



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 12 309 T2 2007.11.08**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 490 097 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 12 309.0**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US03/09157**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 716 821.8**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2003/084567**

(86) PCT-Anmeldetag: **24.03.2003**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **16.10.2003**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **29.12.2004**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **07.03.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **08.11.2007**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 38/48 (2006.01)**

A61K 38/16 (2006.01)

C07K 14/33 (2006.01)

A61L 31/16 (2006.01)

A61P 9/08 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

114740 01.04.2002 US

(73) Patentinhaber:

Allergan, Inc., Irvine, Calif., US

(74) Vertreter:

HOFFMANN & EITLE, 81925 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR**

(72) Erfinder:

**BROOKS, Gregory F., Irvine, CA 92612, US;
DONOVAN, Stephen, Capistrano Beach, CA 92624,
US**

(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG VON BOTULINUM TOXIN ZUR BEHANDLUNG VON HERZ- UND KREISLAUFS-
KRANKHEITEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Hintergrund

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft die Verhinderung oder die Reduktion von Restenose, die in Blutgefäßen nach mechanischer Aufweitung des Durchmessers eines verschlossenen Blutgefäßes auftreten kann.

[0002] Atherosklerose ist eine progressive Erkrankung, bei der fettige, fibröse, calcifizierende oder thrombotische Ablagerungen atheromatöse Plaques hervorrufen, innerhalb und unter der Intima, welche die innerste Schicht von Arterien ist. Atherosklerose neigt dazu, große und mittelgroße Arterien zu involvieren. Die am häufigsten betroffenen sind die Aorta, Iliakal-, Femoral-, Koronar- und Cerebralarterien. Die klinischen Symptome treten auf, weil die Masse des atherosklerotischen Plaques den Blutfluss durch die betroffene Arterie reduziert, wodurch die Gewebe- oder Organfunktion distal von ihr gefährdet wird.

[0003] Die perkutane, transluminale Koronarangioplastie ist ein nicht-chirurgisches Verfahren für die Behandlung von koronarer Atherosklerose. Bei diesem Eingriff wird ein aufblasbarer Ballon in eine Koronararterie in den Bereich der arteriellen Verengung eingeführt. Das Aufpumpen des Ballons für 15 bis 30 Sekunden resultiert in einer Erweiterung des verengten Lumens oder Durchgangs. Da normalerweise eine Restverengung nach dem ersten Ballonaufpumpen vorliegt, wird mehrfaches oder verlängertes Aufpumpen routinemäßig durchgeführt, um die Schwere der restlichen Röhrenverengung zu reduzieren.

[0004] Es werden häufig Stents in Kombination mit koronarer Ballonangioplastie verwendet. Typischerweise wird ein Stent verwendet, um das Blutgefäß nach einer initialen Aufweitung des verengten Blutgefäßes durch einen Ballon offen zu halten. Selbst expandierende Stents werden auch verwendet, um verschlossene Blutgefäße zu erweitern und offen zu halten. Verschiedene Stents und ihre Verwendung werden in den US-Patenten Nrn. 6,190,404; 6,344,055; 6,306,162; 6,293,959; 6,270,521; 6,264,671; 6,261,318; 6,241,758; 6,217,608; 6,196,230; 6,183,506; 5,989,280 offenbart.

[0005] Ein Problem mit der Angioplastie ist, dass nach dem Eingriff Restenose oder ein Wiederauftreten der Obstruktion auftreten kann. Risse in der Wand exponieren Blut gegenüber Fremdmaterial und Proteinen, wie Kollagen, die hoch thrombogen sind. Resultierende Thromben können Wachstumshormone enthalten, die durch die Thrombozyten innerhalb des Thrombus freigesetzt werden können. Zusätzlich kann Thrombose die Freisetzung von Wachstumshormonen und Cytokinen durch Zellen von Makrophagen freisetzen. Wachstumshormone können glat-

te Muskelzellen und Fibroblasten dazu bringen, sich in der Region anzusammeln und sich zu vermehren. Weiter gibt es häufig nach Angioplastie einen Verlust der einzelnen Schicht von Zellen, die normalerweise die innere Oberfläche von Blutgefäßen bedeckt, was zu Thrombose führt. Die Kombination aus Einreißen der Blutgefäßwand und dem Verlust der endothelialen Schicht erzeugt häufig eine innere Blutgefäßoberfläche, die ziemlich thrombogen ist. Restenose kann aus der Proliferation von glatten Muskelzellen, die normalerweise innerhalb der Arterienwand vorliegen, in dem Bereich der Verletzung in Antwort auf die Thrombose resultieren.

[0006] Angioplastie-Eingriffe rufen auch Verletzungen in der Arterienwand hervor, die mit Entzündung assoziiert werden können. Jede Art von entzündlicher Antwort kann das Wachstum von neuem Gewebe, z.B. Narbengewebe, hervorrufen, was zu der Restenose beitragen kann.

[0007] Einer der anderen Hauptgründe für Restenose nach Angioplastie kann sein, dass die verletzte Arterienwand eine reduzierte Hämokompatibilität im Vergleich mit derjenigen, die mit einer normalen Arterienwand assoziiert ist, aufweisen kann. Ungünstige Reaktionen, die mit reduzierter Hämokompatibilität assoziiert sind, beinhalten Thrombozytenadhäsion, -aggregation und -aktivierung; Thrombose; entzündliche Zellreaktionen wie Adhäsion und Aktivierung von Monozyten oder Makrophagen und die Infiltration von Leukozyten in die Arterienwand.

[0008] Restenose ist ein ernstes Problem, das bei über einem Drittel aller Koronar-Angioplastie-Patienten auftreten kann. Daher besteht ein Bedarf an Methoden, um das Auftreten von Restenose, die nach Eingriffen zur mechanischen Expansion eines verschlossenen Blutgefäßes folgen kann, zu reduzieren oder zu eliminieren.

Botulinumtoxin

[0009] Das anaerobe, grampositive Bakterium *Clostridium botulinum* stellt ein starkes Polypeptid-Neurotoxin, Botulinumtoxin, her, das eine neuroparalytische Erkrankung bei Menschen und Tieren hervorruft, die als Botulismus bezeichnet wird. Die Sporen von *Clostridium botulinum* werden in Erde gefunden und können in ungenügend sterilisierten und verschlossenen Nahrungsmittelbehältern von häuslichen Konservenfabriken wachsen, die die Ursache von vielen der Botulismusfälle sind. Die Effekte von Botulismus treten typischerweise 18 bis 36 Stunden nach dem Verzehr der Nahrungsmittel, die mit einer *Clostridium botulinum*-Kultur oder Sporen infiziert sind, auf. Das Botulinumtoxin kann offensichtlich unverändert durch die Auskleidung des Darms passieren und periphere motorische Neurone angreifen. Die Symptome der Botulinumtoxin-Intoxikation kön-

nen von der Schwierigkeit zu gehen, zu schlucken und zu sprechen bis zur Paralyse der Atemmuskulatur und dem Tod fortschreiten.

[0010] Botulinumtoxin Typ A ("BoNT/A") ist der tödlichste natürliche biologische Wirkstoff, der dem Menschen bekannt ist. Ungefähr 50 Pikogramm Botulinumtoxin (gereinigter Neurotoxinkomplex) Serotyp A sind eine LD₅₀ bei Mäusen. Eine Einheit (U) Botulinumtoxin ist als die LD₅₀ bei intraperitonealer Injektion in weibliche Swiss Webster-Mäuse, die jeweils 18 bis 20 g wiegen, definiert. Es wurden sieben immunologisch unterschiedliche Botulinum-Neurotoxine charakterisiert, diese sind jeweils die Botulinum-Neurotoxin-Serotypen A, B, C₁, D, E, F und G, wovon jeder durch Neutralisierung mit Serotyp-spezifischen Antikörpern unterschieden wird. Die verschiedenen Serotypen von Botulinumtoxin variieren in den Tierarten, die sie infizieren, und in der Schwere und Dauer der Paralyse, die sie hervorrufen. Zum Beispiel wurde bestimmt, dass BoNT/A 500mal stärker ist, wie durch die Lähmungsrate, die bei der Ratte hervorgehoben wird, gemessen wurde, als Botulinumtoxin Serotyp B (BoNT/B). Zusätzlich wurde bestimmt, dass Botulinumtoxin Typ B ("BoNT/B") bei Primaten in einer Dosis von 480 U/kg, was ungefähr 12mal der Primaten LD₅₀ für BoNT/A entspricht, nicht toxisch ist. Botulinumtoxin bindet offensichtlich mit hoher Affinität an cholinerge motorische Neurone, wird in das Neuron transloziert und blockiert die Freisetzung von Acetylcholin.

[0011] Botulinumtoxine wurden im klinischen Rahmen für die Behandlung von neuromuskulären Störungen, die durch hyperaktive Skelettmuskulatur charakterisiert werden, verwendet. BoNT/A wurde von der U. S. Food and Drug Administration für die Behandlung von Blepharospasmus, Strabismus, hemifazialen Spasmus und zervikaler Dystonie genehmigt. Zusätzlich wurde ein Botulinumtoxin Typ B durch die FDA für die Behandlung zervikaler Dystonie genehmigt. Nicht-Serotyp A Botulinumtoxin-Serotypen besitzen offensichtlich eine geringere Stärke und/oder eine kürzere Wirkdauer im Vergleich mit BoNT/A. Klinische Wirkungen von peripherem intramuskulärem BoNT/A werden normalerweise innerhalb einer Woche nach Injektion gesehen. Die typische Dauer der symptomatischen Erleichterung nach einer einzelnen intramuskulären Injektion von BoNT/A liegt im Durchschnitt bei ungefähr drei Monaten.

[0012] Obwohl alle Botulinumtoxin-Serotypen offensichtlich die Freisetzung des Neurotransmitters Acetylcholin an der neuromuskulären Synapse inhibieren, tun sie dies durch Wirkung auf verschiedene neurosekretorische Proteine und/oder Spaltung dieser Proteine an verschiedenen Orten. Zum Beispiel spalten sowohl Botulinum-Serotypen A wie auch E das 25 kiloDalton (kD) synaptosomal assoziierte Protein (SNAP-25), aber sie zielen auf verschiedene

Aminosäuresequenzen innerhalb dieses Proteins. BoNT/B, D, F und G wirken auf Vesikel-assoziiertes Protein (VAMP, auch Synaptobrevin genannt), wobei jeder Serotyp das Protein an einem verschiedenen Ort spaltet. Schließlich wurde von Botulinumtoxin-Serotyp C₁ (BoNT/C₁) gezeigt, dass es sowohl Syntaxin wie auch SNAP-25 spaltet. Diese Unterschiede bei dem Wirkmechanismus mögen die relative Stärke und/oder Wirkdauer der verschiedenen Botulinumtoxin-Serotypen beeinflussen.

[0013] Unabhängig vom Serotyp scheint der molekulare Mechanismus der Toxin-Intoxikation ähnlich zu sein und mindestens drei Schritte oder Stadien zu involvieren. Bei dem ersten Schritt des Vorganges bindet das Toxin an die präsynaptische Membran des Zielneurons durch eine spezifische Wechselwirkung zwischen der H-Kette und einem Zelloberflächenrezeptor; man denkt, dass der Rezeptor für jeden Serotyp von Botulinumtoxin und für Tetanustoxin unterschiedlich ist. Das Carboxyl-Endsegment der H-Kette, H_C, scheint wichtig für die Zielgebung des Toxins an die Zelloberfläche zu sein.

[0014] Bei dem zweiten Schritt überquert das Toxin die Plasmamembran der vergifteten Zelle. Das Toxin wird durch die Zelle durch rezeptorvermittelte Endozytose umschlossen und ein Endosom, das das Toxin enthält, wird gebildet. Das Toxin entkommt dem Endosom dann in das Zytoplasma der Zelle. Man denkt, dass dieser letzte Schritt durch das Amino-Endsegment der H-Kette, H_N, vermittelt wird, was eine konformationelle Änderung des Toxins in Antwort auf einen pH von ungefähr 5,5 oder niedriger hervorruft. Von Endosomen ist bekannt, dass sie eine Protonenpumpe besitzen, die den intraendosomalen pH erniedrigt. Die konformationelle Änderung exponiert hydrophobe Reste in dem Toxin, was es dem Toxin erlaubt, sich selbst in die endosomale Membran einzubetten. Das Toxin transloziert dann durch die endosomale Membran in das Zytosol.

[0015] Der letzte Schritt des Mechanismus der Botulinumtoxin-Aktivität scheint die Reduktion der Disulfidbindung, die die H- und L-Kette verbindet, zu involvieren. Die gesamte toxische Aktivität von Botulinum- und Tetanustoxinen ist in der L-Kette des Holotoxins enthalten; die L-Kette ist eine Zink (Zn⁺⁺)-Endopeptidase, die selektiv Proteine spaltet, die für die Erkennung und das Andocken von Neurotransmitter enthaltenden Vesikeln an die zytoplasmatische Oberfläche der Plasmamembran und die Fusion der Vesikel mit der Plasmamembran essentiell sind. Tetanusneurotoxin, Botulinumtoxin/B/D/F und/G rufen den Abbau von Synaptobrevin (auch Vesikel-assoziiertes Membranprotein (VAMP) genannt), einem synaptosomalen Membranprotein, hervor. Das meiste des VAMP, das auf der zytoplasmatischen Oberfläche des synaptischen Vesikels vorliegt, wird als ein Ergebnis von einem dieser Spaltungsereignisse entfernt. Je-

des Toxin spaltet spezifisch eine verschiedene Bindung.

[0016] Das Molekulargewicht des Botulinumtoxin-Proteinmoleküls liegt für alle sieben der bekannten Botulinumtoxin-Serotypen bei ungefähr 150 kD. Interessanterweise werden die Botulinumtoxine durch Clostridien-Bakterien als Komplexe freigesetzt, die das 150 kD Botulinumtoxin-Proteinmolekül zusammen mit assoziierten Nicht-Toxin-Proteinen umfassen. So kann der BoNt/A-Komplex durch Clostridienbakterien als 900 kD-, 500 kD- und 300 kD-Formen hergestellt werden.

[0017] BoNt/B und C₁ werden offensichtlich nur als ein 500 kD-Komplex hergestellt. BoNt/D wird sowohl als 300 kD wie auch 500 kD-Komplexe hergestellt. Schließlich werden BoNt/E und F nur als ungefähr 300 kD-Komplexe hergestellt. Man glaubt, dass die Komplexe (sprich Molekulargewicht größer als ungefähr 150 kD) ein Nicht-Toxin-Hämagglutininprotein und ein Nicht-Toxin und ein nicht-toxisches Non-Hämagglutininprotein enthalten. Diese zwei Nicht-Toxin-Proteine (die zusammen mit dem Botulinumtoxin-Molekül den relevanten Neurotoxinkomplex umfassen) können wirken, um Stabilität gegen Denaturierung des Botulinumtoxin-Moleküls und Schutz gegen Verdauungssäuren bereitzustellen, wenn das Toxin aufgenommen wird. Zusätzlich ist es möglich, dass die größeren (größer als ungefähr 150 kD Molekulargewicht) Botulinumtoxin-Komplexe zu einer langsameren Diffusionsgeschwindigkeit des Botulinumtoxins weg von einem Ort der intramuskulären Injektion eines Botulinumtoxin-Komplexes führen können.

[0018] In vitro-Studien haben angezeigt, dass Botulinumtoxin die Kaliumkation-induzierte Freisetzung von sowohl Acetylcholin wie auch Noradrenalin aus primären Zellkulturen von Hirnstammgewebe inhibiert. Zusätzlich wurde berichtet, dass Botulinumtoxin die evozierte Freisetzung von sowohl Glycin wie auch Glutamat in primären Kulturen von Rückenmarkneuronen inhibiert und dass bei Gehirn-Synaptosom-Präparaten Botulinumtoxin die Freisetzung von jedem der Neurotransmitter Acetylcholin, Dopamin, Noradrenalin, CGRP und Glutamat inhibiert.

[0019] BoNt/A kann durch Etablierung und Züchten von Kulturen von Clostridium botulinum in einem Fermentor und dann Ernten und Reinigen der fermentierten Mischung in Übereinstimmung mit bekannten Vorgehensweisen erhalten werden. Alle Botulinumtoxin-Serotypen werden anfänglich als inaktive einkettige Proteine synthetisiert, die durch Proteasen gespalten oder geschnitten werden müssen, um neuroaktiv zu werden. Die Bakterienstämme, die Botulinumtoxin-Serotypen A und G herstellen, besitzen endogene Proteasen und die Serotypen A und G können daher aus Bakterienkulturen in hauptsächlich ih-

rer aktiven Form gewonnen werden. Im Gegensatz dazu werden die Botulinumtoxin-Serotypen C₁, D und E durch nicht-proteolytische Stämme synthetisiert und sind daher typischerweise inaktiviert, wenn sie aus der Kultur gewonnen werden. Die Serotypen B und F werden sowohl durch proteolytische wie auch nicht-proteolytische Stämme hergestellt und können daher in entweder ihrer aktiven oder inaktiven Form gewonnen werden. Sogar die proteolytischen Stämme, die z.B. den BoNt/B-Serotyp herstellen, spalten jedoch nur einen Teil des hergestellten Toxins. Der genaue Anteil von geschnittenen zu ungeschnittenen Molekülen hängt von der Länge der Inkubation und der Temperatur der Kultur ab. Daher ist es wahrscheinlich, dass ein bestimmter Prozentsatz von jeder Zubereitung von z.B. dem BoNt/B-Toxin inaktiv ist, was möglicherweise für die bekannte signifikant geringere Stärke von BoNt/B im Vergleich zu BoNt/A ursächlich ist. Die Gegenwart von inaktiven Botulinumtoxin-Molekülen in einem klinischen Präparat wird zu der allgemeinen Proteinlast des Präparates beitragen, was mit verstärkter Antigenität in Verbindung gebracht wurde, ohne dass sie zu seiner klinischen Wirksamkeit beiträgt. Zusätzlich ist es bekannt, dass BoNt/B bei intramuskulärer Injektion eine kürzere Wirkdauer aufweist und auch weniger stark ist als BoNt/A bei dem gleichen Dosierungsspiegel.

[0020] Es wurde berichtet (als beispielhafte Beispiele), dass BoNt/A klinisch wie folgt verwendet wurde:

- (1) ungefähr 75 bis 125 Einheiten BOTOX[®] (Erhältlich von Allergan, Inc., Irvin, Kalifornien unter dem Handelsnamen Botox[®]) per intramuskulärer Injektion (multiple Muskeln), um zervikale Dystonie zu behandeln;
- (2) 5 bis 10 Einheiten von BOTOX[®] pro intramuskulärer Injektion, um glabellare Linien (Augenfalten) zu behandeln (5 Einheiten, intramuskulär injiziert, in den Procerusmuskel und 10 Einheiten, intramuskulär injiziert, in jeden Corrugator supercilii-Muskel); (Erhältlich von Allergan, Inc., Irvin, Kalifornien unter dem Handelsnamen Botox[®])
- (3) ungefähr 30 bis 80 Einheiten BOTOX[®], um Verstopfung durch intrasphinkteräre Injektion des Puborektalis-Muskels zu behandeln;
- (4) ungefähr 1 bis 5 Einheiten pro Muskel von intramuskulär injiziertem BOTOX[®], um Blepharospasmus durch Injektion des lateralen präarsalen Orbicularis oculi-Muskels des Oberlides und des lateralen präarsalen Orbicularis oculi des Unterlides zu behandeln.
- (5) um Strabismus zu behandeln, wurden extraokuläre Muskeln intramuskulär mit zwischen ungefähr 1 bis 5 Einheiten von BOTOX[®] behandelt, wobei die Menge, basierend auf der Größe des Muskels, der injiziert werden sollte, und dem Ausmaß der erwünschten Muskellähmung (sprich der erwünschten Diopter-Korrektur) variierte.
- (6) um Spastizität der oberen Extremität nach Schlaganfall durch intramuskuläre Injektionen von

BOTOX® in fünf verschiedene Flexormuskeln der oberen Gliedmaße zu behandeln, wie folgt:

- (a) Flexor digitorum profundus: 7,5 U bis 30 U
- (b) Flexor digitorum sublimus: 7,5 U bis 30 U
- (c) Flexor carpi ulnaris: 10 U bis 40 U
- (d) Flexor carpi radialis: 15 U bis 60 U
- (e) Biceps brachii: 50 U bis 200 U.

[0021] Jeder der fünf angegebenen Muskeln wurde bei der gleichen Behandlungssitzung injiziert, so dass der Patient von 90 U bis 360 U BOTOX® durch intramuskuläre Injektion in die Flexormuskulatur der oberen Gliedmaße bei jeder Behandlungssitzung erhält.

[0022] Das Tetanusneurotoxin wirkt hauptsächlich im zentralen Nervensystem, während Botulinum-Neurotoxin auf die neuromuskuläre Synapse wirkt; beide wirken durch Inhibition der Acetylcholin-Freisetzung aus dem Axon des betroffenen Neurons in die Synapse, was zur Lähmung führt. Der Effekt der Intoxikation auf das betroffene Neuron ist lang andauernd und bis kürzlich glaubte man, dass er irreversibel sei. Vom Tetanus-Neurotoxin ist bekannt, dass es in einem immunologisch unterschiedlichen Serotyp existiert.

Acetylcholin

[0023] Typischerweise wird nur ein einzelner Typ eines kleinemolekularen Neurotransmitters durch jeden Neuronentyp in dem Säuger-Nervensystem freigesetzt. Der Neurotransmitter Acetylcholin wird durch Neurone in vielen Bereichen des Gehirns, aber spezifisch durch die großen Pyramidenzellen des motorischen Cortex, durch mehrere verschiedene Neurone in den Basalganglien, durch die motorischen Neurone, die die Skelettmuskulatur innervieren, durch die präganglionären Neurone des autonomen Nervensystems (sowohl sympathisch wie auch parasympathisch), durch die postganglionären Neurone des parasympathischen Nervensystems und durch einige der postganglionären Neurone des sympathischen Nervensystems sezerniert.

[0024] Im wesentlichen sind nur die postganglionären sympathischen Nervenfasern zu den Schweißdrüsen, den Piloerector-Muskeln und einigen Blutgefäße cholinerg und die meisten der postganglionären Neurone des sympathischen Nervensystems sezernieren den Neurotransmitter Noradrenalin. In den meisten Fällen besitzt Acetylcholin einen exzitatorischen Effekt. Von Acetylcholin ist jedoch bekannt, dass es inhibitorische Effekte an einigen der peripheren parasympathischen Nervenendigungen aufweist, wie die Inhibition des Herzens durch den Vagusnerv.

[0025] Die efferenten Signale des autonomen Nervensystems werden durch den Körper durch entweder das sympathische Nervensystem oder das para-

sympathische Nervensystem übertragen. Die präganglionären Neurone des sympathischen Nervensystems gehen von Körpern der präganglionären sympathischen Neurone, die in dem intermedio-lateralen Horn des Rückenmarkes lokalisiert sind, aus. Die präganglionären sympathischen Nervenfasern, die von dem Zellkörper ausgehen, bilden mit postganglionären Neuronen, die entweder in einem paravertebralen sympathischen Ganglion oder in einem prävertebralen Ganglion lokalisiert sind, eine Synapse. Da die präganglionären Neurone von sowohl dem sympathischen wie auch parasympathischen Nervensystem cholinerg sind, wird die Anwendung von Acetylcholin an den Ganglien sowohl sympathische wie auch parasympathische postganglionäre Neurone erregen.

[0026] Acetylcholin aktiviert zwei Arten von Rezeptoren, muscarinerge und nicotinerge Rezeptoren. Die muscarinergen Rezeptoren werden in allen Effektorzellen gefunden, die durch die postganglionären Neurone des parasympathischen Nervensystems stimuliert werden, wie auch in denjenigen, die durch die postganglionären cholinergen Neuronen des sympathischen Nervensystems stimuliert werden. Die nicotinergen Rezeptoren werden in den Synapsen zwischen den präganglionären und postganglionären Neuronen von sowohl dem Sympathikus wie auch dem Parasympathikus gefunden. Die nicotinergen Rezeptoren liegen auch auf vielen Membranen der Skelettmuskelfasern an der neuromuskulären Synapse vor.

[0027] Acetylcholin wird aus cholinergen Neuronen freigesetzt, wenn kleine, klare, intrazelluläre Vesikel mit der präsynaptischen Neuronenzellmembran fusionieren. Eine große Bandbreite nicht-neuronaler sekretorischer Zellen, wie Nebennierenmarks- (wie auch die PC12-Zelllinie) und Langerhansche Inselzellen setzen Catecholamine bzw. Insulin aus großen dichtkernigen Vesikeln frei. Die PC12-Zelllinie ist ein Klon von Ratten-Phäochromozytomzellen, die weit verbreitet als ein Gewebekulturmodell für Studien der sympathoadrenalen Entwicklung verwendet werden. Botulinumtoxin inhibiert die Freisetzung von beiden Verbindungsarten aus beiden Zelltypen in vitro, permeabilisiert (wie durch Elektroporation) oder durch direkte Injektion des Toxins in die denervierte Zelle. Von Botulinumtoxin ist auch bekannt, dass es die Freisetzung des Neurotransmitters Glutamat aus kortikalen Synaptosomzellkulturen blockiert.

Zusammenfassung

[0028] Die vorliegende Erfindung stellt Medikamente zur Behandlung von kardiovaskulären Erkrankungen bei einem Säuger, z.B. bei einem Menschen, bereit. Das Medikament ist für die Verabreichung einer effektiven Menge eines Botulinumtoxins direkt an ein Blutgefäß eines Säugers formuliert, um eine kardio-

vaskuläre Erkrankung zu behandeln. Bei einer Ausführungsart verhindert das Medikament Restenose.

[0029] Bei einer Ausführungsart der Erfindung hat oder hatte der Säuger einen kardiovaskulären Eingriff. Bei einer Ausführungsart ist der kardiovaskuläre Eingriff ein arteriell kardiovaskulärer Eingriff, z.B. ein koronararterieller kardiovaskulärer Eingriff.

[0030] Bei einer Ausführungsart beinhaltet der kardiovaskuläre Eingriff einen Angioplastie-Eingriff. Bei einer Ausführungsart beinhaltet die Angioplastie den Schritt der Einführung eines Stents in das Blutgefäß des Säugers. Bei einer anderen Ausführungsart beinhaltet die Angioplastie nicht den Schritt der Einführung eines Stents in ein Blutgefäß. Der Angioplastie-Eingriff kann z.B. eine Ballon-Angioplastie sein. Bei einer Ausführungsart beinhaltet die Ballon-Angioplastie die Verwendung eines Stents. Zum Beispiel kann ein Stent in das Blutgefäß während der Ballon-Angioplastie eingeführt werden.

[0031] Der Eingriff ist nicht auf die Verwendung eines Ballons begrenzt. Jedes Gerät, das verwendet werden kann, um mechanisch ein verengtes Blutgefäß zu öffnen, z.B. eine Feder oder ein anderes Ausweitungsgerät, kann verwendet werden, um eine Angioplastie durchzuführen.

[0032] Der Schritt der Verabreichung des Botulinumtoxins kann einen Schritt der Injektion des Botulinumtoxins in eine Wand des Blutgefäßes beinhalten. Insbesondere kann das Toxin in die Intima-, Media- und/oder Adventitiaschichten des Blutgefäßes injiziert werden. Weiter kann der Schritt der Verabreichung unter Verwendung eines Stents, der mit Botulinumtoxin beschichtet oder imprägniert wurde, erreicht werden.

[0033] Bei einer Ausführungsart der vorliegenden Erfindung reduziert oder eliminiert das Botulinumtoxin den Schaden an einem Blutgefäß. Beispiele für Schäden, die auftreten können, sind Dehnung und/oder Einreißen eines Blutgefäßes oder irgendein anderer Schaden, der an dem Blutgefäß als ein Resultat der mechanischen Aufweitung des inneren Durchmessers des Blutgefäßes auftreten kann. Bei einer Ausführungsart reduziert oder eliminiert das Botulinumtoxin den Schaden an dem Blutgefäß, zumindest teilweise, durch Dilatation des Blutgefäßes. Bei einer anderen Ausführungsart reduziert oder eliminiert das Botulinumtoxin den Schaden an dem Blutgefäß, zumindest zum Teil, durch Reduktion oder Elimination von Entzündung des Blutgefäßes.

[0034] In Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung kann das Botulinumtoxin irgendein Botulinumtoxin sein, einschließlich den Botulinumtoxin-Typen A, B, C, D, E, F, G oder Mischungen davon oder Kombinationen davon, einschließlich eines modifi-

zierten, hybriden oder chimären Botulinumtoxins.

[0035] Weiter in Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung werden Verfahren bereitgestellt, um die Restenose in einem Blutgefäß bei einem Säuger zu verhindern, die nach einem kardiovaskulären Eingriff auftreten kann. Bei einer Ausführungsart beinhaltet das Verfahren einen Schritt der Verabreichung einer effektiven Menge von Botulinumtoxin an einen Säuger, wodurch die Restenose in einem Blutgefäß verhindert wird.

[0036] Noch weiter in Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung werden Verfahren bereitgestellt, um Restenose bei einem Säuger durch Verhinderung von Schaden an einem Blutgefäß, der während oder nach einem kardiovaskulären Eingriff auftreten kann, zu verhindern. Bei einer Ausführungsart beinhaltet das Verfahren den Schritt der Verabreichung einer effektiven Menge an Botulinumtoxin an einen Säuger, wodurch Schaden an dem Blutgefäß verhindert und Restenose verhindert wird.

[0037] Die vorliegende Erfindung betrifft auch die Verhinderung von Restenose bei einem Säuger durch Verhinderung von Entzündung in einem Blutgefäß, die während oder nach einem kardiovaskulären Eingriff auftreten kann. Bei einer Ausführungsart wird das Medikament für die Verabreichung einer effektiven Menge des Botulinumtoxins an einen Säuger formuliert, wodurch die Entzündung in dem Blutgefäß und Restenose verhindert wird.

[0038] Weiter stellt die vorliegende Erfindung die Verhinderung von Restenose bei einem Säuger durch Dilatation eines Blutgefäßes vor, während oder nach einem kardiovaskulären Eingriff bereit. Bei einer Ausführungsart wird das Medikament für die Verabreichung einer effektiven Menge des Botulinumtoxins an einen Säuger formuliert, wodurch das Blutgefäß dilatiert und Restenose verhindert wird.

[0039] Noch weiter stellt die vorliegende Erfindung Zusammensetzungen für die Verwendung bei kardiovaskulären Eingriffen bereit. Bei einer Ausführungsart beinhalten diese Zusammensetzungen einen Stent mit einem Botulinumtoxin, das an dem Stent angebracht oder in den Stent eingebettet ist. Das Botulinumtoxin kann irgendein Botulinumtoxin sein, einschließlich Botulinumtoxin-Typ A, B, C, D, E, F, G oder Kombinationen davon oder Mischungen davon.

[0040] Zusätzliche Vorteile und Aspekte der vorliegenden Erfindung sind in der folgenden detaillierten Beschreibung und den Ansprüchen offensichtlich.

Definitionen

[0041] "Wirkstoff" ist als ein Neurotoxin, z.B. ein Botulinumtoxin, für die Verwendung gemäß der vorlie-

genden Erfindung definiert. Ein Wirkstoff kann ein Fragment eines Neurotoxins, ein modifiziertes Neurotoxin oder ein variantes Neurotoxin sein, das einiges oder alles der biologischen Aktivität eines unmodifizierten Neurotoxins besitzt.

[0042] "Angioplastie" bedeutet irgendeinen Eingriff, bei dem der innere Durchmesser eines Blutgefäßes mechanisch aufgeweitet wird.

[0043] Ein "Botulinumtoxin" kann sich auf natives Botulinumtoxin oder ein funktionelles Fragment eines Botulinumtoxins oder ein modifiziertes Botulinumtoxin beziehen. Zusätzlich sind Botulinumtoxine mit Aminosäure-Deletionen, -Additionen, -Veränderungen oder -Substitutionen, die eine einzelne Aminosäure oder einen kleinen Prozentsatz an Aminosäuren (z.B. weniger als ungefähr 5 % oder z.B. weniger als ungefähr 1 %) deletieren, zufügen, verändern oder substituieren, konservativ modifizierte Variationen von Botulinumtoxin. Wo ein oder mehrere Substitutionen einer Aminosäure/Aminosäuren mit einer chemisch ähnlichen Aminosäure in einem Botulinumtoxin durchgeführt werden, führt dies auch zu einer konservativ modifizierten Variation eines Botulinumtoxins. Tabellen, die funktionell ähnliche Aminosäuren bereitstellen, sind auf dem Fachgebiet gut bekannt. Die folgenden zwei Gruppen enthalten jeweils Aminosäuren, die konservative Substitutionen füreinander sind: aliphatisch: Glycin (G), Alanin (A), Valin (V), Leucin (L), Isoleucin (I); aromatisch: Phenylalanin (F), Tyrosin (Y), Tryptophan (W); Schwefel enthaltend: Methionin (M), Cystein (C); basisch: Arginin (R), Lysin (K), Histidin (H); sauer: Asparaginsäure (D), Glutaminsäure (E), Asparagin (N), Glutamin (Q). Siehe auch Creighton (1984) Proteins, W. H. Freeman and Company. Konservativ modifizierte Variationen von nativen Botulinumtoxinen sind in den Umfang der Bedeutung von "Botulinumtoxin" mit eingeschlossen.

[0044] "Kardiovaskulär" bedeutet Blutgefäße, z.B. Blutgefäße des Herzens betreffend.

[0045] "Clostridientoxin" oder "Clostridien-Neurotoxin" bedeutet ein Toxin, das natürlich durch die Gattung des Bakteriums Clostridium hergestellt wird. Zum Beispiel beinhalten Clostridientoxine Botulinumtoxine, Tetanustoxine, Difficiletoxine und Butyricumtoxine, sind aber nicht darauf begrenzt. Ein Clostridientoxin kann auch durch bekannte rekombinante Mittel durch ein Nicht-Clostridien-Bakterium hergestellt werden.

[0046] "Kombination" bedeutet eine geordnete Sequenz von Elementen. Zum Beispiel kann eine Kombination aus Botulinumtoxinen, die Verabreichung von Botulinumtoxin E, gefolgt von der Verabreichung von Botulinumtoxin-Typ A, gefolgt von der Verabreichung von Botulinumtoxin-Typ B bedeuten. Dies steht im Gegensatz zu einer "Mischung", bei der z.B.

verschiedene Toxintypen vor der Verabreichung kombiniert werden.

[0047] "Schaden" bedeutet Einreißen, Zerkratzen, Dehnen, Abschürfen, Drücken und/oder Entzündung oder Verletzung, die durch Entzündung hervorgerufen wird, oder eine andere Verletzung, die in einem Blutgefäß auftreten kann, das gerade einem Eingriff, z.B. einem Eingriff, bei dem der innere Durchmesser des Blutgefäßes unter Verwendung von mechanischer Gewalt expandiert wird, unterzogen wird.

[0048] "Fragment" bedeutet eine Aminosäuresequenz, die fünf Aminosäuren oder mehr der nativen Aminosäuresequenz bis zu einer Größe von minus mindestens einer Aminosäure von der nativen Sequenz, umfasst. Zum Beispiel umfasst ein Fragment einer Botulinumtoxin-Typ A-Leichtkette fünf oder mehr Aminosäuren der Aminosäuresequenz der nativen Botulinumtoxin-Typ A-Leichtkette bis zu einer Größe von minus einer Aminosäure von der nativen Leichtkette.

[0049] "H_c" bedeutet ein Fragment, das von der H-Kette eines Clostridientoxins erhalten wurde, das äquivalent, z.B. funktionell äquivalent, zu dem Carboxyl-Endfragment der H-Kette ist, oder den Anteil, der zu diesem Fragment in der intakten H-Kette, das bei der Bindung an eine Zelloberfläche oder einen Zelloberflächenrezeptor involviert ist, korrespondiert.

[0050] "H_N" bedeutet ein Fragment oder eine Variante, die von einer H-Kette eines Clostridientoxins erhalten wird, die funktionell äquivalent zu dem Anteil einer intakten H-Kette, der in die Translokation von mindestens der L-Kette über eine intrazelluläre endosomale Membran in ein Zytoplasma einer Zelle involviert ist, sein kann. Ein H_N kann aus der Entfernung eines H_c aus einer H-Kette resultieren. Ein H_N kann auch daraus resultieren, dass eine H-Kette so modifiziert wird, dass ihr H_c nicht länger an cholinerge Zelloberflächen bindet.

[0051] "Schwere Kette" bedeutet die schwere Kette eines Clostridien-Neurotoxins oder eines Fragmentes oder einer Variante eines H_N eines Clostridien-Neurotoxins. Eine schwere Kette kann ein Molekulargewicht von ungefähr 100 kD aufweisen und kann als H-Kette oder als H bezeichnet werden.

[0052] "LH_N" bedeutet ein Fragment, das von einem Clostridien-Neurotoxin erhalten wird, das die L-Kette gekoppelt an ein H_N enthält. LH_N kann aus dem intakten Clostridien-Neurotoxin durch Proteolyse erhalten werden, um so die H_c-Domäne zu entfernen oder zu modifizieren.

[0053] "Leichte Kette" bedeutet die leichte Kette eines Clostridien-Neurotoxins oder ein Fragment oder eine Variante einer leichten Kette eines Clostridi-

en-Neurotoxins. Eine leichte Kette kann ein Molekulargewicht von ungefähr 50 kD aufweisen und kann als eine L-Kette, L oder als die proteolytische Domäne eines Clostridien-Neurotoxins bezeichnet werden.

[0054] "Linker" bedeutet ein Molekül, das zwei oder mehr andere Moleküle oder Komponenten miteinander koppelt.

[0055] Ein "modifiziertes Neurotoxin" bedeutet ein Neurotoxin, das eine nicht-native Komponente, die kovalent an das Neurotoxin angebracht ist, und/oder das Fehlen eines nativen Anteils des Neurotoxins aufweist. Zum Beispiel kann ein modifiziertes Botulinumtoxin eine Leichtkette eines Botulinumtoxins mit einem Substanz-P-Molekül, das kovalent gebunden ist, sein. "Neurotoxin" oder "Toxin" bedeutet eine Substanz, die die neuronale Funktion oder zelluläre Sezernierung inhibiert. Clostridientoxine sind Beispiele für ein Neurotoxin.

[0056] "Verhindern" bedeutet vom Auftreten ganz oder teilweise abhalten.

[0057] "Reduzieren" bedeutet im Ausmaß (z.B. Größe, Quantität oder Anzahl) kleiner machen. Die Reduktion kann ungefähr 1 % bis ungefähr 100 % betragen. Zum Beispiel kann die Reduktion zwischen ungefähr 1 % und ungefähr 10 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 20 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 30 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 40 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 50 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 60 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 70 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 80 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 90 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 100 % betragen.

[0058] "Spacer" bedeutet ein Molekül oder einen Satz an Molekülen, die physikalisch Komponenten von Wirkstoffen trennen und/oder zu Distanz zwischen ihnen führen für die Verwendung gemäß der Erfindung.

[0059] "Substanziell" bedeutet zum größten Teil, aber nicht vollständig. Zum Beispiel kann substanziell ungefähr 10 % bis ungefähr 99,999 %, ungefähr 20 % bis ungefähr 99,999 %, ungefähr 30 % bis ungefähr 99,999 %, ungefähr 40 % bis ungefähr 99,999 % oder ungefähr 50 % bis ungefähr 99,999 % bedeuten.

[0060] "Zielgebender Bestandteil" bedeutet ein Molekül, das eine spezifische Bindungsaffinität für eine Zelloberfläche oder einen Zelloberflächenrezeptor aufweist.

[0061] "Variante" bedeutet ein Molekül oder Peptid, das substanziell in seiner Struktur und Funktion das

gleiche wie ein offenbartes Molekül oder Peptid ist. Zum Beispiel kann eine Variante einer spezifizierten Leichtkette Unterschiede in der Aminosäuresequenz aufweisen, wenn sie mit der Aminosäuresequenz der spezifizierten Leichtkette verglichen wird. Varianten können als äquivalent zu den spezifisch offenbarten Molekülen betrachtet werden und liegen als solche innerhalb des Umfangs der Erfindung.

Beschreibung

[0062] Die vorliegende Erfindung basiert zum Teil auf der Entdeckung, dass ein Neurotoxin, z.B. Botulinumtoxin, für die Behandlung von kardiovaskulärer Erkrankung, z.B. für die Behandlung kardiovaskulärer Erkrankung bei einem Patienten, der sich einem kardiovaskulären Eingriff unterzieht oder unterzogen hat, nützlich ist. Bei einer Ausführungsart stellt die vorliegende Erfindung Verfahren bereit, um Restenose nach einem kardiovaskulären Eingriff zu reduzieren oder zu eliminieren.

[0063] Ein Fachmann auf dem Gebiet wird verstehen, dass die hier offenbarte Erfindung bei jedem Blutgefäß im Körper Anwendung finden kann, einschließlich, aber nicht begrenzt auf koronare (Herz), cerebrale (Gehirn), Carotis (Hals), renale (Niere), viscerale (abdominelle), iliakale (Hüfte), femoropopliteale (Schenkel), infrapopliteale (Knie) Blutgefäße.

[0064] Die Erfindung betrifft die Anwendung eines Neurotoxins, z.B. eines Botulinumtoxins, an einem Blutgefäß eines Patienten, der sich einem Eingriff unterzieht oder unterziehen wird oder unterzogen hat, der direkt oder indirekt zu einem Schaden an einem Blutgefäß, z.B. einer Koronararterie führen kann. Bei einer Ausführungsart stellt die vorliegende Erfindung Verfahren bereit, um einen Patienten, der sich einem Angioplastie-Eingriff unterzieht, zu behandeln, wodurch Restenose infolge des Eingriffs reduziert oder eliminiert wird. Bei einer Ausführungsart beinhaltet die Angioplastie die Verwendung eines Stents, z.B. eines selbst-expandierenden Stents. Bei einer anderen Ausführungsart ist die Angioplastie eine Ballon-Angioplastie. Bei einer anderen Ausführungsart ist die Angioplastie eine Ballon-Angioplastie, die die Verwendung eines Stents beinhaltet. Bei einer anderen Ausführungsart ist die Angioplastie eine Ballon-Angioplastie, die nicht die Verwendung eines Stents beinhaltet.

[0065] Ohne die vorliegende Erfindung durch irgendeine Theorie oder einen Wirkmechanismus begrenzen zu wollen, denkt man, dass die vorliegenden Verfahren den Schaden an einem Blutgefäß, der im Zusammenhang mit einer mechanischen Aufweitung eines ansonsten verschlossenen oder teilweise verschlossenen Blutgefäßes auftreten kann, verhindern. Daher kann die vorliegende Erfindung Restenose verhindern, die anderweitig als ein Ergebnis von sol-

chem Schaden auftreten könnte. Beispiele für Schaden, der verhindert werden kann, sind Einreißen, Kratzen, Dehnen, Abschaben, Drücken und/oder Entzündung oder Verletzung, die durch Entzündung hervorgerufen wird, oder andere Verletzung, die in einem Blutgefäß auftreten kann, das einem Eingriff, z.B. einem Eingriff, bei dem der innere Durchmesser des Blutgefäßes unter Verwendung von mechanischer Gewalt expandiert wird, unterzogen wird.

[0066] Obwohl die Funktionsweise von Botulinumtoxin bei der Verhinderung von Schaden, der in einem Blutgefäß auftritt, noch nicht vollständig verstanden wird, schlägt der Erfinder mindestens zwei mögliche Theorien über die Wirkweise vor, ohne zu wünschen, die Erfindung durch irgendeine besondere Theorie oder einen Wirkmechanismus zu begrenzen.

[0067] In einem Fall glaubt man, dass die Toxine einen dilatierenden Effekt auf die Blutgefäße ausüben, wodurch sie den Durchmesser eines Gefäßes, einschließlich dem inneren Durchmesser des Gefäßes, vergrößern. Optische Kohärenztomographie kann verwendet werden, um einen Maßstab für den dilatierenden Effekt des Toxins zur Verfügung zu stellen. Der dilatierende Effekt des Toxins kann als ein Faktor der ursprünglichen Größe der Blutgefäßöffnung vor der Verabreichung des Toxins quantifiziert werden. Bei einer Ausführungsart kann die Blutgefäßöffnung auf zwischen ungefähr 1,5x und ungefähr 100x die Größe der Öffnung vor der Verabreichung des Toxins dilatiert werden. Zum Beispiel kann die Blutgefäßöffnung auf zwischen ungefähr 2x und ungefähr 5x die Größe der Öffnung vor der Verabreichung des Toxins dilatiert werden. Bei einem anderen Beispiel kann die Blutgefäßöffnung auf zwischen ungefähr 2x und ungefähr 10x die Größe der Öffnung vor der Verabreichung des Toxins dilatiert werden. Bei einem anderen Beispiel kann die Blutgefäßöffnung auf zwischen ungefähr 2x und ungefähr 30x die Größe der Öffnung vor der Verabreichung des Toxins dilatiert werden. Bei einem anderen Beispiel kann die Blutgefäßöffnung auf zwischen ungefähr 2x und ungefähr 50x die Größe der Öffnung vor der Verabreichung des Toxins dilatiert werden. Bei einem anderen Beispiel kann die Blutgefäßöffnung auf zwischen ungefähr 50x und ungefähr 100x die Größe der Öffnung vor der Verabreichung des Toxins dilatiert werden.

[0068] Die Dilatation der Blutgefäße könnte die Gefäße für interventionelle Eingriffe empfänglicher machen. Zum Beispiel kann es weniger wahrscheinlich sein, dass Ballon-Angioplastie und/oder Insertion eines Stents oder eine andere mechanische Intervention das Blutgefäß schädigt, wenn das Blutgefäß sich in einem dilatierten Zustand befindet. Nach der Verabreichung eines Wirkstoffes an das Blutgefäß könnte es dem Blutgefäß erlaubt werden, sich zu dilatieren, bevor der Eingriff, z.B. ein Angioplastie-Eingriff, durchgeführt wird. Ob Dilatation stattgefunden hat

und in welchem Ausmaß die Dilatation stattgefunden hat, kann durch einen Arzt mit gewöhnlichen Fähigkeiten bestimmt werden. Zum Beispiel kann optische Kohärenztomographie verwendet werden, um diese Bestimmungen zu machen.

[0069] Bei einer anderen, nicht begrenzenden Theorie der Wirkweise wird geglaubt, dass die hier offenbarten Toxine auf entzündungsvermittelnde Zellen, z.B. Blutgefäß-Endothelzellen, wirken. Diese Zellen präsentieren viele biologisch aktive Entzündungsmediatoren, die Bradykinin, Stickoxid und vasoaktives intestinales Peptid beinhalten. Die Freisetzung dieser und/oder anderer Mediatoren kann zu den Ereignissen beitragen, die die Blutgefäßentzündung hervorgerufen, die zur Restenose beitragen kann.

[0070] Während der Sezernierung oder Exozytose können die Mediatoren in Vesikeln eingeschlossen sein, die mit der inneren Oberfläche der Zellmembran fusionieren, wodurch der Vesikelinhalt an der Außenseite der Zelle freigesetzt wird. Es wird die Theorie aufgestellt, dass Interferenz mit dem Exozytoseprozess die Wirkweise der Clostridientoxine sein könnte.

[0071] Es wird die Theorie aufgestellt, dass Clostridientoxine durch Verhinderung oder Reduktion der Sekretion von Entzündung produzierenden Molekülen in Blutgefäßzellen oder anderen Zellen durch Spaltung oder durch anderweitiges Stören der Funktion von Proteinen, die in den sekretorischen Prozess involviert sind, durch Verwendung einer Leichtkettenkomponente, z.B. einer Botulinum-Leichtkettenkomponente, wirken könnten. Eine Schwerkettenkomponente, z.B. H_N , kann auch bei bestimmten Ausführungsarten der vorliegenden Erfindung durch z.B. Unterstützung bei der Freisetzung eines Wirkstoffes der Erfindung aus intrazellulären Vesikeln, z.B. Endosomen, wirken.

[0072] Ohne den Wunsch, die Erfindung durch irgendeine Theorie oder einen Wirkmechanismus zu limitieren wird vermutet, dass Entzündung entweder direkt oder indirekt zur Restenose beiträgt. Durch Verhinderung oder Reduktion von Blutgefäßentzündung, die mit kardiovaskulären Eingriffen, z.B. Ballon-Angioplastie und/oder Insertion eines Stents, im Zusammenhang stehen kann, kann Restenose bei einem Patienten, der sich einem kardiovaskulären Eingriff unterzogen hat, reduziert werden.

[0073] Ein anderer möglicher Mechanismus für die Wirksamkeit der vorliegenden offenbarten Erfindung ist eine Wirkung eines Botulinumtoxins, neuronal vermittelte Blutgefäßkontraktion zu inhibieren. Vorbehandlung mit einem Botulinumtoxin kann eine Nach-Dehnungskonstriktion inhibieren. Innerhalb des Umfangs der vorliegenden Erfindung liegt ein Botulinumtoxin, das ein zielgerichtetes Toxin ist, worin der native Bindungsbestandteil des Toxins im Gan-

zen oder teilweise durch einen neuen Bindungsbestandteil ersetzt wurde, der das Toxin auf $\alpha 2$ -Rezeptoren auf sympathischen Neuronen, die das Blutgefäß, das behandelt werden soll, innervieren, richtet. Darüber hinaus kann NO lokal induziert werden, um Dilatation hervorzurufen.

[0074] Das Neurotoxin für die Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung kann einen Zielrichtungsbestandteil, einen therapeutischen Bestandteil und einen Translokationsbestandteil umfassen.

[0075] Bei einer Ausführungsart umfasst der Zielrichtungsbestandteil ein Carboxyl-Endfragment einer schweren Kette von Butyricumtoxin, einem Tetanustoxin oder einem Botulinumtoxin, einschließlich Botulinumtoxin-Typen A, B, C, D, E, F und G.

[0076] Bei einer anderen Ausführungsart kann der Zielgebungsbestandteil Nicht-Botulinumtoxin-Ursprungs sein. Beispiele für Zielgebungsbestandteile, die bei der vorliegenden Erfindung verwendet werden können, aber nicht auf diese begrenzt sind, sind Antikörper, monoklonale Antikörper, Antikörperfragmente (Fab, F(ab)₂, Fv, ScFv und andere ähnliche Antikörperfragmente), Lectine, Hormone, Cytokine, Wachstumsfaktoren, Peptide, Kohlenhydrate, Lipide, Glycone und Nukleinsäuren. Andere Zielgebungsbestandteile, die gemäß der vorliegenden Erfindung nützlich sein könnten, werden in WO 01/21213 offenbart, das hier durch Hinweis in seiner Gesamtheit eingeschlossen ist.

[0077] Ein beispielhafter Zielrichtungsbestandteil für die Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung ist Substanz P oder Substanzen, die der Substanz P ähnlich sind. Die Verwendung von Substanz P oder Substanzen, die Substanz P ähnlich sind, als Zielrichtungsbestandteile, wird in US-Patentanmeldungen 09/489,667; 091922,093 und 091625,098 beschrieben.

[0078] Der therapeutische Bestandteil wirkt, um selektiv Proteine zu spalten, die für die Erkennung und das Andocken von sekretorischen Vesikeln an die cytoplasmatische Oberfläche der Plasmamembran und die Fusion der Vesikel mit der Plasmamembran essenziell sind. Ein Effekt des therapeutischen Bestandteils kann sein, dass er substanziiell mit der Freisetzung von Neurotransmittern aus einer Zelle interferiert. Ein anderer Effekt des therapeutischen Bestandteils kann sein, dass er Dilatation von Blutgefäßen hervorruft. Ein anderer Effekt kann sein, dass er schlaffe Lähmung von glattem Muskelgewebe hervorruft. Ein anderer Effekt kann sein, dass er die Sekretion von Zellen, z.B. Entzündung hervorrufenden Zellen, reduziert oder eliminiert. Bei einer Ausführungsart umfasst der therapeutische Bestandteil eine Leichtkette eines Butyricumtoxins, eines Tetanustoxins, eines Botulinumtoxins, z.B. Botulinumtoxin-Typ

A, B, C, D, E, F und G.

[0079] Der Translokationsbestandteil kann den Transfer von mindestens einem Teil des Neurotoxins, z.B. des therapeutischen Bestandteils, in das Zytoplasma der Zielzelle erleichtern. Bei einer Ausführungsart umfasst der Translokationsbestandteil ein Amino-Endfragment einer schweren Kette eines Butyricumtoxins, eines Tetanustoxins, eines Botulinumtoxins, z.B. eines Botulinumtoxins-Typ A, B, C, D, E, F und G.

[0080] Gemäß einem breit gefassten Aspekt dieser Erfindung können rekombinante DNA-Methodiken verwendet werden, um die Bestandteile von Wirkstoffen, die gemäß dieser Erfindung nützlich sind, herzustellen. Diese Techniken können Schritte des Erhaltens von geklonten Genen aus natürlichen Quellen oder von synthetischen Oligonukleotidsequenzen, die Botulinum-Neurotoxin-Bestandteile, einschließlich Botulinum-Neurotoxin-schweren Ketten, Leichtketten oder Varianten davon, modifizierte Botulinum-Neurotoxin-Ketten und/oder Fragmente von den Ketten kodieren können, umfassen. Geklonte Gene können auch einen Zielrichtungsbestandteil kodieren.

[0081] Die Gene können in z.B. Klonierungsvektoren, wie Phagen oder Plasmide oder Phagemide, geklont werden. Die rekombinanten Vektoren werden in Wirtszellen, z.B. in eine prokaryotische Zelle, z.B. E. coli, transformiert. Die Proteine können exprimiert und dann unter Verwendung von konventionellen Techniken isoliert werden.

[0082] Es können Fusionsgene verwendet werden, die mehr als einen Bestandteil eines Wirkstoffes kodieren. Zum Beispiel kann ein Zielrichtungsbestandteil und eine Botulinumtoxin-schwere Kette und/oder Leichtkette und/oder ein Fragment einer schweren und/oder ein Fragment einer leichten Kette aus einem einzelnen geklonten Gen als ein Fusionsprotein hergestellt werden. Alternativ können aus rekombinanten Techniken erhaltene individuelle Bestandteile chemisch an andere Bestandteile, die aus ähnlichen oder anderen Quellen erhalten wurden, gekoppelt werden. Zum Beispiel kann ein Zielrichtungsbestandteil an eine rekombinante L-Kette oder an ein rekombinantes Fusions-LH_N gekoppelt werden. Die Bindungen zwischen den Botulinum-Bestandteilen und den Zielgebungsanteilen können geeignete Spacerkomponenten beinhalten, die ebenfalls DNA-codiert sein können.

[0083] Bei einer Ausführungsart wird ein LH_N, das ein Hybrid von einer L-Kette oder ein H_N von verschiedenen Botulinumtoxin-Typen sein kann, rekombinant als ein Fusionsprotein exprimiert. Solch ein LH_N-Hybrid kann auch an einen Zielrichtungsbestandteil gekoppelt sein. Es können ein oder mehrere

Spacer zwischen dem L und H_N und/oder zwischen dem LH_N und dem Zielrichtungsbestandteil mit eingeschlossen sein.

[0084] Bei einer anderen Ausführungsart der Erfindung wird die L-Kette eines Botulinum-Neurotoxins oder ein Fragment der L-Kette, die die Endopeptidasewirkung enthält, rekombinant exprimiert, um einen Wirkstoff für die Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung herzustellen.

[0085] Bei einer anderen Ausführungsart der Erfindung wird die L-Kette eines Botulinum-Neurotoxins oder eines Fragmentes der L-Kette, die die Endopeptidaseaktivität enthält, rekombinant als ein Fusionsprotein mit dem H_N der H-Kette und dem Zielrichtungsbestandteil exprimiert. Das exprimierte Fusionsprotein kann auch eine oder mehrere Spacerregionen beinhalten. Zum Beispiel kann die L-Kette an H_N fusioniert sein, das wiederum an den Zielrichtungsbestandteil fusioniert ist. Bei einem anderen Beispiel kann das H_N an die L-Kette fusioniert sein, das wiederum an den Zielrichtungsbestandteil fusioniert ist. Spacerkomponenten können rekombinant zwischen einigen oder allen Bestandteilen eines Wirkstoffes der Erfindung exprimiert werden.

[0086] Bei einem Beispiel der Herstellung eines Hybrids aus LH_N wird die L-Kette von Botulinumtoxin-Typ B erhalten und das Amin-Endsegment von dem H_N-Kettenfragment wird aus Botulinumtoxin-Typ A erhalten. Das H_N-Fragment des Botulinumtoxins-Typ A wird gemäß dem Verfahren, das durch Shone C. C., Hambleton, P. und Melling, J. (1987, Eur. J. Biochem. 167, 175–180) beschrieben wird, und die L-Kette des Botulinumtoxin-Typ B wird gemäß dem Verfahren von Sathyamoorthy, V. und Das-Gupta, B. R. (1985, J. Biol. Chem. 260, 10461–10466) hergestellt. Das freie Cystein auf dem Amin-Endsegment des H-Ketten-Fragments von Botulinumtoxin-Typ A wird dann durch die Zugabe eines zehnfachen molaren Überschusses an Dipyridyldisulfid, gefolgt von Inkubation bei 4°C über Nacht, derivatisiert. Der Überschuss Dipyridyldisulfid und das Thiopyridon-Nebenprodukt werden dann durch Entsalzung des Proteins über einer PD10-Säule (Pharmacia) in PBS entfernt.

[0087] Das derivatisierte H_N wird dann auf eine Proteinkonzentration im Überschuss von 1 mg/ml konzentriert, bevor es mit einem äquimolaren Anteil von L-Kette von Botulinumtoxin-Typ B (> 1 mg/ml in PBS) gemischt wird. Nach Übernacht-Inkubation bei Raumtemperatur wird die Mischung durch Größenausschluss-Chromatographie über Superose 6 (Pharmacia) getrennt und die Fraktionen werden durch SDS-PAGE analysiert. Das chimäre LH_N ist dann erhältlich, um einen konjugierten Wirkstoff herzustellen, der einen Zielrichtungsbestandteil beinhaltet.

[0088] Das oben beschriebene Beispiel dient rein zur Veranschaulichung der Erfindung. Bei der Synthese der Wirkstoffe kann die Kopplung der Zielrichtungsanteile an die Botulinum-Bestandteile, z.B. die modifizierten Botulinum-Neurotoxine oder Fragmente davon, durch chemische Kopplung unter Verwendung von Reagenzien und Techniken, die denjenigen, die auf dem Fachgebiet bewandert sind, bekannt sind, erreicht werden. So wird jedwede Kopplungschemie, die in der Lage ist, die Zielrichtungsanteile der Wirkstoffe an Botulinum-Neurotoxin-Bestandteile kovalent zu binden, und denjenigen, die auf dem Fachgebiet bewandert sind, bekannt ist, durch den Umfang dieser Anmeldung abgedeckt.

[0089] Modifizierte Botulinumtoxine, die eine veränderte biologische Persistenz und/oder biologische Aktivität aufweisen, werden für die Verwendung bei der vorliegenden Erfindung in Betracht gezogen. US-Patentanmeldungen 09/620,840 und 09/1910,346 beinhalten Beispiele für Zusammensetzungen und Verfahren zur Veränderung der biologischen Persistenz von Botulinumtoxinen. Diese zwei Patentanmeldungen werden hier in ihrer Gesamtheit durch Hinweis eingeschlossen.

[0090] Ein die biologische Persistenz verstärkender Bestandteil und/oder ein die biologische Aktivität verstärkender Bestandteil, z.B. ein auf Leucin basierendes Motiv, kann zu einem Botulinum-Neurotoxin zugegeben werden, wodurch die biologische Persistenz und/oder biologische Aktivität des Botulinum-Neurotoxins gesteigert wird. Ähnlich kann ein die biologische Persistenz verstärkender Bestandteil von einem Botulinum-Neurotoxin entfernt werden, wodurch die biologische Persistenz und/oder biologische Aktivität des Neurotoxins verringert wird.

[0091] Das Botulinum-Neurotoxin kann ein Hybrid-Neurotoxin sein. Zum Beispiel können die zielrichtenden, Translokations- und therapeutischen Bestandteile des Neurotoxins von verschiedenen Botulinumtoxin-Serotypen abstammen. Zum Beispiel kann das Polypeptid eine erste Aminosäuresequenzregion, die von dem H_c eines Botulinumtoxin-Typ A stammt, eine zweite Aminosäuresequenzregion, die von dem H_N von Botulinum-Typ B stammt, und eine dritte Aminosäuresequenzregion, die von der Leichtkette von Botulinum-Serotyp E stammt, umfassen. Dies ist nur ein Beispiel und alle anderen möglichen Kombinationen werden in den Umfang der vorliegenden Erfindung eingeschlossen.

[0092] Die Zielrichtungs-, Translokations- und therapeutischen Bestandteile des Neurotoxins können von der natürlich auftretenden Sequenz, von der sie abstammen, modifiziert werden. Zum Beispiel kann die Aminosäuresequenzregion mindestens eine oder mehrere Aminosäuren im Vergleich mit der natürlich auftretenden Sequenz zugefügt, deletiert oder substi-

tuiert haben.

[0093] Aminosäuren, die für die Aminosäuren substituiert werden können, die in einem die biologische Persistenz verstärkenden Bestandteil enthalten sind, beinhalten Alanin, Asparagin, Cystein, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenylalanin, Glycin, Histidin, Isoleucin, Lysin, Leucin, Methionin, Prolin, Glutamin, Arginin, Serin, Threonin, Valin, Tryptophan, Tyrosin und andere natürlich auftretende Aminosäuren wie auch Nicht-Standard-Aminosäuren.

[0094] Die vorliegende Erfindung sorgt für eine Reduktion bei der Restenose, die in der Effektivität von ungefähr 1 % bis ungefähr 100 % reicht. Zum Beispiel kann die Reduktion zwischen ungefähr 1 % und ungefähr 10 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 20 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 30 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 40 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 50 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 60 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 70 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 80 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 90 % oder zwischen ungefähr 10 % und ungefähr 100 % liegen.

[0095] Im allgemeinen wird die Dosis des Neurotoxins, das verabreicht werden soll, mit dem Alter, dem Vorstellungszustand und dem Gewicht des Patienten, der behandelt werden soll, variieren. Die Stärke des Neurotoxins wird auch in Betracht gezogen. Die Toxinstärke wird als ein Vielfaches des LD₅₀-Wertes für eine Maus ausgedrückt. Eine "Einheit" des Toxins kann als die Menge an Toxin definiert werden, die 50 % einer Gruppe von Mäusen, die vor der Impfung mit dem Toxin erkrankungsfrei war, tötet. Zum Beispiel besitzt kommerziell erhältliches Botulinumtoxin A typischerweise eine solche Stärke, dass ein Nanogramm ungefähr 40 Mauseinheiten enthält. Man glaubt, dass die Stärke oder LD₅₀ bei Menschen des Botulinumtoxin-A-Produkts, das durch Allergan, Inc. unter dem eingetragenen Warenzeichen "BOTOX" geliefert wird, bei ungefähr 2.730 Mauseinheiten liegt.

[0096] Das Neurotoxin kann in einer Dosis von ungefähr 0,001 Einheit bis zu ungefähr 100 Einheiten verabreicht werden. Bei einer Ausführungsart werden individuelle Dosierungen von ungefähr 0,01 Einheit bis ungefähr 5 Einheiten verwendet. Bei einer anderen Ausführungsart werden individuelle Dosierungen von ungefähr 0,01 Einheit bis ungefähr 3 Einheiten verwendet. Bei noch einer anderen Ausführungsart werden individuelle Dosierungen von ungefähr 0,01 Einheit bis ungefähr 1 Einheit verwendet. Bei noch einer anderen Ausführungsart werden individuelle Dosierungen von ungefähr 0,05 Einheiten bis ungefähr 1 Einheit verwendet. Diejenigen mit normaler Bewanderung auf dem Fachgebiet werden wissen

oder können einfach feststellen, wie die Dosierungen für Neurotoxin von größerer oder geringerer Stärke unter bestimmten Umständen einzustellen sind.

[0097] Für modifizierte oder variante Botulinumtoxine kann die Stärke als ein Vielfaches des LD₅₀-Wertes eines Wirkstoffes der Erfindung für eine Maus ausgedrückt werden. Ein "U" oder eine "Einheit" eines Wirkstoffes kann als die Menge an Toxin definiert werden, die 50 % einer Gruppe von Mäusen, die vor der Impfung mit dem Wirkstoff erkrankungsfrei war, tötet. Alternativ kann die Stärke als der LD₅₀-Wert eines Wirkstoffes ausgedrückt werden, der durch eine gleiche molare Menge eines nativen, nicht-varianten Botulinumtoxins hervorgerufen würde.

[0098] Vorzugsweise wird die niedrigste therapeutisch effektive Dosierung dem Patienten verabreicht. Die niedrigste therapeutische Dosierung ist diejenige Dosierung, die in dem erwünschten Effekt auf ein Blutgefäß des Patienten, dem das Toxin verabreicht wird, resultiert. Verfahren für die Beurteilung oder Quantifizierung des Effektes eines Toxins auf ein Blutgefäß können durch diejenigen, die auf dem Fachgebiet bewandert sind, bestimmt werden. Zum Beispiel kann die Verwendung von optischer Kohärenztomographie ein Maß für den Dilatationseffekt des Toxins bereitstellen.

[0099] Bei einer anfänglichen Behandlung kann eine niedrige Dosis verabreicht werden, um die Sensibilität und Toleranz des Patienten gegenüber dem Neurotoxin zu bestimmen.

[0100] Zusätzliche Verabreichung von derselben oder verschiedenen Dosierungen können an das Blutgefäß verabreicht werden, wenn notwendig. Zum Beispiel kann ein Toxin an ein Blutgefäß verabreicht werden, bevor ein Eingriff, z.B. ein koronarer Angioplastie-Eingriff, durchgeführt wird, und/oder während des Eingriffes und/oder nach dem Eingriff. Die Anzahl der Verabreichungen und der Zeitplan der Verabreichungen kann durch den behandelnden Arzt bestimmt werden.

[0101] Die Neurotoxine können z.B. durch Injektion in ein Blutgefäß unter Verwendung einer Nadel oder durch nadellose Injektion verabreicht werden. Das Toxin kann auch durch Aufbringen des Toxins auf die Wand des Blutgefäßes in einem Balsam, einer Lotion, einer Salbe, einer Creme, einer Emulsion oder dergleichen Abgabesubstrate verabreicht werden.

[0102] Bei einer Ausführungsart wird ein Wirkstoff der Erfindung an den Patienten durch Injektion verabreicht. Zum Beispiel kann ein Wirkstoff in das kardiovaskuläre System eines Patienten injiziert werden. Insbesondere kann die Injektion in eine Arterie, z.B. eine Koronararterie, erfolgen. Typischerweise erfolgt die Injektion in den Bereich des Blutgefäßes, wo das

Blutgefäß einem Eingriff unterzogen wird, z.B. einem Eingriff, um mechanisch den inneren Durchmesser eines verschlossenen Blutgefäßes zu erweitern.

[0103] Ein Wirkstoff kann in die Wand eines Blutgefäßes von außerhalb des Blutgefäßes injiziert werden oder ein Wirkstoff kann in die Wand eines Blutgefäßes von innerhalb des Blutgefäßes injiziert werden. Verfahren für die Injektion in eine Wand eines Blutgefäßes sind denjenigen mit normaler Bewanderung auf dem Fachgebiet gut bekannt. Zum Beispiel kann ein Wirkstoff in die Wand eines Blutgefäßes von der Innenseite des Blutgefäßes durch die Verwendung eines Katheters, der eine oder mehr Nadeln für die Injektion enthält, injiziert werden.

[0104] Bei nadellosen Injektionsabgabeverfahren können mikroprojektile Medikamententeilchen mit einem Neurotoxin beschichtet und dann in das Blutgefäß von einem externen Abgabegerät ausgestoßen werden. In Abhängigkeit von der Ausstoßungsgeschwindigkeit und der Entfernung von dem Injektionsort durchdringen die Medikamententeilchen die verschiedenen Schichten der Blutgefäße. Wenn die Mikroprojekteile durch die Blutgefäßzellen penetrieren oder darin abgelagert werden, wird das Neurotoxin freigesetzt. Individuelle Schichten der Blutgefäße können für die Mikroprojekteile als Ziel dienen.

[0105] Die Neurotoxine können auch unter Verwendung eines Stents oder eines Angioplastieballons, der mit dem Toxin, z.B. Botulinumtoxin, beschichtet oder imprägniert ist, verabreicht werden. Die US-Patente 6,306,423 und 6,312,708 offenbaren Material, das mit dem Toxin imprägniert, verbunden oder worin das Toxin eingebettet sein kann und das verwendet werden kann, um Stents und/oder Angioplastieballons zu beschichten. Zusätzlich kann das Material verwendet werden, um Stents zu bilden, die das Toxin enthalten. Die Offenbarung von jedem dieser zwei Patente wird hier in ihrer Gesamtheit durch Hinweis eingeschlossen. Bei einer Ausführungsart wird dem Blutgefäß, das behandelt werden soll, zuerst Botulinumtoxin verabreicht, bevor der Toxin umfassende Stent und/oder Ballon eingeführt wird. Bei einer anderen Ausführungsart wird dem Blutgefäß, das behandelt werden soll, vor dem Einführen des Botulinumtoxin umfassenden Stents und/oder Ballons kein Toxin verabreicht.

[0106] Die Verabreichungen können wiederholt werden, wenn notwendig. Als eine allgemeine Richtlinie kann Botulinumtoxin A, das an ein Blutgefäß verabreicht wird, einen dilatierenden und/oder anti-entzündlichen Effekt für z.B. ungefähr 1 Monat bis ungefähr 3 Monate oder für z.B. ungefähr 3 bis ungefähr 6 Monate oder für z.B. von ungefähr 6 Monaten bis ungefähr 1 Jahr hervorrufen.

[0107] Es kann dem Wirkstoff erlaubt werden, sei-

nen Effekt auf ein Blutgefäß auszuüben, bevor ein Eingriff, z.B. eine Koronar-Angioplastie-Eingriff, durchgeführt wird. Zum Beispiel kann es dem Wirkstoff erlaubt werden, das Blutgefäß zu dilatieren und/oder Entzündung des Blutgefäßes zu verhindern, bevor ein Eingriff begonnen wird. Ein Arzt mit normaler Bewanderung kann bestimmen, ob der Wirkstoff seinen Effekt/seine Effekte auf ein Blutgefäß ausgeübt hat.

[0108] Nachdem die Erfindung nun vollständig beschrieben wurde, werden unten Beispiele, die ihre Ausübung veranschaulichen, dargelegt. Diese Beispiele sollten jedoch nicht als Begrenzung des Umfangs der Erfindung betrachtet werden, der durch die anhängenden Ansprüche definiert wird.

Beispiele

Beispiel 1

Verwendung von Botulinumtoxin bei Ballon-Angioplastie, wobei kein Stent verwendet wird

[0109] Ein 54 Jahre alter männlicher Patient klagt über Brustbeschwerden bei einer Untersuchung in der Notaufnahme. Der Patient raucht 2 bis 3 Packungen Zigaretten pro Tag, ist von durchschnittlichem Gewicht und hat eine Familienanamnese mit koronar-arteriellem Verschluss. Bei dem Patienten wird ein Verschluss der linken Koronararterie diagnostiziert. Ein Koronar-Angiogramm wird verwendet, um die Verengung der Arterien zu messen. Es wird geschätzt, dass der Patient an einem 80%igen Verschluss der linken Koronararterie leidet. Er wird für einen Ballon-Angioplastieeingriff in der folgenden Woche terminiert.

[0110] Der Arzt beginnt den Eingriff durch Injektion von zwischen ungefähr 0,05 Einheiten und ungefähr 5 Einheiten Botulinumtoxin-Typ A in die Wand der linken Koronararterie des Patienten. Nach der Injektion läßt man die Arterie sich dilatieren. Ein 3 mm unnachgiebiger Ballonkatheter wird dann in die Femoralarterie des Patienten durch den Leisten-/Oberschenkelbereich eingeführt. Der Katheter wird dann durch die Arterie bis hoch in das Herz unter Verwendung eines Videomonitors, um den Vorgang zu lenken, geführt. Ein Führungsdraht wird zu dem Ort der verschlossenen Arterie vorgeführt und der Ballonkatheter wird entlang dem Führungsdraht in das Zielgebiet des Koronarverschlusses vorgebracht. Als der Katheter den Zielbereich erreicht, wird der Ballon für einen Zeitraum von mehreren Sekunden bis mehreren Minuten aufgeblasen. Nach dem Ablassen der Luft aus dem Ballon kann der gleiche Bereich mit einer oder mehreren zusätzlichen Inflationen behandelt werden. Die Untersuchung zeigt geringen oder keinen Schaden an der behandelten Arterie.

[0111] Ein Jahr nach dem Eingriff gibt es kein Zeichen einer Restenose und der Patient erscheint in gutem Gesundheitszustand.

Beispiel 2

Verwendung von Botulinumtoxin bei Ballon-Angioplastie, wobei ein Stent verwendet wird.

[0112] Eine 62 jähriger männlicher Patient, der ungefähr 30 % Übergewicht und einen Serum-Cholesterinspiegel von ungefähr 260 aufweist, klagt über Brustschmerzen. Bei dem Patienten wird ein Koronararterienverschluss diagnostiziert und er wird für einen perkutanen transluminalen Koronar-Angioplastie-Eingriff terminiert.

[0113] Es werden zwischen ungefähr 0,01 Einheit bis ungefähr 1 Einheit Botulinumtoxin direkt in die Wand der Arterie in den Bereich des Verschlusses injiziert. Nach der Injektion erlaubt man der Arterie, sich zu dilatieren. Ein 3 mm nachgiebiger Ballonkatheter und Stent werden in die Interosseousarterie des Patienten durch den Handgelenkbereich eingeführt. Der Katheter und Stent werden dann durch die Interosseousarterie zu dem Gebiet des Verschlusses geführt. Ein Führungsdraht wird zu dem Ort der verschlossenen Arterie vorgeführt und der Katheter und Stent werden entlang dem Führungsdraht in den Zielbereich des Koronarverschlusses geleitet. Als der Katheter den Zielbereich erreicht, wird der Ballon aufgeblasen und der Stent wird korrespondierend expandiert, wodurch die Arterie offen gehalten wird. Aus dem Ballon wird die Luft abgelassen und er wird entfernt, wobei er den expandierten Stent an Ort und Stelle läßt. Es gibt kein Zeichen eines Schadens an der Arterie.

[0114] Sechs Monate nach dem Eingriff gibt es kein Zeichen einer Restenose und der Patient erscheint in gutem Gesundheitszustand.

Beispiel 3

Verwendung von Botulinumtoxin bei Ballon-Angioplastie mit einem Stent, um einen fortgeschrittenen Fall von Restenose zu behandeln

[0115] Bei einem 49 jährigen männlichen Patienten wird ein Koronararterienverschluss als ein Resultat von Restenose diagnostiziert. Der Patient hat eine Anamnese mit Koronararterienverschluss und hat sich zuvor einem Ballon-Angioplastie-Eingriff unterzogen. Sechs Monate nach dem Eingriff wird bei dem Patienten ein fortgeschrittener Fall von Restenose diagnostiziert.

[0116] Der Patient unterzieht sich einem perkutanen transluminalen Koronar-Angioplastie-Eingriff, bei dem Botulinumtoxin-Typ A, B, C, D, E, F und/oder G

verwendet wird. Zwischen ungefähr 0,1 Einheit und ungefähr 4 Einheiten Botulinumtoxin werden in die Wand des Blutgefäßes in den Bereich der Restenose injiziert. Nach der Injektion erlaubt man der Arterie, sich zu dilatieren. Es werden ein 4 mm nachgiebiger Ballonkatheter und Stent in die Femoralarterie des Patienten eingeführt. Der Katheter und Stent werden dann durch die Arterie zu dem Bereich des Verschlusses unter Verwendung eines Videomonitors, um den Vorgang zu lenken, geführt. Ein Führungsdraht wird zu dem Ort der verschlossenen Arterie vorgeführt und der Katheter und Stent werden entlang dem Führungsdraht in den Zielbereich des Koronarverschlusses geleitet. Als der Katheter und Stent den Zielbereich erreichen, wird der Ballon aufgeblasen und der Stent korrespondierend expandiert, wodurch die Arterie offen gehalten wird. Aus dem Ballon wird die Luft abgelassen und er wird entfernt, wobei er den expandierten Stent an Ort und Stelle läßt. 3 bis 6 Monate nach dem Eingriff wird das Blutgefäß mit dem Botulinumtoxin in den Bereich des Stentes erneut injiziert.

[0117] Zwei Jahre nach dem Eingriff gibt es kein Anzeichen einer Restenose und der Patient erscheint in gutem Gesundheitszustand.

Beispiel 4

Ballon-Aangioplastie, wobei ein Stent, der mit einem Botulinumtoxin imprägniert ist, verwendet wird.

[0118] Bei einem 58 jährigen weiblichen Patienten wird ein Koronararterienverschluss diagnostiziert. Die Patientin wird für einen perkutanen transluminalen Koronar-Angioplastie-Eingriff, bei dem ein Stent, der mit Botulinumtoxin-Typ A, B, C, D, E, F und/oder G imprägniert ist, verwendet wird, terminiert.

[0119] Es werden zwischen ungefähr 0,1 Einheit und ungefähr 2 Einheiten eines Botulinumtoxins in die Wand des Blutgefäßes in den Bereich des Verschlusses injiziert. Nach der Injektion läßt man die Arterie sich dilatieren. Es werden dann ein 2 mm nachgiebiger Ballonkatheter und Stent, der mit einem Botulinumtoxin beschichtet oder imprägniert ist, in die Femoralarterie des Patienten eingeführt. Der Katheter und der Stent werden durch die Femoralarterie zu dem Bereich des Verschlusses unter Verwendung eines Videomonitors, um den Vorgang zu lenken, geleitet. Ein Führungsdraht wird zu dem Ort der verschlossenen Arterie vorgeführt und der Katheter und der Stent werden entlang dem Führungsdraht in den Zielbereich des Koronarverschlusses geleitet. Wenn der Katheter und Stent den Zielbereich erreichen, wird der Ballon aufgeblasen und der Stent wird korrespondierend expandiert, wodurch er die Arterie offen hält. Dem Ballon wird die Luft abgelassen und er wird entfernt, wobei er den expandierten Stent an Ort und Stelle läßt.

[0120] Ein Jahr nach dem Eingriff gibt es kein Zeichen einer Restenose und die Patientin erscheint in gutem Gesundheitszustand.

Beispiel 5

Ballon-Angioplastie, wobei ein selbst-expandierender Stent, der mit Botulinumtoxin imprägniert ist, verwendet wird

[0121] Bei einem 50 jährigen männlichen Patienten wird ein Koronararterieller Verschluss der linken Koronararterie diagnostiziert und er wird für einen perkutanen, transluminalen Koronar-Angioplastie-Eingriff terminiert, bei dem ein selbst expandierender Stent, der mit einem Botulinumtoxin imprägniert ist, verwendet wird.

[0122] Der Arzt beginnt den Eingriff durch Injektion von zwischen ungefähr 0,1 Einheit und ungefähr 5 Einheiten Botulinumtoxin-Typ A in die Wand der linken Koronararterie des Patienten. Nach der Injektion läßt man die Arterie sich dilatieren. Es wird dann ein selbst-expandierender Stent, der mit dem Botulinumtoxin imprägniert ist, mit einem Katheter in die gemeinsame Interosseousarterie des Patienten durch den Handgelenkbereich eingeführt. Der Katheter und Stent werden durch die Interosseousarterie zu dem Bereich des Verschlusses geführt. Ein Führungsdraht wird zu dem Ort der verschlossenen Arterie vorgeführt, wobei er den Botulinumtoxin-imprägnierten, selbst expandierenden Stent in den Zielbereich des koronaren Verschlusses vorbringt. Als der Katheter den Zielbereich erreicht, wird der Stent expandiert, wodurch die Arterie offen gehalten wird.

[0123] Zwei Jahre nach dem Eingriff gibt es kein Zeichen einer Restenose und der Patient erscheint in gutem Gesundheitszustand.

Beispiel 6

Injektion von Botulinumtoxin durch Verwendung eines Katheter-Injektionssystems

[0124] Eine 51 jährige weibliche Patientin klagt über Brustschmerzen. Die Patientin ist übergewichtig und hat einen Serum-Cholesterin-Spiegel von ungefähr 270. Bei der Patienten wird ein Koronararterienverschluss diagnostiziert. Es wird ein Koronar-Angiogramm verwendet, um die Verengung der Arterien zu messen. Es wird geschätzt, dass die Patientin an einem 70%igen bis 90%igen Verschluss einer Koronararterie leidet. Sie wird für einen perkutanen transluminalen Koronar-Angioplastie-Eingriff terminiert.

[0125] Es werden zwischen ungefähr 0,01 Einheit und ungefähr 3 Einheiten eines Botulinumtoxins direkt in die Wand der Arterie in dem Bereich des Verschlusses injiziert. Für die Injektion wird ein Katheter,

der eine oder mehrere Injektionsnadeln beinhaltet, durch die Femoralarterie der Patientin durch den Lenden-/Oberschenkelbereich in den Bereich des Koronarverschlusses eingeführt. Dort wird das Botulinumtoxin in die innere Wand des verschlossenen Blutgefäßes injiziert.

[0126] Nach der Injektion des Botulinumtoxins läßt man die Arterie sich dilatieren. Es werden dann ein 3 mm nachgiebiger Ballonkatheter und Stent, der mit Botulinumtoxin-Typ A imprägniert ist, in die Femoralarterie der Patientin eingeführt. Der Katheter und Stent werden durch die Femoralarterie zu dem Bereich des Verschlusses unter Verwendung eines Videomonitors, um den Vorgang zu lenken, geführt. Ein Führungsdraht wird zu dem Ort der verschlossenen Arterie vorgeführt und der Katheter und Stent werden entlang des Führungsdrahtes in den Zielbereich des Koronarverschlusses geleitet. Wenn der Katheter den Zielbereich erreicht, wird der Ballon aufgeblasen und der Stent wird korrespondierend expandiert, wodurch die Arterie offen gehalten wird. Dem Ballon wird die Luft abgelassen und er wird entfernt, wobei er den expandierten Stent an Ort und Stelle läßt. Es gibt kein Zeichen eines Schadens an dem Blutgefäß.

[0127] Ein Jahr nach dem Eingriff gibt es kein Zeichen einer Restenose und die Patientin erscheint in gutem Gesundheitszustand.

[0128] Meine Erfindung beinhaltet auch innerhalb ihres Umfangs die Verwendung eines Neurotoxins, wie eines Botulinumtoxins, bei der Zubereitung eines Medikamentes für die Behandlung einer kardiovaskulären Erkrankung.

Patentansprüche

1. Verwendung eines Botulinumtoxins zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung einer kardiovaskulären Erkrankung durch direkte Verabreichung an ein Blutgefäß eines Säugers.
2. Verwendung gemäß Anspruch 1, worin der Säuger eine kardiovaskuläre Maßnahme erfährt oder erfahren hat.
3. Verwendung gemäß Anspruch 1, worin die Behandlung der kardiovaskulären Erkrankung Restenose verhindert.
4. Verwendung gemäß Anspruch 2, worin die kardiovaskuläre Maßnahme eine arterielle kardiovaskuläre Maßnahme ist.
5. Verwendung gemäß Anspruch 2, worin die kardiovaskuläre Maßnahme eine kardiovaskuläre Maßnahme von Koronararterien ist.
6. Verwendung gemäß Anspruch 2, worin die kar-

diovaskuläre Maßnahme Angioplastie einschließt.

7. Verwendung gemäß Anspruch 6, worin die Angioplastie nicht den Schritt des Einbringens eines Stents in das Blutgefäß einschließt.

8. Verwendung gemäß Anspruch 1, worin die Verabreichung den Injektionsschritt des Botulinumtoxins in eine Wand des Blutgefäßes einschließt.

9. Verwendung gemäß Anspruch 1, worin der Verabreichungsschritt durchgeführt wird unter Verwendung eines mit dem Botulinumtoxin beschichteten oder imprägnierten Stents.

10. Verwendung gemäß Anspruch 1, worin das Botulinumtoxin die Schädigung eines Blutgefäßes vermindert oder eliminiert.

11. Verwendung gemäß Anspruch 10, worin das Botulinumtoxin die Schädigung eines Blutgefäßes durch Dehnen des Blutgefäßes vermindert oder eliminiert.

12. Verwendung gemäß Anspruch 10, worin das Botulinumtoxin die Schädigung eines Blutgefäßes durch Vermindern oder Eliminieren von Entzündung des Blutgefäßes vermindert oder eliminiert.

13. Verwendung gemäß Anspruch 1, worin das Botulinumtoxin ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Botulinumtoxin-Typen A, B, C, D, E, F, G, Mischungen davon und Kombinationen davon.

14. Verwendung gemäß Anspruch 1, worin das Botulinumtoxin Botulinumtoxin Typ A ist.

15. Verwendung eines Botulinumtoxins zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prävention von Restenose in einem Blutgefäß in einem Säuger, die anschließend an eine kardiovaskuläre Maßnahme auftreten kann.

16. Verwendung gemäß Anspruch 15, worin die Restenose durch Verhindern der Schädigung eines Blutgefäßes verhindert wird.

17. Verwendung gemäß Anspruch 15, worin die Restenose durch Verhindern der Entzündung in einem Blutgefäß verhindert wird.

18. Verwendung gemäß Anspruch 15, worin die Restenose durch Dehnen eines Blutgefäßes vor oder während einer kardiovaskulären Maßnahme verhindert wird.

19. Zusammensetzung zur Verwendung in einer kardiovaskulären Maßnahme, umfassend einen Stent mit einem darin befestigten oder eingeschlossenen Botulinumtoxin.

20. Zusammensetzung gemäß Anspruch 19, worin das Botulinumtoxin Botulinumtoxin Typ A ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen