



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 601 18 916 T2 2007.01.25**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 294 395 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 18 916.7**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/SE01/01289**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 938 924.6**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2001/095932**

(86) PCT-Anmeldetag: **06.06.2001**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **20.12.2001**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **26.03.2003**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **19.04.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **25.01.2007**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 38/55 (2006.01)**
A61P 7/02 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
0014134 10.06.2000 GB

(73) Patentinhaber:
AstraZeneca AB, Södertälje, SE

(74) Vertreter:
derzeit kein Vertreter bestellt

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(72) Erfinder:
**BYLUND, Ruth, S-431 83 Mölndal, SE; MATTSSON,
Christer, S-431 83 Mölndal, SE**

(54) Bezeichnung: **KOMBINATIONSPRODUKT ENTHALTEND MELAGATRAN UND EINEN FAKTOR-VIIIa INHIBITOR**

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

Gebiet der Erfindung

[0001] Diese Erfindung betrifft eine neue Kombination pharmazeutischer Wirkstoffe.

Hintergrund und Stand der Technik

[0002] Blutgerinnung ist der Schlüsselvorgang, der sowohl an Hämostase (d.h. der Verhinderung von Blutverlust aus einem beschädigten Gefäß) als auch Thrombose (d.h. der Bildung eines Blutgerinnsels in einem Blutgefäß, was manchmal zu Gefäßverschluss führt) beteiligt ist.

[0003] Gerinnung ist das Ergebnis einer komplexen Abfolge enzymatischer Reaktionen.

[0004] Einer der letzten Schritte in dieser Reihe von Reaktionen ist die Umwandlung des Proenzym Prothrombin in das aktive Enzym Thrombin.

[0005] Von Thrombin ist bekannt, dass es eine zentrale Rolle bei der Gerinnung spielt. Es aktiviert Plättchen, was zur Plättchenaggregation führt, wandelt Fibrinogen in Fibrinmonomere um, die spontan zu Fibrinpolymeren polymerisieren, und aktiviert Faktor XIII, der wiederum die Polymere unter Bildung von unlöslichem Fibrin vernetzt. Ferner aktiviert Thrombin Faktor V und Faktor VIII, was zu einer "positiven Rückkopplung" der Erzeugung von Thrombin aus Prothrombin führt.

[0006] Die internationale Patentanmeldung WO 94/29336 offenbart eine Gruppe thrombinhemmender Verbindungen, einschließlich $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cgl-Aze-Pab-H}$ (wobei Cgl für Cyclohexylglycin steht, Aze für S-Azetidin-2-carbonsäure steht und Pab-H für 4-Aminomethylamidinobenzol steht), die auch als Melagatran bekannt ist (siehe Beispiel 1 von WO 94/29336). Die internationale Patentanmeldung WO 97/23499 offenbart Prodrugs u.a. von Melagatran.

[0007] Faktor VII ist (zusammen mit Gewebefaktor) eines der beiden Proteine, die für die Auslösung der Blutgerinnungskaskade über den extrinsischen Weg verantwortlich sind. Es ist allgemein anerkannt, dass Blutgerinnung nach Bildung eines Gewebefaktor/Faktor VIIa-Komplexes physikalisch eingeleitet wird. Nach der Bildung leitet dieser Komplex die Gerinnung durch Aktivierung der Faktoren IX und X ein.

[0008] Von bestimmten Verbindungen ist bekannt, dass sie Faktor-VIIa-hemmende Eigenschaften besitzen. Siehe zum Beispiel die internationalen Patentanmeldungen WO 96/25427, WO 92/15686, WO 92/06711, WO 96/12021, WO 98/50420, WO 96/12800, WO 97/47651, WO 99/03498, WO 94/07528, WO 96/20689, WO 95/23860, WO 97/49684, WO 99/41276, WO 99/41231, WO 99/48878, WO 99/50254, WO 99/50257, WO 99/50263, WO 99/12936, WO 99/13063, WO 99/67215, WO 00/15658, WO 00/30646, WO 00/35858, WO 00/35886, WO 00/40601, WO 00/41531, WO 00/51989, WO 00/58346, WO 00/66545, WO 00/69826, WO 00/69832, WO 00/69834, WO 01/10892, WO 94/27631, WO 95/12674, WO 97/20939, WO 97/48687, WO 97/48706, WO 98/09987, WO 98/22619 und WO 99/00371; U.S.-Patente Nr. 5,437,864, 5,833,982, 5,834,244, 5,863,893, 5,023,236, 6,020,331 und 5,639,739; die europäischen Patentanmeldungen EP 921 116, EP 931 793, EP 669 317 und EP 987 274 und die deutschen Patentanmeldungen Nr. DE 19829964, DE 19834751, DE 19835950, DE 19839499, DE 19845153, DE 19900355 und DE 19900471.

[0009] Keines der vorstehend genannten Dokumente offenbart die Verabreichung von Melagatran oder einem pharmazeutisch annehmbaren Derivat davon in Verbindung mit einem Faktor VIIa-Inhibitor oder schlägt dieses vor. Wir haben jetzt überraschenderweise gefunden, dass eine Verabreichung gerade einer solchen Kombination eine bemerkenswerte synergistische Antikoagulanzwirkung bewirkt.

Offenbarung der Erfindung

[0010] Unter einem ersten Aspekt der Erfindung wird ein Kombinationsprodukt bereitgestellt, umfassend:
(A) Melagatran oder ein Salz, Solvat oder Prodrug davon, wobei das Prodrug die Formel



hat, wobei R^1 ein C_{1-10} -Alkyl oder Benzyl darstellt und die OH-Gruppe eines der Amidino-Wasserstoffatome in Pab ersetzt; und

(B) einen Faktor VIIa-Inhibitor oder ein Salz oder Solvat davon,

wobei jede der Komponenten (A) und (B) im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder Träger formuliert ist.

[0011] Das erfindungsgemäße Kombinationsprodukt stellt die Verabreichung von Melagatran (oder einem Salz, Solvat oder Prodrug davon) in Verbindung mit einem Faktor VIIa-Inhibitor (oder einem Salz oder Solvat davon) bereit und kann somit entweder als separate Formulierungen dargereicht werden, wobei mindestens eine dieser Formulierungen Melagatran umfasst und mindestens eine Faktor VIIa-Inhibitor umfasst, oder kann als kombinierte Zubereitung dargereicht (d.h. formuliert) werden (d.h. als einzelne Formulierung dargereicht werden, die Melagatran und Faktor VIIa-Inhibitor enthält).

[0012] Somit wird ferner bereitgestellt:

(1) eine pharmazeutische Formulierung, enthaltend Melagatran oder ein Salz, Solvat oder Prodrug davon, wobei das Prodrug die Formel



hat, wobei R^1 ein C_{1-10} -Alkyl oder Benzyl darstellt und die OH-Gruppe eines der Amidino-Wasserstoffatome in Pab ersetzt; und einen Faktor VIIa-Inhibitor oder ein Salz oder Solvat davon im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder Träger (wobei die Formulierung hier im folgenden als "kombinierte Zubereitung" bezeichnet wird); und

(2) ein Kit aus Teilen, umfassend die Komponenten:

(a) eine pharmazeutische Formulierung, die Melagatran oder ein Salz, Solvat oder Prodrug davon, wobei das Prodrug die Formel



hat, wobei R^1 ein C_{1-10} -Alkyl oder Benzyl darstellt und die OH-Gruppe eines der Amidino-Wasserstoffatome in Pab ersetzt; im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder Träger enthält; und

(b) eine pharmazeutische Formulierung, die einen Faktor VIIa-Inhibitor oder ein Salz oder Solvat davon im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder Träger enthält,

wobei die Komponenten (a) und (b) jeweils in einer Form bereitgestellt werden, die sich zur gemeinsamen Verabreichung mit der anderen eignet.

[0013] Unter einem weiteren Aspekt der Erfindung wird ein Verfahren zur Herstellung eines Kits von Teilen, wie oben definiert, bereitgestellt, wobei das Verfahren das Zusammenbringen einer Komponente (a), wie oben definiert, mit einer Komponente (b), wie oben definiert, umfasst, so dass die beiden Komponenten für die Verabreichung in Verbindung miteinander geeignet gemacht werden.

[0014] Mit "Zusammenbringen" der beiden Komponenten miteinander schließen wir ein, dass die Komponenten (a) und (b) des Kits von Teilen:

(i) als getrennte Formulierungen (d.h. unabhängig voneinander) bereitgestellt werden können, die anschließend für die Verwendung in Verbindung miteinander zur Kombinationstherapie zusammengebracht werden; oder

(ii) als getrennte Komponenten einer "Kombinationspackung" für die Verwendung in Verbindung miteinander zur Kombinationstherapie zusammen verpackt und dargereicht werden können.

[0015] Somit wird ferner ein Teile-Kit bereitgestellt, umfassend:

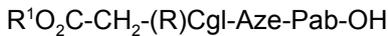
(I) eine der Komponenten (a) und (b), wie hier definiert; zusammen mit

(II) Anweisungen zur Verwendung dieser Komponente zusammen mit der anderen der beiden Komponenten.

[0016] Die hier beschriebenen Teile-Kits können mehr als eine Formulierung, die eine geeignete Menge/Dosis an Melagatran, Salz, Solvat oder Prodrug davon enthält, und/oder mehr als eine Formulierung, die eine geeignete Menge/Dosis an Faktor VIIa-Inhibitor, Salz oder Solvat davon enthält, enthalten, um eine wiederholte Dosierung bereitzustellen. Wenn mehr als eine Formulierung (die einen der Wirkstoffe enthält) vorhanden ist, können diese Formulierungen gleich sein oder hinsichtlich der Dosis von Melagatran (oder Salz, Solvat oder

Prodrug) oder Faktor VIIa-Inhibitor (oder Salz oder Solvat), der chemischen Zusammensetzung und/oder physikalischen Form unterschiedlich sein.

[0017] Ein weiterer Aspekt der Erfindung stellt die Verwendung einer pharmazeutischen Formulierung, enthaltend Melagatran (oder ein Salz, Solvat oder Prodrug davon, wobei das Prodrug die Formel



hat, wobei R¹ ein C₁₋₁₀-Alkyl oder Benzyl darstellt und die OH-Gruppe eines der Amidino-Wasserstoffatome in Pab ersetzt) und einen Faktor VIIa-Inhibitor (oder ein Salz oder Solvat davon) im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder Träger zur Herstellung eines Medikaments für ein Verfahren zur Behandlung eines Zustands bereit, bei dem eine Antikoagulationstherapie angezeigt ist.

[0018] Ein weiterer Aspekt der Erfindung stellt die Verwendung

(a) einer pharmazeutischen Formulierung, enthaltend Melagatran oder ein Salz, Solvat oder Prodrug davon, wobei das Prodrug die Formel



hat, wobei R¹ ein C₁₋₁₀-Alkyl oder Benzyl darstellt und die OH-Gruppe eines der Amidinowasserstoffatome in Pab ersetzt, im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder Träger in Verbindung mit

(b) einer pharmazeutischen Formulierung, enthaltend einen Faktor VIIa-Inhibitor oder ein Salz oder Solvat davon im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder Träger

zur Herstellung eines Medikaments für ein Verfahren zur Behandlung eines Zustands bereit, bei dem eine Antikoagulationstherapie angezeigt ist (womit gemeint ist, wobei Antikoagulation erforderlich ist).

[0019] Zur Vermeidung von Zweifeln beinhaltet der Begriff "Behandlung", wie hier verwendet, therapeutische und/oder prophylaktische Behandlung.

[0020] Im Hinblick auf die Teile-Kits, wie hier beschrieben, schließen wir mit "Verabreichung in Verbindung mit" ein, dass entsprechende Formulierungen, die Melagatran (oder ein Salz, Solvat oder Prodrug davon) und Faktor VIIa-Inhibitor (oder ein Salz oder Solvat davon) umfassen, nacheinander, getrennt und/oder gleichzeitig über den Verlauf der Behandlung des entsprechenden Zustands, wobei der Zustand akut oder chronisch sein kann, verabreicht werden.

[0021] So beinhaltet im Hinblick auf das erfindungsgemäße Kombinationsprodukt der Begriff "Verabreichung in Verbindung mit", dass die zwei Komponenten des Kombinationsprodukts (Melagatran/Salz, Solvat oder Prodrug und Faktor VIIa-Inhibitor/Salz oder Solvat) entweder (im Fall einer kombinierten Zubereitung) zusammen oder (im Fall eines Teile-Kits) ausreichend nahe in der Zeit (gegebenenfalls wiederholt) verabreicht werden, um eine nützliche Wirkung für den Patienten sicherzustellen, die über den Verlauf der Behandlung des entsprechenden Zustands größer ist, als wenn entweder eine Formulierung, die Melagatran/Salz, Solvat oder Prodrug umfasst, oder eine Formulierung, die Faktor VIIa-Inhibitor/Salz oder Solvat umfasst, (gegebenenfalls wiederholt) allein, in Abwesenheit der anderen Komponente über den gleichen Behandlungsverlauf verabreicht wird. Die Bestimmung, ob eine Kombination eine größere nützliche Wirkung angesichts und im Verlauf der Behandlung eines bestimmten Zustands bereitstellt, hängt von dem zu behandelnden oder zu verhindernden Zustand ab, kann aber vom Fachmann routinemäßig erzielt werden.

[0022] Ferner beinhaltet im Zusammenhang mit einem erfindungsgemäßen Teile-Kit der Begriff "in Verbindung mit", dass die eine oder die andere der beiden Formulierungen (gegebenenfalls wiederholt) vor, nach und/oder zur gleichen Zeit wie die Verabreichung der anderen Komponente verabreicht werden kann. Wenn sie in diesem Zusammenhang verwendet werden, beinhalten die Begriffe "gleichzeitig verabreicht" und "zur gleichen Zeit verabreicht wie", dass Einzeldosen von Melagatran (oder einem Salz, Solvat oder Prodrug davon) und Faktor VIIa-Inhibitor (oder einem Salz oder Solvat davon) innerhalb von 48 Stunden (z.B. 24 Stunden) voneinander verabreicht werden.

[0023] "Pharmazeutisch annehmbare Salze und Solvate" von Melagatran und Faktor VIIa-Inhibitoren umfasst pharmazeutisch annehmbare, nichttoxische, organische oder anorganische Säureadditionssalze. Man erkennt, dass der Begriff ferner Derivate umfasst, die die gleiche biologische Funktion und/oder Aktivität wie Me-

lagatran oder der Faktor VIIa-Inhibitor, wie zutreffend, haben. "Prodrugs" von Melagatran umfassen jede Substanzzusammensetzung, die nach oraler oder parenteraler Verabreichung in vivo unter Bildung von Melagatran in einer experimentell nachweisbaren Menge und innerhalb einer bestimmten Zeit (z.B. innerhalb eines Dosierungsintervalls zwischen 6 und 24 Stunden (d.h. ein- bis viermal täglich)) metabolisiert wird. Um Zweifel auszuschließen, beinhaltet der Begriff "parenterale" Verabreichung alle anderen Formen der Verabreichung als orale Verabreichung.

[0024] Faktor VIIa-Inhibitoren, die in den erfindungsgemäßen Kombinationsprodukte eingesetzt werden können, umfassen diejenigen, die in den internationalen Patentanmeldungen WO 96/25427, WO 92/15696, WO 92/06711, WO 96/12021, WO 98/50420, WO 96/12800, WO 97/47651, WO 99/03498, WO 94/07528, WO 96/20689, WO 95/23860, WO 97/49684, WO 99/41276, WO 99/41231, WO 99/48878, WO 99/50254, WO 99/50257, WO 99/50263, WO 99/12936, WO 99/13063, WO 99/67215, WO 00/15658, WO 00/30646, WO 00/35858, WO 00/35886, WO 00/40601, WO 00/41531, WO 00/51989, WO 00/58346, WO 00/66545, WO 00/69826, WO 00/69832, WO 00/69834, WO 01/10892, WO 94/27631, WO 95/12674, WO 97/20939, WO 97/48687, WO 97/48706, WO 98/09987, WO 98/22619 und WO 99/00371; U.S.-Patenten Nr. 5,437,864, 5,833,982, 5,834,244, 5,863,893, 5,023,236, 6,020,331 und 5,639,739; den europäischen Patentanmeldungen EP 921 116, EP 931 793, EP 669 317 und EP 987 274 und den deutschen Patentanmeldungen Nr. DE 19829964, DE 19834751, DE 19835950, DE 19839499, DE 19845153, DE 19900355 und DE 19900471 beschrieben sind, wobei die spezifischen und generischen Offenbarungen in allen diesen Dokumenten hier durch Bezugnahme aufgenommen sind.

[0025] Bevorzugte Faktor VIIa-Inhibitoren umfassen die in den internationalen Patentanmeldungen WO 98/50420, WO 97/47651, WO 99/03498, WO 96/20689, WO 00/15658, WO 00/35858, WO 00/35886, WO 00/41531, WO 00/58346, WO 00/66545, WO 00/69826, WO 00/69832, WO 00/69834, WO 98/22619 und im U.S.-Patent Nr. 5,639,739 beschriebenen und insbesondere die in den internationalen Patentanmeldungen WO 92/15686, WO 96/12021 und WO 99/41231 und den europäischen Patentanmeldungen EP 987 274 und EP 921 116 beschriebenen, wobei die spezifischen und generischen Offenbarungen in allen diesen Dokumenten hier durch Bezugnahme aufgenommen sind, sowie N-[(3-Carboxybenzyl)sulfonyl]-D-valyl-N'-{4-[amino(imino)methyl]benzyl}-L-leucinamid und pharmazeutisch annehmbare Derivate davon, die gemäß dem nachstehend beschriebenen Verfahren hergestellt werden können.

[0026] Der Begriff "Zustand, bei dem eine Antikoagulationstherapie angezeigt ist", wird vom Fachmann so verstanden, dass er Folgendes umfasst:

Die Behandlung und/oder Prophylaxe von Thrombose und Hyperkoagulabilität in Blut und/oder Geweben von Tieren, einschließlich Menschen. Es ist bekannt, dass Hyperkoagulabilität zu thromboembolischen Erkrankungen führen kann. Zustände in Verbindung mit Hyperkoagulabilität und thromboembolischen Erkrankungen, die erwähnt werden können, sind u.a. ererbte oder erworbene Resistenz gegen aktiviertes Protein C, wie die Faktor V-Mutation (Faktor V Leiden), und ererbte oder erworbene Mängel von Antithrombin III, Protein C, Protein S, Heparin-Cofaktor II. Andere Zustände, von denen bekannt ist, dass sie mit Hyperkoagulabilität und thromboembolischer Erkrankung zusammenhängen, sind u.a. zirkulierende Anti-Phospholipid-Antikörper (Lupus anticoagulans), Homocysteinämie, heparininduzierte Thrombocytopenie und Defekte bei der Fibrinolyse sowie Koagulationssyndrome (z.B. disseminierte intravaskuläre Koagulation (DIC)) und Gefäßverletzung im Allgemeinen (z.B. aufgrund einer Operation).

[0027] Die Behandlung von Zuständen, bei denen ein unerwünschter Überschuss an Thrombin ohne Anzeichen von Hyperkoagulabilität vorliegt, zum Beispiel bei neurodegenerativen Erkrankungen, wie Alzheimer-Krankheit.

[0028] Besondere Erkrankungszustände, die erwähnt werden können, sind u.a. die therapeutische und/oder prophylaktische Behandlung von Venenthrombose (z.B. DVT) und Lungenembolie, arterieller Thrombose (z.B. bei Myokardinfarkt, instabiler Angina, thrombosebasiertem Schlaganfall und peripherer Arterienthrombose) und systemischer Embolie, gewöhnlich aus dem Atrium während atrialer Fibrillation oder aus dem linken Ventrikel nach transmuralen Myokardinfarkt oder aufgrund von kongestivem Herzversagen; Prophylaxe von Wiederverschluss (d.h. Thrombose) nach Thrombolyse, perkutaner transluminaler Angioplastie (PTA) und Koronar-Bypass-Operationen; die Verhinderung von Rethrombose nach Mikrochirurgie und Gefäßchirurgie im Allgemeinen.

[0029] Weitere Indikationen sind u.a. die therapeutische und/oder prophylaktische Behandlung von disseminierter intravaskulärer Koagulation, die durch Bakterien, multiples Trauma, Intoxikation oder jeden anderen Mechanismus hervorgerufen wird; Antikoagulationstherapie, wenn Blut mit fremden Oberflächen im Körper,

wie Gefäßtransplantaten, Gefäß-Stents, Gefäßkathetern, mechanischen und biologischen prothetischen Ventilen oder jeder anderen medizinischen Vorrichtung, in Kontakt steht; und Antikoagulanzenbehandlung, wenn Blut mit medizinischen Vorrichtungen außerhalb des Körpers in Kontakt steht, wie während Kardiovaskulärchirurgie unter Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine oder bei Hämodialyse; therapeutische und/oder prophylaktische Behandlung von idopathischem und adultem Atemnotsyndrom, Lungenfibrose nach Behandlung mit Strahlung oder Chemotherapie, septischem Schock, Septikämie, entzündlichen Reaktionen, die Ödem, akute oder chronische Atherosklerose, wie Koronararterienkrankung und die Bildung atherosklerotischer Plaques beinhalten, Zerebralarterienkrankung, Hirninfarkt, Hirnthrombose, Hirnembolie, peripherer arterieller Erkrankung, Ischämie, Angina (einschließlich instabiler Angina), Reperfusionsschädigung, Restenose nach perkutaner transluminaler Angioplastie (PTA) und Koronararterien-Bypass-Operation.

[0030] Zu bevorzugten Zuständen gehört Thrombose.

[0031] Erfindungsgemäß können Melagatran, Prodrugs davon, Faktor VIIa-Inhibitoren und Salze oder Solvate von einem oder beiden oral, intravenös, subkutan, bukkal, rektal, dermal, nasal, tracheal, bronchial, topisch, auf jedem anderen parenteralen Weg oder mittels Inhalation in Form einer pharmazeutischen Zubereitung verabreicht werden, die Melagatran und/oder Faktor VIIa-Inhibitor in einer pharmazeutisch annehmbaren Dosierungsform umfasst. Je nach der Störung und dem zu behandelnden Patienten sowie dem Verabreichungsweg können die Verbindungen in variablen Dosen verabreicht werden.

[0032] Bevorzugte Zuführungsweisen sind systemisch. Für Melagatran und Salze oder Solvate davon sind bevorzugte Verabreichungsweisen parenteral, stärker bevorzugt intravenös und insbesondere subkutan. Für Prodrugs von Melagatran sind bevorzugte Verabreichungsweisen oral.

[0033] Bei der therapeutischen Behandlung von Säugern und insbesondere Menschen werden Melagatran, Faktor VIIa-Inhibitoren und Derivate von einem oder beiden gewöhnlich als pharmazeutische Formulierung im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoff, Verdünnungsmittel oder Träger verabreicht, der/das im angemessenen Hinblick auf den beabsichtigten Verabreichungsweg und pharmazeutische Standardpraxis ausgewählt wird.

[0034] Geeignete Formulierungen zur Verwendung bei der Verabreichung von Melagatran und Salzen, Solvaten oder Prodrugs davon sind in der Literatur beschrieben, zum Beispiel u.a. in den internationalen Patentanmeldungen WO 94/29336, WO 96/14084, WO 96/16671, WO 97/23499, WO 97/39770, WO 97/45138, WO 98/16252, WO 99/27912, WO 99/27913, WO 00/12043 und WO 00/13671, wobei die Offenbarungen in diesen Dokumenten hiermit durch Bezugnahme aufgenommen sind.

[0035] Ebenso sind geeignete Formulierungen zur Verwendung bei der Verabreichung von Faktor VIIa-Inhibitoren und Salzen oder Solvaten davon in der Literatur beschrieben, wie zum Beispiel in den Dokumenten des Standes der Technik in Bezug auf Faktor VIIa-Inhibitoren, die hier vorstehend erwähnt sind, beschrieben, wobei die Offenbarungen in diesen Dokumenten hiermit durch Bezugnahme aufgenommen sind. Andererseits kann die Herstellung geeigneter Formulierungen und insbesondere von kombinierten Zubereitungen, die sowohl Melagatran/Salz, Solvat oder Prodrug als auch Faktor VIIa-Inhibitor/Salz oder Solvat enthalten, vom Fachmann nichterfinderisch unter Verwendung von Routinetechniken erzielt werden.

[0036] Die Mengen an Melagatran, einem Prodrug davon, Faktor VIIa-Inhibitor, oder Salz oder Solvat von einem oder beiden in der (den) entsprechenden Formulierung(en) hängt von der Schwere des Zustands und vom zu behandelnden Patienten sowie der (den) Verbindung(en) ab, die eingesetzt wird (werden), kann aber vom Fachmann nichterfinderisch bestimmt werden.

[0037] Geeignete Dosen von Melagatran, einem Prodrug davon, Faktor VIIa-Inhibitoren und Salz oder Solvat von einem oder beiden bei der therapeutischen und/oder prophylaktischen Behandlung von Säuger-, insbesondere menschlichen, Patienten können routinemäßig durch den Arzt oder einen anderen Fachmann bestimmt werden und beinhalten die jeweiligen Dosen, die in den hier vorstehend erwähnten Dokumenten des Standes der Technik, die sich auf Melagatran (oder Salze, Solvate oder Prodrugs davon) und auf Faktor VIIa-Inhibitoren beziehen, diskutiert werden, wobei die Offenbarungen in diesen Dokumenten hiermit durch Bezugnahme aufgenommen sind.

[0038] Im Fall von Melagatran umfassen geeignete Dosen an Wirkstoff, Prodrugs und Salzen oder Solvaten davon bei der therapeutischen und/oder prophylaktischen Behandlung von Säuger-, insbesondere menschlichen, Patienten solche, die eine mittlere Plasmakonzentration von bis zu 5 µmol/l, zum Beispiel im Bereich von

0,001 bis 5 µmol/l, über den Verlauf der Behandlung des entsprechenden Zustands ergeben. Geeignete Dosen können somit im Bereich von 0,1 mg einmal täglich bis 25 mg dreimal täglich und/oder bis zu 100 mg, parenteral über einen Zeitraum von 24 Stunden infundiert, für Melagatran und im Bereich von 0,1 mg einmal täglich bis 100 mg dreimal täglich für Prodrugs von Melagatran, einschließlich der hier vorstehend spezifisch erwähnten, betragen.

[0039] Im Fall von Faktor VIIa-Inhibitoren liegen geeignete Dosen zu therapeutischen oder prophylaktischen Zwecken in einem Bereich, dass beispielsweise 10 bis 500 mg erhalten werden, die, wenn erforderlich, in geteilten Dosen verabreicht werden. Im Allgemeinen werden niedrigere Dosen verabreicht, wenn ein parenteraler Weg eingesetzt wird, zum Beispiel wird allgemein eine Dosis für die intravenöse Verabreichung im Bereich von beispielsweise 1 bis 50 mg verwendet. Bei kontinuierlicher Infusion wird in der Regel eine Dosis zwischen 0,1 und 5 mg/kg/Stunde verwendet.

[0040] In jedem Fall ist der Arzt oder der Fachmann in der Lage, die tatsächliche Dosierung, die für einen einzelnen Patienten am geeignetsten ist, die wahrscheinlich mit dem zu behandelnden Zustand sowie dem Alter, Gewicht, Geschlecht und der Reaktion des besonderen zu behandelnden Patienten variiert, zu bestimmen. Die obengenannten Dosierungen sind für den Durchschnittsfall beispielhaft; es kann natürlich einzelne Fälle geben, in denen höhere oder niedrigere Dosierungsbereiche günstig sind, und diese liegen im Umfang der Erfindung.

[0041] Wenn getrennte Formulierungen verabreicht werden, kann die Reihenfolge, in der die Formulierungen, die Melagatran (oder ein Salz, Solvat oder Prodrug davon) und Faktor VIIa-Inhibitor (oder ein Salz oder Solvat davon) umfassen, verabreicht werden können (d.h. ob und an welchem Punkt eine aufeinanderfolgende, getrennte und/oder gleichzeitige Verabreichung erfolgt), durch den Arzt oder Fachmann bestimmt werden. Zum Beispiel kann die Reihenfolge von vielen Faktoren abhängen, die für den Fachmann ersichtlich sind, beispielsweise ob zu irgendeinem Zeitpunkt im Verlauf der Behandlung die eine oder andere der Formulierungen dem Patienten aus praktischen Gründen nicht verabreicht werden kann (z.B. weil der Patient bewusstlos und somit zur Einnahme einer oralen Formulierung, die entweder Melagatran oder Faktor VIIa-Inhibitor umfasst, nicht in der Lage ist).

[0042] Die hier beschriebenen Verfahren können den Vorteil haben, dass sie zur Behandlung von Zuständen, bei denen Antikoagulationstherapie angezeigt ist, für den Arzt und/oder den Patienten geeigneter sein können als, wirksamer sein können als, weniger toxisch sein können als, einen breiteren Aktivitätsbereich haben können als, stärker sein können als, weniger Nebenwirkungen hervorrufen können als ähnliche Verfahren, die im Stand der Technik zur Behandlung solcher Zustände bekannt sind oder, dass sie andere geeignete pharmakologische Eigenschaften gegenüber diesen haben können.

[0043] Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele veranschaulicht, aber in keiner Weise beschränkt.

Beispiel 1

N-[(3-Carboxybenzyl)sulfonyl]-D-valyl-N¹-{4-[amino(imino)methyl]benzyl}-L-leucinamid

(a) N²-(tert.-Butoxycarbonyl)-N¹-(4-cyanobenzyl)-L-leucinamid

[0044] Zu einer gerührten Lösung von 4-Aminomethylbenzonnitril (15,0 g, 41,0 mmol), DMAP (37,0 g, 303 mmol) und EDC (13,8 g, 72 mmol) in DMF (200 ml) auf einem Eisbad wurde 2-tert.-(L)-Butoxycarbonylamino-4-methylpentansäure (5,4 g) hinzugefügt. Das Eisbad wurde entfernt. Wasser (500 ml) wurde nach 24 Stunden hinzugefügt. Das Produkt wurde mit DCM (500 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit 1 M HCl (2 × 250 ml), H₂O (250 ml), 1 M NaHCO₃ (2 × 250 ml), H₂O (250 ml) und Salzlösung (250 ml) gewaschen. Die organische Schicht wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und eingeeengt, um 16,92 g wasserfreien Feststoff zu erhalten. Ausbeute 75%.

¹H-NMR (400 MHz, DMF-d₇) δ 0,71 (d, 3H), 0,74 (d, 3H), 1,22 (s, 9H), 1,41 (m, 2H), 1,69 (m, 1H), 3,98 (m, 1H), 4,31 (d, 2H), 6,73 (d, 1H), 7,36 (d, 2H), 7,61 (d, 2H), 8,35 (t, 1H)

MS m/e 346 (M+H)⁺

(b) N¹-(4-Cyanobenzyl)-L-leucinamid

[0045] Zu einem Reaktionsgefäß auf einem Eisbad, das N²-(tert.-Butoxycarbonyl)-N¹-(4-cyanobenzyl)-L-leucinamid (16,9 g, 48,9 mmol (siehe Schritt (a) oben) enthielt, wurde tropfenweise HCl-gesättigtes EtOAc (250 ml)

hinzugefügt. Das Eisbad wurde entfernt. Nach 30 min. wurde die Reaktion eingedampft, um das HCl-Salz des Untertitelprodukts (13,0 g, 46,1 mmol) zu erhalten. Ausbeute 94%.

¹H-NMR (400 MHz, DMF-d₇) δ 0,77 (d, 3H), 0,79 (d, 3H), 1,66 (m, 3H), 3,99 (m, 1H), 4,35 (ddd, 2H), 7,45 (d, 2H), 7,63 (d, 2H), 8,77 (breit, s, 3H)

MS m/e 246 (M+H)⁺

(c) N-[[3-(Methoxycarbonyl)benzyl]sulfonyl]-D-valyl-N¹-(4-cyano-benzyl)-L-leucinamid

[0046] Zu einer gerührten, auf einem Eisbad gekühlten Lösung von N¹-(4-Cyanobenzyl)-L-leucinamid (0,56 g, 2,0 mmol (siehe Schritt (b) oben), DMAP (1,1 g, 9 mmol) und EDC (0,42 g, 2,2 mmol) in DMF (10 ml) wurde N-[[3-(Methoxycarbonyl)benzyl]sulfonyl]-D-valin (0,60 g, 1,8 mmol) hinzugefügt. Das Eisbad wurde entfernt, und nach 24 Stunden wurde H₂O (80 ml) hinzugefügt. Das Gemisch wurde mit EtOAc (3 × 30 ml) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit 1 M HCl (2 × 100 ml), H₂O (100 ml), 1 M NaHCO₃ (2 × 100 ml), H₂O (100 ml) und Salzlösung (100 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde aufgetrennt und über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter Vakuum eingengt, um 0,79 g der Untertitelverbindung als wasserfreien Feststoff zu erhalten. Ausbeute 71%.

¹H-NMR (400 MHz, CDC13) δ 0,92 (d, 3H), 0,94 (d, 3H), 0,95 (d, 3H), 0,98 (d, 3H), 1,60 (m, 2H), 1,80 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 3,44 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 4,23 (dd, 2H), 4,44 (ddd, 2H), 4,60 (m, 1H), 6,29 (d, 1H), 7,33 (d, 2H), 7,50 (m, 3H), 8,04 (d, 2H)

MS m/e 557 (M+H)⁺

(d) N-[(3-Carboxybenzyl)sulfonyl]-D-valyl-N¹-(4-cyanobenzyl)-L-leucinamid

[0047] Zu einer gerührten Lösung von N-[[3-(Methoxycarbonyl)benzyl]sulfonyl]-D-valyl-N¹-(4-cyanobenzyl)-L-leucinamid (0,76 g, 1,37 mmol, siehe Schritt (c) oben) in THF wurde tropfenweise eine 0,4 M Lithiumhydroxid-Lösung in H₂O (20 ml) hinzugefügt. Nach 2 Std. wurde der pH der Reaktion mit 1 M HCl auf 7 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde unter Vakuum bis zur Trockne (1,06 g) eingedampft. Das mit LiCl verunreinigte rohe Produkt wurde ohne weitere Reinigung direkt im nächsten Schritt eingesetzt.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ 0,90 (d, 3H), 0,91 (d, 3H), 0,95 (d, 3H), 0,96 (d, 3H), 1,65 (m, 3H), 1,91 (m, 1H), 3,52 (d, 1H), 3,72 (m, 1H), 4,35 (m, 4H), 7,39 (m, 4H), 7,58 (d, 2H), 7,92 (d, 1H), 7,97 (s, 1H)

MS m/e 543 (M+H)⁺

(e) N-[(3-Carboxybenzyl)sulfonyl]-D-valyl-N¹-{4-[(Z)-amino(hydroxyimino)methyl]benzyl}-L-leucinamid

[0048] Zu einer gerührten Lösung von N-[(3-Carboxybenzyl)sulfonyl]-D-valyl-N¹-(4-cyanobenzyl)-L-leucinamid (0,89 g, roh, siehe Schritt (d) oben) in Ethanol unter einer Stickstoffatmosphäre wurden Triethylamin (0,74 ml) und Hydroxylaminhydrochlorid (0,22 g) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Rückfluss erhitzt. Nach 18 Stunden wurde das Reaktionsgemisch unter Vakuum bis zur Trockne (0,74 g) eingengt. Das rohe Produkt wurde ohne weitere Reinigung direkt im nächsten Schritt eingesetzt.

MS m/e 576 (M+H)⁺

(f) N-[(3-Carboxybenzyl)sulfonyl]-D-valyl-N¹-{4-[amino(imino)methyl]-benzyl}-L-leucinamid

[0049] Zu einer gerührten Lösung von N-[(3-Carboxybenzyl)sulfonyl]-D-valyl-N¹-{4-[(Z)amino(hydroxyimino)methyl]benzyl}-L-leucinamid (0,74 g, roh, siehe Schritt (e) oben) in Essigsäure (40 ml) wurden 10% Pd/C (0,13 g) und Essigsäureanhydrid (0,13 ml) hinzugefügt. Die Reaktion wurde unter einer Wasserstoffatmosphäre (5 bar) durchgeführt. Nach 3,5 Stunden wurde das Reaktionsgemisch durch Celite filtriert. Das Celite wurde mit Essigsäure gewaschen, das vereinigte Filtrat wurde unter Vakuum eingengt und der Rückstand aus Acetonitril/1 M NH₄Oac gefällt, filtriert und getrocknet, um 0,34 g Titelprodukt zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃COOD) Rotamere δ 0,91 (d, 3H), 0,95 (d, 3H), 0,96 (d, 3H), 0,98 (d, 3H), 1,71 (m, 2H), 1,96 (m, 1H), 3,71 (d, 1H, hauptsächliches Rotamer), 3,74 (d, 1H, geringfügigeres Rotamer), 4,26 (d, 2H, geringfügigeres Rotamer), 4,32 (d, 2H, hauptsächliches Rotamer), 4,45 (d, 1H), 4,60 (d, 1H), 4,70 (m, 1H), 7,46 (m, 3H), 7,66 (d, 1H), 7,73 (d, 2H, hauptsächliches Rotamer), 7,77 (d, 2H, geringfügigeres Rotamer), 8,05 (breites s, 2H)

MS m/e 560 (M+H)⁺

Abkürzungen

DCM	= Dichlormethan
DMF	= Dimethylformamid
DMAP	= 4-Dimethylaminopyridin
EDC	= 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimidhydrochlorid
MS	= Massenspektrometrie

[0050] Die Verbindung des Beispiels 1 wurde in den folgenden Tests untersucht.

Test A

Chromogenes Roboterverfahren für Faktor VIIa:

[0051] Das chromogene Substrat Spectrozyme FVIIa, CH₃SO₂-D-CHA-But-Arg-pNA (Pefachrome 5979 von Pentapharm, Schweiz) wurde von American Diagnostica Inc. (Greenwich, CT, USA) bezogen. Die K_M unter den Testbedingungen wurde getrennt bestimmt. Rekombinanter menschlicher Faktor VIIa (rFVIIa, Produkt-Nr. 407) und nicht-lipidierter rekombinanter menschlicher Gewebefaktor (rTF, Produkt-Nr. 4500) wurden von American Diagnostica Inc. bezogen. Die Stammlösungen von rFVIIa (1,08 mg Protein, mit 1 ml Wasser zu 21,6 µM in 20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, pH 7,4 gelöst) und rTF (1 mg Protein, mit 1,5 ml Wasser zu 19 µM in 50 mM Tris-HCl, pH 8,0, 150 mM NaCl, CHAPS (3-((3-Cholamidopropyl)dimethylammonium)-1-propansulfonat; 10 mM) und 200 mM Mannitol gelöst) wurden in 0,5-ml-Reagenzröhrchen bei -80°C aufbewahrt. Eine Mischung aus 29 nM rFVIIa mit 68 nM TF wurde durch Zugabe von 8 µl 21,6 µM rFVIIa und 22 µl 19 µM rTF zu 6 ml Testpuffer mit 0,1% Rinderserumalbumin (BSA) hergestellt. Das Gemisch wurde 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Der Testpuffer enthielt 50 mM Tris mit 100 mM NaCl, 0,1% BSA, 5 mM CaCl₂, mit HCl bei 37°C auf pH 7,4 eingestellt. Die Verbindung wurde in 100% DMSO in einer Konzentration von 10 mM in einer Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen gelöst. Eine neue Platte wurde durch Verdünnung in Schritten von 1:3 mit DMSO auf 10 Endkonzentrationen in Spalte 2 bis Spalte 11 hergestellt. Im endgültigen Test wurden aus allen Vertiefungen der Platte 4 µl auf die Messplatte mit den endgültigen Testkonzentrationen mit 2,7% DMSO in 150 µl/Vertiefung überführt. Der Faktor VIIa-Robotertest wurde in einem ROSYS-Plato-3000-Roboter-Mikrotiterplattenverarbeitungsgerät in einem Gesamt-Testvolumen von 150 µl durchgeführt. Zu den 4 µl Inhibitor in den Spalten 2-11 wurden 122 µl Testpuffer bei Raumtemperatur hinzugefügt, dann wurden 12 µl der FVIIa-rTF-Arbeitslösung in alle Vertiefungen mit einer Mehrfachabgabevorrichtung abgegeben und schließlich nach Mischen 12 µl der Spectrozyme-FVIIa-Arbeitslösung auf eine Endkonzentration von 0,2 mM hinzugefügt. Nach Mischen und 40-minütiger Inkubation bei 37°C wurde der Unterschied in der optischen Absorption bei 405 nm abgelesen. Der IC₅₀-Wert für jede Verbindung wurde mittels nichtlinearer Regression gemäß der Gleichung:

$$A_i/A_0 = 1/(1 + ([I]/IC_{50})^s)$$

berechnet, wobei A_i = endgültige Absorption bei 405 nm in Gegenwart des Inhibitors, A₀ = in Abwesenheit des Inhibitors und s die Steigung der Dosis-Wirkungskurve, die für einen rein kompetitiven Inhibitor einen theoretischen Wert von 1 hat. Die K_I-Werte können aus der folgenden Beziehung bestimmt werden:

$$K_i = IC_{50}/(1 + S/K_m) = IC_{50}/1,32$$

Test B

Bestimmung der Thrombinhemmung mit einem chromogenen Robotertest

[0052] Die Thrombininhibitorstärke wurde mit einem chromogenen Substrat-Verfahren in einem Plato-3300-Roboter-Mikrotiterplattenverarbeitungsgerät (Rosys AG, CH-8634 Hombrechtikon, Schweiz) unter Verwendung von Mikrotiterplatten mit 96 Vertiefungen mit halbem Volumen (Costar, Cambridge, MA, USA; Kat.-Nr. 3690) gemessen. Stammlösungen der Testsubstanz in DMSO (72 µl), 0,1-1 mmol/l, wurden 1:3 (24 + 48 µl) mit DMSO seriell verdünnt, um zehn verschiedene Konzentrationen zu erhalten, die als Proben im Test analysiert wurden. 2 µl Testprobe wurden mit 124 µl Testpuffer verdünnt, 12 µl Lösung des chromogenen Substrats (S-2366, Chromogenix, Mölndal, Schweden) in Testpuffer und schließlich 12 µl α-Thrombin-Lösung (menschliches α-Thrombin, Sigma Chemical Co. oder Hematologic Technologies) in Testpuffer wurden hinzugefügt, und die Proben wurden gemischt. Die endgültigen Testkonzentrationen waren: Testsubstanz 0,00068-13,3 µmol/l, S-2366 0,30 mmol/l, α-Thrombin 0,020 NIHU/ml. Die lineare Absorptionszunahme während 40-minütiger Inkubation bei 37°C wurde zur Berechnung der prozentualen Hemmung für die Testproben

verglichen mit den Leerwerten ohne Inhibitor verwendet. Der IC_{50} -Roboterwert, der der Inhibitorkonzentration entspricht, die eine 50%ige Hemmung der Thrombinaktivität bewirkt, wurde aus einer Kurve von log Konzentration gegen Hemmung berechnet.

Test C

Prothrombin-Zeit- (PT-) Test

[0053] Die folgenden Reagenzien wurden hergestellt: Ein Aliquot eines eingefrorenen Humanplasmapools, das Citrat als Antikoagulanzen enthielt, wurde bei 37°C schnell aufgetaut. Eine 10 mM Stammlösung des Inhibitors in DMSO wurde mit Salzlösung, die 0,1% BSA enthielt, auf eine Endkonzentration von 1% DMSO verdünnt. Verdünnungsreihen wurden in Schritten von 1:3 für eine Dosis-Wirkungs-Titration hergestellt. Thromborel® S von Dade Behring GmbH (Marburg, Deutschland) wurde mit 25 mM $CaCl_2$ nach den Angaben des Herstellers 1:10 rekonstituiert. 2,5 µl Inhibitor wurden mit 22,5 µl Humanplasma gemischt, 1 min bei 37°C in dem Gefäß eines Amelung-KC10-Mikrokoagulometers von Heinrich Amelung GmbH (Lemgo, Deutschland) inkubiert. Die Gerinnung wurde durch Zugabe von 50 µl Thromborel S, das bei 37°C vorgewärmt wurde, eingeleitet. Die Zeit bis zur Gerinnselbildung (CT_1) wurde für jede Inhibitorkonzentration ($[I]$) in Doppelansätzen bestimmt. Eine Titrationskurve wurde durch Auftragen des Kehrwerts der Gerinnungszeit gegen die Inhibitorkonzentration hergestellt. Der IC_{50} -Wert, die Zeit bis zur Verdopplung der Gerinnungszeit, wurde mittels nichtlinearer Regression der Gleichung:

$$CT_0/CT_1 = 1/(1 + [I]/IC_{50})^s$$

bestimmt, wobei " CT_0 " = Gerinnungszeit ohne zugegebenen Inhibitor und "s" = Steigung.

[0054] Die Ergebnisse für die Titelverbindung des Beispiel 1 sind:

Test A – IC_{50} (Faktor VIIa) = 64 nM

Test B – IC_{50} (Thrombin) = 6,2 µM

Test C – IC_{50} (PT) = 3,8 µM,

was zeigt, dass die infragekommene Verbindung ein selektiver Inhibitor von Faktor VIIa ist.

Beispiel 2

Synergistische Wirkung von Melagatran und einem Faktor VIIa-Inhibitor

[0055] Menschliches Blut von gesunden Freiwilligen, sowohl Männern als auch Frauen, wurde in konischen 50-ml-Kunststoffröhrchen, die 5 ml 0,13 mol/l gepuffertes Trinatriumcitrat enthielten, gesammelt. Das Blut wurde sofort auf Eis gekühlt und bei 200 × g 20 Minuten zentrifugiert. Das plättchenarme Plasma wurde dann in Fraktionen von jeweils 10 ml aufgeteilt und mit Melagatran (Verbindung A) oder mit der Titelverbindung von Beispiel 1 oben (Verbindung B) auf eine Endkonzentration, die die APTT um etwa 20%, 40%, 60% bzw. 100% verlängerte, versetzt ("spiked").

[0056] Die APTT wurde wie folgt bestimmt: 100 µl vorgewärmtes APTT-Reagenz (Stago Diagnostica) wurde zu 100 µl vorgewärmtem Plasma hinzugefügt und 180 s bei 37°C inkubiert. Die Gerinnung wurde durch Zugabe von 100 µl $CaCl_2$ (0,025 mol/l) eingeleitet. Die Gerinnungszeit wurde mit einem KC-10-Koagulometer, das mit einem CR-A-Rechner, CR-10-Drucker und PR60-Heizblock (Amelung GmbH, Lemgo, Deutschland) verbunden war, gemessen. Jeder Gerinnungstest wurde im Doppelansatz durchgeführt und die mittlere Gerinnungszeit verwendet.

[0057] Die APTT für Verbindung A und Verbindung B wurden bei 4 verschiedenen Konzentrationen getestet, und die Ergebnisse sind in Tabelle 1 gezeigt, in der Vb A und Vb B die Plasmakonzentrationen von Verbindung A bzw. B sind. Die APTT-Werte sind in Sekunden und, in Klammern, als prozentuale Verlängerung gegenüber dem Grundlinienwert ausgedrückt.

Tabelle 1

Vb A ($\mu\text{mol/l}$)	APTT (s)	Vb B ($\mu\text{mol/l}$)	APTT (s)
0,00	36,8	0,00	35,7
0,08	45,8 (24%)	1,50	45,2 (26%)
0,18	53,8 (46%)	3,20	51,5 (44%)
0,27	59,2 (61%)	4,90	57,7 (62%)
0,56	72,1 (96%)	8,30	73,3 (105%)

[0058] Die APTT korrelierte innerhalb der getesteten Konzentrationsintervalle für beide Verbindungen gut mit einer linearen Funktion und kann durch die folgenden Gleichungen beschrieben werden:

$$\text{Verbindung A: } y = 52,9x + 43,3 \quad R^2 = 0,98 \quad (\text{Gl. 1})$$

$$\text{Verbindung B: } y = 4,2x + 38,2 \quad R^2 = 1,00 \quad (\text{Gl. 2})$$

[0059] Um eine mögliche synergistische Wirkung zwischen den Verbindungen A und B zu testen, wurde das folgende Modell verwendet. Die Konzentrationen der Verbindungen A und B, die etwa 20%, 40% und 60% Verlängerung der APTT bewirkten, wurden zuerst bestimmt (Tabelle 1). Gleich starke Konzentrationen der Verbindungen A und B, z.B. 0,08 $\mu\text{mol/l}$ A und 1,5 $\mu\text{mol/l}$ B, wurden dann gemischt, und die APTT für die Gemische wurden wie oben bestimmt. Ein Hinweis auf Synergie wird erhalten, wenn die APTT für dieses Gemisch länger ist als die APTT für ein "Gemisch" gleich starker Konzentrationen von Verbindung A selbst (d.h. Verbindung A + Verbindung A in einer Konzentration, die die APTT um 20% verlängert (0,08 $\mu\text{mol/l}$ + 0,08 $\mu\text{mol/l}$ = 0,16 $\mu\text{mol/l}$)). Eine wirkliche synergistische Wirkung zwischen zwei Verbindungen kann jedoch nicht festgestellt werden, wenn nicht die Dosis-Wirkungs-Kurven für beide Einzelverbindungen bekannt sind und alle Daten auf das algebraische Modell der Berenbaum-Gleichung (siehe Clin. Exp. Immunol. (1977) 28, 18) angewendet werden:

$$(\text{Vb A im Gemisch/Ae}) + (\text{Vb B im Gemisch/Be}) < 1$$

[0060] In dieser Gleichung sind Vb A und Vb B die Plasmakonzentrationen der Verbindungen A bzw. B in diesem Gemisch, und Ae und Be sind Einzelkonzentrationen der Verbindungen A und B, die notwendig sind, um die gleichen APTT-Ergebnisse wie mit dem Gemisch zu erhalten. Diese Konzentrationen können aus den linearen Dosis-Wirkungen für die Verbindungen A bzw. B (Gleichungen 1 und 2) berechnet werden. Alle APTT-Ergebnisse aus Experimenten mit Verbindung A allein oder in Kombination mit Verbindung B sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2

Verbindung A + A $\mu\text{mol/L}$	APTT s	Verbindung A + B $\mu\text{mol/L}$	APTT s	A	B
				$\mu\text{mol/L}$	
0,08 + 0,08 = 0,16	51,8	0,08 (A) + 1,5 (B)	54,3	0,21	3,87
0,18 + 0,18 = 0,36	62,4	0,18 (A) + 3,2 (B)	71,4	0,53	7,98
0,27 + 0,27 = 0,54	71,9	0,27 (A) + 4,9 (B)	87,3	0,83	11,80

[0061] Tabelle 2 zeigt die APTT von Verbindung A allein oder in unterschiedlichen Gemischen mit Verbindung B. Die beiden letzten Spalten zeigen die Konzentration von A und B, die erforderlich ist, um die gleiche APTT-Verlängerung wie bei dem Gemisch zu erhalten.

[0062] Wenn die Ergebnisse der Tabelle 2 auf die Berenbaum-Gleichung angewendet wurden, wurden die folgenden Brüche erhalten:

A ($\mu\text{mol/l}$) B ($\mu\text{mol/l}$)

$$\text{Gemisch 1: } (0,08/0,21) + (1,5/3,87) = 0,38 + 0,38 = 0,76$$

$$\text{Gemisch 2: } (0,18/0,53) + (3,2/7,98) = 0,34 + 0,40 = 0,74$$

$$\text{Gemisch 3: } (0,27/0,83) + (4,9/11,8) = 0,33 + 0,41 = 0,74$$

[0063] Somit war das Synergiekriterium nach Berenbaum erfüllt. Es wurde eine wirkliche synergistische Wirkung gezeigt.

Patentansprüche

1. Kombinationsprodukt, umfassend:

(A) Melagatran oder ein Salz, Solvat oder Prodrug davon, wobei das Prodrug die Formel $R^1O_2C-CH_2-(R)Cgl-Aze-Pab-OH$ hat, und wobei R^1 ein C_{1-10} -Alkyl oder Benzyl darstellt und die OH-Gruppe eines der Amidino-Wasserstoffatome in Pab ersetzt; und
 (B) einen Faktor VIIa-Inhibitor oder ein Salz oder Solvat davon, wobei jede der Komponenten (A) und (B) im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder Träger formuliert ist.

2. Kombinationsprodukt nach Anspruch 1, umfassend eine pharmazeutische Formulierung, welche Melagatran, das Salz, Solvat oder Prodrug davon enthält, und den Faktor VIIa-Inhibitor, das Salz oder Solvat davon, und ein pharmazeutisch annehmbares Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder einen pharmazeutisch annehmbaren Träger.

3. Kombinationsprodukt nach Anspruch 1, umfassend ein Kit aus Teilen, umfassend die Komponenten:

(a) eine pharmazeutische Formulierung, die Melagatran, das Salz, Solvat oder Prodrug davon im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder Träger enthält; und
 (b) eine pharmazeutische Formulierung, die den Faktor VIIa-Inhibitor, das Salz oder Solvat davon im Gemisch mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsmittel, Verdünnungsmittel oder Träger enthält, wobei die Komponenten (a) und (b) jeweils in einer Form bereitgestellt werden, die sich zur gemeinsamen Verabreichung mit der anderen eignet.

4. Kit aus Teilen nach Anspruch 3, wobei sich die Komponenten (a) und (b) für eine aufeinanderfolgende, gesonderte und/oder gleichzeitige Verwendung bei der Behandlung eines Zustands eignen, bei dem eine Antikoagulationstherapie angezeigt ist.

5. Kombinationsprodukt nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei in dem Prodrug R^1 ein lineares oder verzweigtes C_{1-6} -Alkyl darstellt.

6. Kombinationsprodukt nach Anspruch 5, wobei R^1 Methyl, Ethyl, n-Propyl, i-Propyl oder t-Butyl darstellt.

7. Kombinationsprodukt nach Anspruch 6, wobei R^1 Ethyl darstellt.

8. Verfahren zur Herstellung eines Teile-Kits nach einem der Ansprüche 3 bis 7, wobei das Verfahren das Zusammenbringen einer Komponente (a) nach einem der Ansprüche 3 bis 7 mit einer Komponente (b) nach einem der Ansprüche 3 bis 7 umfasst, wodurch die beiden Komponenten zur gemeinsamen Verabreichung geeignet gemacht werden.

9. Teile-Kit, umfassend:

(I) eine der Komponenten (a) und (b) nach einem der Ansprüche 3 bis 7; zusammen mit
 (II) Anweisungen zur Verwendung dieser Komponente zusammen mit der anderen der beiden Komponenten.

10. Verwendung eines Kombinationsproduktes nach einem der Ansprüche 1 bis 7 oder eines Teile-Kits nach Anspruch 9 zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung oder Prophylaxe eines Zustands, bei dem eine Antikoagulationstherapie angezeigt ist.

11. Verwendung von Melagatran oder eines Salzes, Solvates oder Prodrugs davon, wobei das Prodrug die Formel $R^1O_2C-CH_2-(R)Cgl-Aze-Pab-OH$ hat, und wobei R^1 ein C_{1-10} -Alkyl oder Benzyl darstellt und die OH-Gruppe eines der Amidino-Wasserstoffatome in Pab ersetzt; und eines Faktor VIIa-Inhibitors oder eines Salzes oder Solvates davon, zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung oder Prophylaxe eines Zustands, bei dem eine Antikoagulationstherapie angezeigt ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen