリフルオロ酢酸 (dia 40
nisoileiodonium trifluoroacetate) と反応させる。

カップリング剤のジアニソールヨードニウムトリフルオロ酢酸の調製では先ず最初にトリフルオロ酢酸 (化合物 IV) を赤煙硝酸およびヨウ素と反応させてヨウ素 (III) トリフルオロ酢酸 (化合物 V) を作る。

【 0 0 2 4 】

【 化 3 】



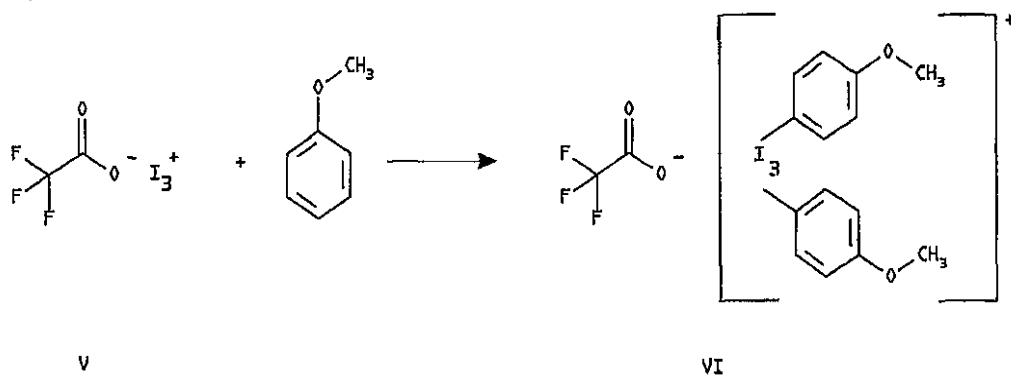
【 0 0 2 5 】

次の段階で、上記化合物Vをアニソールすなわちメトキシベンゼンと反応させてジアニソールヨードニウムトリフルオロ酢酸(化合物VI)を作る。

10

【 0 0 2 6 】

【 化 4 】



20

【 0 0 2 7 】

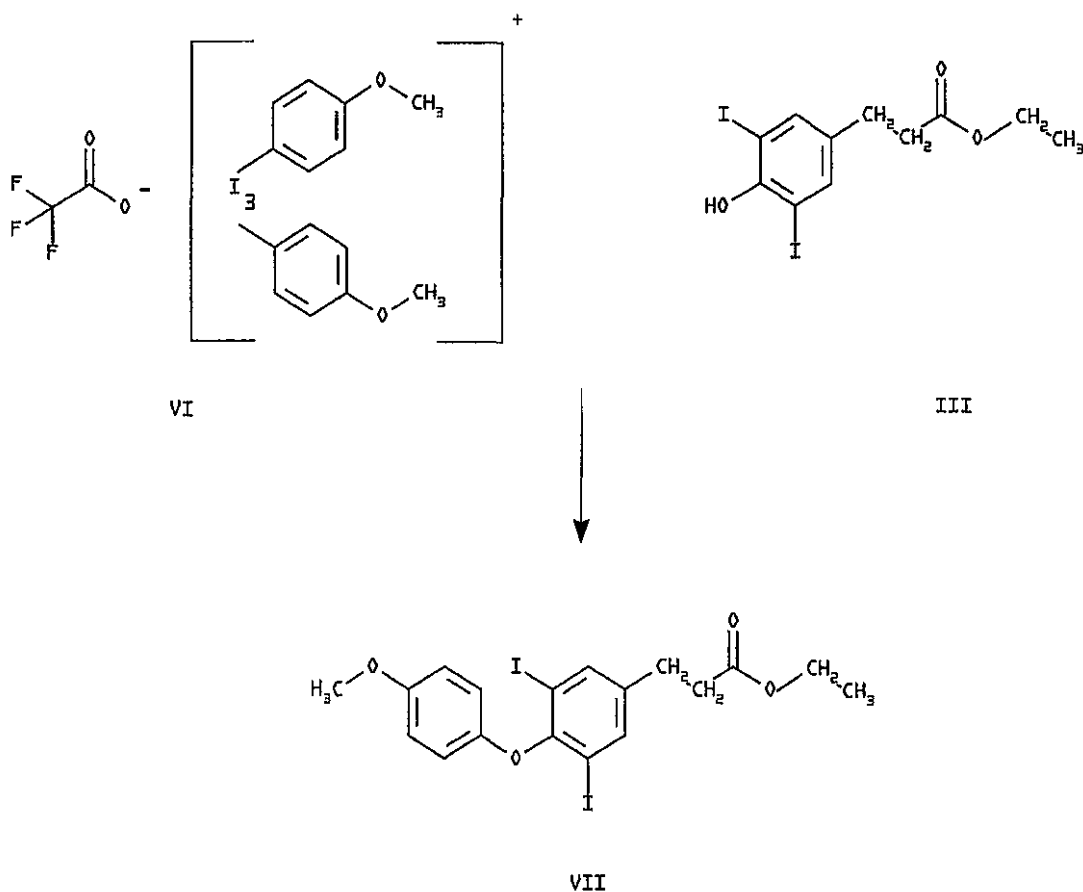
本出願人が化合物VIの対イオンとしてトリフルオロ酢酸を用いた理由は、他の対イオンを用いると吸湿性の化合物になり、保存期間が短くなるためである。

次に、エチル - 3 - (3 , 5 - ジヨード - 4 - ヒドロキシフェニル) プロピオネート (化合物III) をジアニソールヨードニウムトリフルオロ酢酸 (化合物VI) と反応させてエチル - 3 - (4 ' - メトキシ - 3 , 5 - ジヨードチロ) プロピオネート (化合物VII) を作る。

【 0 0 2 8 】

【 化 5 】

30



10

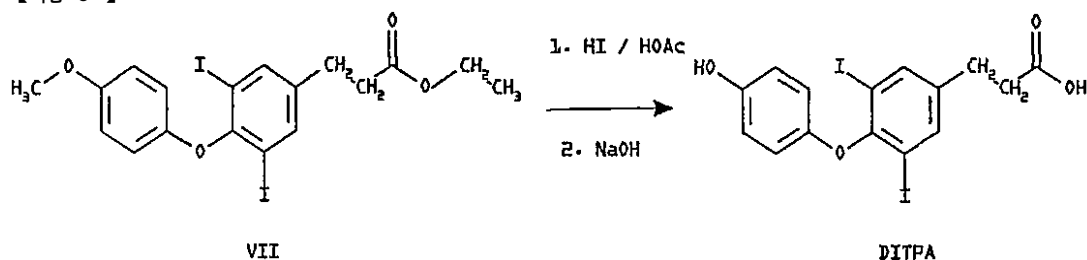
20

【 0 0 2 9 】

本発明の合成方法の最終段階は、エチル - 3 - (4' - メトキシ - 3 , 5 - ジヨードチロ) プロピオネート (化合物 VII) をヨウ化水素および氷酢酸と反応させて、エチルエステルおよびメチルエーテルの両方を加水分解して D I T P A を生成させる段階である。

【 0 0 3 0 】

【 化 6 】



30

【 0 0 3 1 】

以下、当業者に D I T P A の合成方法の実施例を示す。しかし、本発明の範囲が以下の実施例に限定されるものではなく、本発明の範囲は請求の範囲によってのみ限定される。

40

【 実施例 1 】

【 0 0 3 2 】

3 - (3 , 5 - ジヨード - 4 - ヒドロキシフェニル) プロピオン酸の合成

段階 1

50 g の K I を秤量し、栓を閉めた均圧滴下漏斗に入れ、60 ml の H₂O を加えて塩が溶解するまで攪拌する。52 g の I₂ を秤量し、滴下漏斗に加え、完全に溶解するまで攪拌する。90 ml の H₂O を加え (全部で 150 ml) 、滴下漏斗を密封する。滴下漏斗を安全な場所に置き、段階 2 へ進む。

【 0 0 3 3 】

段階 2

50

16.2 g の 3 - (4 - ヒドロキシフェニル) - プロピオン酸を秤量し、1.0 リットルの丸底フラスコに入れる。100 ml の 40 % メチルアミン水溶液および 100 ml の H_2O を電磁攪拌棒と一緒に入れる。フラスコに栓をし、フラスコを電磁攪拌装置の上に固定し、全てが溶解するまで制御速度で攪拌する。

段階 3

栓を外して滴下漏斗に代える。栓を開けてヨード液が約 20 分間で丸底フラスコに入るようにする。添加終了後 10 分間、攪拌したまま反応させる。

【 0 0 3 4 】

段階 4

反応混合物を濾過し、1 リットルビーカーに注ぎ、2 N - HCl (約 440 ml) で酸性にする。得られた沈殿物を濾過し、冷たい H_2O で洗浄する。生成物を濾紙で覆い、一晚吸引乾燥する。 10

段階 5

エタノールから生成物を再結晶化する。エタノール中にはかなりの量のモノヨウ化化合物が含まれている。生成物の重量をおよび融点を測定する。

【 実施例 2 】

【 0 0 3 5 】

エチル - 3 - (3 , 5 - ジヨード - 4 - ヒドロキシフェニル) プロピオネートの合成

段階 1

100 g の 3 - (3 , 5 - ジヨード - 4 - ヒドロキシフェニル) プロピオン酸を秤量し、500 ml の丸底フラスコに移し、電磁攪拌棒を入れる。15 ml の無水エタノールを加える。2.0 g の p - トルエンスルホン酸を加えた後、150 ml のクロロホルムを加える。丸底フラスコを固定し、油浴に入れるが、加熱はしない。アリーン (Allihn) コンデンサと完全蒸留組立体とを組み立て、コンデンサを再循環氷水で冷却する。 20

【 0 0 3 6 】

段階 2

バケツ一杯分の氷を通る状態で再循環ポンプを稼働させながら、油浴を作動させる (バリアック (Variac) を 40 に設定) 。 Variac の設定を調整して蒸留がゆっくりと進むようにする (このエステル化に必要な全時間は 6 ~ 8 時間) 。 100 ml を回収した後 (約 2 時間) 、 15 ml の無水エタノールと 100 ml のクロロホルムをさらに添加する。次の 100 ml を回収する時にクロロホルムのみを添加し、引き続きクロロホルムを蒸留する。クロロホルムの残留量が少なくなったときに Variac のスイッチを切り、フラスコを冷却する。 30

【 0 0 3 7 】

段階 3

十分なクロロホルムを加えて全量を 100 ml にする。同量の飽和重炭酸ナトリウム溶液を用いて抽出する。重炭酸ナトリウムを用いた抽出を繰返した後に、 H_2O を用いて抽出する。塩化カルシウム紛上で乾燥させる。

還流カラムを外して蒸留組立体を組み立てなおし、トラップにドライアイスを追加してから低圧で残留クロロホルムを除去する。 40

【 実施例 3 】

【 0 0 3 8 】

ヨード (III) トリフルオロ酢酸の合成

段階 1

フード内で、14 ml の無水酢酸を 250 ml の丸底フラスコに注ぎ、約 - 50 に冷却した (ドライアイスおよびイソプロピルアルコール浴) 。電磁攪拌棒で攪拌しながら、5.4 ml の赤煙硝酸 (90 % 、 sp.gr. 1.51) を注意深く加える。丸底フラスコをドライアイス / イソプロパノール浴から取り出す。5.0 g のヨウ素を 20 以下の温度で秤量し、このヨウ素と 9.4 ml のトリフルオロ酢酸を丸底フラスコに加える。ヨウ素が溶解するにつれて亜硝酸が発生し、温度が 40 ~ 45 に上昇する。亜硝酸の生成が続いてい 50

れば、ヨウ素は反応している。

段階 2

必要に応じて、残りの亜硝酸を N_2 ガスで洗い流してから、低圧蒸留用に設定する。容器の温度を $40^\circ C$ 以下にし、溶液をヨード (III) トリフルオロ酢酸の黒い粘性の油にする。

【実施例 4】

【0039】

ジアニソールヨードニウムトリフルオロ酢酸の合成

段階 1

ヨード (III) トリフルオロ酢酸を 30 ml の無水酢酸に溶解する。これを $-10^\circ C$ に冷却し、その温度を維持しながら 17.4 ml のアニソール、 70 ml の無水酢酸および 10 ml のトリフルオロ酢酸を 20 分かけて添加する。フラスコに栓をして、冷蔵庫に一晩置き、 3 時間かけて室温にする。

【0040】

段階 2

実行可能な最低温度で減圧蒸留する。濃い黒い油が残る。反応性無水物が水溶液と急激かつ激しく反応するため、トラップまたは受入フラスコから酸廃物に添加する際には慎重にしなければならない。ジエチルエーテルを油に添加する。ほぼ 400 ml 添加すると、沈殿物が生じる。

段階 3

沈殿物を濾過し、氷で冷した乾燥ジエチルエーテルで洗浄して粗ジアニソールヨードニウムトリフルオロ酢酸を得る。トルエンから再結晶化すると白く羽毛のような針状構造が得られる ($mp\ 134 \sim 136^\circ C$)。生成物を秤量する。必要に応じて NMR または融点測定用に生成物を少し取っておく。

【実施例 5】

【0041】

エチル - 3 - (4'-メトキシ - 3, 5 - ジヨードチロ) プロピオネートの合成

段階 1

0.1 モルのエチル - 3 - (3, 5 - ジヨード - 4 - ヒドロキシフェノール) プロピオネート、 50 ml のメタノール、 1.5 ml のトリエチルアミンおよび 0.1 g の変色していない金属の銅粉末を秤量し、 250 ml の丸底フラスコ内で混合する。 5.9 g のジアニソールヨードニウムトリフルオロ酢酸を 70 ml のメタノールに添加し、この混合物を丸底フラスコに加える。攪拌棒を入れて、フラスコに栓をし、室温で 24 時間攪拌する。

【0042】

段階 2

濾過によって未反応の銅を除去する。減圧下でメタノールを除去してシロップにし、これをトルエンに溶解する。 1 N - HCl を加え、 5 分間振る。大量のトリエチルアミンが沈殿するので、それを濾過で除去する。分液漏斗内の有機相を 10% の NaOH と H_2O で洗浄する。有機相を硫酸ナトリウム上で乾燥する。減圧下でトルエンを除去して生成物を残す。

段階 3

生成物を秤量し、NMR および / または HPLC 分析用のサンプルを作る。

【実施例 6】

【0043】

DITPA の合成

段階 1

50 g のカップリング生成物を秤量し、これを丸底フラスコへ移す。 100 ml の HI および 100 ml の氷酢酸を加える。非常に遅い CO_2 流で覆う。 $5 \sim 6$ 時間還流し、 100 ml の HI を添加してから、一晩還流する。

段階 2

10

20

30

40

50

減圧蒸留によって酸の大部分を除去する。200 ml の H_2O を加え、1 N - NaOH を用いて pH を 5 に調整する。沈殿物を濾過回収し、濾過物を氷で冷した H_2O で洗浄し、 CO_2 流で覆って乾燥させる。

【0044】

段階 3

生成物をエタノールから再結晶化する。NMR 分析および融点測定用のサンプルを作る。

段階 4

最終生成物を鍵をかけ利用が制限された冷蔵庫中で 0 以下の乾燥機内に保管する。

ヒトの患者または動物に投与する前に、得られた DITPA に安定剤、賦形剤、可溶化剤、抗酸化剤、痛み緩和剤、等張剤およびこれらの混合物から成る群の中から選択される 1 種または複数の成分を配合することもできる。 10

【0045】

DITPA は液体製剤、固体製剤、カプセル製剤、移植製剤等の種々の形態の配合物にすることができる。DITPA は従来のキャリヤを用いて注射による非経口投与用配合物にすることもできる。また、従来のキャリヤを用いて経口投与用配合物にすることもできる。注射による非経口投与用配合物は当業者に公知の従来法、例えば下記方法で配合できる：DITPA を滅菌水、緩衝液、生理食塩液等の適切な溶剤に溶解し、濾過殺菌し、溶液を滅菌壺に充填する。

【0046】

非経口配合物中の DITPA の量は約 0.0002 ~ 0.2 (W/V%)、好ましくは約 0.001 ~ 0.1 (W/V%) である。配合物は従来の配合方法で調製できる。 20

DITPA を吸入、吸引投与することもできる。吸入投与では DITPA 溶液を加圧容器またはネブライザーから二酸化炭素またはその他の適切な気体推進剤を用いてエアゾールスプレーの形で噴霧する。さらに、DITPA を当業者に公知の薬物送達システムを用いて投与することもできる。薬物送達システム用の配合物の例としてはミクロスフィア（ナノ粒子、ミクロ粒子、マイクロカプセル、ビーズ、リポゾーム、多重エマルジョン等）等がある。

【0047】

配合物に安定剤を添加してもよい。安定剤には例えばアルブミン、グロブリン、ゼラチン、マンニトール、グルコース、デキストラン、エチレングリコール等がある。本発明配合物には賦形剤、可溶化剤、抗酸化剤、痛み緩和剤、等張剤等の必要な添加剤が含まれる。液体配合物は凍結状態または凍結乾燥等の方法で水分を除去した後に保存する。凍結乾燥した配合物は使用前に純水に溶解して注射する等の方法で用いる。 30

【0048】

DITPA の有効投与量および投与スケジュールは実験によって決定し、その決定方法は当業者に周知の範囲である。配合物の投与経路は配合物の形態によって異なる。例えば非経口配合物は静脈注射、動脈注射、皮下注射または筋肉内注射で投与できる。

さらに、経皮投与または移植投与用に DITPA を配合することもできる。長期間作用する移植投与には皮下移植または筋肉内移植がある。そのために、DITPA は適当な高分子物質または疎水性物質（例えば油中エマルジョン）またはイオン交換樹脂と一緒に配合するか、わずかに可溶な誘導体、例えばわずかに可溶な塩の形に配合することができる。 40

【0049】

本発明の DITPA の経皮送達系にはキャリヤ、例えば液体、ゲル、固体基質または感圧接着剤等が含まれる。本発明の一実施例では経皮送達系は基材 (backing material) を含まない。本発明の別の実施例では本発明方法にキャリヤと一緒に基材が用いられる。この実施例では皮膚または粘膜と物理的に接触しないキャリヤの部分が基材で覆われる。基材は、すべき DITPA を含むキャリヤ中に含まれる成分とキャリヤを外界から保護する。本発明方法で用いるのに適した基材には金属箔、メッキプラスチックフィルムおよび単層および重層のポリマーフィルム等がある。

【0050】

本発明方法の一実施例では、溶剤系に溶解したD I T P Aを経皮投与する。溶剤系は水を含み、場合によって1種または複数のアルコール、例えばエタノールイソプロピルアルコール、プロピルアルコール等を含む。このアルコールの炭素含有量は2～約6であるのが好ましい。

溶剤系はさらにグリコール、例えばエチレングリコール、プロピレングリコール、グリセロール等を含むことができる。溶剤系はさらに、1種または複数のジアルキルホキシドおよび/またはジアルキルスルホンを含むことができる。溶剤系はさらに一種または複数のケトン、エーテルおよびエステルを含むことができる。例としてはアセトン、メチルエチルケトン、ジメチルエーテル、ジエチルエーテル、ジブチルエーテル、アルキルアセテート、アルキルプロピオネート、アルキルブチレート等が挙げられる。

10

【0051】

D I T P Aの溶液が好ましいが、エマルジョンも有効である。エマルジョンは水性相が大部分を占め、連続相になっているものか、不水溶性系が連続層となる非水性のものにすることができる。

本発明のD I T P Aの経皮投与を用いてうっ血性心不全および/または低L D L - コレステロール値を治療する方法は、アデノシン3',5'-環状ノホスフェートをインビボ刺激する物質が含まなくても有効であり、さらにはグアノシン3',5'-環状ノホスフェートをインビボ刺激する物質が含まなくても有効である。本発明の各実施例では、本発明のD I T P A経皮投与配合物にColeus Forskholiの抽出物のような物質を任意成分として約0.0001重量%～約1.0重量%含むことができる。

20

【0052】

本発明の経皮配合物はヒトを含む動物の皮膚または粘膜中で医薬の送達を促進することが知られている医薬を含むこともできる。これらの医薬は浸透促進剤、促進剤、アジュバントおよび吸着促進剤として知られているが、本明細書では「エンハンサー」とよぶことにする。エンハンサーの例としてはジプロピレングリコール等の多価アルコール；オリーブオイル、スクアレンおよびラノリン等の油脂；セチルエーテルおよびオレイルエーテル等のポリエチレングリコールエーテルおよび脂肪族エーテル；イソプロピルミリスチン酸等の脂肪酸エステル；オレイルアルコール等の脂肪酸アルコール；アラントイン等の尿素および尿素誘導体；ジメチルデシルホスホキシド、メチルオクチルスルホキシド、ジメチルアセトニド、ジメチラウリルアミド、ドデシルピロリドン、イソソルビトール、デシルメチルスルホキシド、オヨビジメチルホルムアミド等の極性溶剤；サリチル酸；ベンジルニコチネート；胆汁酸塩；ラウリルスルホン酸塩等の高分子脂肪族界面活性剤等が挙げられる。その他の医薬としてはオレイン酸およびリノール酸、アスコルビン酸、パンテノール、ブチル化ヒドロキシトルエン、トコフェロール、トコフェリル酢酸塩、トコフェリルリノレン酸塩、イソプロピルパルミテート、オレアミド、ポリオキシエチレンラウリルエーテル、ポリオキシエチレンオレイルエーテルおよびポリオキシエチレンオレイルエーテル等が挙げられる。本実施例では皮膚透過エンハンサーを約0.01重量%～約5重量%用いる。

30

【0053】

本実施例における本発明の経皮送達系は適切な基材に適切なキャリアを塗布する従来方法を用いて調製できる。例えば、下記方法で粘着性D I T P Aデバイスを製造できる。すなわち、D I T P Aおよびその他の必要な任意成分を含む溶剤系に接着剤の溶液を混合して均質な溶液または懸濁液の配合物とし、得られた配合物を基材または裏地等の下地上にナイフまたは棒を用いて塗布するか、押出しコーティングし、被覆された基材を乾燥して溶剤を除去し、露出表面を裏地または基材に張り合わせる。

40

当業者は以下の臨床研究によって本発明方法とその使用法、好ましい実施例をより良く理解できよう。しかし、本発明が以下の臨床実験に限定されるものではない。

【0054】

臨床研究

以下の臨床研究ではD I T P Aをボランティアおよび患者に経口投与した。D I T P Aは

50

正規の薬剤師の監視下で乳糖と混合され、50 mgの活性成分を含むゼラチンカプセルに包装した。また、同一のカプセルに乳糖を包装して偽薬として用いた。

7人の健常なボランティアに対して投与量の研究を実施した。研究参加者は18～65歳の年齢の男性で、研究に参加する前に完全な健康診断、心電図および心エコー図の検査を実施した。全血球算定(CBC)、血液化学検査(肝酵素および脂質のプロフィール)および甲状腺機能検査(全T₃、全T₄、フリーT₄、rT₃、および甲状腺刺激ホルモン)を測定した。

【0055】

第1日目に健常ボランティアに対して1.875 mg/kgを1日に2回に分けて投与した。この投薬計画を2週間続けた。2週間終了時に最初の実験室研究を繰返した。次に、投与量を2倍の3.75 mg/kgにしてボランティアに対する投薬をさらに2週間続けた。この2週間の終了時にも健康診断および全ての実験変数を再度測定した。

10

【0056】

ボランティアのデータをスチューデントTテスト(Student's paired t-test)を用いて分析した。DITPAおよび偽薬グループのベース値(基準値)のデータはアンペアースチューデントTテストで比較した。偽薬グループおよび薬物処置グループの比較は反復測定ANOVA(SPSS Version 9.5, SPSS Chicago, 11)によって実施した。薬物-時間の相互作用に対するP値が有意な場合には2週間の薬物-時間相互作用とベース値とのアプリアオリ対照を実施した。ベース値と4週間のデータしか得られない場合には差スコアで比較した。各参加者のベース値を4週間の投薬後の値から引き、DITPAと偽薬による処置の違いを比較した。テストでP値が0.05以下の場合有意とみなされる。

20

下記の[表1]は健常なボランティアにDITPAを投与した後の臨床変数をまとめたものである。上記の通り、7人の健常ボランティアに2つの投与量で2週間および4週間の間DITPAを投与した。

【0057】

【表1】

	基準値	2 週間の 治療後	P 値 *	4 週間の 治療後	P 値 +	
年齢	44.3±3.3					
体重 (kg)	84.2±2.6	83.5±2.6	0.08	83.6±2.6	0.13	10
心拍数 (拍動/分)	55.4±2.9	58.1±3.2	0.93	64.3±3.4	0.15	
収縮期 血圧 (mmHg)	121.3±4.4	122.0±5.4	0.86	116.3±6.1	0.20	
拡張期 血圧 (mmHg)	77.1±3.5	76.1±2.9	0.81	71.6±3.8	0.31	20

データは平均±S E。

* 基準値対2週間値のTテストに対するP値。

+ 基準値対4週間値のTテストに対するP値。

【0058】

下記の〔表2〕は健常ボランティアに2週間および4週間、D I T P A処置をした後の甲状腺ホルモンの測定値をまとめたものである。

【0059】

【表2】

	基準値	2週間の 治療後	P 値 *	4週間の 治療後	P 値 +
甲状腺刺激 ホルモン ($\mu\text{U/L}$)	3.53 \pm 1.00	0.69 \pm .38	0.04	0.44 \pm .29	0.03
全 T_4 ($\mu\text{g/dL}$)	8.73 \pm .85	5.76 \pm .39	0.02	5.89 \pm .44	0.04
フリー T_4 (ng/dL)	1.04 \pm .04	0.95 \pm .07	0.30	1.05 \pm .06	0.94
全 T_3 (ng/dL)	1.06 \pm .06	ND		ND	
r T_3 (ng/dL)	23.23 \pm 1.71	47.41 \pm 7.11	0.02	69.56 \pm 9.93	0.004

データは7人の健常ボランティアの平均 \pm SEM。

ND=未実施。

* 基準値対2週間値のTテストに対するP値。

+ 基準値対4週間値のTテストに対するP値。

10

20

【0060】

甲状腺刺激ホルモン、フリー T_4 およびr T_3 の血漿濃度は基準値では正常であった。医薬を少ない投与量(1.875mg/kg)で2週間投与した後は甲状腺刺激ホルモン(P=0.04)および全 T_4 (P=0.02)は有意に減少したが、フリー T_4 は変化しなかった。逆 T_3 は有意に増加した(P=0.02)。投薬開始後、DITPAは免疫学的検定法で交差反応をしたため、全 T_3 は測定しなかった。

多い投与量(3.75mg/kg)で投与した追加の2週間後には甲状腺刺激ホルモンの平均値はさらに下がって0.44 \pm 0.29 $\mu\text{U/mL}$ (P=0.03)となった。この値は実験値の正常範囲(0.48~4.0 $\mu\text{U/mL}$)の下限であった。投薬中、全被験者はそれぞれ日常生活を続けており、副作用は全く見られなかった。

30

【0061】

この本発明の予備研究の第1段階は、健常なボランティアへのDITPA投与が十分に許容されるもので、いずれの投与量でも血圧および心拍数に有意な変化をもたらさないことを示している。被験者には心エコー検査のパラメータにも有意な変化は見られなかった。甲状腺刺激ホルモンのレベルは両方のDITPA投与量で減少したが血漿 T_4 は正常範囲内のままであった。DITPAが抗 T_3 抗体と交差反応したため全 T_3 は投薬中に測定できなかった。しかし、逆 T_3 は実質的に上昇した。r T_3 が上昇するメカニズムは不明であるがDITPAによる酵素5'-脱モノヨードの競合阻害によって T_4 から T_3 への変換とr T_3 の破壊を触媒するのを示していると思われる。健常なボランティアに副作用が全く見られなかったため、本出願人は中程度の心不全の患者群にDITPAの投与を実施した。

40

【0062】

DITPAの安全性が確立された後、臨床研究を行ってうつ血性心不全の治療にDITPAが有効なことを確認した。この臨床研究には心不全の症状があって駆出分画が35%以下の患者が適している。患者は洞律動状態である必要がある。ジギタリス、アンギオテンシン変換酵素阻害剤および利尿剤による治療は許されるが、抗アドレナリン作用薬は許めない。

偽薬群の3人の患者とDITPAを投薬した一人の患者がHMG-CoA還元酵素阻害剤を服用していた。アミオダロンを服用していたり、不安定狭心症、6ヶ月以内の心筋梗塞

50

、重篤な大動脈弁狭窄症、肝不全または腎不全、貧血（赤血球容積率＜30％）、先在性甲状腺疾患、ヨウ素過敏、活性癌、その他の生死にかかわる疾病を罹っている患者は除いた。

【0063】

治療開始前に全ての患者を入院させ、右心カテーテル検査、放射線核種駆出分画および心エコー図を実施した。血清サンプルを採取して甲状腺刺激ホルモン、全 T_4 、フリー T_4 および逆 T_3 を測定した。

DITPAが T_3 の検出抗体と交差反応したため、 T_3 は測定しなかった。腎・肺機能テストも実施した。患者を2重盲検でランダムに分け、毎日1.875 mg/kgのDITPAまたは偽薬を2回または3回に分けて投与した。最初の4日間の投薬時に患者をテレメータ装置で観察した。その後、心電図を毎週撮り、患者の甲状腺または心臓の状態の変化或いは薬物毒性の徴候等を検査した。

10

【0064】

2週間の最後にも心エコー図を撮った。心不全の進行または不整脈が発症する臨床的徴候がなければDITPAの投与量を一日3.75 mg/kgに増加した。増えた投与量でさらに2週間治療した後、患者を再び病院に呼び、最初の測定で実施したテストを繰り返した。

2.5 MHzの変換器（GE VingMed, Milwaukee, WI）を備えた超音波診断装置を用いてアメリカ心エコー図学会の推奨に従ってM-モード、2次元およびドップラー心エコー図を撮った。ゲート付き放射性核種心筋イメージングによって駆出分画（ejection fraction）を測定した。

20

【0065】

患者を一晩絶食させた後に右心カテーテル法を実施した。前投薬はなかった。右大腿静脈に導入した7Fr Swan-Ganzカテーテルを用いて肺動脈、肺毛細血管楔入圧および右心圧を測定した。自動血圧計バンド（arm cuff system）を用いて血圧を記録した。初期安定時間の20～30分後、安静時血行動態の測定値を得た。熱希釈心拍出量の測定値は最大値と最小値を除いて5つの記録を平均して得た。全ての血液検査は南アリゾナ退役軍人局健康医療システムの臨床病理学研究所で実施した。

【0066】

22人の患者に初期右心カテーテル法を行い、ランダムに分け、目的の医薬または偽薬を与えた。19人の患者が研究を完了した（平均年齢61.6歳、範囲47～76歳）。NYHA心機能分類による患者の機能クラスはII（n=12）とIII（n=7）であった。患者の一人は拡張型心筋症であった。残りの患者は冠状動脈疾病であり、この疾病はうっ血性心不全の病因である可能性が高いと考えられる。偽薬を与えた患者の一人が亡くなった。DITPA群の患者の一人は腹痛のため研究から抜けた。後で胆石症であることが分かった。

30

【0067】

残りの患者は自発的に研究から抜けたか、服薬不履行であった。2つのグループのベースラインの変数は駆出分画（DITPA群が低い）を除いてほぼ同じであった。治療の臨床効果を下記の[表3]に示す。

40

【0068】

【表3】

	基準値		P 値 *	2 週間の 治療後		4 週間の 治療後		P 値 +	
	偽薬	DITPA		偽薬	DITPA	偽薬	DITPA		
年齢	61.6±2.8	61.8±3.3	0.97						
体重 (kg)	85.8±3.6	98.7±6.6	0.09	86.8±10.1	98.2±19.3	89.4±9.7	94.7±18.8	0.059	
NYHA 心機能分類	2.2±0.1	2.5±0.2	0.20	2.2±0.1	2.4±0.2	2.1±0.1	2.5±0.2	1.00	10
放射性核種 駆出分画 (%)	28.7±1.9	18.1±2.4	0.003			29.1±2.8	20.6±3.2	0.72 ⁺⁺	
心拍数 (拍動/分)	76.9±3.4	81.3±4.4	0.10	72.0±5.1	83.4±6.5	73.9±4.9	82.2±4.7	0.33	
収縮期 血圧 (mmHg)	4.7±5.0	122.8±4.9	0.27	112.0±4.3	116.2±7.4	122.8±6.7	119.1±6.1	0.60	20
拡張期 血圧 (mmHg)	73.5±3.9	75.8±4.2	0.69	66.6±3.1	65.7±3.3	73.5±5.4	66.4±3.6	0.11	

データはDITPAを投薬した9人の患者と偽薬を投与した10人の患者の平均±SEである。

* DITPA対偽薬の基準値に対するTテストのP値。

+ P値はANOVA医薬-時間相互作用に関する値。

++ P値は基準値対4週間の差スコアに関する値。

【0069】

DITPAのグループでは2週間の治療後に体重変化は全くなかった。4週間後には4 kgの減少が見られた。一方、偽薬のグループでは体重増加が見られ、境界域で統計的に有意な差があった(P=0.059)。NYHA心機能分類または放射性核種駆出分画の変化は見られなかった。平均の収縮期圧および拡張期圧は減少したが、統計的に有意ではなかった。

【0070】

【表4】

	基準値		P 値 *	2 週間の 治療後		4 週間の 治療後		P 値 +
	偽薬	DITPA		偽薬	DITPA	偽薬	DITPA	
心臓の大きさ および形								
LV 収縮末期径 (c m)	5.64±0.27	5.72±0.41	0.87	5.57±0.33	5.87±0.30	5.92±0.28	6.01±0.33	0.85
LV 拡張期径 (c m)	6.73±0.19	6.84±0.33	0.78	6.81±0.26	6.83±0.35	7.00±0.23	6.96±0.30	0.71
LV 容量 (g)	492.7±73.3	495.8±45.9	0.97	429.4±37.2	474.2±38.2	461.7±32.9	477.9±40.5	0.75
心臓収縮機能								
心収縮力 (%)	16.7±2.1	17.0 ±3.5	0.95	18.6±2.5	13.8±2.4	15.5±2.0	13.8±2.5	0.39
収縮速度 (循環/秒)	0.64±0.07	0.69±0.15	0.74	0.67±0.07	0.55±0.09	0.58±0.07	0.57±0.10	0.49
心臓拡張機能								
等容性弛緩 (m秒)	94.0±7.0	92.2±9.5	0.88	107.7±7.8	87.5±9.2**	109.0±8.2	84.4±8.5	0.045
初期対後期 充満率	1.08±0.16	1.10±0.21	0.97	1.05±0.15	0.89±0.17	1.03±0.18	1.16±0.26	0.56

10

データはDITPAを投薬した9人の患者と偽薬を投与した10人の患者の平均±SE。

20

* DITPA群対偽薬群の基準値に対するTテストのP値。

+ P値はANOVA医薬-時間相互作用に関する値。

++ 2週間に対する基準値のANOVA対照、P=0.0051

【0071】

心エコーのデータを[表4]に示す。2週間または4週間の治療後にDITPAは心室の質量または寸法に有意な変化をもたらさなかった。心臓収縮の徴候、例えば心収縮力(fractional shortening)および基礎層板繊維の縮力(circumferential fiber shortening)の速度は変化しなかった。しかし、等容性弛緩時間すなわち活性心臓拡張の測定値は2週間(P=0.05)および4週間(P=0.045)の治療後に有意に減少した。初期および後期の心臓拡張性の心室充満率は変化しなかった。

30

【0072】

【表5】

変数	基準値		P 値 *	4 週間の 治療後		P 値 +
	偽薬	DITPA		偽薬	DITPA	
心拍数	73.4±5.0	84.8±4.9	0.12	72.0±6.3	89.6±5.3	0.16
肺動脈圧 (mm Hg)						
心臓収縮	42.4±4.2	45.0±6.2	0.72	44.9±6.4	49.1±5.3	0.80
心臓拡張	20.9±3.0	25.1±4.1	0.41	22.2±3.0	25.4±2.5	0.94
平均	28.9±3.3	30.1±5.0	0.84	30.1±3.9	33.4±3.2	0.61
ウェッジ	18.0±2.5	24.0±3.9	0.20	21.1±3.2	21.8±2.75	0.13
右動脈圧 (mm Hg)	9.9±1.7	8.1±1.7	0.47	10.7±1.4	10.5±1.8	0.36
心拍出量 (リットル/分)	5.06±0.36	4.50±0.36	0.30	4.98±0.25	5.30±0.36	0.07
心臓指数 (リットル/分/m ²)	2.51±0.17	2.10±0.14	0.09	2.44±0.11	2.54±0.16	0.04
平均動脈圧 (mm Hg)	91.4±3.3	96.2±6.7	0.51	92.0±4.1	92.0±5.7	0.44
体血管抵抗 (ダイン×秒×cm ⁻⁵)	2,685±165	3,465±319	0.04	2,700±159	2,644±257	0.02

データはDITPAを投薬した9人の患者と偽薬を投与した10人の患者の平均±SE。

* DITPA群対偽薬群の基準値に対するTテストのP値。

+ P値は4週間でのDITPA群対偽薬群の差スコアに対する値。

【0073】

DITPAを用いた治療の血流動態変数に対する効果を[表5]に示す。DITPAを用いた4週間の治療後に心拍数、肺動脈圧または右動脈圧には全く影響が見られなかった。しかし、DITPAを投与した患者の安静時の心拍出量および心臓指数の群平均値は偽薬治療群と比べて有意に増加した(それぞれ $P = 0.07$ および $P = 0.02$)。これにはDITPA群の体血管抵抗指数の減少($P = 0.02$)を伴っている。それに対して心拍出量、心臓指数および末梢抵抗は4週間の偽薬投薬後も変化しなかった。

【0074】

【表6】

10

20

30

	基準値		P 値 *	2 週間の 治療後		4 週間の 治療後		P 値 +
	偽薬	DITPA		偽薬	DITPA	偽薬	DITPA	
甲状腺刺激 ホルモン (mIU/L)	1.65±0.2	2.47±0.6	0.17	1.85±0.3	0.04±0.01 ⁺⁺	2.13±0.3	0.018±0.0004	<0.001
フリー T ₄ (ng/dL)	1.19±0.1	1.19±0.1	0.96	1.18±0.08	1.17±0.1	1.12±0.1	1.17±0.15	0.72
逆 T ₃ (ng/dL)	236±23	197±27	0.29	207±15	477±83 ⁺⁺	237±61	559±108	0.002
コレステ ロール (ng/dL)	183.0±10.5	198.9±19.7	0.49	198.7±10.4	160.6±14.3 ⁺⁺	181.9±12.3	140.7±16.2	0.013
LDL コレステ ロール (mg/dL)	117.9±7.5	115.8±15.8	0.91	122.5±10.3	89.4±12.7	106.1±10.2	80.5±13.7	0.235
HDL コレステ ロール (mg/dL)	32.4±2.9	32.8±2.8	0.94	36±3.2	30.6±2.0	34.8±5.0	31.4±3.1	0.055
トリグリ セリド (mg/dL)	163.4±29.2	248.7±40.4	0.11	218.7±40.2	203.0±30.4 ⁺⁺	204.3±53.9	143.7±21.1	0.005

10

20

データはDITPAを投与した9人の患者と偽薬を投与した10人の患者の平均±SE。

* DITPA群対偽薬群の基準値に対するTテストのP値。

+ P値はANOVA薬物-時間相互作用に関する値。

++ 基準値対2週間のANOVA対照、P<0.05

【0075】

[表VI]に示すように、甲状腺刺激ホルモン、フリーT₄およびrT₃の血清濃度は基準値において治療群と参照群との間に有意な差は見られなかった。甲状腺刺激ホルモンおよびフリーT₄の値は正常範囲であったが、rT₃の値は両群において高かった。2週間後、DITPAを投与した患者の甲状腺刺激ホルモン量は大きく減少し、4週間の治療後にはこれがより明確になった。偽薬群では甲状腺刺激ホルモンはどちらの場合も変化がなかった。DITPAを用いた治療ではフリーT₄に有意な変化をもたらさなかった。しかし、rT₃は2週間および4週間の治療後に漸進的に増加した。

30

【0076】

血清脂質量に対するDITPAおよび偽薬の効果を[表6]に示す。DITPAで2週間治療した後、基準値での185.8±46.9mg/dLから160.6±14.3mg/dL(P<0.05)へとコレステロール値に有意な減少が見られた。DITPAで4週間治療した後はさらに減少し、140.7±16.2mg/dL(P=0.013)となった。LDL-コレステロール値は107.3±42.8mg/dL(基準値)から89.4±12.7mg/dL(2週間)、さらに80.5±13.7mg/dL(4週間)となった。4週間治療した9人中8人の患者においてLDLコレステロールは減少したが、反応の程度は変動性であり、ANOVA値は統計的に有意ではなかった(P=0.235)。HDLコレステロールはDITPAによる治療と共に下降したが、統計的有意性は得られなかった。血清の中性脂肪は基準値ではDITPA治療群で高かったが、2週間の治療後には11%(P<0.05)、4週間後には35%(P=0.005)減少した。こうした血清脂質の変化は偽薬群の患者には全く見られなかった。

40

【0077】

甲状腺機能低下症での甲状腺ホルモン補充はLDLコレステロール受容体およびリオタンパク質リパーゼの活性を大きくし、コレステロール値を下げると考えられる。しかし、D

50

I T P A がコレステロール値を下げる作用を有することに関する臨床試験は実施されたことはなかった。D I T P A を投与したグループでの 2 週間後のコレステロールおよび L D L コレステロールの平均減少率はそれぞれ 1 4 % および 1 7 % であった。4 週間の治療後にはコレステロールおよび L D L コレステロールはそれぞれ 2 4 % および 2 5 % 減少した。

【 0 0 7 8 】

基準値における血清脂質は両方のグループで高く、D I T P A で 2 週間および 4 週間治療すると減少した。2 次的疾患として冠動脈疾患を罹患している多くの心不全患者に投与した場合の D I T P A の脂質低減効果がこの医薬の有用性である。

【 0 0 7 9 】

心不全患者における D I T P A の主たる血流力学的効果には心臓指数の増加と体血管抵抗の低下が挙げられる。これらの変化は安静時の心拍数を増加せずに起こる。基準値でのゲート付き放射性核種の駆出分画は D I T P A の治療群の方が偽薬群より小さく、研究中に有意な変化は見られなかった。未変化の駆出分画および収縮機能の心エコーパラメータから判断すると、L V 収縮機能は D I T P A 治療で影響を受けないと考えられる。しかし、等容性弛緩時間の短縮で確認されたように心臓拡張機能はほぼ一様に改善が見られた。健康ボランティアに心エコーの変化が見られなかったことから、D I T P A 治療は心機能の低下を改善するが、正常な心臓の心機能には刺激を与えないということが分かる。

【 0 0 8 0 】

実験から D I T P A は甲状腺ホルモンより代謝反応が小さく、正常な被験者に寛容であることが示されるので本発明は虚血性心疾患の患者に向いている。本発明医薬はこの患者群にも十分に寛容であり、不整脈は全く起こらなかった。狭心症の発作の頻度または重症度は全く変わらず、甲状腺機能亢進症の臨床的徴候も見られなかった。

以上、本発明の好ましい実施例を詳細に説明したが、当業者は多くの改良および変更を加えることができる。従って、請求の範囲の全ての改良および変更は本発明の範囲内である。

10

20

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
8 August 2002 (08.08.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/060389 A2

- (51) International Patent Classification: A61K (74) Agents: REGELMAN, Dale, F.; Hayes Soloway P.C., 130 W. Cushing Street, Tucson, AZ 85701 et al. (US).
- (21) International Application Number: PCT/US02/03162
- (22) International Filing Date: 31 January 2002 (31.01.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
09/774,994 31 January 2001 (31.01.2001) US
- (71) Applicant: THE ARIZONA BOARD OF REGENTS on behalf of THE UNIVERSITY OF ARIZONA [US/US]; Suite 230, 2020 N. Central Avenue, Phoenix, AZ 85004 (US).
- (71) Applicants and
(72) Inventors: GOLDMAN, Steven [US/US]; 4425 W. Flying Diamond, Tucson, AZ 85742 (US); PENNOCK, Gregory, D. [US/US]; 4442 E. River Oak Trail, Tucson, AZ 85718 (US).
- (72) Inventors: MORKIN, Eugene; 6602 N. Catalina Avenue, Tucson, AZ 85718 (US); BAHL, Joseph, J.; 1700 E. 12th Street, Tucson, AZ 85719 (US).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
without international search report and to be republished upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/060389 A2

(54) Title: METHOD TO TREAT CHRONIC HEART FAILURE AND/OR ELEVATED CHOLESTEROL LEVELS USING 3,5-DIIODOTHYROPYROPIONIC ACID AND METHOD TO PREPARE SAME

(57) Abstract: Applicants' invention includes a method to treat a patient having congestive heart failure by administering a therapeutically effective amount of 3,5-diiodothyropropionic acid. Applicants' invention further includes a method to lower cholesterol blood levels of a patient by administering a therapeutically effective amount of 3,5-diiodothyropropionic acid. Applicants' invention further includes a synthetic method to prepare 3,5-diiodothyropropionic acid.

WO 02/060389

PCT/US02/03162

**METHOD TO TREAT CHRONIC HEART FAILURE AND/OR ELEVATED
CHOLESTEROL LEVELS USING 3,5-DIODOETHYROPIONIC ACID
AND METHOD TO PREPARE SAME**

Field Of The Invention

The present invention relates to a treatment for patients having congestive heart failure and/or elevated cholesterol blood levels by administering a therapeutically effective amount of 3,5-Diiodothyropropionic acid. The present invention further relates to a synthetic method to prepare 3,5-Diiodothyropropionic acid.

Background Of The Invention

Congestive heart failure continues to be a major health problem, affecting about 4.6 million people in the United States, and its prevalence is predicted to increase over the next several decades. The magnitude of heart failure as a clinical problem has placed emphasis on the need to develop new treatment strategies.

One approach that has emerged is the use of thyroid hormone, which has unique physiologic and biochemical actions that make it a novel and potentially useful agent for treatment of heart failure. Thyroid hormone has been shown to act at the transcriptional level on the content of myocardial calcium cycling proteins to stimulate calcium uptake by sarcoplasmic reticulum. In addition, thyroid hormone causes a reciprocal shift in cardiac myosin heavy chain (MHC) isoform expression, increasing the expression of the high activity V_1 isoform and decreasing the low activity V_3 form. These biochemical alterations may underlie the ability of thyroid hormone to increase the rates of ventricular pressure development and relaxation.

Thyroid hormones include the L-forms of thyroxine (3,5,3',5'-L-thyronine; hereinafter thyroxine or T_4) and triiodothyronine (3',3,5-L-triiodothyronine; hereinafter triiodothyronine or T_3). 3',5',3-L-Triiodothyronine (hereinafter Reverse T_3 or rT_3), is a normal metabolite of T_4 . T_4 is synthesized in the thyroid gland and is the circulating form of hormone found in plasma. Although small amounts of T_3 are synthesized by the thyroid gland, the majority is formed from the metabolism of thyroxine in peripheral tissues by the enzyme 5'-monodeiodinase. The molecular basis for the actions of thyroid hormones is thought to be mediated through the binding of T_3 to chromatin-bound nuclear receptors. There are two major subtypes of the thyroid hormone receptor, $TR\alpha$ and $TR\beta$, which are the products of two different genes.

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 These genes are members of the *c-erbA* protooncogene family and are related to a
2 large number of steroid and peptide hormone receptors collectively known as the
3 steroid-thyroid hormone superfamily. The TR α and β subtypes are differentially
4 expressed in various tissues.

5 Thyroxine, synthesized by methods such as described in U.S. Pat. No.
6 2,803,654, is the principle thyroid hormone in current clinical use. This is largely
7 because of its long half-life of 6-7 days. Triiodothyronine, which is less strongly
8 bound to plasma proteins and has a more rapid onset of action, is available for
9 intravenous administration. However, T₃ has a relatively short half-life of two days or
10 less.

11 Numerous studies have been carried out to synthesize thyroid hormone
12 analogs that mimic the actions of the natural hormones. The objective of most of
13 these efforts has been to develop thyromimetics that lower plasma cholesterol without
14 adverse cardiac effects. A series of thyroxine analogs and methods of synthesis are
15 described in U.S. Pat. No. 3,109,023.

16 Thyroid hormone agonists that are highly selective for the thyroid hormone
17 receptor β subtype are described in U.S. Pat. No. 5,883,294. U.S. Pat. No. 5,284,971
18 describes a class of thyromimetics, which have the distinguishing characteristic of a
19 sulfonyl bridge in the diphenyl core.

20 A more recent development has been the use of thyroid hormones for the
21 treatment of cardiovascular compromise. A method for the treatment of patients with
22 sudden (acute) cardiovascular compromise by administration of thyroid hormone is
23 described in U.S. Pat. No. 5,158,978. The method teaches administration of T₄ and T₃
24 after cardiac arrest by injection into a vein, a central venous catheter, into the
pulmonary circulation or directly into the heart.

Short-term intravenous administration of T₃ to patients with advanced
congestive failure has been shown to improve cardiac output and decrease arterial
vascular resistance. Oral administration of L-thyroxine also has been shown to
improve cardiac performance and exercise capacity in patients with idiopathic dilated
cardiomyopathy when given for two weeks and 3 months. Although the number of
patients in these studies was small, the results were generally favorable and

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 established the basis for further investigation into the safety and potential benefits of
2 treatment of heart failure with thyroid hormone or thyroid hormone analogs.

3 Because of potential adverse effects of thyroid hormone, such as metabolic
4 stimulation and tachycardia, what is required are thyroid hormone analogs with fewer
5 undesirable side effects. Applicants have found that 3,5-Diiodothyropropionic acid
6 (DITPA) is a thyroid hormone analog that increases cardiac performance with
7 approximately half of the chronotropic effect and less metabolic stimulation than L-
8 thyroxine. Like thyroid hormone, DITPA binds to nuclear T₃ receptors of the *c-erbA*
9 proto-oncogene family. DITPA has been shown to improve left ventricular (LV)
10 performance in post-infarction experimental models of heart failure when
11 administered alone or in combination with an angiotensin I-converting enzyme
12 inhibitor.

13 In addition to its well-known chronotropic and inotropic actions on the heart,
14 thyroid hormone decreases arterial resistance, venous resistance and venous
15 compliance. The net effect of these changes is to increase cardiac output more than
16 arterial pressure, resulting in decreased calculated arterial vascular resistance. When
17 used in experimental models of heart failure DITPA acts similarly to thyroid
18 hormone, affecting both the heart and the peripheral circulation. Loss of the normal
19 increase in contractility with heart rate, referred to as the positive force-frequency
20 relationship, has been reported both in failing human myocardium and in animal
21 models of heart failure. DITPA administration prevents the flattened contraction-
22 frequency relationship in single myocytes from infarcted rabbit hearts. DITPA
23 improves myocyte function, enhances calcium transport in the sarcoplasmic reticulum
24 (SR) and prevents the down regulation of SR proteins associated with post-infarction
heart failure in rabbits. In normal primates, DITPA enhances the *in vivo* force-
frequency and relaxation-frequency relationships in a manner similar to thyroid
hormone. DITPA is able to bring about these hemodynamic changes without
increasing cardiac mass appreciably or adversely affecting ventricular dimensions. A
morphometric analysis indicates that in post-infarction rats treated with DITPA there
is an increase in capillary growth in the border zone around the infarct.

WO 02/060389

PCT/US02/03162

Summary of the Invention

Applicants have found that 3,5-Diiodothyropropionic acid (DITPA) is a thyroid hormone analog that increases cardiac performance with approximately half of the chronotropic effect and less metabolic stimulation than L-thyroxine. Like thyroid hormone, DITPA binds to nuclear T₃ receptors of the *c-erbA* proto-oncogene family. DITPA has been shown to improve left ventricular (LV) performance in post-infarction experimental models of heart failure when administered alone or in combination with an angiotensin I-converting enzyme inhibitor.

In addition to its well-known chronotropic and inotropic actions on the heart, thyroid hormone decreases arterial resistance, venous resistance and venous compliance. The net effect of these changes is to increase cardiac output more than arterial pressure, resulting in decreased calculated arterial vascular resistance.

When used in experimental models of heart failure DITPA acts similarly to thyroid hormone, affecting both the heart and the peripheral circulation. Loss of the normal increase in contractility with heart rate, referred to as the positive force-frequency relationship, has been reported both in failing human myocardium and in animal models of heart failure. DITPA administration prevents the flattened contraction-frequency relationship in single myocytes from infarcted rabbit hearts. In normal primates, DITPA enhances the *in vivo* force-frequency and relaxation-frequency relationships in a manner similar to thyroid hormone. DITPA is able to bring about these hemodynamic changes without increasing cardiac mass appreciably or adversely affecting ventricular dimensions. A morphometric analysis indicates that in post-infarction rats treated with DITPA there is an increase in capillary growth in the border zone around the infarct.

A dose-ranging study of DITPA was performed in seven normal volunteers. After establishing that the drug was well tolerated, a double-blind comparison of the effects of DITPA versus placebo was carried out in 19 patients with congestive failure.

Detailed Description Of The Preferred Embodiments

In overview, DITPA was synthesized following good manufacturing procedures by coupling dianisoleiodium trifluoroacetate with ethyl-3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)-propionate followed by removal of the methyl and ethyl protective

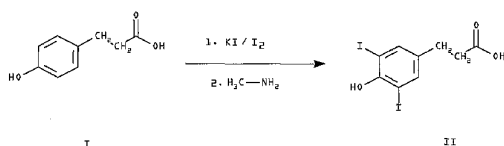
WO 02/060389

PCT/US02/03162

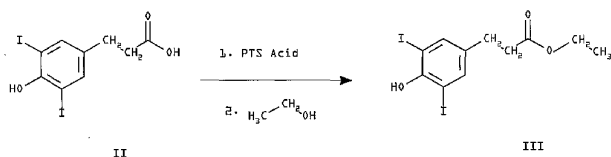
groups. This coupling strategy does not produce T₃ or T₄ as by products because the compound giving rise to the outer ring does not contain iodine and the side chain of the inner ring reactant lacks an amino group.

The structure of the DITPA prepared using this synthetic route was authenticated by proton magnetic resonance and its purity was checked by reverse phase HPLC. The principle impurity was identified as the ethyl ester of DITPA. Only batches of the final compound with greater than 95% purity were used in this study.

Applicants' synthesis of DITPA uses 3-(4-hydroxyphenyl)-propionic acid, compound I shown below, as a starting material. In a first synthetic step, compound I is reacted with potassium iodide / iodine, and then with methylamine, to form 3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)propionic acid, compound II.



Compound II is next reacted with ethanol, using p-toluenesulfonic acid as a catalyst, to form ethyl-3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)propionate, compound III.

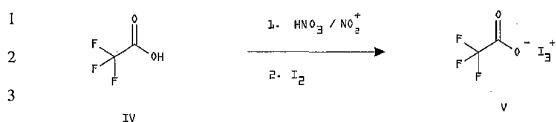


Compound III is subsequently reacted with coupling agent dianisoleiodonium trifluoroacetate.

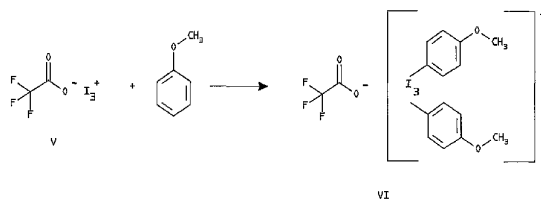
Coupling agent dianisoleiodonium trifluoroacetate is prepared by first reacting trifluoroacetic acid, compound IV, with red fuming nitric acid and iodine to form iodine(III)trifluoroacetate, compound V.

WO 02/060389

PCT/US02/03162



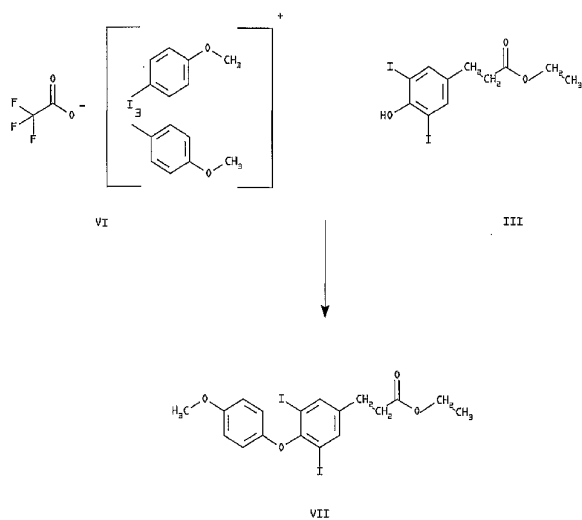
In a subsequent step, compound V is reacted with anisole, i.e. methoxybenzene, to form dianisoleiodonium trifluoroacetate, compound VI. Applicants use trifluoroacetate as the counterion in compound VI because use of other counterions results in compounds that are more hygroscopic, and therefore, likely have limited shelf lives.



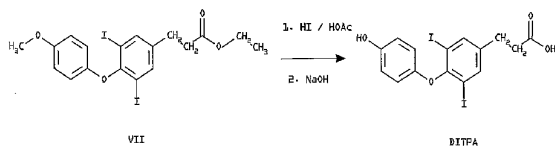
Ethyl-3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)propionate, compound III, is next reacted with dianisoleiodonium trifluoroacetate, compound VI, to form ethyl-3-(4'-methoxy-3,5-diiodothyro)propionate, compound VII.

WO 02/060389

PCT/US02/03162



15
16 In the final-step of Applicants' synthetic method, ethyl-3-(4'-methoxy-3,5-
17 diiodothyro)propionate, compound VII, is reacted with hydrogen iodide and glacial
18 acid to hydrolyze both the ethyl ester and the methyl ether to give DITPA.



22 The following examples are presented to further illustrate to persons skilled in
23 the art how to synthesize DITPA. These examples are not intended as limitations,
24 however, upon the scope of Applicants' invention, which is defined only by the
appended claims.

WO 02/060389

PCT/US02/03162

EXAMPLE 1**Synthesis of 3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)propionic acid**

Step 1: Weigh out 50 g of KI. Transfer to the pressure equalizing dropping funnel with a closed stopcock and add 60 ml of H₂O and swirl until the salt is dissolved. Weigh 52 g of I₂ and add to the dropping funnel, swirl until completely dissolved. Add 90 ml of H₂O (total of 150 ml) and stopper the dropping funnel. Place in a secure location and go on to step 2.

Step 2: Weigh 16.2 g of 3-(4-hydroxyphenyl)-propionic acid and transfer into a 1.0 liter round bottom flask. Add a magnetic stir bar, 100 ml of 40% aqueous methylamine and 100 ml of H₂O. Stopper the flask. Clamp the flask above the magnetic stirrer and stir at a controlled rate until everything dissolves.

Step 3: Remove the stopper and replace it with the dropping funnel. Open the stopcock so that the iodine solution drips into the round bottom flask during a period of approximately 20 minutes. Allow the reaction to stir for 10 minutes after the addition is complete.

Step 4: Filter the reaction mixture, then pour into a 1 liter beaker and acidify with 2 N HCl (approximately 440 ml). Filter the resulting precipitate and rinse with cold H₂O. Cover the product with a piece of filter paper and dried overnight with suction.

Step 5: Recrystallize the product from ethanol. The ethanol has significant amounts of monoiodinated compound. Determine the product weight and melting point.

WO 02/060389

PCT/US02/03162

EXAMPLE 2**Synthesis of Ethyl-3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)propionate**

Step 1: Weigh 100 g of 3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)propionic acid, transfer into a 500 ml round bottom flask, and add a magnetic stir bar. Add 15 ml of absolute ethanol and mix. Add 2.0 g of p-toluenesulfonic acid and then 150 ml of chloroform. Clamp the round bottom flask and place in the oil bath, but do not turn on the heat. Set up an Allihn condenser and a complete distillation assembly with a condenser to be cooled with recirculating ice water.

Step 2: With the recirculating pump running and a bucket of extra ice near by turn on the oil bath (setting 40 on the Variac). Adjust the Variac setting so that the distillation proceeds slowly (the total time for this esterification is 6-8 hours). After collecting 100 ml (approximately 2 hours) add an additional 15 ml of absolute ethanol and 100 ml of chloroform. When the next 100 ml is collected add chloroform only and continue to distill off the chloroform. When it is believed that the amount of chloroform that remains is not great turn off the Variac and allow the flask to cool.

Step 3: Add enough chloroform to bring the total volume to 100 ml. Transfer to a separatory funnel with the stopcock closed. Extract with an equal volume of a saturated sodium bicarbonate solution. Repeat the extraction with sodium bicarbonate and then extract with H₂O. Dry over calcium chloride powder. Reassemble the distillation assembly without the reflux

WO 02/060389

PCT/US02/03162

column. After adding dry ice to the trap, remove the remaining chloroform under low pressure.

Step 4: Collect and weigh the product.

EXAMPLE 3

Synthesis of Iodine(III)trifluoroacetate

Step 1: In the hood, pour 14 ml of acetic anhydride into a 250 ml round bottom flask and cool to about -15°C (dry ice and isopropyl alcohol). While stirring with a magnetic stir bar, carefully add 5.4 ml of red fuming nitric acid (90%, sp. gr. 1.51). Remove the round bottom flask from the dry ice/isopropanol bath. Weigh out 5.0 g iodine and, with the temperature below 20 °C, add the iodine to the round bottom flask together with 9.4 ml of trifluoroacetic acid. Stir the mixture for one-half hour. As the iodine dissolves, nitrous oxide is generated and the temperature increases to 40-45 °C. If the production of nitrous oxide continues, the iodine is still reacting.

Step 2 If necessary, flush out the remaining nitrous oxide with N₂ gas and then set up for low pressure distillation. With the pot temperature below 40 °C, reduce the solution to a dark viscous oil of iodine(III)trifluoroacetate.

EXAMPLE 4

Synthesis of Dianisoleiodonium trifluoroacetate

Step 1: Dissolve the iodine(III)trifluoroacetate in 30 ml of acetic anhydride. Cool to -10 °C and hold the temperature while adding a solution containing 17.4 ml anisole, 70 ml acetic anhydride, and 10 ml trifluoroacetic acid over 20 minutes. Stopper the flask and store in the refrigerator

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 overnight and then allow 3 hours to come to room
2 temperature.
3 Step 2: Vacuum distill at the lowest temperature practical.
4 A thick dark oil will remain. Note: Caution must be used
5 when adding to the acid waste from the trap or the receiving
6 flask as the reactive anhydride will rapidly and vigorously
7 react with an aqueous solution. Add diethyl ether to the oil.
8 After approximately 400 ml a precipitate appears.
9 Step 3: Filter the precipitate and wash with ice cold dry
10 diethyl ether to give the crude dianisoleidonium
11 trifluoroacetate. Recrystallize from toluene to give white
12 feathery needles (mp 134-136 °C). Weigh the product. Save
13 some of the product for NMR, if necessary, or a melting
14 point determination.

EXAMPLE 5**Synthesis of Ethyl-3-(4'-methoxy-3,5-
diiodothyro)propionate**

15 Step 1: Weigh out and combine in a 250 ml round bottom
16 flask 0.1 mole of the ethyl-3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenol)
17 propionate, 50 ml of methanol with 1.5 ml of triethylamine,
18 and 0.1 g of untarnished metallic copper powder. Add 5.9 g
19 of the dianisoleidonium trifluoroacetate to 70 ml of
20 methanol and then add this mixture to the round bottom
21 flask. A stirring bar is added, the flask stoppered and stirred
22 at room temperature for 24 hours.
23 Step 2: Filter to remove unreacted copper. Under reduced
24 pressure, remove the methanol to yield a syrup. Dissolve in
toluene. Add 1 N HCl and shake for 5 minutes. A large
amount of triethylamine will precipitate and must be
removed by filtration. Wash the organic layer in the

WO 02/060389

PCT/US02/03162

separatory funnel with 10% NaOH and the with H₂O. The organic phase is dried over sodium sulfate. Under low pressure the toluene is remove to leave the product.

Step 3: Weigh the product and prepare a sample for NMR and or HPLC analysis.

EXAMPLE 6

Synthesis of DITPA

Step 1: Weigh out 50 g of the coupled product and transfer it to a round bottom flask. Add 100 ml of HI and 100 ml of glacial acetic acid. Blanket with a very slow stream of CO₂. Reflux for 5-6 hours and add 100 ml of HI, and reflux overnight.

Step 2: Remove most of the acid with reduced pressure distillation. Add 200 ml of H₂O and adjust the pH to 5 with 1 N NaOH. The precipitate is collected by filtration. The filtrate is washed with ice cold H₂O and dried under a blanket of CO₂.

Step 3: Recrystallize the product from ethanol. Prepare a sample for NMR analysis and melting point determination.

Step 4: Store the final product in a desiccator below 0 °C in a freezer that is locked and has limited access.

Prior to administration to either human patients, or to animals, DITPA may be further compounded with one or more ingredients selected from the group consisting of a carrier, a stabilizer, an excipient, a solubilizer, an antioxidant, a pain-alleviating agent, an isotonic agent, and combinations thereof.

DITPA may be formulated in various ways such as liquid preparations, solid preparations, capsule preparations, implant preparations and the like. DITPA may be formulated for parenteral administration for injection with an appropriate conventional carrier and for oral administration with an appropriate conventional carrier. The formulation for parenteral administration for injection may be prepared

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 by conventional methods known to a person skilled in the art, such as a method
2 comprising the steps of: dissolving DITPA in an appropriate solvent such as sterilized
3 water, buffered solution, isotonic sodium chloride solution and the like; sterilizing by
4 filtration; and filling said solution to a sterilized bottle. An amount of DITPA in the
5 parenteral formulation is from about 0.0002 to about 0.2 (W/V %), and preferred
6 amount is from about 0.001 to about 0.1 (W/V %). The formulation may be prepared
7 by the conventional formulation technique.

8 DITPA may be administered in the form of inhalation or insufflation. For
9 administration by inhalation or insufflation a DITPA solution is conveniently
10 delivered in the form of an aerosol spray presentation from pressurized packs or
11 nebulizer, with the use of suitable propellants such as carbon dioxide or other suitable
12 gasses. In addition, DITPA may be administered using conventional drug delivery
13 systems well known to a person skilled in the art. Examples of the preparations for
14 drug delivery system are microspheres (nanoparticle, microparticle, microcapsule,
15 bead, liposome, multiple emulsion, etc.) and the like.

16 A stabilizer may be added to the formulation, and the examples of a stabilizer
17 include albumin, globulin, gelatin, mannitol, glucose, dextran, ethylene glycol and the
18 like. The formulation of the present invention may include a necessary additive such
19 as an excipient, a solubilizer, an antioxidant agent, a pain-alleviating agent, an
20 isotonic agent and the like. The liquid formulation may be stored in frozen condition,
21 or after removal of water by a process such as freeze-drying. The freeze-dried
22 preparations are used by dissolving in pure water for injection and the like before use.

23 Effective dosages and schedules for administering DITPA may be determined
24 empirically, and such determinations are within the skill in the art. An administration
route of the preparation may vary depending on the form of preparation. For
example, the parenteral preparation may be administered intravenously,
intraarterially, subcutaneously or intramuscularly.

In addition, DITPA may also be formulated for transdermal or implant
administration. Such long acting implantation administrations include subcutaneous
or intramuscular implantation. Thus, for example, DITPA may be formulated with
suitable polymeric or hydrophobic materials (for example as an emulsion in an

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 acceptable oil) or ion exchange resins or as sparingly soluble derivatives, for example as
2 a sparingly soluble salt.

3 Applicants' transdermal delivery system includes a carrier, such as a liquid, gel,
4 solid matrix, or pressure sensitive adhesive, into which DITPA is incorporated. In one
5 embodiment, Applicants' invention does not include a backing material. In an
6 alternative embodiment, Applicants' method includes use of a backing in combination
7 with a carrier. In this embodiment, the portions of the carrier that are not in physical
8 contact with the skin or mucosa are covered with a backing. The backing serves to
9 protect the carrier and the components contained in the carrier, including the DITPA
10 being delivered, from the environment. Backings suitable for use with Applicants'
11 method include metal foils, metalized plastic films, and single layered and multilayered
12 polymeric films.

13 In one embodiment, Applicants' method comprises transdermal delivery of
14 DITPA dissolved in a solvent system. The solvent system includes water, and optionally
15 one or more lower alcohols such as ethanol, isopropyl alcohol, propyl alcohol, and the
16 like. Preferably, such alcohols have carbon contents between 2 and about 6.

17 The solvent system may additionally include glycols such as ethylene glycol,
18 propylene glycol, glycerol, and the like. The solvent system may also include one or
19 more dialkylsulfoxides and/or dialkylsulfones. The solvent system may also include one
20 or more ketones, ethers, and esters. Examples include acetone, methylethylketone,
21 dimethylether, diethylether, dibutylether, and alkyl acetates, alkyl propionates, alkyl
22 butyrates, and the like.

23 Although solutions of DITPA are preferred, emulsions are also effective. Such
24 emulsions may be aqueous, wherein the aqueous phase is the major and continuous
phase, or non-aqueous, wherein a water-insoluble solvent system comprises the
continuous phase.

Applicants' method to treat chronic heart failure and/or lower LDL-cholesterol
levels using the transdermal delivery of DITPA is effective even without including a
substance capable of *in vivo* stimulation of adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate, and
even without including a substance capable of *in vivo* stimulation of guanosine 3', 5'-
cyclic monophosphate. In a separate embodiment of Applicants' invention, substances
such as an extract of *Coleus Forskohlii*, may optionally be included in Applicants'

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 transdermal delivery DITPA formulation at a level of between about 0.0001 weight
2 percent to about 1.0 weight percent.

3 Applicants' transdermal formulation may also contain agents known to
4 accelerate the delivery of medicaments through the skin or mucosa of animals,
5 including humans. These agents are sometimes known as penetration enhancers,
6 accelerants, adjuvants, and sorption promoters, and are collectively referred to herein
7 as "enhancers." Some examples of enhancers include polyhydric alcohols such as
8 dipropylene glycol; oils such as olive oil, squalene, and lanolin; polyethylene glycol
9 ethers and fatty ethers such as cetyl ether and oleyl ether; fatty acid esters such as
10 isopropyl myristate; fatty acid alcohols such as oleyl alcohol; urea and urea
11 derivatives such as allantoin; polar solvents such as dimethyldecylphosphoxide,
12 methyloctylsulfoxide, dimethylacetone, dimethylaurylamide, dodecylpyrrolidone,
13 isosorbitol, decylmethylsulfoxide, and dimethylformamide; salicylic acid; benzyl
14 nicotinate; bile salts; higher molecular weight aliphatic surfactants such as lauryl
15 sulfate salts. Other agents include oleic acid and linoleic acids, ascorbic acid,
16 panthenol, butylated hydroxytoluene, tocopherol, tocopheryl acetate, tocopheryl
17 linoleate, propylolate, isopropyl palmitate, oleamide, polyoxyethylene lauryl ether,
18 polyoxyethylene oleyl ether and polyoxyethylene oleyl ether. In this embodiment,
19 these skin penetration enhancers are present from about 0.01 weight percent to about
20 5 weight percent.

21 Applicants' transdermal delivery system of this embodiment can be prepared
22 using conventional methods to apply an appropriate carrier to an appropriate backing.
23 For example, a DITPA-in-adhesive device can be prepared by using the following
24 method; preparing a coating formulation by mixing a solution of the adhesive in a
solvent system containing DITPA, and any other desired components, to form a
homogeneous solution or suspension; applying the formulation to a substrate such as a
backing or a release liner; using well known knife or bar or extrusion die coating
methods; drying the coated substrate to remove the solvent; and laminating the exposed
surface to a release liner or backing.

25 The following clinical studies are presented to further illustrate to persons
skilled in the art how to make and use Applicants' invention and to identify presently
preferred embodiments thereof. These clinical studies are not intended as limitations,

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 however, upon the scope of Applicants' invention, which is defined only by the
2 appended claims.

CLINICAL STUDIES

3 In clinical trials discussed below wherein DITPA was orally administered to
4 volunteers and patients, the DITPA was mixed under the supervision of a registered
5 pharmacist with lactose and packed into gelatin capsules containing 50 mg of the
6 active ingredient. Identical capsules were packed with lactose to serve as placebo
medication.

7 A dose-ranging study was performed with seven (7) normal volunteers. Study
8 participants comprised men between the ages of 18 and 65 years of age. Before
9 participating in the study, a complete physical examination, electrocardiogram, and
10 echocardiogram were obtained. A complete blood count (CBC), blood chemistries
11 (including liver enzymes and lipids profile), and thyroid function studies (total T₃,
total T₄, free T₄, rT₃, and thyrotropin) were measured.

12 On day 1, these normal volunteers were started on 1.875 mg/kg in two divided
13 doses per day. This treatment regimen was continued for two weeks. At the end of
14 the second week, the initial laboratory studies were repeated. The dose was then
15 doubled to 3.75 mg/kg and the volunteers were treated for two additional weeks. At
the end of this time physical examination and all laboratory variables again were
measured.

16 Volunteer data were analyzed using Student's paired t-test. Baseline data in
17 DITPA and placebo groups were compared by Student's unpaired t-test. Comparison
18 of placebo and drug treated groups was made by repeated measures ANOVA (SPSS
19 Version 9.5, SPSS Chicago, 11). If P values for drug-time interactions were
20 significant *a priori* contrasts were performed of the drug-time interaction for two
21 weeks versus baseline. When data were available only at baseline and four week,
22 comparisons were made by difference scores. Baseline values for each participant
23 were subtracted from values after four weeks of treatment and the differences between
DITPA and placebo treatments then were compared. P values by two-tailed testing
less than 0.05 were considered to be significant.

24

WO 02/060389

PCT/US02/03162

Table I summarizes the clinical variables following DITPA administrations in normal volunteers. As noted above, seven normal volunteers received DITPA at two dosage levels for two and four weeks.

TABLE I

	At Baseline	After 2 weeks of treatment	P Value*	After 4 weeks of treatment	P Value ⁺
Age	44.3±3.3				
Weight (kg)	84.2±2.6	83.5±2.6	0.08	83.6±2.6	0.13
Heart Rate (beats/min)	55.4±2.9	58.1±3.2	0.93	64.3±3.4	0.15
Systolic Blood Pressure (mm Hg)	121.3±4.4	122.0±5.4	0.86	116.3±6.1	0.20
Diastolic Blood Pressure (mm Hg)	77.1±3.5	76.1±2.9	0.81	71.6±3.8	0.31

Data are means ± SE.

* P values for t-test of baseline vs. 2 week values.

⁺ P values for t-test of baseline vs. 4 week values.

Table II summarizes thyroid hormone measurements after two and four weeks of treatment with DITPA in normal volunteers.

WO 02/060389

PCT/US02/03162

TABLE II

		At Baseline	After 2 weeks of treatment	P Values*	After 4 weeks of treatment	P Values ⁺
4	Thyrotropin (mU/L)	3.53±1.00	0.69±.38	0.04	0.44±.29	0.03
5	Total T ₄ (µg/dL)	8.73±.85	5.76±.39	0.02	5.89±.44	0.04
6						
7	Free T ₄ (ng/dL)	1.04±.04	0.95±.07	0.30	1.05±.06	0.94
8	Total T ₃ (ng/dL)	1.06±.06	ND		ND	
9						
10	rT ₃ (ng/dL)	23.23±1.71	47.41±7.11	0.02	69.56±9.93	0.004

Data are means ± SEM for 7 normal volunteers.

ND = Not done

* P values for t-test of baseline vs. 2 week values.

⁺ P values for t-test of baseline vs. 4 week values.

Serum concentrations of thyrotropin, free T₄, and rT₃ were normal at baseline.

After two weeks of administration of the lower dose of the drug (1.875 mg/kg)

thyrotropin (P = 0.04) and total T₄ (P = 0.02) were significantly decreased whereas

free T₄ was unchanged. Serum reverse T₃ was significantly increased (P = 0.02).

Total T₃ was not measured after starting the drug because DITPA cross-reacted in the immunoassay.

After two additional weeks of administration at the higher dose (3.75 mg/kg)

there was a further decrease in average values for thyrotropin to 0.44±0.29 µU/ml (P = 0.03). These values were at the lower limit of the normal range (0.48 to 4.0 µU/ml)

for the laboratory. All subjects continued their usual activities while receiving the drug and no adverse effects were noted.

The initial phase of Applicants' preliminary study indicated that

administration of DITPA to normal volunteers was well tolerated and caused no

significant changes in blood pressure and pulse rate at either dose of the drug. In

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 these subjects, echocardiographic parameters were not changed significantly.
2 Thyrotropin levels were decreased at both doses of DITPA administered but plasma
3 T_4 remained within the normal range. Total T_3 could not be measured during drug
4 administration because DITPA cross-reacted with the anti- T_3 antibody. Reverse T_3
5 increased substantially, however. The mechanism for the increase in rT_3 is unknown,
6 but may represent competitive inhibition by DITPA of the enzyme 5'-
7 monodeiodinase, which catalyzes the breakdown of rT_3 as well as the conversion of
8 T_4 to T_3 . Since no adverse effects were observed in normal volunteers Applicants
9 proceeded with administration of DITPA to a group of individuals with moderately
10 severe heart failure.

11 After the safety of DITPA was established, clinical trials then demonstrated
12 the efficacy of DITPA to treat chronic heart failure. Patients were eligible for
13 enrollment in these clinical studies if they had symptoms of heart failure and an
14 ejection fraction of less than 35%. Patients were required to be in sinus rhythm.
15 Treatment with digitalis, angiotensin converting enzyme inhibitors, and diuretics were
16 allowed, but β -adrenergic blocking agents were not permitted.

17 Three patients in the placebo group and one patient receiving DITPA were
18 taking an HMG-CoA reductase inhibitor. Patients were excluded from the study if
19 they were receiving amiodarone, had unstable angina, myocardial infarction within 6
20 months, significant aortic stenosis, hepatic or renal insufficiency, anemia (hematocrit
21 $<30\%$), pre-existent thyroid disease, sensitivity to iodine, active cancer or any other
22 life-threatening disease.

23 All patients were hospitalized before initiating treatment and a right heart
24 catheterization, radionuclide ejection fraction and echocardiogram were performed.
25 Serum samples were drawn for measurement of thyrotropin, total T_4 , free T_4 , and
26 reverse T_3 .

27 DITPA cross-reacted with antibodies for detection of T_3 , which consequently
28 was not measured. Renal and hepatic function tests also were performed. Patients
29 were randomly assigned in double-blind fashion to receive either DITPA at a dosage
30 of 1.875 mg/kg daily or placebo in two or three divided doses. For the first four days
31 of drug administration patients were monitored on a telemetry unit. Thereafter,

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 weekly electrocardiograms were performed and patients were examined for changes
2 in thyroid or cardiac status or evidence of drug toxicity.

3 At the end of two weeks an echocardiogram was obtained. If there was no
4 clinical evidence of progression of heart failure or development of an arrhythmia the
5 dose of DITPA was increased to 3.75 mg/kg daily. After an additional two weeks of
6 treatment with the higher dosage of the drug patients were readmitted to the hospital
7 and the tests performed in the initial evaluation were repeated.

8 M-mode, two-dimensional, and Doppler echocardiograms were obtained with
9 an ultrasonographic system equipped with a 2.5-mHz transducer (GE VingMed,
10 Milwaukee, WI) according to the recommendation of the American Society of
11 Echocardiography. Ejection fraction was measured by gated radionuclide myocardial
12 imaging.

13 Right heart catheterization was performed after the patient had been fasted
14 overnight; no premedication was given. Pulmonary artery, pulmonary capillary
15 wedge and right heart pressures were measured with a 7 Fr Swan-Ganz catheter
16 introduced into the right femoral vein. Blood pressures were recorded with an
17 automated arm cuff system. After an initial stabilization period of 20 to 30 minutes,
18 the resting hemodynamic measurements were obtained. Thermodilution cardiac
19 output measurements were averaged from five recordings after discarding the highest
20 and lowest values. All blood tests were performed in the Clinical Pathology
21 Laboratory at the Southern Arizona Veterans Administration Health Care System.

22 Twenty-two patients underwent the initial right heart catheterization and were
23 randomized to receive the subject drug or placebo. Nineteen patients completed the
24 study (mean age 61.6, range 47 to 76). Patient functional classes, according to the
New York Heart Association classification were II (n = 12), III (n = 7). One patient
had dilated cardiomyopathy. The remaining patients had coronary artery disease,
which was considered to be the most likely etiology of congestive heart failure. There
was one death in a patient receiving placebo. One patient in the DITPA group was
withdrawn because of abdominal pain and subsequently found to have cholelithiasis.

The remaining patients either voluntarily withdrew from the study or were
noncompliant. Baseline variables for the two groups were similar, except for ejection

WO 02/060389

PCT/US02/03162

fraction, which was lower in the DITPA group. The clinical effects of treatment are shown in Table III.

TABLE III

	At Baseline		P Value*	After 2 weeks of treatment		After 4 weeks of treatment		P Value ⁺
	Placebo	DITPA		Placebo	DITPA	Placebo	DITPA	
Age	61.6±2.8	61.8±3.3	0.97					
Weight (kg)	85.8±3.6	98.7±6.6	0.09	86.8±10.1	98.2±19.3	89.4±9.7	94.7±18.8	0.059
NY Heart Association functional class	2.2±0.1	2.5±0.2	0.20	2.2±0.1	2.4±0.2	2.1±0.1	2.5±0.2	1.00
Radioisotope Ejection Fraction (%)	28.7±1.9	18.1±2.4	0.003			29.1±2.8	20.6±3.2	0.72 ⁺⁺
Heart Rate (beats/min)	76.9±3.4	81.3±4.4	0.10	72.0±5.1	83.4±6.5	73.9±4.9	82.2±4.7	0.33
Systolic Blood Pressure (mm Hg)	114.7±5.0	122.8±4.9	0.27	112.0±4.3	116.2±7.4	122.8±6.7	119.1±6.1	0.60
Diastolic Blood Pressure (mm Hg)	73.5±3.9	75.8±4.2	0.69	66.6±3.1	65.7±3.3	73.5±5.4	66.4±3.6	0.11

Data are means ± SE for 9 patients receiving DITPA and 10 patients receiving placebo.

* P values for t-test of baseline values of DITPA vs. placebo.

⁺ P values are for ANOVA drug-time interaction.

⁺⁺ P values are for difference scores for baseline vs. 4 weeks.

In the DITPA group, no change in body weight occurred after two weeks of treatment. After 4 weeks there was a decrease of 4 kg while in the placebo group there was an increase in weight, resulting in a borderline statistically significant difference (P = 0.059). There were no significant changes in New York Heart

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 Association class or radionuclide ejection fraction. Average systolic and diastolic
2 pressures were decreased, but did not achieve statistical significance.

Table IV.

	At Baseline		P Value *	After 2 weeks of treatment		After 4 weeks of treatment		P Value ⁺⁺
	Placebo	DITPA		Placebo	DITPA	Placebo	DITPA	
6 Cardiac size and shape								
7 LV end-systolic dimension (cm)	5.64±0.27	5.72±0.41	0.87	5.57±0.33	5.87±0.30	5.92±0.28	6.01±0.33	0.85
8 LV diastolic dimension (cm)	6.73±0.19	6.84±0.33	0.78	6.81±0.26	6.83±0.35	7.00±0.23	6.96±0.30	0.71
9 LV mass (g)	492.7±73.3	495.8±45.9	0.97	429.4±37.2	474.2±38.2	461.7±32.9	477.9±40.5	0.75
10 Systolic Function Fractional shortening (%)	16.7±2.1	17.0±3.5	0.95	18.6±2.5	13.8±2.4	15.5±2.0	13.8±2.5	0.39
11 Shortening velocity (circ/sec)	0.64±0.07	0.69±0.15	0.74	0.67±0.07	0.55±0.09	0.58±0.07	0.57±0.10	0.49
12 Diastolic Function Isovolumic relaxation time (msec)	94.0±7.0	92.2±9.5	0.88	107.7±7.8	87.5±9.2**	109.0±8.2	84.4±8.5	0.045
13 Ratio of early to late filling	1.08±0.16	1.10±0.21	0.97	1.05±0.15	0.89±0.17	1.08±0.18	1.16±0.26	0.56

14 Data are means ± SE for 9 patients receiving DITPA and 10 patients receiving
15 placebo.

16 * P values are for t-test of baseline values for DITPA vs. placebo groups.

17 + P values are for ANOVA drug-time interaction.

18 ++ ANOVA contrast for baseline to 2 weeks P = 0.051.

19 Echocardiographic data are shown in Table IV. DITPA produced no
20 significant changes in ventricular mass or size after two weeks or four weeks of
21 treatment. Indices of systolic function, such as fractional shortening and the velocity
22 of circumferential fiber shortening were unchanged. However, isovolumetric
23 relaxation time, a measure of active diastolic relaxation, was decreased significantly
24 after two weeks (P = 0.05) and four weeks of treatment (P = 0.045). The ratio of early
to late diastolic ventricular filling was unchanged.

WO 02/060389

PCT/US02/03162

TABLE V

Variable	At Baseline		P Value*	After 4 weeks of treatment		P Value+
	Placebo	DITPA		Placebo	DITPA	
Heart Rate	73.4±5.0	84.8±4.9	0.12	72.0±6.3	89.6±5.3	0.16
Pulmonary artery pressures (mm Hg)						
Systolic	42.4±4.2	45.0±6.2	0.72	44.9±6.4	49.1±5.3	0.80
Diastolic	20.9±3.0	25.1±4.1	0.41	22.2±3.0	25.4±2.5	0.94
Mean	28.9±3.3	30.1±5.0	0.84	30.1±3.9	33.4±3.2	0.61
Wedge	18.0±2.5	24.0±3.9	0.20	21.1±5.2	21.8±2.75	0.13
Right atrial pressure (mm Hg)	9.9±1.7	8.1±1.7	0.47	10.7±1.4	10.5±1.8	0.36
Cardiac Output (liters/min)	5.06±0.36	4.50±0.36	0.30	4.98±0.25	5.30±0.36	0.07
Cardiac Index (liters/min/m ²)	2.51±0.17	2.10±0.14	0.09	2.44±0.11	2.54±0.16	0.04
Mean Arterial Pressure (mm Hg)	91.4±3.3	96.2±6.7	0.51	92.0±4.1	92.0±5.7	0.44
Systemic Vascular Resistance (dynes x sec x cm ⁻⁵)	2,685±165	3,465±319	0.04	2,700±159	2,644±257	0.02

Data are means ± SE for 9 patients receiving DITPA and 10 patients receiving placebo.

* P values are for t-test of baseline values for DITPA vs. placebo groups.

+ P values are for difference scores for DITPA vs. placebo groups at 4 weeks.

The effects of treatment with DITPA on hemodynamic variables measured invasively are shown in Table V. After four weeks of treatment with DITPA there were no effects on heart rate, pulmonary arterial or right atrial pressures. However, the group averages for resting cardiac outputs and cardiac indices in those receiving DITPA were increased significantly compared to placebo treatment (P = 0.07 and P = 0.02, respectively). This was accompanied by a decrease in systemic vascular resistance index for the DITPA group (P = 0.02). By contrast, cardiac output, cardiac

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 index and peripheral resistance were unchanged after four weeks of placebo
2 administration.

TABLE VI

	At Baseline		P Value [*]	After 2 weeks of treatment		After 4 weeks of treatment		P Value ⁺
	Placebo	DITPA		Placebo	DITPA	Placebo	DITPA	
6 Thyrotropin (mIU/L)	1.65±0.2	2.47±0.6	0.17	1.85±0.3	0.04±0.1 ⁺⁺	2.13±0.3	0.018±0.0004	<0.001
7 Free T ₄ (ng/dL)	1.19±0.1	1.19±0.1	0.96	1.18±0.08	1.17±0.1	1.12±0.1	1.17±0.15	0.72
8 Reverse T ₃ (ng/dL)	236±23	197±27	0.29	207±15	477±83 ⁺⁺	237±61	559±108	0.002
9 Cholesterol (mg/dL)	183.0±10.5	198.9±19.7	0.49	198.7±10.4	160.6±14.3 ⁺⁺	181.9±12.3	140.7±16.2	0.013
10 LDL Cholesterol (mg/dL)	117.9±7.5	115.8±15.8	0.91	122.5±10.3	89.4±12.7	106.1±10.2	80.5±13.7	0.235
11 HDL Cholesterol (mg/dL)	32.4±2.9	32.8±2.3	0.94	36±3.2	30.6±2.0	34.8±5.0	31.4±3.1	0.055
12 Triglyceride (mg/dL)	163.4±29.2	248.7±40.4	0.11	218.7±40.2	203.0±30.4 ⁺⁺	204.3±53.9	143.7±21.1	0.005

15 Data are means ± SE for 9 patients receiving DITPA and 10 patients receiving
16 placebo.

17 * P values are for t-test of baseline values for DITPA vs. placebo groups.

18 ⁺ P values are for ANOVA drug-time interactions.

19 ⁺⁺ ANOVA contrasts for baseline values vs. 2 weeks of treatment P<0.05.

20 As shown in Table VI, serum concentrations of thyrotropin, free T₄, and rT₃
21 were not significantly different at baseline in the treatment and control group. Values
22 for thyrotropin and free T₄ were within the normal range whereas rT₃ values were
23 elevated at baseline in both groups. After two weeks there was a highly significant
24 decrease in thyrotropin levels in patients receiving DITPA, which became more
pronounced after four weeks of treatment. In the placebo group, thyrotropin was
unchanged at both times. Interestingly, treatment with DITPA did not cause

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 significant changes in free T₄. However, rT₃ progressively increased after two and
2 four weeks of treatment.

3 The effects of DITPA and placebo on serum lipid levels also are shown in
4 Table VI. After two weeks of treatment with DITPA there was a significant decrease
5 in value of cholesterol for the group from 185.8±46.9 mg/dL at baseline to 160.6±14.3
6 mg/dL (P < 0.05). After four weeks of DITPA treatment there was a further decrease
7 to 140.7±16.2 mg/dL (P = 0.013). LDL-cholesterol decreased from 107.3±42.8
8 mg/dL at baseline to 89.4±12.7 at two weeks and 80.5±13.7 mg/dL after 4 weeks.
9 Although LDL-cholesterol decreased in 8 of 9 patients treated for 4 weeks there was
10 variability in the magnitude of the response and the ANOVA value did not achieve
11 statistical significance (P=0.235). HDL-cholesterol trended down with DITPA
12 treatment but did not achieve statistical significance. Serum triglycerides were
13 elevated at baseline in the DITPA treatment group and decreased by 11% after two
14 weeks of treatment (P < 0.05) and 35% after four weeks (P = 0.005). None of these
15 changes in serum lipids were observed in patients receiving placebo.

16 Thyroid hormone replacement in hypothyroidism is thought to lower
17 cholesterol by increasing the activity of LDL-cholesterol receptors and lipoprotein
18 lipase. DITPA, however, has never previously been clinically tested for its
19 cholesterol lowering activity. After two weeks in the group receiving DITPA there
20 was an average decrease in cholesterol and LDL-cholesterol of 14% and 17%,
21 respectively. After four weeks of treatment cholesterol and LDL-cholesterol were
22 decreased by 24% and 25%, respectively.

23 Values for serum triglycerides, which were elevated at baseline in both
24 groups, were decreased after two and four weeks of treatment with DITPA. Given the
large number of patients with heart failure secondary coronary artery disease, the lipid
lowering effects of DITPA is a potentially useful attribute of the drug.

The major hemodynamic effects of DITPA in heart failure patients were an
increase in cardiac index and lower systemic vascular resistance. These changes
occurred without an increase in resting heart rate. At baseline the gated radionuclide
ejection fractions were smaller in the DITPA treatment group than the placebo group
and did not change significantly during the study. Judging by the unchanged ejection
fraction and echocardiographic parameters of systolic function, LV systolic function

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 probably was unaffected by treatment with DITPA. However, there was almost
2 uniform improvement in diastolic function as assessed by shortening of isovolumic
3 relaxation time. Interestingly, echocardiographic changes were not seen in normal
4 volunteers suggesting that DITPA treatment improves depressed cardiac function, but
5 does not stimulate cardiac performance in the normal heart.

6 Because of experimental indications that DITPA causes less metabolic
7 response than thyroid hormone and was well tolerated in normal subjects, patients
8 with ischemic heart disease were enrolled in the present trial. The drug also was well
9 tolerated in this group of patients. No arrhythmias were noted. There was no increase
10 in frequency or severity of anginal attacks and clinical manifestations of
11 hyperthyroidism were not observed.

12 While the invention has been described in detail herein in accordance with
13 certain preferred embodiments thereof, many modifications and changes therein may
14 be effected by those skilled in the art. Accordingly, it is intended by the appended
15 claims to cover all such modifications and changes as fall within the true spirit and
16 scope of the invention.

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 We claim:

- 2 1. A method for treatment of a patient with congestive heart failure,
3 comprising administering to the patient a therapeutically effective amount of 3,5-
4 diiodothyropropionic acid.
- 5 2. The method of claim 1, wherein 3,5-diiodothyropropionic acid is
6 administered as a formulation selected from the group consisting of a liquid
7 preparation, solid preparation, capsule preparation, and an implant preparation.
- 8 3. The method of claim 2, wherein said formulation further comprises a
9 pharmaceutically acceptable carrier.
- 10 4. The method of claim 3, wherein said formulation further comprises at
11 least one of a stabilizer, excipient, solubilizer, antioxidant, pain-alleviating agent, and
12 an isotonic agent.
- 13 5. The method of claim 1, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
14 administered by parenteral injection.
- 15 6. The method of claim 5, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
16 administered by parenteral intravenous injection.
- 17 7. The method of claim 1, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
18 administered orally.
- 19 8. The method of claim 1, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
20 administered directly to the pulmonary system of the patient.
- 21 9. The method of claim 1, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
22 administered transdermally.
- 23 10. The method of claim 1, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
24 administered by implantation.
- 25 11. A method to lower cholesterol blood levels of a patient, comprising
26 administering to the patient a therapeutically effective amount of 3,5-
27 diiodothyropropionic acid.
- 28 12. The method of claim 11, wherein 3,5-diiodothyropropionic acid is
29 administered as a formulation selected from the group consisting of a liquid
30 preparation, solid preparation, capsule preparation, and an implant preparation.
- 31 13. The method of claim 12, wherein said formulation further comprises a
32 pharmaceutically acceptable carrier.

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 14. The method of claim 13, wherein said formulation further comprises at
2 least one of a stabilizer, excipient, solubilizer, antioxidant, pain-alleviating agent, and
3 an isotonic agent.

4 15. The method of claim 11, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
5 administered by parenteral injection.

6 16. The method of claim 15, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
7 administered by parenteral intravenous injection.

8 17. The method of claim 11, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
9 administered orally.

10 18. The method of claim 11, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
11 administered directly to the pulmonary system of the patient.

12 19. The method of claim 11, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
13 administered transdermally.

14 20. The method of claim 11, wherein said 3,5-diiodothyropropionic acid is
15 administered by implantation.

16 21. A method to synthesize 3,5-diiodothyropropionic acid, comprising the
17 steps of:

18 providing ethyl-3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)-propionate;
19 providing dianisoleiodonium trifluoroacetate;
20 reacting ethyl-3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)-propionate with
21 dianisoleiodonium trifluoroacetate to form ethyl-3-(4'-methoxy-3,5-diiodothyro)-
22 propionate; and
23 reacting said ethyl-3-(4'-methoxy-3,5-diiodothyro)-propionate with
24 hydrogen iodide and glacial acetic acid to form said 3,5-diiodothyropropionic acid.

25 22. The method of claim 21, further comprising the steps of:
26 providing 3-(4-hydroxyphenyl)-propionic acid;
27 reacting said 3-(4-hydroxyphenyl)-propionic acid with iodine to form 3-
28 (3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)-propionic acid; and
29 reacting said 3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)-propionic acid with ethanol
30 to form ethyl-3-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl)-propionate.

31 23. The method of claim 22, further comprising the steps of:

WO 02/060389

PCT/US02/03162

1 reacting fuming nitric acid, iodine, and trifluoroacetic acid to form
2 iodine(III)trifluoroacetate; and
3 reacting said iodine(III)trifluoroacetate with anisole to form
4 dianisoleiodonium trifluoroacetate.

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 C 43/225	C 0 7 C 43/225	A
C 0 7 C 51/09	C 0 7 C 51/09	
C 0 7 C 51/363	C 0 7 C 51/363	
C 0 7 C 53/18	C 0 7 C 53/18	
C 0 7 C 57/30	C 0 7 C 57/30	
C 0 7 C 67/08	C 0 7 C 67/08	
C 0 7 C 69/712	C 0 7 C 69/712	Z

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ペノック, グレゴリー, ディー.

アメリカ合衆国 8 5 7 1 8 アリゾナ州 ツーソン イースト リバー オーク トレイル 4
4 4 2

(72)発明者 モルキン, ユージン

アメリカ合衆国 8 5 7 1 8 アリゾナ州 ツーソン ノース カタリナ アヴェニュー 6 6 0
2

(72)発明者 パール, ジョセフ, ジェイ.

アメリカ合衆国 8 5 7 1 9 アリゾナ州 ツーソン イースト トゥウェルフス ストリート
1 7 0 0

F ターム(参考) 4C076 AA11 AA53 AA93 BB01 BB11 BB27 CC11 DD38 EE41 FF68
4C206 AA02 DA21 KA01 MA04 MA36 MA57 MA72 MA75 MA76 MA86
NA14 ZA36
4H006 AA02 AC46 AC47 AC48 BJ50 BM30 BM74 BP30 BP60 BS10
GP03 GP06 KA06 KC12 KF23