

CH 680112 A5



SCHWEIZERISCHE EidGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 680112 A5

⑤① Int. Cl.⁵: A 61 K 31/38
C 07 D 333/80

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑳ Gesuchsnummer: 3990/88	㉗ Inhaber: Sandoz AG, Basel
㉑ Anmeldungsdatum: 26.10.1988	
⑳ Priorität(en): 26.10.1987 GB 8725009 19.02.1988 GB 8803908 26.08.1988 GB 8820347	
㉔ Patent erteilt: 30.06.1992	
④⑤ Patentschrift veröffentlicht: 30.06.1992	㉘ Erfinder: Bollinger, Pietro, Dr., Bottmingen Gubler, Hans Ulrich, Köniz Schnyder, Jörg, Dr., Bern

⑤④ Verwendung von alpha-(10-Oxy-4H-benzo(4,5)cyclohepta(1,2-b)thiophen-4-yliden)-carbonsäuren zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen.

⑤⑦ Beschrieben werden α -(10-Oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden)-carbonsäure oder physiologisch hydrolysierbare und physiologisch annehmbare Ester oder pharmazeutisch annehmbare Salze hiervon als therapeutische Mittel zur Bewirkung einer Monokin-Hemmung, insbesondere einer Hemmung der Freisetzung oder Ausscheidung von Interleukin-1 und deren Verwendung zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen.

Die therapeutischen Mittel oder Zusammensetzungen eignen sich insbesondere zur Bewirkung einer Interleukin-1 Hemmung.



CH 680112 A5

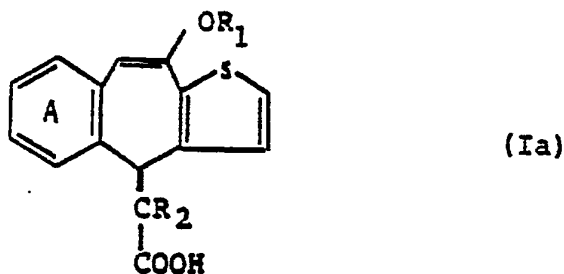
Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf die Verwendung der Verbindungsgruppe der α -[10-Oxy-4H-benz[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-carbonsäuren, ihrer physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Ester und ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen. Die Verbindungen dieser Gruppe werden im folgenden zusammengefasst als die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen bezeichnet.

Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen sind bekannt und werden zusammen mit Verfahren zu ihrer Herstellung beispielsweise in EP-A 0 138 765 beschrieben.

Der 4H-Benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophenkern der erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen kann, wie aus EP-A 0 138 765 hervorgeht, zusätzlich zu den für die Stellungen 4 und 10 angegebenen Substituenten noch weitere Substituenten aufweisen. Solche weiteren Substituenten können vor allem im Benzolring und/oder im Thiophenring vorhanden sein. Demnach kann der 4H-Benzo[4,5]-cyclohepta[1,2-b]thiophenkern abgesehen von den Substituenten in den Stellungen 4 und 10 beispielsweise im Benzolring durch Halogen, wie Chlor, oder Hydroxy substituiert sein, und bei einer solchen Substitution kann es sich beispielsweise um eine Monosubstitution handeln.

Zu einer besonderen Gruppe an erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, die in EP-A 0 138 765 beschrieben und beansprucht wird, gehören die Verbindungen der Formel (Ia)



worin

R₁ Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl-(C₁-C₄-alkyl) ist,

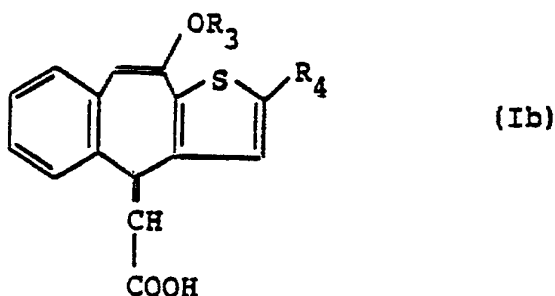
R₂ Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl ist und

der Ring A unsubstituiert oder durch Halogen oder Hydroxy substituiert ist,

und die physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Ester sowie die pharmazeutisch annehmbaren Salze hiervon.

Eine bevorzugte Untergruppe bilden nach EP-A 0 138 765 die Verbindungen der obigen Formel (Ia), worin R₁ für C₁-C₄-Alkyl steht, R₂ Wasserstoff ist, und der Ring A unsubstituiert oder durch Hydroxy oder Halogen, wie Chlor, monosubstituiert ist, wobei der Ring A vorzugsweise unsubstituiert ist, und die physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Ester sowie die pharmazeutisch annehmbaren Salze hiervon.

Zu einer weiteren Gruppe an erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen gehören die [2-Halogen-10-oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäuren, ihre physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Ester sowie ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze, und Beispiele hierfür sind die Verbindungen der Formel (Ib)



worin

R₃ Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl ist und

R₄ für Halogen steht,

und die physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Ester sowie die pharmazeutisch annehmbaren Salze hiervon.

Diese Verbindungen sind einschliesslich Verfahren zu ihrer Herstellung ebenfalls bekannt, und sie

werden beispielsweise in GB-A 2 183 648 und weltweiten Äquivalenten hierzu, wie DE-A 3 641 907, beschrieben.

Zu einer bevorzugten Untergruppe gehören nach GB-A 2 183 648 die Verbindungen der obigen Formel (Ib), worin R₃ für C₁-C₄-Alkyl steht, und die physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Ester sowie die pharmazeutisch annehmbaren Säureadditionssalze hiervon.

Die Verbindungen der obigen Formeln (Ia) und (Ib) sowie deren Ester und Salze und auch die oben angegebenen Untergruppen dieser Verbindungen stellen auch bevorzugte Verbindungen dar, die bei der vorliegenden Erfindung Anwendung finden.

Bei den Verbindungen der Formeln (Ia) und (Ib) können die Alkylgruppen bei den Substituenten R₁, R₂ und R₃ und die Alkylreste der Phenyl-(C₁-C₄-alkyl)-gruppen beim Substituenten R₁ (in der Formel [Ia]) verzweigt-kettig oder geradkettig sein. Steht der Substituent R₁ oder R₃ für C₁-C₄-Alkyl, dann handelt es sich hierbei vorzugsweise um Methyl. Unter Halogen wird beim Substituenten R₄ (in der Formel (Ib)) Fluor, Chlor, Brom oder Iod verstanden. Vorzugsweise steht R₄ für Chlor.

Unter physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Estern, wie sie beispielsweise im Zusammenhang mit den Verbindungen der Formeln (Ia) oder (Ib) erwähnt werden, werden Ester verstanden, bei denen die Carboxylgruppe verestert ist und die unter physiologischen Bedingungen zu einem Alkohol hydrolysierbar sind, der unter den gewünschten Dosierungswerten selbst physiologisch annehmbar ist, nämlich beispielsweise nicht toxisch ist. Zu solchen Estern gehören beispielsweise Ester mit aliphatischen Alkoholen, welche 1 bis 4 Kohlenstoffatome aufweisen.

Zu pharmazeutisch annehmbaren Salzen, beispielsweise der Verbindungen der Formeln (Ia) oder (Ib), gehören beispielsweise die Alkalimetallsalze, wie die Natriumsalze und die Kaliumsalze, und auch die Erdalkalimetallsalze, wie die Calciumsalze.

Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, bei denen die in Stellung 10 vorhandene Oxygruppe eine Hydroxygruppe ist, nämlich beispielsweise die Verbindungen der Formeln (Ia) oder (Ib), worin R₁ oder R₃ für Wasserstoff steht, können selbstverständlich sowohl in Ketoform als auch in Enolform vorliegen, wie dies beispielsweise bei den Verbindungen der Formeln (Ia) und (Ib) gemäss EP-A 0 138 765 und GB-A 2 183 648 der Fall ist. Im Falle tautomerer Formen umfasst die Erfindung selbstverständlich sowohl die Ketoformen als auch die Enolformen. Wird daher beispielsweise lediglich auf die Enolformen hingewiesen, dann handelt es sich auch hier insgesamt um erfindungsgemäss verwendete Verbindungen der hierin angegebenen Definition. Demnach ist die Erfindung in keiner Weise durch die jeweils verwendete Nomenklatur oder graphische Darstellung beschränkt.

Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, nämlich beispielsweise die Verbindungen der Formeln (Ia) oder (Ib), kommen sowohl in Form von cis-Isomeren als auch in Form von trans-Isomeren vor, nämlich als sogenannte Z-Isomere und E-Isomere. Die Erfindung umfasst daher sowohl die Anwendung der einzelnen cis- und trans-Isomeren als auch der Gemische hiervon. In der Beschreibung und den Ansprüchen werden die cis-Isomeren (Z-Isomeren) und trans-Isomeren (E-Isomeren) in Übereinstimmung mit der herkömmlichen CIP-Nomenklatur bezeichnet [Angew. Chem. 94, Seite 614 (1982) und darin angegebene Literaturhinweise], und all dies wird beispielsweise in der bereits erwähnten EP-A 0 138 765 und GB-A 2 183 648 näher beschrieben.

Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung ist im allgemeinen die Verwendung der Z-Isomeren der erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen bevorzugt. Bei der erfindungsgemässen Verwendung werden die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen daher vorzugsweise vorwiegend in Form der Z-Isomeren eingesetzt. Insbesondere gelangen hierbei reine oder praktisch reine Formen der Z-Isomeren zur Anwendung.

Beispiele für einzelne Verbindungen, die erfindungsgemäss verwendet werden können, sind:

A) [10-Methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester [(Z,E)-Isomerengemisch].

B) [7-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester: B1) als (Z,E)-Isomerengemisch, B2) als (Z)-Isomeres, B3) als (E)-Isomeres.

C) [6-Hydroxy-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester: C1) als (Z,E)-Isomerengemisch, C2) als (Z)-Isomeres, C3) als (E)-Isomeres.

D) [10-Methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure: D1) als (Z,E)-Isomerengemisch, D2) als (Z)-Isomeres, D3) als (E)-Isomeres.

E) [10-Methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäuremethylester: E1) als (Z,E)-Isomerengemisch, E2) als (Z)-Isomeres, E3) als (E)-Isomeres.

F) [7-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure: F1) als (Z,E)-Isomerengemisch, F2) als (Z)-Isomeres, F3) als (E)-Isomeres.

G) [6-Hydroxy-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure: G1) als (Z,E)-Isomerengemisch, G2) als (Z)-Isomeres, G3) als (E)-Isomeres.

H) [10-Hydroxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure [(Z)-Isomeres].

J) [2-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester: J1) als (Z,E)-Isomerengemisch, J2) als (Z)-Isomeres, J3) als (E)-Isomeres.

K) [2-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure: K1) als (Z)-Isomeres, K2) als (E)-Isomeres.

Bevorzugte Verbindungen, die erfindungsgemäss verwendet werden, sind die obigen Verbindungen D2 und K1, und zwar insbesondere die Verbindungen D2 und K1 in vorwiegend reiner, und vor allem in reiner oder praktisch reiner Form der Z-Isomeren.

5 Aufgrund der beobachteten Wirksamkeiten beispielsweise im Adjuvans-Arthritis-Versuch an der Ratte, im durch Lipopolysaccharid LPS hervorgerufenen Fieber-Versuch an der Ratte und im Arthritis-schmerz-Versuch an der Ratte sind, wie aus EP-A 0 183 765 und GB-A 2 183 648 hervorgeht, die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen wirksame entzündungshemmende, antipyretische und analgetische Mittel.

10 Demgegenüber beruht die Erfindung nun auf der überraschenden Erkenntnis, dass die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen eine Monokin hemmende Wirksamkeit, insbesondere eine IL-1 (Interleukin-1) hemmende Wirksamkeit und vor allem eine die Freisetzung oder Ausscheidung von IL-1 hemmende Wirksamkeit besitzt. Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen eignen sich daher zur Verwendung bei der Behandlung oder unterstützenden Behandlung eines breiten Bereichs bisher nicht vermuteter weiterer Zustände oder Erkrankungen. [Bezüglich einer allgemeinen Diskussion der Rolle von IL-1 bei der Ätiologie von krankhaften und anderen morbiden Zuständen wird beispielsweise auf J. Clin. Immunol. 5 (5), Seiten 287–297 (1985) verwiesen].

15 Auf Basis der erwähnten besonderen erfindungsgemässen Erkenntnisse ist die vorliegende Erfindung ganz allgemein auf die oben erwähnten Verbindungen gerichtet als ein therapeutisches

20 1. Mittel zur Bewirkung einer Hemmung von Monokin, insbesondere einer Hemmung der Freisetzung oder Ausscheidung von IL-1, das etwas anderes als ein entzündungshemmendes oder antipyretisches Mittel ist.

Bei einer Reihe spezieller oder wahlweiser Ausführungsformen gehören zur Erfindung auch die oben erwähnten Verbindungen als ein therapeutisches

25 2. Mittel zur Bewirkung der Hemmung von Monokin, insbesondere einer Hemmung der Freisetzung oder Ausscheidung von IL-1, das etwas anderes als ein antipyretisches oder entzündungshemmendes Mittel ist.

Eine weitere oder wahlweise Ausführungsform der Erfindung ist gerichtet auf eine oben erwähnte Verbindung als

30 2.1 Mittel zur Behandlung der Akutphasenreaktion, die etwas anderes als eine pyretische oder entzündliche Reaktion ist, auf einen exogenen oder endogenen Insult oder zur Behandlung der Akutphasenveränderungen, die etwas anderes als pyretische oder entzündliche Veränderungen sind, infolge einer okkulten Infektion oder einer chronischen Erkrankung.

Zu einer noch weiteren oder wahlweisen Ausführungsform der Erfindung gehört eine oben erwähnte Verbindung als

35 2.2 Mittel zur Behandlung von Neutrophilie, mononuklearer zellulärer Infiltration, Hyperämie, Hypozinkämie, Hypoferrämie, Muskelproteolyse, Anorexie oder morbider Somnolenz, wozu es beispielsweise bei der Akutphasenreaktion auf einen exogenen oder endogenen Insult oder in den Akutphasenveränderungen infolge einer okkulten Infektion oder einer chronischen Erkrankung kommt.

40 Zu Beispielen für exogene oder endogene Insulte gehören eine Mikrobeninvasion, beispielsweise eine Infektion durch Bakterien oder Viren (wie Grippe), eine feindliche oder morbide immunologische Reaktion, neoplastische Störungen, Verbrennungen oder Verletzungen.

Zu Beispielen für eine okkulte Infektion oder eine chronische Erkrankung gehören insbesondere Arthritis, vor allem rheumatoide Arthritis und entzündliche Erkrankungen des Darms.

45 Bei einer Reihe weiterer spezieller oder wahlweiser Ausführungsformen gehört zur Erfindung auch eine oben erwähnte Verbindung als

3. Mittel zur Einleitung oder Bewirkung einer Immunsuppression, insbesondere für die Behandlung von Autoimmunkrankheiten.

50 Zu Immunkrankheiten, bei denen das obige Verfahren anwendbar ist, gehören beispielsweise Spondylitis ankylosans, autoimmunhämatologische Störungen (wie hämolytische Anämie, aplastische Anämie, Anämie mit reinem Erythrozytenabfall und idiopathische Thrombocytopenie), systemischer Lupus erythematodes, Polychondritis, Sklerodermie, Wegener-Granulomatose, Dermatomyositis, chronisch akute Hepatitis, Myasthenia gravis, Psoriasis, idiopathische Sprue, autoimmune entzündliche Erkrankungen des Darms (wie Colitis ulcerosa und Crohn-Krankheit), endokrine Ophthalmopathie, Grave-Krankheit, Sarkoidose, multiple Sklerose, primäre biliäre Zirrhose, juveniler Diabetes (Diabetes mellitus Typ I), Reiter-Syndrom, nicht-infektiöse Uveitis (anterior und posterior), Autoimmunkeratitis (wie Keratokonjunktivitis sicca und vernale Keratokonjunktivitis, interstitielle Lungenfibrose, psoriatische Arthritis und Glomerulonephrose (mit und ohne Nephrose-Syndrom, wie idiopathisches Nephrose-Syndrom oder Minimalschadennephropathie), wobei die unterstrichenen Krankheiten von besonderem Interesse sind.

60 Für diese Zwecke können die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, wo dies erwünscht oder zweckmässig ist, als Adjunkt oder Adjuvans zu einer anderen immunsuppressiven Steroid- oder Cyclosporin-Therapie angewandt werden, und zwar insbesondere einer Therapie, bei welcher die immunsuppressive Wirksubstanz Cyclosporin oder Cyclosporin A zur Anwendung gelangt, und diese Substanz ist im Handel unter den Bezeichnungen Sandimmune® oder Sandimmun® erhältlich.

65

4. Mittel zur Behandlung von a) einem Calciumentzug im Gewebe oder b) Degenerationserscheinungen in Knochen oder Knorpeln.

Zu einer weiteren oder wahlweisen Ausführungsform der Erfindung gehört eine oben erwähnte Verbindung als

5 4.1 Mittel zur Behandlung einer Knochen-decalcifizierung oder Knochenresorption (Milkman-Syndrom) (unter Einschluss eines Calciumentzugs in der Knochenmatrix) oder

4.2 Mittel zur Behandlung eines odontalen oder periodontalen Calciummangels oder

4.3 Mittel zur Behandlung von Resorptionserscheinungen (wie einer Calciumresorption) oder einer Fibroblasteninfiltration an oder in Knochengelenken.

10 Eine besondere Ausführungsform der Erfindung ist gerichtet auf eine Verbindung als Mittel der oben unter 4. und 4.1 bis 4.3 definierten Art zur Behandlung eines Gewebe-Calciumentzugs oder einer Degenerationserscheinung in Knochen oder Knorpeln als Komponente von periodontaler Krankheit, Osteoarthritis und Spondylitis ankylosans im besonderen und auch von sonstigen Krankheiten, wie einem odontalen oder periodontalen Calciumentzug, Osteoporose verschiedener Genese, wie klimakterischer oder postmenopausaler Osteoporose und auch einer Osteoporose infolge hohen Alters, Immobilisation oder Trauma, Osteopathie unter Einschluss akuter und chronischer Zustände in Verbindung mit

15 einer Skelettdemineralisation, Osteomalazie, wie als Adjuvans auf eine spezielle Therapie, Knochenheilung und Knochenregeneration sowie Astetanie und latenter Tetanie.
Infolge ihrer Fähigkeit zur Beeinflussung der Prozesse einer Calciumresorption oder eines Knochen-Calciumentzugs eignen sich die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen insbesondere zur Behandlung arthritischer Zustände, bei denen derartige Prozesse ein wesentlicher Faktor sind, und vor allem zur Behandlung von Osteoarthritis und Spondylitis ankylosans.

5. Mittel zur Behandlung von Fibrose oder fibröser Zustände, wie kongenitaler hepatischer Fibrose, Endomyocardfibrose, zystischer Fibrose, Diatomitfibrose, Pulmonalfibrose, retroperitonealer Fibrose, neoplastischer Fibrose, periuretischer Fibrose, postfibrinöser Fibrose, proliferativer Fibrose, Ersatzfibrose, Uterusfibrose, postoperative Adhäsion und Narben.

Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen eignen sich insbesondere zur Behandlung von pulmonärer Fibrose.

6. Mittel zur Behandlung oder unterstützenden oder begleitenden Behandlung von Tumorinvasivität oder von mit Tumorwachstum verbundenen Symptomen (unter Einschluss einer Muskelproteolyse), Kreuzfeld-Jacob-Krankheit, Alzheimer-Krankheit, morbider Somnolenz, Gicht, Endotoxinschock oder Epidermolysis bullosa.

Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen eignen sich insbesondere zur Behandlung von Symptomen, wie sie in Verbindung mit Tumorwachstum (insbesondere einer Muskelproteolyse), Gicht oder Endotoxinschock auftreten.

35 Als Alternativen zu den obigen Mitteln gehören zur Erfindung auch

A Die Verwendung einer erfindungsgemäss verwendeten Verbindung zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung als ein therapeutisches Mittel wie oben unter 1 bis 6 beschrieben.

40 B Eine Zusammensetzung als therapeutisches Mittel wie oben unter 1 bis 6 beschrieben, die eine erfindungsgemäss verwendete Verbindung zusammen mit einem oder mehreren pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmitteln oder Trägern hierfür enthält.

Die Eignung der erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen als Monokin-Hemmer, insbesondere als Inhibitoren für die Freisetzung oder Ausscheidung von IL-1, und auch die Eignung der erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen für die Behandlung von Krankheiten und Zuständen der oben beschriebenen Art lässt sich in üblichen pharmakologischen Testmethoden und auch in der Klinik zeigen, wie sie beispielsweise die im folgenden beschriebenen Methoden darstellen.

1. Hemmung der Ausscheidung von IL-1 (Interleukin-1)

50 1.1 Chondrozytentest (Bioversuch)

Einleitung

55 Konfluierende Kulturen von Chondrozytenzellen von Hasen haben sich als relativ spezifische Zielzellen für IL-1 erwiesen. Gereinigtes IL-1 [Schnyder et al., J. Immunol. 138, Seite 496 (1987)], rekombinantes Human-IL-1- β (rhIL-1) oder konditionierte Medien, die von stimulierten Humanmonozyten, Peritonealmakrophagen der Maus und des Hasen oder der Zelllinie P388D₁ der Maus gesammelt worden sind [Koren et al., J. Immunol. 114, Seite 894 (1975)], verursachen charakteristische Veränderungen im Sekretionsmuster von Chondrozyten. Insbesondere wird hierdurch eine latente Metallprotease (MP) induziert, während die Sekretion von Plasminogenaktivator (PA) reduziert wird. Die MP-Antwort ist verhältnismässig spezifisch auf IL-1, während IL-2, TNF- α , rekombinantes Human- α -Interferon (rh IFN- α), rh IFN- γ , Phorbolmyristatacetat, Concanavalin A, Prostaglandin Typ E und Indomethacin keinen Einfluss haben. Die durch Monokin eingeleitete Erniedrigung der Sekretion an PA stellt einen hochsensitiven Parameter dar (der mit dem LAF-Test vergleichbar ist – siehe unten), wobei jedoch nicht die Spezifität von MP erreicht wird. [Evéquoz et al., Biochem. J. 219, Seiten 667–677 (1984); Schnyder et al., Brit. J. Rheu-

matol. 24, (Sup. 1), Seiten 128 bis 132 (1985) und Schnyder et al., J. Immunol. 138, Seiten 496 bis 503 (1987)].

1.1.a Monokin-Hemmung bei Mäusemakrophagen

Sesshafte Peritonealmakrophagen der Maus [Schnyder et al., J. Exp. Med. 148, Seiten 435 bis 450 (1978)] werden *in vitro* 1 Tag mit der zu untersuchenden Verbindung in unterschiedlichen Konzentrationen gezüchtet. Die Kulturmedien werden mit frischem Medium auf 1:1 (Volumen:Volumen) verdünnt und zu konfluenten Hasenchondrozyten gegeben. Nach weiteren 2 Tagen wird die MP-Aktivität im Kulturmedium der Chondrozyten geprüft. Die erfindungsgemässen Verbindungen, und zwar insbesondere die Verbindung D2, erweisen sich bei dieser Testmethode in Konzentrationen von etwa 3,0 bis etwa 100 μMol als wirksam zur Unterdrückung der Freisetzung von Monokin. Für die Verbindung D2 in Form des praktisch reinen Z-Isomers ergibt sich in drei bis fünf getrennten Versuchen, die jeweils dreifach gefahren werden, ein ED_{50} -Wert in der Grössenordnung von 100 μMol .

1.1.b Monokin-Hemmung bei Humanmonozyten

Aus dem Blut gesunder Voluntäre werden durch Zentrifugation mononukleare Zellen gewonnen und auf Gewebekulturschalen mit der zu untersuchenden Verbindung in unterschiedlichen Konzentrationen gezüchtet [Schnyder et al., J. Immunol. 138, Seiten 496 bis 503 (1987)]. Die nicht-adhärenten Lymphozyten werden nach 4 Stunden durch mehrmaliges Waschen entfernt. Man gibt frisches Medium, die zu untersuchende Verbindung und Lipopolysaccharid (LPS) als Stimulans zu und bebrütet die Monozyten weitere 19 Stunden. Die zusammengefassten Kulturmedien werden mit frischem Medium auf 1:10 (Volumen:Volumen) verdünnt und zu konfluierenden Hasenchondrozyten gegeben. Nach weiteren 2 Tagen wird die MP-Aktivität im Kulturmedium der Chondrozyten geprüft.

Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, und zwar insbesondere die Verbindungen D2 und K1, erweisen sich bei dieser Testmethode in Konzentrationen von etwa 30 bis etwa 100 μMol als wirksam zur Unterdrückung der Freisetzung von Monokin. Für die Verbindungen D2 und K1 in Form des praktisch reinen Z-Isomers ergeben sich in drei bis fünf getrennten Versuchen, die jeweils dreifach gefahren werden, ED_{50} -Werte in der Grössenordnung von 60 bis 100 μMol .

1.2 LAF-Test (Thymozytenproliferation)

Die Lymphozytenproliferation ist der Standardtest für die Monokin-Aktivität. Er ist hoch sensitiv, obgleich er verhältnismässig unspezifisch ist, wobei IL-2, Phorbolmyristataacetat, Concanavalin A, Prostaglandintyp E und Indomethacin insgesamt zu Störungen führen. Kulturmedien von Humanmonozyten werden wie oben unter 1.1.b beschrieben hergestellt, auf 1:10, 1:20 und 1:40 (Volumen:Volumen) verdünnt und zu $1,5 \times 10^{-6}$ Thymozyten (erhalten aus C3H/HeJ der Maus) pro ml eines nach Dulbecco abgewandelten Eagle-Mediums gegeben, das 20 mMol Hydroxyethylpiperazinethansulfonsäure, 12 mMol NaHCO_3 , 2 mMol Glutamin, 2% fetales Rinderserum, 10 μMol 2-Mercaptoethanol, 0,1 μMol Indomethacin und Antibiotika enthält. Die Zellen werden 2 Tage in Kulturplatten mit 96 Sonden bebrütet, und die Proliferationsrate wird unter Anwendung eines ^3H -Thymidinstosses (1 μCi /Sonde) während der letzten 6 Stunden bestimmt. Die inkorporierte Radioaktivität wird auf Filterpapier gesammelt und ausgezählt. Bei dieser Testmethode hemmen die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen die Monokin-Produktion in Konzentrationen in der Grössenordnung von etwa 30 bis etwa 100 μMol . Für die Verbindungen D2 und K1, die jeweils in Form der praktisch reinen Z-Isomeren vorliegen, ergeben sich bei einer Reihe an zwei getrennten Versuchen mit jeweils drei parallelen Bestimmungen somit ED_{50} -Werte in der Grössenordnung von 30 μMol .

Zur Ermittlung eines antagonistischen Effekts oder eines direkten Einflusses der erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen auf die Proliferation von Mäusethymozyten, wie sie auch beim obigen LAF-Test verwendet werden, wird der Einfluss der erfindungsgemässen Verbindungen auf die Inkorporation von ^3H -Thymidin nach einer Thymozytenstimulation mit rekombinantem Human-IL-1 oder Human-IL-2 bestimmt. Bei diesem Testmodell ergibt sich, dass die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, und insbesondere die Verbindungen D2 und K1, keinen signifikanten Einfluss auf eine durch 10 ng/ml rekombinantem Human-IL-2 oder 75 ng/ml rekombinantem Human-IL-1 induzierte Proliferation haben, und es lässt sich auch keine Konzentrationsabhängigkeit erkennen.

Ferner wird auch der Einfluss auf die von IL-1 induzierte Sekretion von MP unter Verwendung von Chondrozyten als Zielsystem für IL-1 bestimmt. Hierzu wird IL-1 (Genzyme Corporation, V.St.A.) mit oder ohne eine erfindungsgemäss verwendete Verbindung oder Dexamethasone (Kontrolle) zu Chondrozyten gegeben und die Aktivität von Metallproteinase in den nach zweitägiger Bebrütung erhaltenen überstehenden Medien bestimmt. Bei dieser Testmethode zeigen die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, und insbesondere die Verbindungen D2 und K1 keinen Einfluss auf die durch IL-1 induzierte Sekretion von MP.

1.3 Quantifizierung von IL-1 mit einem RIA-Kit

Die Massnahmen des obigen Beispiels 1.1.b werden wiederholt, und es werden die Konzentrationen an IL-1 in gewonnenem und unverdünntem Kulturmedium unter Verwendung eines CISTRON-Kits für einen IL-1-Radioimmunversuch bestimmt (der CISTRON-Kit ist von der Firma Cistron, 10 Bloomfield Avenue, P.O. Box 2004, Pine Brook, N.J. 07 058, V.St.A., erhältlich. Er ist spezifisch für IL-1 β und erkennt sowohl intrazelluläres als auch extrazelluläres Material.)

Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, und insbesondere die Verbindungen D2 und K1, erweisen sich bei der obigen Testmethode als wirksam zur Unterdrückung bestimmter extrazellulärer IL-1-Spiegel. Im Gegensatz dazu bleiben bestimmte intrazelluläre IL-1-Spiegel hierbei praktisch unbeeinträchtigt. Für die Unterdrückung der extrazellulären IL-1-Spiegel durch die Verbindungen D2 und K1 in Form der jeweils praktisch reinen Z-Isomeren ergeben sich bei zwei bis acht Versuchen, die jeweils mit drei parallelen Bestimmungen vorgenommen werden, ED₅₀-Werte in der Grössenordnung von 40 μ Mol bzw. von 25 μ Mol. Bei jeder dieser Bestimmungen wird der extrazelluläre Gehalt an IL-1 signifikant erniedrigt.

1.4 Vergleich zwischen Freisetzung und Synthesehemmung

1.4.a Herstellung von Homogenaten und Lysaten

Man gibt 0,3 ml einer mit Phosphat gepufferten Kochsalzlösung, die 1% hitzeinaktiviertes AB-Humanserum enthält, zu gewaschenen adhären Humanmonozyten und befestigt die Zellen mit einem Gummipolizisten. Die die Zellen enthaltende Lösung wird dann auf zwei andere Sonden übertragen, die zur gleichen Gruppe gehören. Dieses Verfahren wird dreimal wiederholt. Die fertige und zusammengefasste Suspension (0,9 ml) wird mit einem Homogenisator von Dounce (Kontes Co., Vineland, N.J., V.St.A.) durch 5 \times 7 Schläge mit dem Pistill B homogenisiert.

Zur Herstellung des Lysats werden die gewaschenen Einsichten von Humanmonozyten mit 0,3 ml einer 0,01prozentigen Lösung von Digitonin in Wasser versetzt.

1.4.b Einfluss auf die Synthese und Freisetzung von IL-1

Man verdünnt 50 μ l Homogenat mit Medium auf 500 μ l und gibt das Ganze zu konfluierenden Chondrozyten, um hierdurch die Metallproteinase bildende Aktivität als Masszahl des Gehalts an IL-1 zu ermitteln.

Der Gehalt an IL-1 wird auch in den Kulturmedien und den Zellhomogenaten sowie Zellysaten unter Anwendung des RIA-Tests (siehe 1.3) bestimmt.

Bei diesem Test ergeben die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, und insbesondere die Verbindung D2, eine signifikante Erniedrigung der IL-1-Spiegel in den überstehenden Medien, während der mittlere zelluläre Gehalt an IL-1 sowohl in den Homogenaten als auch den Lysaten nur geringfügig erniedrigt wird oder überhaupt unverändert bleibt.

1.5 Einfluss auf die Monozytenadhärenz

Monozyten aus frisch geernteten humanen mononuklearen Zellen werden in Anwesenheit der zu prüfenden Verbindung oder eines Trägers hergestellt. Nach 4 Stunden wird das Medium aspiriert und die Zelleinschicht in üblicher Weise gewaschen. Die adhären Monozyten werden dann unter Verwendung von Digitonin in Wasser lysiert, worauf die Menge an DNA und die Aktivität des Zytosolenzyms LDH gemessen wird. Bei diesem Versuch ergeben weder die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, und zwar insbesondere die Verbindung D2, noch der Träger eine Reduktion der Adhärenz der Monozyten.

1.6 Einfluss auf die Sekretion von Monokinen

Neben IL-1 stellen TNF- α und IL-6 zwei wohlbekannt Monokine dar, die von stimulierten Monozyten freigesetzt werden.

Es werden Kulturmedien von Humanmonozyten in der oben beschriebenen Weise hergestellt. Der Gehalt an IL-1 und TNF- α wird durch den RIA-Test bestimmt, und der Gehalt an IL-6 wird durch den im folgenden beschriebenen Bioversuch ermittelt. Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, und insbesondere die Verbindung D2, hemmen die Freisetzung von IL-1 in einem signifikanteren Ausmass als dies durch IL-6 und TNF- α möglich ist.

IL-6-Bioversuch

Zur Bestimmung des Gehalts an IL-6 in konditionierten Medien von Humanmonozyten werden 2,4 \times 10⁴ Zellen pro ml B13.29 auf Kulturplatten mit 96 Sonden (Costar) während 48 Stunden in Kulturmedien

von jeweils 0,2 ml gezüchtet, die in serumfreiem und nach Iscove abgewandeltem Dulbecco-Medium verdünnt sind, das mit 200 E pro ml an rekombinanter IL-6, 50 μMol 2-Mercaptoethanol und Antibiotika ergänzt ist. Die Proliferationsraten werden unter Anwendung eines ^3H -Thymidinstosses (1 μC /Sonde) während der letzten 6 Stunden bestimmt. Die inkorporierte Radioaktivität wird auf Filterpapier gesammelt und ausgezählt und zu einer Standardpräparation von IL-6 in Beziehung gesetzt.

1.7 Einfluss auf den Verlust an Lactatdehydrogenase und auf die Sekretion von Lysozym

Kulturmedien von Humanmonozyten werden in der oben beschriebenen Weise hergestellt. Die Menge an Lysozym und Lactatdehydrogenase (LDH) wird kinetisch unter Verwendung eines Zwillingsablesegeräts (Twinreader von Flow Laboratories AG) überwacht, das an einen Heimrechner angeschlossen ist. Proben (50 μl) von LDH werden mit 200 μl Substratmischung vermischt, welches auf Endkonzentrationen bezogen, 50 mMol Phosphatpuffer vom pH 7,5, 0,8 mMol Natriumpyruvat, 0,24 mMol NaDH_2 und 0,04% Rinderalbumin enthält, und die Veränderungen der Absorption bei 340 nm werden elfmal in Intervallen von jeweils 1 Minute gemessen. Der Rechner ermittelt die Anfangsgeschwindigkeiten, welche zur Bestimmung der Einheiten herangezogen werden. Proben (50 μl) an Lysozym werden mit 100 μl einer Suspension von 1,2 mg/ml M. Lysodeikticus in 67 mMol Phosphatpuffer vom pH 6,2 vermischt, und die Veränderungen der Turbidität bei 492 nm werden elfmal in Intervallen von jeweils 4 Minuten gemessen. Für jede Versuchsreihe wird eine Eichkurve von kristallinem Eiweisslysozym von Hennen angefertigt [J. Schnyder et al., J. Exp. Med. 148, Seite 435 (1978)]. Hierbei lässt sich kein signifikanter Verlust an LDH bei der Kontrolle und bei den behandelten Zellkulturen beobachten. Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, und insbesondere die Verbindung D2, erniedrigen die Freisetzung von Lysozym daher lediglich am Rande und nicht in einem Ausmass wie die nichtstimulierten Kontrollen.

2. Prävention einer Knochenresorption (Behandlung eines Gewebe-Calciumzugs)

Calvarienhälften (frontale und parietale Teile) von 4 bis 5 Tage alten Schweizer Weissen Mäusen werden auf Gittern aus rostfreiem Stahl in einem BGJ-Kulturmedium von Knochengewebe gezüchtet, das an der Zwischenphase zwischen Medium und Gas mit 1 mg pro ml BSA ergänzt ist, wobei die Züchtung in einer feuchten Atmosphäre (95% Luft/5% Kohlendioxid) bei 37°C vorgenommen wird. Dieses Verfahren wird im einzelnen von Reynolds et al. in Organ Culture in Biomed. Res., Herausgeber Balls und Maminchendam, Cambridge University Press, Seiten 355 bis 366 (1976) beschrieben.

Der Einfluss der Testsubstanz unter verschiedenen Konzentrationen auf die Stimulatoren für eine Calciumfreisetzung [PGE_2 , LPS oder 1,25-Dihydrovitamin D_3 (1,25 D_3)] wird bestimmt. Hierzu werden die Calciumkonzentrationen in den überstehenden Flüssigkeiten der Knochenkultur bei den nach 72 Stunden und nach 144 Stunden erhaltenen Kulturen sowie in den TCA-Extrakten der Calvarien am Ende der Züchtung durch spektrometrische Methoden gemessen [Gindler et al., Am. J. Clin. Pathol. 58, Seiten 376 bis 382 (1972)]. Die Aktivität des Lysenzyms N-Acetylglucoseaminidase in den überstehenden Flüssigkeiten der Knochenkultur und in den Extrakten mit Triton 100 der Calvarien nach der Züchtung wird ebenfalls bestimmt, und zwar unter Anwendung der von Banerjee und Basu in Biochem. J. 45, Seiten 113 bis 118 (1975) beschriebenen Methode.

Die Veränderungen der Enzymaktivität werden in Form der μ -Einheiten pro Calvariumhälfte und der prozentualen Freisetzung ausgedrückt.

Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, und zwar beispielsweise die Verbindungen D2 oder K1 in Form der praktisch reinen Z-Isomeren, hemmen die Calciumfreisetzung und beeinflussen zugleich die N-Acetylglucoseaminidase bei den obigen Testmethoden in Konzentrationen, die in der Grössenordnung von 1×10^{-5} bis 5×10^{-6} Mol liegen. Für die Verbindung D2 in Form des praktisch reinen Z-Isomeren sind hierbei die folgenden IC_{50} -Werte ermittelt worden:

	In Anwesenheit von: IC_{50} -Werte (Mol)	
	Calcium	N-Acetylglucoseaminidase
PGE_2	$2,2 \times 10^{-5}$	$7,9 \times 10^{-6}$
LPS	$2,8 \times 10^{-5}$	$8,3 \times 10^{-6}$
1,25 D_3	$3,8 \times 10^{-5}$	$3,7 \times 10^{-5}$

Für die Berechnung der IC_{50} -Werte wird der Differenz zwischen der Resorptionsrate bei den Kontrollkulturen und der Resorption bei den maximal stimulierten Kontrollen der Wert 100% zugeordnet. Der IC_{50} -Wert stellt die Konzentration der Testsubstanz dar, welche die maximale Resorption um 50% hemmt.

3. Krankheitsverändernde Aktivität bei rheumatoider Arthritis in einem Tiermodell

Nach Einleitung einer Adjuvans-Arthritis bei 48 ausgewachsenen weiblichen Ratten wird die zu untersuchende Verbindung 40 Tage lang oral verabreicht. Nach 10, 20, 30 und 40 Tagen wird die Anschwellung der Gelenkverbindungen (Artikularschwellung) und die Knochendensitometrie gemessen und mit den Daten von Kontrolltieren verglichen, die lediglich Placebo erhalten haben. Ferner wird die Knorpel-Glycosaminglycans (GAG) von Femoraliskondylen gemessen, die nach Beendigung der Behandlungsdauer entfernt worden sind. Das α_2 -Makroglobulin wird im Serum an den Tagen 0, 3, 6, 9, 16 und 22 bestimmt.

Durch perorale Verabreichung der erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen in einer Dosis von 2,5 bis 20 mg pro kg und Tag lässt sich nach einer durch den Entzündungsprozess hervorgerufenen anfänglichen Abnahme der Knochendichte eine graduelle Wiederherstellung des normalen Mineralgehalts beobachten. Wie die densitometrischen Messungen nach dem im folgenden beschriebenen Verfahren zeigen, nimmt die Knochendichte nicht nur zu, sondern es ergibt sich auch eine dosisabhängige Erniedrigung der Serumkonzentrationen an α_2 -Makroglobulin. Eine Analyse des Gehalts an GAG der beeinträchtigten Knorpelsubstanz zeigt ferner eine dosisbezogene Erhöhung des Gehalts an Proteoglykan.

Bei diesem Testmodell für rheumatoide Arthritis zeigen die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, wie die Verbindung D2 in Form des praktisch reinen Z-Isomers, eine die Krankheit beeinflussende Wirksamkeit insbesondere nach einer Behandlungszeit von 30 Tagen, wobei sich insbesondere eine Schutzwirkung für Knorpel und Knochen bei Ratten mit Adjuvans-Arthritis ergibt.

Das bei obiger Testmethode angewandte Verfahren zur in vivo Bestimmung der Knochendichte von ausgewachsenen Ratten beruht auf der radiographischen densitometrischen Methode, die von Albanese et al. in J. Amer. Ger. Soc. 17, Seiten 142 bis 153 (1969) beschrieben wird. Während der Behandlung mit der zu prüfenden Substanz wird bei den Arthritis aufweisenden Ratten eine longitudinale Knochenvermessung oder Knochenaufnahme vorgenommen, und die dabei erhaltenen Daten werden mit den Daten von nicht gegen Arthritis behandelten Ratten und von Kontrolltieren verglichen. Für die quantitative radiographische Aufzeichnung in vivo wird die Trabekelmasse als Parameter genommen. Das radiographische Bild wird dann abgetastet, und die Grauwerte werden mittels eines hochauflösenden Densitometers in Einheiten der relativen optischen Dichte (ROD) umgewandelt. Infolge der systembezogenen Eigenheiten (Verdunkelung des Abbilds mit damit verbundener erhöhter relativer optischer Dichte) werden die aufgezeichneten Werte durch die Formel $(1-x)$ ausgedrückt, worin x der experimentell gemessene ROD-Wert ist, und hierdurch erfolgt eine Anpassung an den biologischen Einfluss von Röntgenstrahlen auf Knochengewebe (ein Dunkelwerden des Films bedeutet eine Abnahme der Knochendichte). Die erhaltenen densitometrischen Werte werden in Abhängigkeit vom Gewicht des Tieres aufgetragen, wobei die Tiergruppen innerhalb des gleichen Gewichtsbereichs ausgewählt werden.

4. Immunsuppressive Aktivität (Autoimmun-Krankheiten)

Bei jeder der folgenden Testmethoden wird die zu prüfende Verbindung, nämlich eine erfindungsgemäss verwendete Verbindung, wie die Verbindung D2 oder K1 jeweils in Form eines praktisch reinen Z-Isomeren, in einer peroralen Dosis von etwa 5 bis 60 mg pro kg und Tag entweder allein oder in Verbindung mit Cyclosporin A in einer peroralen Dosis von etwa 1 bis 10 mg pro kg und Tag in Olivenöl verabreicht, und somit in wesentlich niedrigeren Dosen, wie sie bei den beschriebenen Testmodellen für eine immunsuppressive Wirkung erforderlich sind.

4.1 Uveitis: Modulation einer experimentellen Autoimmunitis (EAV)

Diese Prüfung wird unter Anwendung des allgemeinen Verfahrens durchgeführt, wie es von Nussenblatt et al. in Arch. Ophthalm. 100, Seiten 1146 bis 1149 (1982) beschrieben ist. Gruppen von 6 bis 10 weiblichen Lewis-Ratten mit einem Gewicht von etwa 150 bis 200 g werden mit 30 μ g Rinder-S-Antigen, das in vollständigem Freund-Adjuvans emulgiert ist (1:1 Gewichtsteile) und das mit 2,5 mg Mycobacterium tuberculosis H 37 RA pro ml angereichert ist, durch Einspritzen in den Ballen der Hinterpfote immunisiert.

Die zu prüfende Substanz wird in den oben angegebenen Dosen verabreicht, wobei diese Verabfolgung entweder (i) ohne eine therapeutische Behandlung mit Cyclosporin A oder (ii) zusammen mit einer therapeutischen Behandlung mit Cyclosporin A erfolgt und beginnend am siebten Tag nach der Immunisierung an sieben aufeinanderfolgenden Tagen vorgenommen wird. Die Kontrollgruppen erhalten Placebo anstelle der zu prüfenden Substanz. Die Ratten werden am vierzehnten Tag nach erfolgter Immunisierung getötet, worauf man sofort die Augen entfernt, in Formaldehyd fixiert, in Paraffinwachs einbettet und mit Haematoxylin-Eosin sowie PAS anfärbt. Es wird eine histopathologische Beurteilung in maskierter Weise durchgeführt, wobei das Mass der Entzündung nach einer von 0 (keine Entzündung) bis 4 (Panophthalmitis) reichenden Skala beurteilt wird. Ausgewählte Fälle werden durch Transmissionselektronenmikroskopie und Abtastelektronenmikroskopie geprüft. Augen von Tieren mit einer EAV zeigen

eine generalisierte Entzündung der Retina und der Chorioidea mit entzündlichen Zellen, die in einem fibrinösen Exudat vermischt sind, die in der Augenhöhle, dem Subretinalraum und der hinteren Kammer auftreten.

5 Durch Verabreichung von (i) der zu prüfenden Verbindung oder (ii) der zu prüfenden Verbindung plus Cyclosporin A in den angegebenen Dosen ergibt sich eine starke Erniedrigung der Anzahl an Tieren, welche Anzeichen von EAV zeigen, im Vergleich zu den Ergebnissen bei den Kontrollgruppen, die (i) Placebo oder (ii) Placebo plus Cyclosporin A in denselben Dosen erhalten.

10 4.2.a Multiple Sklerose I: Präventive Aktivität bei experimenteller allergischer Encephalomyelitis (EAE)

Diese Prüfungen werden unter Anwendung der allgemeinen Methoden durchgeführt, wie sie von Borel et al. in Agents and Actions 6, Seite 468 (1976) beschrieben werden. Zur Einleitung einer EAE verabreicht man Gruppen von 8 bis 12 weiblichen Wistar-Ratten oder männlichen Lewis-Ratten mit einem Gewicht von jeweils 150 bis 200 g durch intradermale Injektion in jeden Ballen der Hinterpfote 0,1 ml einer Emulsion, die 2,5 g Rinderrückenmark (lyophilisiert und mit 12 ml H₂O rekonstituiert), 1,5 ml Arlacel A, 8,0 ml Nujol und 0,2 ml Kochsalzlösung enthält, welche 20 mg abgetötetes und getrocknetes Mycobacterium phlei aufweist. An fünf Tagen pro Woche verabreicht man (i) die zu prüfende Verbindung oder (ii) die zu prüfende Verbindung plus Cyclosporin A, und mit dieser Verabfolgung wird am Tage der Sensibilisierung begonnen, und sie wird 3 Wochen fortgeführt. Bei den Kontrollgruppen tritt eine EAE im allgemeinen zwischen 9 und 16 Tagen nach der Sensibilisierung auf, und dies äussert sich durch Symptome einer Paralyse bei den Hinterpfoten und am Schwanz. Die zu prüfenden Tiere werden täglich bezüglich der Krankheitssymptome geprüft, und das Auftreten der Krankheit wird als positiv bewertet, sobald eine vollständige Unbeweglichkeit sowohl der Hinterpfoten als auch des Schwanzes zu beobachten ist. Die zu prüfenden Tiere werden während einer Zeitdauer von insgesamt 25 Tagen beobachtet.

25 Durch Verabreichung von (i) der zu prüfenden Verbindung oder (ii) der zu prüfenden Verbindung plus Cyclosporin A in den oben angegebenen Dosen kommt es zu einer starken Erniedrigung des Auftretens von EAE während der Versuchsdauer im Vergleich zu den Kontrollgruppen, die (i) entweder nur Placebo oder (ii) Placebo plus Cyclosporin A in der gleichen Dosis erhalten.

30 4.2.b Multiple Sklerose II: Aktivität bei ausgebildeter EAE

Diese Prüfung wird analog wie oben unter 4.2.a beschrieben durchgeführt, wobei abweichend davon mit der Verabreichung von (i) der zu prüfenden Substanz oder (ii) der zu prüfenden Substanz plus Cyclosporin A jedoch am achten bis neunten Tag nach der Sensibilisierung (nämlich unmittelbar vor dem Auftreten der Krankheitssymptome) begonnen wird, die Verabreichung täglich oder jeden zweiten Tag vorgenommen wird und die Verabreichungsdauer etwa 14 Tage beträgt. Während der Behandlungsdauer werden die Tiere täglich auf Krankheitssymptome hin untersucht und beurteilt, wie dies oben unter 4.2.a angegeben ist.

40 Durch Verabreichung von (i) der zu prüfenden Substanz oder (ii) der zu prüfenden Substanz plus Cyclosporin A in den oben angegebenen Dosen kommt es zu einer starken Erniedrigung des Auftretens von EAE während der Versuchsdauer im Vergleich zu den Kontrollgruppen, die (i) entweder nur Placebo oder (ii) Placebo plus Cyclosporin A in der gleichen Dosis erhalten.

45 4.3 Systemischer Lupus erythematosus: (NZB/NZW)F1-Mausmodell

Diese Versuche beruhen auf dem (NZB/NZW)F1-Mausmodell, das von Steinberg et al. in Bulletin on the Rheumatic Diseases 28, Nummern 4 bis 5, Seiten 940 bis 946 (1977 bis 1978), veröffentlicht von The Arthritis Foundation, Atlanta, Georgia, V.St.A., beschrieben und diskutiert ist. Weibliche Mäuse dieses Stammes entwickeln spontan charakteristische Merkmale des SLE-Syndroms unter Einschluss einer Bildung von anti-DNA und anti-Erythrozyten-Autoantikörpern und ergeben auch eine Proteinurie bei einem Alter von etwa 5 bis 7,5 Monaten. Ein solcher Zustand führt schliesslich zum Tod der Tiere.

50 Für diese Versuche werden Gruppen aus 6 bis 8 weiblichen Mäusen verwendet. Die Behandlung mit (i) der zu prüfenden Substanz oder (ii) der zu prüfenden Substanz plus Cyclosporin A unter fünfmaliger Verabreichung pro Woche und Fortführung der Behandlung während 8 bis 10 Wochen beginnt (a) vor einer spontanen Entwicklung von Antikörpern, beispielsweise im Alter von etwa 5 Monaten, oder (b) nach einer spontanen Entwicklung von Antikörpern, beispielsweise in einem Alter von etwa 8 bis 9 Monaten. Die anti-DNA und anti-Erythrozytenantikörpertiter werden in regelmässigen Zeitabständen während der Versuchsdauer unter Anwendung der Elisa-Technik gemessen, wobei diese Messung etwa 1 Woche vor Beginn der Therapie angefangen wird. Weitere zu untersuchende Parameter sind die Entwicklung einer Proteinurie (die einmal pro Woche gemessen wird) und die Lebensdauer. Die Ergebnisse bei Tiergruppen, die wie oben unter (a) und (b) beschrieben behandelt worden sind, sprechen für eine prophylaktische bzw. eine therapeutische Wirksamkeit.

60 Durch Verabreichung von (i) der zu prüfenden Substanz oder (ii) der zu prüfenden Substanz plus Cyclosporin A in den oben angegebenen Dosen ergibt sich eine wesentliche Erniedrigung der Autoantikörpertiter, und es lässt sich auch ein Auftreten einer Proteinurie und auch eine Zunahme der mittleren Le-

benserwartung sowohl bei einer prophylaktischen als auch einer therapeutischen Behandlung beobachten, wenn man dies mit den Ergebnissen von Kontrollgruppen vergleicht, die entweder (i) nur Placebo oder (ii) Placebo plus Cyclosporin A in der gleichen Dosis erhalten.

5 Pulmonalfibrose

Diese Prüfung wird nach der allgemeinen Methode durchgeführt, wie sie von G.J. Laurent et al. in Eur. J. Clin. Invest. 11, Seiten 441 bis 448 (1981) beschrieben wird. Bei Gruppen von 4 neuseeländischen weissen Wechselhasen (mit einem Alter von 127 Tagen am Beginn des Versuchs), die jeweils 2,0 bis 2,5 kg wiegen, wird durch intratracheale Instillation von 10 mg Bleomycin pro kg eine Pulmonalfibrose hervorgerufen. Die Lungen der Versuchstiere werden nach 2, 4 und 8 Wochen untersucht. Durch Verabreichung der erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, beispielsweise der Verbindungen D2 oder K1 jeweils in Form der praktisch reinen Z-Isomeren, in einer peroralen Dosis von etwa 2,5 bis 60 mg pro kg und Tag ergibt sich eine wesentliche Erniedrigung der Pulmonalfibrose im Vergleich zu den Kontrollgruppen, die lediglich Placebo erhalten.

6. Klinischer Versuch I: Psoriasis

Dieser Versuch wird mit erwachsenen männlichen und weiblichen Patienten durchgeführt, die an starker chronischer Psoriasis leiden, die sich nach der sogenannten Neunerregel auf 20% oder mehr der Körperoberfläche erstreckt, wobei der Krankheitszustand dieser Patienten anhand der derzeitigen Therapie entweder stabil oder progressiv ist. Vor Beginn des Versuchs wird die speziell auf die Hautkrankheit gerichtete gesamte systemische, topische oder phototherapeutische Behandlung während wenigstens 2 Wochen unterbrochen. Lediglich die Behandlung mit milden Weichmachern, 2prozentiger Salicylsäure in Olivenöl, Kohleteershampoos und/oder einer Creme oder Salbe auf Basis von 1prozentigem Hydrocortison und eine medikamentöse Behandlung von Arthritis und sonstigen begleitenden Erkrankungen von Psoriasis werden während dieser Zeitdauer fortgeführt.

Nach einer sogenannten Auswaschzeit von 2 Wochen werden die Patienten nach 8- bis 10stündigem Hungern über Nacht für die Versuche zugelassen. Zum Zeitpunkt der Zulassung werden die folgenden Labortests durchgeführt: vollständige Blutauszählung, Serumelektrolyte, Glucose, Calcium, Phosphor, Harnsäure, ALT/AST/LDH (Alaninaminotransferase/Aspartataminotransferase/Lactatdehydrogenase), Wachstumsfaktor der epidermalen Plasmazellen, Wachstumshormon und Harn-EGF. Das klinische Ausmass der Psoriasis wird nach der sogenannten Neunerregel bestimmt, und die Schädigungen werden unter Berücksichtigung des Ausmasses der Rötung, der Dicke und der Schuppigkeit unter Anwendung einer von 0 bis 4 reichenden Beurteilungsskala bewertet, wie dies von Kragballe et al. in Arch. Dermatol. 119, Seiten 548 bis 552 (1983) beschrieben wird. Von ausgewählten Schädigungen werden auch klinische Photographien angefertigt. Unter Anwendung einer Infiltrationsanästhesie mit 1prozentigem Lidocain wird ein 6 mm grosses Hautstück entnommen.

Während der Versuchsdauer erhalten die Patienten eine erfindungsgemäss verwendete Verbindung, beispielsweise die Verbindung D2 oder K1, jeweils in Form des praktisch reinen Z-Isomeren, in peroralen Dosen von etwa 400 bis 1200 mg pro Tag, die einmal täglich oder in unterteilten Dosen bis zu viermal täglich verabreicht werden.

Während der Versuchsdauer wird ausser der bereits erwähnten Behandlung während der sogenannten Auswaschzeit keine sonstige Therapie zugelassen. Alle Prüfungen, die zu Beginn des Versuchs durchgeführt werden (Hungern, Blut, Harn, Ermittlung des klinischen Ausmasses der Psoriasis, klinische Photographie und Hautentnahme) werden im Verlaufe des Versuchs an den Tagen 7, 14, 21 und 28 wiederholt.

Die am Versuch teilnehmenden Patienten, welche die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen erhalten, zeigen eine ausgeprägte Verbesserung des psoriatischen Zustands, was sich durch einen progressiven Rückgang des klinischen Ausmasses der Psoriasis äussert, und insbesondere des Ausmasses der psoriatischen Läsion, und was sich auch durch eine ausgeprägte Erniedrigung der Entwicklung eines Läsionszustandes zeigt. Weiter zeigen die Ergebnisse aus sequentiellen Hautbiopsien eine ausgeprägte histologische Veränderung in Relation zum Läsionszustand, wie eine Erniedrigung des Mitoseindex, eine Abnahme des inflammatorischen Infiltrats und eine beachtliche Verbesserung in der Vaskulatur.

Eine Wirksamkeit lässt sich auch durch Wiederholung des Versuchs im sogenannten Doppelblindkreuzversuch belegen, wozu zwei Patientengruppen eingesetzt werden, wovon eine Gruppe unter Anwendung der obigen Vorschriften eine erfindungsgemäss verwendete Verbindung erhält und der anderen Gruppe lediglich Placebo gegeben wird, und wobei beide Gruppen hinsichtlich des Ausmasses von Läsionen miteinander verglichen werden.

7. Klinischer Versuch II: Alzheimer-Krankheit (AD/SDAT)

Dieser Versuch wird anhand einer Versuchsgruppe aus 6 bis 10 Patienten (weiblich und männlich) durchgeführt, die an einer schwachen bis mittelmässigen Demenz vom Typ AD/SDAT nach den in DSM-

III (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 3. Auflage) definierten Parametern leiden, und dieser Versuch schliesst Patienten ein, die an schweren kardiovaskulären Krankheiten, Hypotension (systolischer Blutdruck über 120), starker Endokrinerkrankung, starker Lebererkrankung, Niereninsuffizienz und/oder Malabsorption leiden.

5 Der Versuch beginnt mit einem EEG und einem psychometrischen Test zum Zeitpunkt 0. Den Patienten wird dann Placebo oder der zu prüfende Wirkstoff in der unten beschriebenen Form verabreicht, und 60, 120 sowie 180 Minuten nach dieser Verabreichung wird erneut ein EEG-Test und ein psychometrischer Test durchgeführt.

Hierbei handelt es sich um folgende psychometrische Tests:

10 i) Selektiver Erinnerungstest nach Buschke, Selective Reminding for Analysis of Memory and Learning, J. Verbal Learning and Verbal Behaviour 12, Seiten 543 bis 550 (1973),

ii) Messung des Konstruktionsvermögens nach Muratomo et al., Effect of Physostigmin on Constructional and Memory Tasks in Alzheimer's disease, Arch. Neurol. 36, Seiten 501 bis 503 (1973), und

15 iii) Erinnerungsvermögen an geometrische Figuren (von Benton überarbeiteter Test zur Visualretention).

Während des Verlaufs des Versuchs erhalten die Patienten entweder Placebo oder eine erfindungsgemäss verwendete Verbindung, wie beispielsweise die Verbindung D2 oder K1, jeweils in Form des praktisch reinen Z-Isomeren, in peroralen Dosen von etwa 450 bis etwa 1200 mg, die einmal oder zweibis dreimal in unterteilten Dosen verabreicht werden.

20 Es werden auch die folgenden weiteren Parameter überwacht:

Haematologie: R.B.C., HB, HCT, W.B.C., Differenzazählungen, Sedimentationsgeschwindigkeit, Blutglucose

Urin: Albumin, Glucose

Serum: Alkaliphosphatase, ALT, AST, S-GT, S-Bilirubin, S-T4, S-T3, S-TSH, Kreatinin

25 Patienten, die erfindungsgemäss verwendete Verbindungen in den oben angegebenen Dosen erhalten, zeigen im Vergleich zu Patienten, denen lediglich Placebo gegeben wird, eine ausgeprägte Zustandsverbesserung, wie sich anhand der EEG-Ergebnisse und der Ergebnisse psychometrischer Tests ergibt.

30 8. Klinischer Versuch III: Calciumresorption – periodontale Krankheit

Dieser Versuch wird an Freiwilligen (männlich und weiblich) durchgeführt, die an periodontaler Krankheit leiden. Eine erfindungsgemäss verwendete Verbindung, beispielsweise die Verbindung D2 oder K1, in Form des praktisch reinen Z-Isomeren, wird peroral in Dosen von etwa 400 bis 1200 mg pro Tag verabreicht, und zwar entweder einmal täglich oder in unterteilten Dosen bis zu viermal täglich, oder die Verabfolgung erfolgt in das Zahnfleisch an der Stelle der Erkrankung in Dosen in der Grössenordnung von etwa 0,5 oder 1,0 bis etwa 5,0 mg in jeden Zahnfleischbeutel. Die Patienten werden in regelmässigen oder zweimal wöchentlichen Zeitabständen bezüglich der Krankheitsprogression untersucht. Hierbei zeigt sich bei den Patienten eine ausgeprägte Zustandsverbesserung nach einer kontinuierlichen Therapie während etwa 2 bis 3 Wochen.

9. Klinischer Versuch IV: Degeneratives Gelenkleiden

Dieser Versuch wird anhand von freiwilligen Patienten (männlich und weiblich) durchgeführt, die entweder an psoriatischer Arthritis oder an seronegativer Spondylarthrose oder Osteoarthrose leiden. Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen, beispielsweise die Verbindungen D2 oder K1 in Form der praktisch reinen Z-Isomeren, werden peroral in Dosen von etwa 200 bis 1200 mg pro Tag entweder einmal täglich oder in unterteilten Dosen von bis zu viermal täglich während 8 Wochen verabreicht. Die Patienten werden in regelmässigen Zeitabständen von 2 Wochen bezüglich der Krankheitsprogression hinsichtlich Parametern untersucht, wie einer Schmerzwahrnehmung an den Gelenken, einer Beurteilung der funktionellen Kapazität nach Steinbrocker, der Griffstärke der Hand oder dem Ritchie-Index. Hierbei ergibt sich für die Patienten eine Zustandsverbesserung nach einer Behandlungsdauer von 8 Wochen.

Vergleichbare Ergebnisse lassen sich auch bei Versuchen erzielen, die hinsichtlich anderer Krankheiten und Zustände der oben erwähnten Art durchgeführt werden (wie bezüglich einer Muskelproteolyse, einer morbiden Somnolenz und dergleichen) und hierbei werden erfindungsgemäss verwendete Verbindungen, insbesondere die Verbindungen D2 oder K1, jeweils in Form der praktisch reinen Z-Isomeren, in den gleichen oder in vergleichbaren Dosen verwendet, wie sie oben beschrieben worden sind.

Die zur praktischen Anwendung erforderlichen Tagesdosen sind natürlich abhängig von einer Reihe an Faktoren, wie der jeweils gewählten erfindungsgemäss verwendeten Verbindung, dem jeweils zu behandelnden Zustand und dem gewünschten Effekt. Im allgemeinen lassen sich jedoch zufriedenstellende Ergebnisse erreichen, wenn die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen in Tagesdosen in der Grössenordnung von etwa 100 mg bis zu etwa 2,0 g, vorzugsweise von etwa 350 mg bis etwa 2,0 g, beispielsweise bis zu etwa 1,5 g, peroral einmal täglich oder in unterteilten Dosen zwei- bis viermal täglich oder in Retardform verabreicht werden. Für eine orale Verabreichung geeignete Einheitsdosierungsfor-

men enthalten daher etwa 25 mg bis etwa 1,0 g Wirkstoff zusammen mit ein oder mehr pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmitteln oder Trägern hierfür.

Werden die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen zusammen, beispielsweise als Adjuvans, mit einer anderen immunsuppressiven therapeutischen Behandlung verabreicht, wie einer Behandlung spezifischer Krankheiten oder Zustände der oben beschriebenen Art, dann schwanken die Dosen für das mitverabreichte immunsuppressive Mittel natürlich in Abhängigkeit von der Art des eingesetzten Immunsuppressivums, das beispielsweise ein Steroid oder ein Cyclosporin sein kann, vom angewandten speziellen Wirkstoff, vom zu behandelnden Zustand, von der gewünschten Therapie usw. Im allgemeinen lassen sich jedoch zufriedenstellende Ergebnisse erzielen, wenn der mitverabreichte immunsuppressive Wirkstoff in Dosen in der Grössenordnung von 80%, beispielsweise von 50%, der Dosen verabfolgt wird, die gewöhnlich erforderlich sind, wenn der jeweils mitverabreichte immunsuppressive Wirkstoff als Monotherapie angewandt wird. Wird daher beispielsweise ein Cyclosporin als mitverabreichtes Immunsuppressivum angewandt, dann erhält man zufriedenstellende Ergebnisse durch Verabreichung einer Wirkstoffdosis von etwa 1 bis etwa 25 mg pro kg und Tag (beispielsweise im Falle von Cyclosporin A von etwa 5 bis etwa 15 mg pro kg und Tag), welche dem Patienten oral entweder einmal täglich in unterteilten Dosen zwei- bis dreimal täglich verabfolgt werden. Im Falle einer erforderlichen intravenösen Verabreichung eines Cyclosporins, beispielsweise bei Verabreichung durch Infusion (wie in der Anfangsphase einer Behandlung), sind im allgemeinen niedrigere Dosen angezeigt, die beispielsweise in der Grössenordnung von etwa 0,5 bis etwa 5,0 mg pro kg und Tag liegen (so dass im Falle von Cyclosporin A beispielsweise eine Anfangsdosis von etwa 1 bis etwa 3 mg pro kg und Tag und eine Aufrechterhaltungsdosis von etwa 2 mg pro kg und Tag verabfolgt wird).

Demnach gehört zur Erfindung auch die Verwendung der erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen

7. zur Erniedrigung der Dosis eines immunsuppressiven Arzneimittels, wie eines immunsuppressiven Steroids oder eines immunsuppressiven Cyclosporins, beispielsweise von Cyclosporin A, die für eine wirksame Behandlung eines unter einer immunsuppressiven Therapie stehenden Patienten erforderlich ist, wie zur Behandlung irgendeiner Krankheit oder irgendeines Zustandes durch eine immunsuppressive Therapie der oben beschriebenen Art, sowie

8. in Verbindung mit einem zweiten arzneilichen Wirkstoff als Immunsuppressivum, beispielsweise ein immunsuppressives Steroid oder ein immunsuppressives Cyclosporin, wie Cyclosporin A, zur Bewirkung einer Immunsuppression, beispielsweise zur Behandlung irgendeiner speziellen Autoimmunkrankheit der oben beschriebenen Art.

Die erfindungsgemässen Zusammensetzungen können hergestellt werden, indem eine erfindungsgemäss verwendete Verbindung innig mit geeigneten pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmitteln oder Trägern vermischt und das erhaltene Gemisch dann so formuliert oder präsentiert wird, dass sich eine bequeme Verabreichungsform ergibt.

Durch das folgende Beispiel wird die Herstellung fester erfindungsgemässer Zusammensetzungen erläutert.

40 Beispiel

Herstellung fester Zusammensetzungen für eine orale Applikation

Tabletten oder Kapseln können den Wirkstoff im Gemisch mit herkömmlichen pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoffen, beispielsweise inerten Verdünnungsmitteln, wie Calciumcarbonat, Natriumcarbonat, Lactose oder Talkum, Granulierhilfsmitteln und Zerfallhilfsmitteln, wie Stärke oder Alginsäure, Aromastoffen, Farbstoffen und süssmachenden Mitteln, Bindemitteln, wie Stärke, Gelatine oder Akazie sowie Gleitmitteln, wie Magnesiumstearat, Stearinsäure oder Talkum enthalten.

Das folgende Beispiel zeigt die Herstellung von Kapseln:

Bestandteile	Menge pro Dosis
Wirkstoff, wie Verbindung D2 oder K1 in Form der praktisch reinen Z-Isomeren	200,00 mg
Lactose (Korngrösse 0,075 mm)	109,75 mg
Maisstärke	35,00 mg
Siliciumdioxid (Aerosil 200)	1,75 mg
Magnesiumstearat	3,50 mg
Gesamtmenge	350,00 mg

Die Wirkstoffe werden unter Anwendung herkömmlicher galenischer Verfahren innig miteinander vermischt und in Hartgelatine-kapseln abgefüllt, die dann verschlossen werden. Das Gewicht der Kapsel beträgt 97,0 mg, und das Gesamtgewicht der gefüllten Kapsel macht 447,0 mg aus.

Die erfindungsgemäss verwendeten Verbindungen werden in den benötigten Dosen gut vertragen.

Die Verbindung D2 weist in Form des praktisch reinen Z-Isomers bei Mäusen und Ratten nach 14 Tage langer peroraler oder nach 7 Tage langer intravenöser Verabreichung folgende LD₅₀-Werte auf: perorale Verabreichung an Mäuse = 1623 mg/kg, intravenöse Verabreichung = 163 mg/kg, perorale Verabreichung an Ratten = 1721 mg/kg, intravenöse Verabreichung = 50 mg/kg.

Von Hunden der Rasse Beagle wird die gleiche Verbindung im allgemeinen gut vertragen, wenn sie in hohen Dosen von bis zu 200 mg pro kg und Tag während 26 Wochen verabreicht wird.

Für die Verbindung K1 in Form des praktisch reinen Z-Isomers haben sich bei toxikologischen Pilot-Studien am Beagle nach peroraler Verabreichung in Dosen von 150 und 200 mg pro kg in Gelatinekapselform während 5 Wochen und in Olivenöl während 6 bis 8 Wochen keine pathologischen Effekte beobachten lassen.

Die Formen der pharmazeutisch annehmbaren Säureadditionssalze verfügen über gleiche oder ähnliche Verträglichkeit/Aktivität-Spiegel wie die freien Säuren.

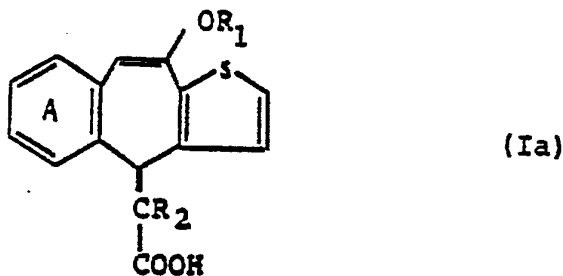
Patentansprüche

1. Eine α - [10-Oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-carbonsäure oder ein physiologisch hydrolysierbarer und physiologisch annehmbarer Ester oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon als therapeutisches Mittel zur Bewirkung einer Interleukin-1-Hemmung.

2. Verwendung einer α - [10-Oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-carbonsäure oder eines physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Esters oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes hiervon zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung als therapeutisches Mittel zur Bewirkung einer Interleukin-1-Hemmung.

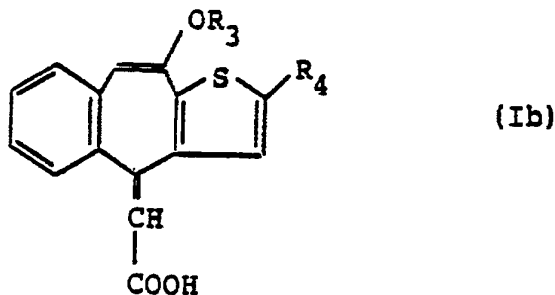
3. Verwendung einer α - [10-Oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-carbonsäure oder eines physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Esters oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes hiervon zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung als Mittel zur Einleitung oder Bewirkung einer Immunsuppression, zur Behandlung von exogenem oder endogenem Insult, zur Behandlung eines Calciumentzugs im Gewebe oder von degenerativen Prozessen in Knochen oder Knorpeln oder zur Behandlung oder unterstützenden oder adjunktiven Behandlung von Tumorinvasivität oder von mit Tumorwachstum verbundenen Symptomen oder zur Behandlung fibröser Zustände, der Kreuzfeld-Jakob-Krankheit, der Alzheimer-Krankheit, der morbiden Somnolenz, der Gicht, dem Endotoxinschock oder Epidermolysis bullosa.

4. Verwendung nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass als α -[10-Oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b] thiophen-4-yliden]carbonsäure eine Verbindung der Formel (Ia)



worin

R₁ Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl-(C₁-C₄-alkyl) ist,
R₂ Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl ist und
der Ring A unsubstituiert oder durch Halogen oder Hydroxy substituiert ist,
oder eine Verbindung der Formel (Ib)



worin

R₃ Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl ist und

R₄ für Halogen steht,
oder ein physiologisch hydrolysierbarer und physiologisch annehmbarer Ester oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon eingesetzt wird.

5 5. Verwendung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass als α - [10-Oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-carbonsäure oder der physiologisch hydrolysierbare und physiologisch annehmbare Ester hiervon irgendeine der folgenden Verbindungen:

- 10 A) [10-Methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester
 B) [7-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester
 C) [6-Hydroxy-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester
 10 D) [10-Methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure
 E) [10-Methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäuremethylester
 F) [7-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure
 G) [6-Hydroxy-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure
 H) [10-Hydroxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure
 15 J) [2-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester
 X) [2-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure
 oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon eingesetzt wird.

20 6. Verwendung einer α - [10-Oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-carbonsäure oder eines physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Esters oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung, die zusammen mit einem zweiten arzneilichen Wirkstoff eingesetzt wird, als therapeutisches Mittel zur Einleitung oder Bewirkung einer Immunsuppression.

25 7. Zusammensetzung als therapeutisches Mittel zur Bewirkung einer Interleukin-1-Hemmung, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine α - [10-Oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-carbonsäure oder einen physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Ester oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon als Wirkstoff enthält.

30 8. Zusammensetzung als Mittel zur Einleitung oder Bewirkung einer Immunsuppression, zur Behandlung von exogenem oder endogenem Insult, zur Behandlung eines Calciumentzugs im Gewebe oder von degenerativen Prozessen in Knochen oder Knorpeln oder zur Behandlung oder unterstützenden oder adjunktiven Behandlung von Tumorinvasivität oder von mit Tumorwachstum verbundenen Symptomen oder zur Behandlung fibroser Zustände, der Kreuzfeld-Jakob-Krankheit, der Alzheimer-Krankheit, der morbiden Somnolenz, der Gicht, dem Endotoxinschock oder Epidermolysis bullosa, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine α - [10-Oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-carbonsäure oder einen physiologisch hydrolysierbaren und physiologisch annehmbaren Ester oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon als Wirkstoff enthält.

35 9. Zusammensetzung nach Anspruch 8 als Mittel zur Behandlung arthritischer Zustände.

40 10. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 7 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die α - [10-Oxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-carbonsäure oder der physiologisch hydrolysierbare und physiologisch annehmbare Ester hiervon irgendeine der folgenden Verbindungen:

- 40 A) [10-Methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester
 B) [7-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester
 C) [6-Hydroxy-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester
 D) [10-Methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure
 45 E) [10-Methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäuremethylester
 F) [7-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure
 G) [6-Hydroxy-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure
 H) [10-Hydroxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure
 J) [2-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäureethylester
 50 K) [2-Chlor-10-methoxy-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yliden]-essigsäure
 oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon ist.

55

60

65