

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-525917

(P2004-525917A)

(43) 公表日 平成16年8月26日(2004.8.26)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/06	A 6 1 K 45/06	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/421	A 6 1 K 31/421	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/445	A 6 1 K 31/445	
A 6 1 K 31/454	A 6 1 K 31/454	
A 6 1 K 31/4545	A 6 1 K 31/4545	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 48 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-571091 (P2002-571091)	(71) 出願人	503326018 インティマックス コーポレーション INTIMAX CORPORATION アメリカ合衆国 オハイオ州 45241 -1569 シンシナティ ベスト プレ イス 12150
(86) (22) 出願日	平成14年3月7日 (2002.3.7)	(74) 代理人	100073184 弁理士 柳田 征史
(85) 翻訳文提出日	平成15年9月8日 (2003.9.8)	(74) 代理人	100090468 弁理士 佐久間 剛
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/006969	(72) 発明者	カーディン, アラン ディー アメリカ合衆国 オハイオ州 45242 シンシナティ ハンターズ ラン コー ト 9903
(87) 国際公開番号	W02002/072132		
(87) 国際公開日	平成14年9月19日 (2002.9.19)		
(31) 優先権主張番号	09/802, 775		
(32) 優先日	平成13年3月9日 (2001.3.9)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板IIb/IIIa受容体アンタゴニストとの組み合わせ、およびその使用

(57) 【要約】

疾患、損傷および損傷修復に対する応答の結果から生じる血小板凝集およびトロンピン生成を阻害するための、ヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストとの併用。ヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの併用は、出血性副作用のリスク（たとえば、長期の出血）を最小にしたりは減少させ、かつ望ましくない抗原反応を起こすことなく、それらの治療的利益を達成することができる。

さらに、ある治療量以下の血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストが、組み合わせると、血小板凝集およびトロンピン精製の両方を阻害するのに治療上効果的となり得る。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) ヘパリンコファクターIIアゴニスト、および
 (b) 血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストを含み、
 ヘパリンコファクターIIアゴニストの量および血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの量は、組み合わせた場合にトロンピン生成および血小板凝集を阻害するのに治療上効果的な量であることを特徴とする薬剤の組合せ。

【請求項 2】

ヘパリンコファクターIIアゴニストが硫酸化多糖類であることを特徴とする請求項 1 記載の組合せ。

10

【請求項 3】

硫酸化多糖類が、L-イズロン酸 4,6-ジ-0-硫酸化N-アセチル-D-ガラクトサミン二糖繰り返し単位を約25%以上有するデルマタン硫酸であることを特徴とする請求項 2 記載の組合せ。

【請求項 4】

デルマタン硫酸が、L-イズロン酸 4,6-ジ-0-硫酸化N-アセチル-D-ガラクトサミン二糖繰り返し単位を約50%を越えて有することを特徴とする請求項 3 記載の薬剤の組合せ。

【請求項 5】

デルマタン硫酸が、約1,000ダルトンから約60,000ダルトンの分子量を有することを特徴とする請求項 3 記載の組合せ。

20

【請求項 6】

デルマタン硫酸が、L-イズロン酸 4,6-ジ-0-硫酸化N-アセチル-D-ガラクトサミン二糖繰り返し単位を約75%を越えて有することを特徴とする請求項 5 記載の組合せ。

【請求項 7】

デルマタン硫酸が、約2,500ダルトンから約37,500ダルトンの分子量を有することを特徴とする請求項 5 記載の組合せ。

【請求項 8】

血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストが、Mpr-(アセチミジル-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂、Mpr-(アセチミジル-Lys)-Cly-Asp-Trp-Phe-Pen-NH₂、Mpr-(フェニルイミジル-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Pen-NH₂、およびMpr-(フェニルイミジル-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂からなる群より選ばれる環状ヘプタペプチドであり、Mprがメルカプト・プロピオンルであることを特徴とする請求項3記載の組合せ。

30

【請求項 9】

血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストが、[3(R)-[2ピペリジン-4-イル]エチル]-2-ピペリドン-1]アセチル-3(R)-メチル-b-アラニン、2(S)-[(p-トルエンスルホニル)アミノ]アミノ]-3-[[[5,6,7,8-テトラヒドロ-4-オキソ-5-[2-(ピペリジン-4-イル)エチル]-4H-ピラゾロ-[1,5-a][1,4]ジアゼピン-2-イル]カルボニル]-アミノ]プロピオン酸、5-[(4-ピペリジニル)メトキシ]-2-インドールカルボニル-2(S)-フェニルスルホニル-アミノ-b-アラニン、2-S-(n-ブチルスルホニルアミノ)-3[4-ピペリジン-4-イル)ブチロキシフェニル]プロピオン酸塩酸塩、(R)-メチル-3-[[[3-[4-(アミノイミノメチル)フェニル]-4,5-ジヒドロ-5-イソキサゾリル]アセチル]アミノ]-N-(ブトキシカルボニル)-L-アラニン モノアセテート、ゼムロフィパン、オルボフィパン、エプチフィバタイドおよびその混合物からなる群より選択されることを特徴とする請求項 3 記載の組合せ。

40

【請求項 10】

ヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの少なくとも一方の量が治療量以下であることを特徴とする請求項 1 記載の組合せ。

【請求項 11】

ヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストのそれぞれの量が治療量以下であることを特徴とする請求項 10 記載の組合せ。

【請求項 12】

50

組み合わせた場合に治療上効果的な量のヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストとを、必要とする哺乳類に投与する工程を含むことを特徴とする、血小板凝集およびトロンビン生成を阻害する方法。

【請求項13】

ヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストが、それぞれ別々の投薬として投与されることを特徴とする請求項12記載の方法。

【請求項14】

ヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストが、配合剤として投与されることを特徴とする請求項12の方法。

【請求項15】

ヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの少なくとも一方の投与量が治療量以下であることを特徴とする請求項12記載の方法。

【請求項16】

ヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストのそれぞれの投与量が治療量以下であることを特徴とする請求項15記載の方法。

【請求項17】

ヘパリンコファクターIIアゴニストがL-イズロン酸 4,6-ジ-0-硫酸化N-アセチル-D-ガラクトサミン二糖繰返し単位を約25%以上有するデルマタン硫酸であり、血小板糖タンパク質IIb/IIIa受容体アンタゴニストが、Mpr-(アセチミジル-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂、Mpr-(アセチミジル-Lys)-Cly-Asp-Trp-Phe-Pen-NH₂、Mpr-(フェニルイミジル-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Pen-NH₂、Mpr-(フェニルイミジル-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂、[3(R)-[2-ピペリジン-4-イル]エチル]-2-ピペリドン-1]アセチル-3(R)-メチル-b-アラニン、2(S)-[(p-トルエンシルホニル)アミノ]アミノ]-3-[[[5,6,7,8-テトラヒドロ-4-オキソ-5-[2-(ピペリジン-4-イル)エチル]-4H-ピラゾロ-[1,5-a][1,4]ジアゼピン-2-イル]カルボニル]-アミノ]プロピオン酸、5-[(4-ピペリジニル)メトキシ]-2-インドールカルボニル-2(S)-フェニルシルホニル-アミノ-b-アラニン、2-S-(n-ブチルシルホニルアミノ)-3[4-ピペリジン-4-イル]ブチロキシフェニル]プロピオン酸塩酸塩、(R)-メチル-3-[[[3-[4-(アミノイミノメチル)フェニル]-4,5-ジヒドロ-5-イソキサゾリル]アセチル]アミノ]-N-(ブトキシカルボニル)-L-アラニンモノアセテート、ゼムロフィバン、オルボフィバン、エプチフィパイドおよびその混合物からなる群より選択されることを特徴とする請求項12記載の方法。

【請求項18】

デルマタン硫酸がL-イズロン酸 4,6-ジ-0-硫酸化N-アセチル-D-ガラクトサミン二糖繰返し単位を約75%を越えて有することを特徴とする請求項17の方法。

【請求項19】

前記投与工程が、ヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストとを哺乳類に注射することを特徴とする請求項12記載の方法。

【請求項20】

前記哺乳類がヒトであることを特徴とする請求項19記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、疾患または損傷修復に対する損傷応答に起因する血小板凝集およびトロンビン生成を阻害するのに有用なヘパリンコファクターIIアゴニストおよび血小板糖タンパク質IIb/IIIa受容体(GPIIb/IIIa)アゴニストの薬剤の組合せに関する。さらに詳細には、本願は、薬剤を組み合わせた場合に血小板凝集およびトロンビン生成の両者を阻害するのに治療上効果的である、治療量以下のヘパリンコファクターIIアゴニストおよび治療量以下の血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの使用に関する。

【背景技術】

【0002】

10

20

30

40

50

心疾患は、米国での死亡の主な原因である。米国心臓協会によれば、毎年250万人が静脈血栓症を患い、600,000人は肺塞栓症を患う。1996年、ほぼ830,000件の心臓手術および700,000件の心臓カテーテル法が動脈および静脈の血栓症の結果として米国で行われた。通常、抗凝固療法は、特にブロックした血管の即時の再開が必須である救急の場面において、抗血小板および/または抗フィブリン溶解療法と組み合わせて、または単独で行われる。しかし、これらの療法で使用される薬剤は、一定の投与を制限する副作用を有する。最も重要なものは出血(すなわち、長期の出血)であり、組み合わせて使用したとき、これらの副作用が相乗されて、有効投与量および必要な薬剤治療の継続を更に制限する。Fareed、「抗血小板剤の薬剤相互作用」抗血小板治療の進歩に関するIBC第3回年次ミニ・シンポジウム(Waltham, MA, 2000年)参照のこと。

10

【0003】

現在の抗凝血剤においては、出血作用は、より特定のかつ限定された意味で血管壁において疾患プロセスを促進する止血メカニズムの酵素に対する作用と対比した、全身の循環の止血を調節する1以上の酵素に及ぼす作用によるものである。同様に、抗血小板薬剤は、抗凝血剤(例えばヘパリン)、抗トロンビン薬剤および血栓融解剤との強い相互作用を示し、安全を考慮すると、例えば、頭蓋内出血のハイリスクのある、管理が不十分な高血圧をもつ特に高齢の患者、および大脳血管疾患の兆候を以前に示した患者にはそれらの投与が排除される。

【0004】

この問題の中心は、トロンビン生成および活性の制御である。この酵素は静脈および動脈の閉塞の生成および血小板塞栓の原因において重要な役割を果たす。また、この問題に対する鍵は、疾患部位でのトロンビンの持続的阻害を達成することであり、そうでなければ、血餅の増大および血小板活性化を推進するトロンビン・フィードバック・メカニズムによって、トロンビンは変らない態様で疾患部位において継続的な生成を続ける。より高選択性の薬剤又は医薬を使用する、疾患部位および血小板表面でのトロンビンの標的化された阻害は、末梢循環の血液凝固特性にあまり副作用を生じさせず、従って、このような組み合わせ療法において、より安全でかつ有効な投薬計画を可能にするであろう。

20

【0005】

血管壁の保全を危うくするプロセスは、血液凝固カスケードおよび血小板活性化経路に影響を及ぼす止血メカニズムの活性化をもたらす。非特許文献1参照のこと。この損傷修復に対する応答は、閉塞を生成する血栓を成長させ、重要な組織への血液ならびに酸素および必要な栄養物の流れを妨げる。例えば、アテローム性動脈硬化症は、冠状動脈および心臓の主な細動脈に影響を及ぼす疾患プロセスであり、炎症反応(白血球、好中球、補体の活性化)および脂質(例えばコレステロール、コレステロールエステル類、飽和脂肪、酸化脂質および泡沫細胞)の蓄積が起こる。これらの事象は血管壁に並ぶ内皮細胞に有毒であり、これらの細胞の目的は、血液を組織から切り離す保護的な非血栓形成表面またはバリアを形成することである。内皮細胞の剥離は、高い血栓形成能力を有する内皮下層の表面に血液を露出させる。このことは結果として血液凝固カスケードの活性化および活性トロンビンの生成をもたらす。この活性トロンピンは疾患部位に結合し、血餅形成を促進する。体外循環および血管用装置(ステント、ガイドワイヤ等)の表面のような異質な表面が血液と接触すると、これもまたトロンビン生成を誘発する。

30

40

【0006】

トロンピンは、酵素的架橋反応および血小板相互作用によって安定している血管の損傷部位で、可溶性フィブリンノーゲンを変換する。トロンピンは強力な血小板アゴニストであり、活性化につながる受容体と血小板表面において相互作用することができる。非特許文献2および3参照のこと。このことは、心臓、および脳のようなその他の器官への血液の流れに対して閉塞性となりうるフィブリンや血小板の豊富な血栓につながり、結果として心筋梗塞および脳卒中のような生命を危うくする重症の疾患となる。

【0007】

50

動脈および静脈循環の血管疾患の多くのバリエーションがある。動脈側の血栓は血小板がより多くなる傾向があるのに対して、静脈側には含まれる血小板がより少なく、フィブリンがより多くなっている。動脈および静脈循環の血栓形成を含む血栓塞栓症は、少し例を挙げれば、急性冠状動脈症候群（ACS）、心筋梗塞（MI）、重篤な静脈血栓症（DVT）、肺塞栓症（PE）および脳卒中を含む。頸動脈動脈内膜除去術および周辺血管の手術のような動脈のクランプを伴う治療はまた血管の損傷、トロンビン形成および血小板活性化を誘発する。心肺バイパス手術（CPB）、末期腎臓透析（ESRD）および体外膜酸化（ECMO）を含む心臓血管バイパス移植（CABG）、経皮経管冠動脈形成（PTCA）、心臓カテーテル法および体外挿入物の使用のような侵襲性心臓血管法は凝固系を活性化し、血小板機能に影響を及ぼす可能性がある。

10

【0008】

ヘパリン起因性血小板減少症（HIT）は、血栓塞栓症の予防と治療において最初に最もしばしば用いられる抗凝血性の薬剤であるヘパリンに対する免疫反応として起こる特定のクラスの血小板性血栓症である。HITは血小板数の急激な減少、血小板に誘発されたトロンビン生成の増加につながり、致命的な血栓症につながる可能性がある。HITの標準的治療は、ヘパリンの中止とトロンビン阻害剤のような代用抗凝血剤の使用を含み、続いて血小板数の回復について患者の密接な監視を含む。これらの代用剤の使用にもかかわらず、HIT患者の罹患率および死亡率は高いままである。最近、出血事象を最小にするため、低投与量のトロンビン阻害剤と組み合わせて、標準投与量のGPIIb/IIIa アンタゴニストがHIT血栓症を治療するために使用された。非特許文献4参照のこと。冠状動脈の初期血栓症がフィブリン溶解剤（たとえば、組織プラスミノゲン活性化因子やストレプトキナーゼ）を用いた最初の治療に傾く傾向がある一方、血小板が豊富であるフィブリン溶解抵抗性の血栓症の再発がしばしば起こる。このことは、トロンビン阻害剤と組み合わせてGPIIb/IIIaのような即効性の抗血小板薬を使用して、活性トロンビンの局所的生成を制御することを最も必要とする。しかし、GPIIb/IIIaアンタゴニストと組み合わせた改善された抗凝血剤のより効果的な組み合わせが、HITおよびその他の血栓塞栓症において必要とされている。

20

【0009】

これらの改善された抗凝血剤は、疾患部位でのトロンビンへの選択性がより高いことを必要とする。残余レベルでの表面結合トロンピンは、血管損傷部位でトロンピン・フィードバック・ループを介してプロトロンピンの消費を触媒することによって、全身のトロンビン生成を増幅する。たとえば、非特許文献5参照のこと。さらに、トロンピンが損傷や疾患に反応して生成するとき、それは身体循環または液相だけに見られるのではなく、フィブリン血餅、血小板や血管壁のような細胞表面、および生物測定回路や装置の生体表面とも関連する。

30

【0010】

ヘパリンは体内トロンピンの強い阻害をもたらす、これら血栓症の状態の管理に広く効果がある。しかし、全身のトロンビン生成の自己促進に重要な表面結合トロンピンの阻害を生じさせることについては比較的効果が無い。血餅に結合するときヘパリンが血餅の増大を高めることを証拠は示唆している。非特許文献6参照のこと。

【0011】

ヘパリンの主な作用形態は、トロンピンおよび凝固カスケードのその他の因子に結合してそれらの活性を遮断する循環プロテイナーゼ阻害剤であるアンチトロンピンIII(AT)のレベルで起こる。ヘパリンは、トロンピン-抗トロンピンIII複合体（TAT）の組立てを促進するためのテンプレートとして働き、TATは全身のトロンピン表面のエキソサイト2に結合して、セリンプロテイナーゼ阻害剤によるトロンピン阻害のための2次速度定数を非常に加速する三重複合体を形成する。しかし、トロンピンがたとえばフィブリン血餅等に表面結合すると、トロンピン表面のエキソサイト2はHAT複合体に利用できなくなり、表面結合したトロンピンは阻害に抵抗する。このように、再発性血栓症はヘパリン治療の中止に続いて起こることがある。非特許文献7参照のこと。

40

【0012】

50

特許文献 1 および 2 は、血餅と結合したトロンピンを阻害するヘパリンの効果は、血餅にグリコサミノグリカン（または薬剤）を運ぶために使用されるフィブリン特異的モノクロナル抗体にヘパリンを共有結合させることによって高められるという標的化抗凝血剤の概念を開示している。ヘパリンに関してこの方法の効果は、HAT複合体の結合に重要である血餅結合したトロンピン上のエキソサイト 2 が入手不可能なことによってまだ制限されている。さらに、そのような標的化抗凝血剤の概念は、活性でありかつ血小板膜、血管壁あるいは体外循環の生体材料表面のような表面に対して結合したままである触媒的トロンピンに対処しない。これらの標的化抗凝血剤の概念をもってしても、トロンピン生成はその他の部位で恒久化され、疾患プロセスを長引かせる原因となりうる。

【0013】

血餅結合したヘパリンは、ヒルの抗凝血ペプチドであるヒルジンやヘパリンコファクター II のようなエキソサイト 1 型阻害剤による阻害に影響されやすい。非特許文献 8 および 9 参照のこと。しかし、ヘパリンのように、ヒルジンはその使用に関連した顕著な出血性副作用を呈する。非特許文献 10 および 11 参照のこと。ヒルジンは血餅結合したヘパリンに対してわずかに増加した選択性があるが、非常に過剰にある体液相トロンピンは表面結合した酵素の阻害が完了する前にまず中和され、そして全身循環の抗凝血を増し、出血リスクの可能性を増大させる。これらの副作用を減少させる試みは、結合状態のトロンピンを阻害するための選択性を改善することに向けられてきた。表面結合したトロンピンに対してより高い選択性がある阻害剤は、より強力な抗血栓作用および全身抗凝血に対する低減された効果を有すると予測される。非特許文献 12 参照のこと。このことは、表面結合したトロンピンに対するヒルジンの選択性が抗フィブリン・モノクロナル抗体 59D8 と共有結合することによって高められるという研究によって裏付けられている。非特許文献 13 および 14 参照のこと。これらの研究は、表面結合したトロンピンを標的とする薬品や薬剤の高められた選択性が、血管内/体外循環での血栓症のより大きな阻害をもたらし、外科的な損傷における止血を増強し、おそらく抗凝固療法の期間を短縮させるであろうという一般的な概念を裏付ける。上記の有用性は、フィブリン特異的モノクロナル抗体への共有結合によってヒルジンの選択性を高めるが、それは血餅に結合したトロンピンに限定されていて、全身性血栓症の状態を恒久化する血小板、血管壁あるいは生体材料と結合したトロンピンの阻害に改善をもたらさない。

【0014】

活性化血小板の表面での GPIIb / IIIa 受容体の発現は、フィブリン血餅や損傷を受けた血管壁へのその接着性、凝集および付着性を非常に高める。たとえば、非特許文献 15 参照のこと。従って、トロンピン活性化血小板は血栓の成長を促進し、抗血小板療法で用いる改善されたトロンピン阻害剤の必要性を示唆する。非特許文献 16 参照のこと。血小板 GPIIb / IIIa 受容体の機能および/または誘導を相殺する化合物が、血小板の豊富なトロンピンを伴う疾患状態の治療のためのもっとも強力な抗血栓剤の中にあることは今や公知である。実際、これらの化合物は、出血作用がリスクとなる程効果的に血小板の機能や接着を阻害する。たとえば非特許文献 17 から 19 参照のこと。さらに、臨床的または実験的設定次第で、これらの化合物にはトロンピン生成に対して限定効果はあるが、実際にはトロンピン活性に対する効果は無い。非特許文献 20 および 20 参照のこと。

【0015】

トロンピン阻害療法と血小板 GPIIb / IIIa 受容体治療との組み合わせは当業界で望ましいものと認識されてきた。特許文献 3 および 4 は、血小板 GPIIb / IIIa 受容体と共に、ヒルジン、ヘパリンおよび低分子量ヘパリンを含めることを開示する。しかし、これらのトロンピン阻害剤を含むことは、明らかに全体として出血リスクの一因となりうる。実際、GPIIb / IIIa c7E3 Fab とヘパリンとの組み合わせによる阻害の加算性は、これらの薬剤がいずれかの薬剤を単独で使用するよりも大きな出血の問題を有することを示唆している。非特許文献 22 参照のこと。レピルジンすなわち遺伝子組換えヒルジンの治療的有用性はその出血の可能性によって制限され、GPIIb / IIIa を用いたトロンピン生成や血小板凝集に限定された利益を示した。非特許文献 23 参照のこと。

10

20

30

40

50

【0016】

抗原反応を含む、ヘパリンおよびヒルジンの使用に関連する他の問題がある。抗ヒルジン抗体は被験者の～74%において誘導され、この抗凝血剤に対して既知の過敏性を持つ患者において禁忌である。非特許文献24および25参照のこと。ヒルジンおよびその他のトロンピン阻害剤に対する解毒剤が無いことは、副作用を改善するための唯一の選択肢として輸血を必要にすることがある。

【0017】

ヘパリン起因性血小板減少症II型(HIT)は、特に臨床処置が行われる間およびその後に継続的に作り出される高レベルのトロンピンを管理するためにヘパリンの高投与量が必要とされるCPBのような状況におけるヘパリン使用の結果である。非特許文献26から29参照のこと。CPBでのヘパリン使用に関連する出血問題は、CPB後にプロタミン塩による中和を必要とする；このことは、結果を複雑にする補体および炎症性サイトカインのような炎症性メディエーターの活性化を増強する。非特許文献30および31参照のこと。トロンピン・リバウンド(すなわち、CPB回路、外科的損傷などのような表面に残されたトレースレベルのトロンピンをHAT複合体が中和することができないこと)もまた起こり、患者を血栓症のリスク増大に仕向けることになりうる。

【特許文献1】

欧州特許出願第668,875号明細書

【特許文献2】

国際公開第94/09034号パンフレット

【特許文献3】

国際公開第99/38827号パンフレット

【特許文献4】

国際公開第97/35592号パンフレット

【非特許文献1】

Furieら、「血液凝固の分子および細胞生態学」、N.Eng.J.Med., (1992)326, 800-906

【非特許文献2】

Furmanら、「トロンピン受容体の分解ペプチドは強い血小板アゴニストである」Proc.Natl.Acad.Sci., (1998) 5(6), 3082-3087

【非特許文献3】

Zuckerら、「血小板活性動脈硬化」(1985)5(1), 2-18

【非特許文献4】

Walengaら、「HIT患者におけるトロンピン阻害剤とGPIIb/IIIa阻害剤を組み合わせた治療の臨床的実験」、Semin. Throb. Hemost., (1999) 25 (付属 1), 77-81

【非特許文献5】

Ofosuら「トロンピン中の血液凝固のトロンピンの触媒作用を受けた増幅および阻害反応：阻害に対するトロンピン生成の影響における臨床的に重要な役割」、CRC Press, (1995), 1-18

【非特許文献6】

Kumarら、「トロンピン生成に対するフィブリノーゲンおよびフィブリンの影響 血餅と結合したヘパリンによる凝血システムのフィードバック活性化の証拠」、Thromb. Hemost., (1994) 72, 713-721

【非特許文献7】

Hoggら、「フィブリン・モノマーはヘパリン-トロンピンIIIによる不活性化からトロンピンを保護する：ヘパリン効験に対する影響」、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., (1989)86, 3619-23

【非特許文献8】

Weitzら、「血餅結合のトロンピンはヘパリン-アンチトロンピンIIIによる阻害から保護されるが、アンチトロンピンIII-不依存性阻害剤による不活性化に影響されやすい」、J. Clin. Invest., (1990) 86, 385-391

10

20

30

40

50

【非特許文献 9】

Bendayanら、「デルマトン硫酸は未分別で低分子量のヘパリンより強力な血餅結合したトロンピン阻害剤である」*Thromb. Haemost.*, (1994)71, 576-580

【非特許文献 10】

Kwapisら、「遺伝子組み換えヒルジンをを用いた心肺バイパス後の長期にわたる出血」, *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, (1999) 16(2), 256-257

【非特許文献 11】

Gastら、「新規の合成トロンピン阻害剤 (Ro 46-6240), 遺伝子組み換えヒルジンおよびヒト血漿のヘパリンによる血餅結合、遊離 (液体相) トロンピンによる阻害」, *Blood Coagul. Fibrinolysis*, (1994) 5(6), 879-887

10

【非特許文献 12】

Buchananら、「血管壁を標的とする抗血栓性治療の妥当性：改善された抗血栓性効果と減少した出血のリスク」, *Wien Klin Wochenshr* (1999) 111, 81-89

【非特許文献 13】

Bodeら、「フィブリンを標的とする遺伝子組換えヒルジンは遺伝子組換えヒルジンよりも効率的に実験上の血餅のフィブリン沈積を阻害する」, *Circulation*, (1994) 90 (4), 1956-1963

【非特許文献 14】

Bodeら、「ヒルジンの抗血栓性可能性はフィブリンを標的とすることによってヒト以外の霊長類において増大する」, *Circulation*, (1997) 95 (4), 800-804

20

【非特許文献 15】

Shenら、「トロンピンに活性化された血小板の細胞外のマトリックスとの相互作用。(フィブロネクチンおよびピトロネクチン) : Arg - Gly-Aspを含むペノムペプチドおよびモノクロナル抗体のグリコプロテインIIb/IIIa 複合体に対する活性の比較」, *J.Pharm. Pharmacol.*, (1997) 49 (1), 78-84

【非特許文献 16】

Eisenbergら、「動脈血栓症における血小板依存性、および凝血促進メカニズム」, *Int. J. Cardiol.*, (1999) 68 (suppl. 1), S3-S10

【非特許文献 17】

Sitgesら、「血小板グリコプロテインGPIIb/IIIa阻害剤により治療された患者における大量の肺出血」, *Int. J. Cardiol.*, (1997) 62 (3), 269-271

30

【非特許文献 18】

Gammieら、「緊急心臓手術中の患者における急性Abciximabおよび過剰出血」, *C. M. Ann. Thorac. Surg.*, (1998) 65 (2), 465-469

【非特許文献 19】

Blankenship、「グリコプロテインIIb - IIIa受容体阻害剤の出血合併症」, *Am. Heart J.*, (1999) 138 (4 pt 2), 287-296

【非特許文献 20】

Kleimanら、「グリコプロテインIIb - IIIaアンタゴニストを有する血小板凝集の阻害は急性の心筋梗塞のための血栓融解中の患者においてトロンピン生成を防止しない」, *J. Thromb. Thrombolysis*, (2000) 9 (1), 5-12

40

【非特許文献 21】

Dangasら、「経皮的冠状動脈手術中のトロンピン生成および活性に対するAbciximabを有する血小板グリコプロテインIIb/IIIa阻害剤の効果」, *Am. Heart J.* (1999) 138, 45-54

【非特許文献 22】

Pedicordら、「グリコプロテインIIb/IIIa受容体アンタゴニストは血小板の前凝固活性発現を阻害する」, *Thromb. Res.* (1998), 247-258

【非特許文献 23】

Koestenbergerら、「インビトロにおける高凝集攻撃下での血小板凝集およびトロンピン可能性に対するグリコプロテインGPIIb/IIIa受容体アンタゴニストc7E3 Fabおよび抗凝血

50

剤の効果」, Blood Coagul. , (2000) 11, 425-432

【非特許文献 2 4】

Huhle ら、「長期治療中のHITのII型患者における遺伝子組換えヒルジンに対する免疫学的反応」, Br. J. Haematol. (1999) 106 (1), 195-201(付属書類U)

【非特許文献 2 5】

Gollinick、「ヘパリン、ヘパリノイドおよび遺伝子組換えヒルジンに対するアレルギー：診断および治療上の代替物」, Hautarzt (1999) 50 (6), 406041

【非特許文献 2 6】

Bristerら、「心臓手術中のトロンビン生成：ヘパリンは理想的な抗凝血剤であるか」, Thromb. Haemostas., 1993) 70 (2), 259-262

【非特許文献 2 7】

Bauerら、「心肺バイパス手術中の患者における血栓症の無いヘパリン関連の抗体の流行」, Circulation (1997)95, 1242-1246

【非特許文献 2 8】

Pouplardら、「未分別精製のヘパリンまたは低分子量ヘパリンによって血液凝固を阻止した患者における心肺バイパス手術後の血小板因子4-ヘパリンに対する抗体：ヘパリンに誘発された血小板減少症への臨床的意味」, Circulation (1999) 99, 2539-2536

【非特許文献 2 9】

Tossaertら、「心肺バイパス手術後の反ヘパリン/血小板因子4抗体の高発生率」, Br. J. Haematol.(1998) 101 (4), 653-655

【非特許文献 3 0】

Morelら、「ヘパリンのプロタミン反転現象中の血管 - および気管枝 - 狭窄に関連するC5a およびトロンボキサン生成」, Anesthesiology, (1987)66 (5), 597-604

【非特許文献 3 1】

Fehrら、「多陰イオン-多陽イオン複合物によるインビボ補体活性化において：C5aはヘパリン-プロタミン相互作用中に血管内で生成されるという証拠」, Clin. Immunol. Immunopathol., (1983)29(1),7-14

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0 0 1 8】

従って、表面に結合した触媒的トロンビンの持続的な阻害を提供する改善されたトロンビン阻害療法と、望ましくない出血性副作用ならびに潜在的な抗原反応を最小にしたりは予防する血小板GPIIb/IIIa受容体治療の組合せを提供できることが望ましい。

【課題を解決するための手段】

【0 0 1 9】

本発明は、最小のまたは低減された出血性、および表面結合したトロンビンに対する高い選択性でトロンビン生成および血小板凝集を阻害できる薬剤の組合せに関する。

【0 0 2 0】

本発明の薬剤の組合せは、

(a) ヘパリンコファクターIIアゴニスト、および

(b) 血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストを含み、

ヘパリンコファクターIIアゴニストの量および血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの量は、組み合わせた場合にトロンビン生成および血小板凝集を阻害するのに治療上効果的な量であることを特徴とする。

【0 0 2 1】

本発明は更に、組み合わせた場合に治療上効果的な量のヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストとを、必要とする哺乳類に投与する工程を含むことを特徴とする、血小板凝集およびトロンビン生成を阻害する方法に関する。

【0 0 2 2】

組み合わせた場合に治療上効果的な量のヘパリンコファクターIIアゴニストまたは活性化

10

20

30

40

50

物質と血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストとの投与は、一方の成分単独、または血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストと非分画ヘパリン、低分子量ヘパリンまたはヒルジンの何れかとの従来の組み合わせよりも、血小板凝集およびトロンビン生成（特に表面結合したトロンビンによるトロンビン生成）においてより優れた治療的効果を与え得ることが見出された。実際、治療量以下のヘパリンコファクターIIアゴニスト活性化物質を、治療量以下の血小板（GP）IIb/IIIa受容体アンタゴニストと組み合わせると、血小板凝集およびトロンビン生成を阻害する治療上有効な利点を与えることができることが見出された。

【0023】

これらの驚くべき治療的な利点は、同時に出血性副作用（例えば長期の出血）および望ましくない抗原応答を起こすリスクを最小にするかまたは低減させながら達成できる。

10

【発明を実施するための最良の形態】

【0024】

ここで使用している用語「治療量」、および、「治療上効果な量」は、特定の化合物、薬品または薬剤の用量または量が所望の薬理学的作用を達成するのに十分なことを意味する。

【0025】

ここで使用している用語「治療量以下」は、特定の化合物、薬品または薬剤の用量または量が、他の化合物、薬品または薬剤の非存在下で所望の薬理学的作用を達成するのに不十分なことを意味する。

【0026】

治療量以下および投与量は、通常、治療的用量または量の約5%以上で、典型的に約10%以上で、および典型的には約75%以下、より典型的には約60%以下である。

20

【0027】

ここで使用している用語「薬学的に受容可能な塩（またはエステル、以下同様）」とは、化合物の非毒性塩（それは、遊離した酸を適当な有機あるいは無機の塩基と反応させることによって一般に調製される）を意味し、限定はされないが、酢酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、炭酸塩、重硫酸塩、酒石酸水素塩、ホウ酸塩、臭化物、カルシウム塩、カムシル酸塩、重炭酸塩、塩化物、クラブラン酸塩、クエン酸塩、2塩酸塩、エデト酸塩、エジシル酸塩、エストール酸塩、エシル酸塩、フマル酸塩、グルセプテート、グルコン酸塩、グルタミン酸塩、グリコリルアルサニル酸塩、ヘキシルレゾルシン酸塩、ヒドラバミン (hydrabamine)、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヒドロキシナフトール酸塩、ヨウ化物、イソチオン酸塩、乳酸塩、ラクトピオン酸、ラウリン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、臭化メチル、メチル硝酸塩、メチル硫酸塩、ムコン酸塩、ナプシル酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、パントテン酸塩、パモエート、パルミチン酸塩、燐酸塩、ジホスフェート、ポリガラクトuron酸塩、シュウ酸エステル、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、塩基性酢酸塩、琥珀酸塩、テオクレート、タンニン酸塩、酒石酸塩、トシル酸塩、トリエチオグライド、および吉草酸塩、ならびにこれらの塩の混合物が挙げられる。

30

【0028】

ここで使用しているように、用語「活性原料」、「活性成分」、「活性薬剤」および「薬剤」は、ヘパリンコファクターIIアゴニスト、血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニスト、またはその両方を指すために互換的に使用される。

40

【0029】

ここで使用している用語「哺乳類」は、霊長類（例えばヒト、サル、その他）、イヌ、ウサギ、ラット、マウス、および哺乳類であることが周知である他の種を含む。

【0030】

ここで使用している用語「を含む」は、種々の成分および工程を、本発明において共同で用い得ることを意味する。

【0031】

したがって、「を含む」という用語は、より限定的な用語「本質的にから成る」および「

50

から成る」を含む。

【0032】

ここで用いられる全ての量、部、比率およびパーセンテージは特に明記しない限り重量による。

【0033】

本発明の組合せの重要活性原料または成分は、ヘパリンコファクターII (HCII) アゴニストである。ここで使用しているHCIIアゴニスト(また、今後は「HCII活性化物質」と互換的に用いる)は、HCIIに結合し、トロンピンとアゴニストとの直接の相互作用なしに(すなわち、アロステリックな活性化によって)その固有のトロンピン阻害作用を高める化合物(典型的には硫酸化多糖類)である。ブキャナンら、「血管壁血栓生成を促進する表面結合したトロンピンの配座転移の証拠: インチマタン(DS)/HCIIによって表面結合したトロンピンによる選択的および持続的な阻害」, *Thromb. Haemost.*, (2001、印刷中)参照のこと。HCIIは、偏在して組織および循環系に存在するトロンピンの天然阻害剤である。アンチトロンピンIII(AT)と同様に、それは循環系の内因性プロテイナーゼ阻害剤であるが、それはまた、血管外組織にも存在する。しかしATとは異なり、HCIIはトロンピンを特異的に阻害し、凝固カスケードの他のプロテイナーゼは阻害しない。少しヒルジンに類似しているプロセスによって、HCIIは最初にエキソサイト1に結合してそのC-末端阻害ドメインを活性部位と反応させることによって、血餅に結合したトロンピンを阻害する。例えばHortinら、「ヘパリンコファクターIIの残渣54-75に対応しているペプチドのアンチトロンピン活性」, *J. Biol. Chem.*, (1989) 264(24), 13979-13982; Van Deerlinら、「ヘパリンコファクターIIのN-ターミナル酸性領域は、グリコサミノグリカンがある場合にはアルファ-トロンピンの阻害を媒介する」, *生物学化学雑誌*, (1991) 266(30), 20223-20231。しかし、ヒルジンとは異なり、HCIIは、そのトロンピン阻害活性が例えばデルマタン硫酸(この後検討する)のような第2の分子によって作動され得るように、生体内で潜伏状態を取る。Tollefsenら、「デルマタン硫酸によるヘパリンコファクターIIの活性化」, *生物学化学雑誌*, (1983) 258(11), 6713-6716参照のこと。

10

20

【0034】

本発明において使用するのに適しているHCII活性化物質の代表的であるが非限定的な例として、例えばデルマタン硫酸(および、その種々の過硫酸化誘導体)、ナマコに由来する硫酸化多糖類、緑の藻類およびPI-88に由来する硫酸化多糖類、硫酸ペントマンノースおよびそれらの薬学的に受容可能な塩)のような様々な硫酸化多糖類が挙げられる。米国特許第5,922,690号明細書(Van Gorpら、1999年7月13日発行);米国特許第5,993,797号明細書(Kitazatoら、1999年11月30日発行);ハヤカワら、「緑の藻類から分離される硫酸化多糖類によるトロンピンの阻害」, *Biochim. Biophys. Acta*, (2000) 30, 86-94; Demirら、「エスカリン血餅時間は、ヘパリノイド類に感受性がある: 2つの異なる技術の比較」, *Clin. Appl. Thromb. Hemost.*, (2001) 7, 38-43(全て文献として引用)。

30

【0035】

本発明の特に有用な組合せは、HCII活性化物質がデルマタン硫酸およびその過硫酸化誘導体である組合せである。結合トロンピンに対して選択性が低く、従ってより高い出血可能性を有する他のトロンピン阻害剤に対して、デルマタン硫酸は、顕著な利点をもたらす。それらがモノクロナル抗体のようなターゲティング薬剤に結合される場合でも、それら他のトロンピン阻害剤の結合物より有利で優れている。デルマタン硫酸は全ての表面に結合したトロンピン活性をより効果的に阻害し、従って、血小板表面に結合したトロンピンの阻害のために生じる血小板の活性化を含む全身性血栓生成の可能性を下げるので、デルマタン硫酸は特に有利である。血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストと共に使用されるときに、デルマタン硫酸は、より低濃度のGPIIb/IIIaアンタゴニストを使用して、何れかの薬剤を単独で用いる場合よりも出血性副作用のより低い危険性で同じおよび/またはより優れた抗血栓効果を達成することを可能にする点で特に有用である。

40

【0036】

本発明に有用な硫酸塩は、約25%を越える、好ましくは約50%を越える、L-イズロン酸 4,

50

6-ジ-0-硫酸化N-アセチル-D-ガラクトサミン二糖繰り返し単位を有し、かつ典型的には約1,000ダルトンから約60,000ダルトンまでの分子量を有するデルマタンである。本発明に有用な特に好ましいデルマタン硫酸は、約75%を越える、好ましくは約90%を越える、L-イズロン酸 4,6-di-0-硫酸化N-アセチル-D-ガラクトサミン二糖繰り返し単位を有する過硫酸化誘導体であり、米国特許第5,922,690号明細書(Van Gorpら)(1999年7月13日発行)において開示されている(引用文献として採用する)。これらの好ましい過硫酸化デルマタン硫酸(以下に「デルマタン二硫酸」または「DDS」と称する)は、天然のデルマタン硫酸(基本的にL-イズロン酸 N-アセチル-D-ガラクトサミン-4-0-硫酸二糖単位)の化学的硫酸化によって得た連結した二硫酸化二糖二量体(基本的にL-イズロン酸 N-アセチル-D-ガラクトサミン-4,6-0-二硫酸化二糖繰り返し単位を有する)を含むデルマタン重合鎖の混合物を含む。好ましくは、DDSの平均分子量は約2,500~約37,500ダルトンの範囲、好ましくは約5,000~約30,000ダルトンで、その重合鎖中の約6~約100単糖単位の対応する。約30,000ダルトン未満の平均分子量を有するDDSは、好ましくは以下の長鎖多糖類を解裂させることによって得られる：(1)天然のデルマタン硫酸(以下に「天然DS」と称する)をN-アセチル-D-ガラクトサミンの4-0-硫酸環の6-0水酸基を部位特異的に硫酸化して、主に4,6-0-二硫酸化二糖を得るか、または(2)DDSを解重合して得る。デルマタン鎖は、上記米国特許第5,922,690号明細書において開示されるものを含む種々の酵素的および化学的な周知の方法によって解重合することができる。

10

【0037】

本発明に有用な好ましいDDSは、HCIIの作用に媒介された顕著なAT-非依存性アンチトロンピン活性を有し、上記米国特許第5,922,690号明細書に開示されている方法に基づいて、市販されているDS、または好ましくは天然のDSから合成できる。好ましいDDSは、塩の形であって差し支えなく、その際カチオンは、バリウム、カルシウム、銅、リチウム、ナトリウム、カリウム、亜鉛およびアンモニウムイオンから選ばれる。上記米国特許第5,922,690号明細書を参照のこと。

20

【0038】

本発明の組合せの他の重要な活性原料または成分は、血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストである。血小板GPIIb/IIIaアンタゴニストは、血小板GPIIb/IIIa受容体の発現および/または機能を非常に有効に阻害する種々の抗体、抗体断片、ペプチドおよび低分子化合物、ならびにそれらの薬学的に受容可能な塩を含む。本発明に好適に使用される血小板GPIIb/IIIaアンタゴニストの代表的でかつ非限定的な例として、以下に開示されているような種々のペプチドを含む：米国特許第5,470,894、5,463,011、5,455,243、5,451,578、5,446,056、5,441,952、5,422,249、5,416,099、5,405,854、5,397,791、5,393,670、5,389,631、5,380,713、5,374,622、5,353,956、5,344,783、5,340,798、5,338,723、5,334,596、5,321,034および5,318,899号明細書(例えば環状ヘプタペプチド類：Mpr-(アセチミジル-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂、Mpr-(アセチミジル-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Pen-NH₂、Mpr-(フェニルイミジル-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Pen-NH₂およびMpr-(フェニルイミジル-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂)(式中、Mprはメルカプトプロピオンイルである)；米国特許5,312,923、5,294,616および5,292,756において開示した種々の非ペプチド(例えば2-S(n-ブチルスルホニルアミノ)-3[4-(ピペリジン-4-イル)ブチルオキシフェニル]プロピオン酸、および2-S(n-ブチルスルホニルアミノ)-[4-(ピペリジン-4-イル)ブチルオキシフェニル]プロピオン酸塩酸塩)；米国特許第5,281,585、5,272,158、5,264,420、5,260,307および5,239,113号明細書において開示した化合物(例えばエチル3-[[4-[[4-(アミノイミノメチル)フェニル]アミノ]-1,4-ジオキシブチル]アミノ]-4-ペンチノエート)；米国特許第5,227,490、5,206,373および4,703,036号明細書において開示した化合物(例えばN-メチル-D-フェニルアラニル-N-[(1S)-1-ホルミル-4-グアニジノブチル]-L-プロリナミド)；欧州特許第505,868号明細書において開示した化合物(例えば(1-(2-(4-ピペリジニル)オキシ)-(S)-酢酸))；国際公開第93/11152号パンフレットにおいて開示した化合物(例えばN-(2-(2-((3-((アミノイミノメチル)アミノ)プロピル)アミノ)-カルボニル)-1-ピペリジニル)-1-(シクロヘキシルメチル)-2-オキソエチル)-(R,S)-グリシン)；

30

40

50

欧州特許出願公開第333,356号および国際公開第94/22820号パンフレット(WO 95/14683および94/18981)において開示した化合物、など。また、米国特許第5,976,532、5,952,306、5,968,902、6,001,961、6,008,193、5,731,324、6,022,523、6,020,362および6,013,625号明細書を参照のこと。本発明のために好ましく適当に使用される血小板GPIIb/IIIaアンタゴニストは、[3(R)-[2-ピペリジン-4-イル]エチル]-2-ピペリドン-1)アセチル-3(R)-メチル-b-アラニン、(2(S)-[(p-トルエンシルホニル)アミノ]アミノ)-3-[[[5,6,7,8-テトラヒドロ-4-オキソ-5-[2-ピペリジン-4-イル]エチル]-4H-ピラゾロ-[1,5-a][1,4]ジアゼピン-2-イル]カルボニル]-アミノ]プロピオン酸、5-[(4-ピペリジニル)メトキシ]-2-インドールカルボニル-2(S)-フェニルシルホニル-アミノ-b-アラニン、2-S-(n-ブチルシルホニルアミノ)-3[4-ピペリジン-4-イル]ブチロキシフェニル)プロピオン酸塩酸塩(また、チロフィバンとして公知)、(R)-メチル-3-[[[3-[4-(アミノイミノメチル)フェニル]-4,5-ジヒドロ-5-イソキサゾリル]アセチル]アミノ]-N-(ブトキシカルボニル)-L-アラニンモノアセテート(DMP 754)、ホフマン・ラロシュ社のR044-9883およびR043-8857、サール/三共社からのゼムロフィバン(また、ゼミロフィバンとして公知)、ベーリンガーインゲルハイム社/K. ソーマエ社からのフラダフィバン、スミスクライン・ビーチャム社のSB 2144856、ゼネカ社のZD2486、武田のTAK 029、サール社のオルボフィバンおよびSC-58635、グラクソ社のGR144053、ローヌ・プーラン・ローラー社(現在アベンティス社)の109891化合物、ホフマン・ラロシュ社のシブラフィバン、およびその混合物。国際公開第99/38827号パンフレット(Cookら)(1999年8月5日公開)参照のこと。これは引用文献としている。本発明に好適に使用される血小板GPIIb/IIIaアンタゴニストは、インテグリン(登録商標)(また、Cor Therapeuticsのエプチフィバチドとして公知で)(南東のpigmy rattlesnakeヘビの毒液から、バルプリンの構造に由来する活性ファルマコフォアを有する環状のヘプタペプチド阻害剤)を含む。フィリップスら(「エプチフィバチドの臨床薬理学」, Am. J. Cardiol., (1997), 11B-20B, および米国特許第5,968,902、5,958,732、5,935,926、5,851,839、5,843,897、5,807,828、5,807,825、5,795,868、5,795,867、5,786,333、5,780,595、5,759,999、5,756,451、5,686,571、5,686,570、5,686,569、5,686,568、5,686,567、5,686,566、5,344,783号明細書において開示される関連化合物は全て引用文献としてここに含めた。好ましい血小板GPIIb/IIIaアンタゴニストのこれらの混合物もまた、本発明において使用できる。

10

20

30

【0039】

血小板凝集およびトロンピン生成を阻害するためにヘパリンコファクターIIアゴニストおよび血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの組合せを使用することの特別に有利な点は、所望の治療的効果を達成するために、治療上効果的な量のいずれかの活性成分を必ずしも必要とはしないことにある。本発明は、各々が治療上効果的な量であるヘパリンコファクターIIアゴニストと血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストとの併用(および組合せ)を包含するが、血小板凝集およびトロンピン生成を阻害するために、治療上効果的な量の各活性成分を必ずしも必要とするわけではない。実際に、組み合わせる場合に各活性成分の量が所望の治療効果を達成する限り、治療量以下の何れかまたは両方の活性成分を用いることができることがわかった。

40

【0040】

本発明は、HCIIアゴニストおよび血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストを投与するための注射可能または経口組成物の形態であってよい。本発明における使用に適切な注射可能組成物は、静脈注射で、非経口的に、筋肉内注射または皮下注射で与えることができ、ボラスまたは持続的注入組成物を含む。本発明において使用するのに適切な注射可能組成物は、製薬業界の当業者に周知である。HCIIアゴニストおよび血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストは、一緒に患者に投与することができ、すなわち1つの組成物中の配合剤として患者に投与することができ、あるいは別々に患者に投与することができ、すなわち、同時に、並行して、または所望の治療的利点を与えるのに十分に近い時期で投与される異なる組成物中のHCIIアゴニストおよび血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの別々の投薬として患者に投与することができる。本発明のHCIIアゴニストおよび血小板GPIIb/IIIa

50

受容体アンタゴニストの注射は、1つの投与または組成物としてまたは別々の投与または組成物として一緒に投与するか否かに関わらず、製薬業界の当業者に周知の方法に基づいて適当な輸液を調製することを含む。それら様々な方法は、HCIIアゴニストおよび血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの有益な薬剤効果が患者において実現される限り、本発明に適している。各活性薬剤の目標血漿レベル濃度が実質的に同時に維持されるとき、そのような有益な効果は通常達成される。このような目標血漿レベル濃度は、技術的に熟練した医師や獣医によってそれぞれの患者に応じて直ちに決定される。

【0041】

活性成分の投薬計画は、患者のタイプ、種、年齢、体重、性、および医学的症状；治療または予防される患者の症状の重症度；投与経路；患者の腎臓および肝臓の機能；および、使用する特定のHCIIアゴニストおよび血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニスト；を含む種々の因子に基づいて選択される。通常熟練した医師または獣医は、病状の進行を防止するか、対処するかまたは抑止するために必要とされる、組み合わせた活性成分の治療上効果的な量を直ちに決定し、処方できる。例えば、好ましいHCIIアゴニストDDSの場合、治療量は一般的に約0.1~約5mg/kg（静脈のボラスとして）の範囲であり、続いて約5~約30 μ g/kg/分の維持静脈注射を行なう。本発明に基づく組合せにおいて有用なDDSの治療果以下の投与量は、一般的に約0.01~0.1mg/kg（静脈のボラスとして）の範囲であり、続けて約0.5~約5 μ g/kg/分の維持静脈注射である。血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニスト、例えばチロフィバンに関して、不安定な狭心症を治療するための治療量は、約0.2~約1 μ g/kg/分の初期注入速度で30分、または10 μ g/kg/分で3分間に亘り静脈内に投与し、続いて約0.1~約1 μ g/kg/分の維持注射投与を行なう；血管形成/関節切除の治療のために、約3~約30 μ g/kg/分の範囲で3分間に亘り初期静脈注射し、続いて約0.1~約1 μ g/kg/分の速度で維持投与する。不安定な狭心症を治療するための本発明に基づく組合せにおいて有用となり得るチロフィバンの治療量以下の投与量は、一般的に約0.02~約0.1 μ g/kg/分の範囲で30分、または約0.1~約1 μ g/kg/分で3分間に亘り初期静脈注射し、約0.01~約0.1 μ g/kg/分の維持注入投与が続く；血管形成/関節切除治療するために、約0.3~約3 μ g/kg/分の範囲で3分間に亘り初期静脈注入し、続いて約0.01~約0.1 μ g/kg/分の速度で維持投与する。

【0042】

活性成分は、意図する投与形態、すなわち経口用錠剤、カプセル、エリキシル、シロップ等を考慮して適当に選択されかつ従来の薬務に適合する、適当な薬剤希釈剤、賦形剤またはキャリア（総称して、以下「薬剤キャリア」と言う）と混合して投与することができる。典型的には、適当な注射可能（例えば、静脈用）溶液は、薬学的に受容されるpHバッファ（例えばクエン酸ナトリウム）、張度調整剤、および治療上有効で貯蔵安定性のある注射溶液をもたらす他の成分を含む。塩化ナトリウムを含む張度調整した薬剤は、浸透圧に関して張度を調整し、血球溶解を防止するために使用する。これらの薬剤は、薬剤組成物の静脈注射を受けている患者がしばしば経験する苦痛、および、血栓静脈炎を最小にする。使用量は、患者の生体系の浸透圧と等張の処方を作るような量である。浸透圧単位で表わされ、本発明での使用に適当な張度調整薬剤の好ましい量（例えば塩化ナトリウム）は、約50~約500ミリオスモルであり、より好ましくは、約290ミリオスモルである。本発明の組成物において、薬学的に受容される浸透圧は、約1.5~約15mg/ml、好ましくは約9mg/mlの塩化ナトリウム量を用いた処方により達成される。このような浸透性は、約7~約75mg/ml、好ましくは約50mg/mlのマニトール量を使用することによっても達成できる。張度調整に使うことができる他の張度調整剤には、ブドウ糖、および他の糖類が含まれるが、これに限定するものではない。本発明による処方または、例えば標準米国局方タイプ*ホウケイ酸ガラス容器中の濃縮形態のような、医薬品工業において一般に使われているガラス容器中の長期貯蔵に適したものであってもよい。

【0043】

一般に、活性成分（すなわちHCIIアゴニスト、血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニスト、またはその両方）を含む本発明の組成物を調製する方法は、例えば室温で、混合容器中に

10

20

30

40

50

おいての種々の原料を組み合わせることを含む。活性原料（塩または遊離塩基形態）、バッファ源（例えばクエン酸およびクエン酸ナトリウム）、ならびに張度調整剤を混ぜ合わせて、通常約0.01~約1mg/mlの範囲の活性成分濃度を得る。このような組成物を調製する一実施形態において、最終製品水量の実質的部分（例えば、約60から100%まで）を標準医薬品混合容器に入れる。所望の最終製品濃度を得るのに適している活性成分の量を水に溶解させる。約2~約20mMの最終クエン酸塩濃度を得るのに十分なクエン酸ナトリウムおよびクエン酸の量を加える。等張範囲にある張度調整剤の薬学的に受容される量を加える。次に、成分の所望の最終的濃度を達成するように水の残りの部分を加える。処方調製する際に最初に用いられる水の量、ならびに手順の終わりに加える水の残りの量は、最終製品の特性に影響を及ぼさない。このような量は、医薬業界の当業者にとって選択できることであり、処方の間にpH調整を可能にする。本発明の組成物の濃縮処方は、投与時に適当な希釈剤で希釈して、例えば約0.05mg/mlのような最終濃度を得ることができ、注入バッグに移したり治療を必要とする患者が使用するのに適している。

10

20

30

40

50

【0044】

経口的に活性であるHCIIアゴニストおよび/または血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストは、経口剤形として、例えば毎日1、2、3または4回というように一日1回以上投与できる。錠剤またはカプセルの形態で経口投与するために、活性成分（すなわちHCIIアゴニスト、血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニスト、またはその両方）を、例えばラクトース、澱粉、サッカロース、ブドウ糖、メチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、燐酸二カルシウム塩、硫酸カルシウム、マンニトール、ソルビトールなどの経口用の非毒性で薬学的に受容可能な不活性キャリアと配合して差し支えない。液状での経口投与のために、経口薬剤成分を、例えばエタノール、グリセリン、水等の任意の経口用の非毒性で薬学的に受容される不活性キャリアと配合して差し支えない。さらに、望ましい場合あるいは必要となるときに、適当な結合剤、潤滑剤、崩壊剤、および着色剤もまた混合物中に加えることができる。適当な結合剤には、澱粉、ゼラチン、例えばブドウ糖あるいはL-ラクトース、穀物-甘味料のような天然糖類、アカシア、トラガカントあるいはアルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、ポリエチレングリコール、ワックスなどのような天然のおよび合成のガムを含む。これらの剤形において用いられる潤滑剤は、オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウムなどを含む。崩壊剤としては、澱粉、メチルセルロース、寒天、ベントナイト、キサントガムなどが挙げられるが、これに限定するものではない。

【0045】

腸溶コーティングを有する経口組成物は、活性成分と賦形剤とを混合してスフェロイド（回転楕円体）を形成し、そのスフェロイドを薄い高分子膜でおおう。例えば、活性成分を非水膨張性微結晶性セルロースと混合してスフェロイドを形成し、次いでヒドロキシメチルセルロースフタル酸エステルの膜および/または胃中での活性成分の放出を防止する可塑剤で被覆する。組成物が腸に達するとき、活性成分は放出される。腸溶コーティング用の他の適当な材料は、例えば、酢酸コハク酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロー、ヘキサヒドロフタレート、シェラック、酢酸セルロース、酢酸フタル酸セルロース、フタル酸ポリ酢酸ビニル、カルボキシメチルエチルセルロース、メタクリル酸共重合体、メタクリル酸エステル共重合体などを含む。

【0046】

経口組成物は、また、活性成分と、たとえば脂肪酸エステル、レシチン、サッカロース、マンニトールまたはソルビトールのような湿潤剤とを混合し、さらにその混合物を微細粒状にスフェロイド化または顆粒化して調製できる。その後これらを、Eudragit(r) E30D（Rohm Pharma社、Weiterstadt、ドイツ）、フタル酸ヒドロキシメチルセルロース、および他の湿潤剤、および可塑剤などのような微細多孔性膜高分子でコートする。これらの処方は本質的に腸溶性であり、活性成分はその系が腸に到達するまで生体利用可能にならない。

【0047】

経口組成物はまた、活性成分とたとえばフマル酸または酒石酸のような酸とを混合することにより調製でき、球状の錠剤に圧縮し、腸液に可溶性であるが胃液には不溶性のラッカー類でコートする。これらのラッカー類は、アクリル酸、および、メタクリル酸エステルの共重合体を含む。酸性マトリックスは、早期の迅速な溶解を防止し、より下流側の消化管での活性成分の生体利用率を高める。

【0048】

経口組成物は、また、フタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース、またはヒドロキシプロピルメチルセルロースの酸性コハク酸エステルおよび酢酸エステルで固形剤形の活性成分をコートすることにより調製できる。クエン酸トリエチルを、コーティング材料の結合を助ける可塑剤としてコアベレットに加える。コーティングは、胃での溶解に抵抗するが、小腸で完全に溶解する。

10

【0049】

一般に、活性成分を含む固形剤形は、従来のパンコーティング技術またはカラムスプレーコーティング技術のような従来のコーティング技術を使ってコーティングされる。これらの技術のより詳細な説明は国際公開第 99/38827号パンフレット(コックラ)(1999年8月5日公開)(ここで引用したものとする)を参照のこと。活性成分はまた、例えば小さいユニラメラベシクル、大きいユニラメラベシクル、およびマルチラメラベシクルのような、リポソームデリバリシステムの形態で投与することができる。リポソームは、種々のリン脂質例えばコレステロール、ステアリルアミンまたはホスホチジルコリンから作成することができる。

20

【0050】

活性成分はまた、活性成分分子が結合する個々のキャリアとしてモノクロナル抗体を使用して輸送することができ、あるいは活性成分は、標的可能薬剤キャリアとしての可溶性高分子と結合してもよい。これらの可溶性高分子は、ポリビニルピロリドン、ピラン共重合体、ポリヒドロキシ-プロピル-メタクリラミド-フェノール、ポリヒドロキシ-エチル-アスパルタミド-フェノール、または、パルミトイル残留物により置換したポリエチレンオキサイド-ポリリシンを含む。加えて、活性成分は、例えばポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリ酢酸およびポリグリコール酸共重合体、ポリエプシロンカプロラクトン、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルソエステル、ポリアセタール、ポリジヒドロピラン、ポリシアンアクリレートおよびヒドロゲルの架橋体または両性ブロック共重合体のような、活性成分の放出を制御する生分解性高分子に結合してもよい。

30

【0051】

活性成分は、また、目の点眼薬として処方することができる。目の点眼薬の処方の他の成分、この種の処方の適当な投与計画、およびこの種の処方を調製する方法のより詳細な説明は、1999年8月5日に公開された国際公開第 99/38827号パンフレット(クックラ)(ここで引用文献としてまとめた)を参照のこと。適当な点眼薬処方、等張性であり、かつ患者に組織的に活性成分を輸送するために目の表面との十分な接触を維持するものである。目のための製剤は、たとえば活性成分を調合した後に実質的に完全なままであるような固形挿入物、または涙液に溶解性であり、さもなければ分解する生体崩壊性(bioerodible)の挿入物である。固形挿入実施形態のより詳細な説明のために1999年8月5日に公開された国際公開第 99/38827号明細書(クックラ)(ここで文献としてまとめた)を参照のこと。目の製剤はまた、例えば、細かく挽いた成分を少量のペトロラタム(例えばワセリン)と混合しさらにすり潰すことによって、さもなければ所望の剤形が作られるまで幾何学的加算で残りのペトロラタムを加えて均一な分布が得られるまで混合することによって調合された軟膏の形態であってもよい。

40

【0052】

活性成分は、また、鼻腔内輸送用にも処方することができる。Mousaら、「新しい血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストDMP755の鼻腔内の抗血小板/抗血栓性の効験」, Thromb. Res., (1998) 92, 115-124、を参照のこと。

【0053】

50

HCIIアゴニストおよび血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストは、配合剤として投与し、または別々の投薬として組み合わせて投与するときに、血小板凝集、およびトロンビン生成の阻害を必要とする種々の病状または症状を防止し、緩和し、最小にし、軽減させ、または治療するのに用いることができる。

【0054】

本発明に基づくヘパリンコファクターIIアゴニストおよび血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの併用は、出血性副作用（例えば長期の出血）および潜在的な抗原応答のリスクを避けるかまたは少なくとも最小にすることを必要とする場合に特に有益である。

【0055】

本発明のHCIIアゴニストおよびGPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの併用は、種々の動脈および静脈の血栓塞栓性疾患および病状を治療および防止するのに使用できる。治療または予防において本発明が有用となり得る疾患および病状には、急性冠状動脈症候群（例えばアンギナ）、心筋梗塞、肺塞栓症、重篤な静脈血栓症、脳卒中、ならびに例えばヘパリン起因性血小板減少症（ヘパリンでの知慮によって生じるアレルギー反応）のような、ヘパリン、ヒルジンおよび他の類似誘導体によって生じる抗原反応または応答を含むが、これに限定されるものではない。

10

【0056】

本発明に基づくHCIIアゴニストおよび血小板GPIIb/IIIa受容体アンタゴニストの併用は、血小板凝集およびトロンビン生成が潜在的な課題となり得る種々の臨床または外科治療に使用できる。これらの治療は、心肺バイパス手術、体外膜酸化治療、冠状動脈バイパス移植片手術、経皮的トランスルミナル冠状動脈血管造影法治療（例えば、ステント血栓症が特に問題である）および類似した治療を含むが、これに限定するものではない。

20

【0057】

本発明の特定の実施形態について述べたが、本発明の精神および範囲を逸脱しないで種々の他の変形および修正を行なうことができることは当業者にとって明らかである。従って、このような変形および修正は、添付の請求の範囲に包含され、本発明の範囲内にある。

【国際公開パンフレット】

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
19 September 2002 (19.09.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/072132 A1

- (51) International Patent Classification: A61K 38/12 (81) Designated States (national): AF, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) International Application Number: PCT/US02/06969
- (22) International Filing Date: 7 March 2002 (07.03.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 09/802,775 9 March 2001 (09.03.2001) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): INTI-MAX CORPORATION [US/US]; 12150 Best Place, Cincinnati, OH 45241-1569 (US).
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SI, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

- (72) Inventors: and
(75) Inventors/Applicants (for US only): CARDIN, Alan, D. [US/US]; 9903 Hunters Run Court, Cincinnati, OH 45242 (US); VAN GORP, Cornelius, L. [US/US]; 8439 Point O'Woods Court, Springboro, OH 45066 (US).

- Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

- (74) Agent: GUTTAG, Eric, W.; Smith, Guttag, Hasse & Nesbitt Ltd., Suite 316, 7577 Central Park Boulevard, Mason, OH 45040 (US).
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/072132 A1

(54) Title: COMBINATIONS OF HEPARIN COFACTOR II AGONIST AND PLATELET GPIIb/IIIa ANTAGONIST, AND USES THEREOF

(57) Abstract: Combined use of a heparin cofactor II agonist and a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist to inhibit both platelet aggregation and thrombin generation resulting from disease, injury or responses to wound repairs. The combined use of the heparin cofactor II agonist and the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist can achieve these therapeutic benefits while at the same time minimizing or reducing the risk of hemorrhagic side effects (e.g., prolonged bleeding), and without causing undesired antigenic responses. Moreover, certain subtherapeutic amounts of a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist can, in combination, be therapeutically effective in inhibiting both platelet aggregation and thrombin generation.

WO 02/072132

PCT/US02/06969

**COMBINATIONS OF HEPARIN COFACTOR II AGONIST AND PLATELET
IIb/IIIa ANTAGONIST, AND USES THEREOF**

TECHNICAL FIELD

The present application relates to combinations of a heparin cofactor II agonist and a platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor (GPIIb/IIIa) antagonist that are useful in inhibiting both platelet aggregation and thrombin generation resulting from disease, or injury responses to wound repairs. The present application particularly relates to the use of subtherapeutic amounts of a heparin cofactor II agonist and subtherapeutic amounts of a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist that, in combination, are therapeutically effective in inhibiting both platelet aggregation and thrombin generation.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Cardiovascular disease is the primary cause of death in the USA. According to the American Heart Association, 2.5 million individuals suffer from venous thrombosis and 600,000 suffer from pulmonary embolism each year. In 1996, approximately 830,000 cardiac surgeries and 700,000 cardiac catheterization procedures were performed in the USA as a result of arterial and venous thromboses. Usually, anticoagulant therapy is implemented either alone or in combination with anti-platelet and/or anti-fibrinolytic therapies, particularly in acute care settings where the immediate reopening of a blocked vessel becomes imperative. The drugs used in these therapies, however, have certain dose-limiting side effects, the foremost being hemorrhagic (i.e., prolonged bleeding) and when used in combination, these side effects can become potentiated, further limiting effective dosing and duration of the needed drug treatment. See Fareed, "Drug Interactions with Antiplatelet Agents" *IBC 3rd Annual Mini-Symposium on Advances in Antiplatelet Therapies* (Waltham, MA, 2000).

With current anticoagulants, the bleeding effects are due to an action on one or more of the enzymes that regulate hemostasis in the global circulation, versus their action in a more specific and limited sense on enzymes of the hemostatic mechanism that promote the disease process at the vascular wall, e.g., low selectivity. Likewise, antiplatelet drugs exhibit strong interactions with the anticoagulants (such as heparin), antithrombin drugs and thrombolytic agents, and safety considerations, for example,

WO 02/072132

PCT/US02/06969

preclude their administration to patients at high risk for intracranial hemorrhage, particularly elderly patients with poorly controlled hypertension and previous manifestations of cerebrovascular disease.

5 Central to this problem is control of thrombin generation and activity. This enzyme plays a key role in the formation of venous and arterial occlusions and in the causation of platelet emboli. Also key to this problem is achieving the sustained inhibition of thrombin at the diseased site which otherwise perpetuates its continued generation in an unabated fashion through a thrombin feedback mechanism that drives clot growth and platelet activation. A more targeted inhibition of thrombin at the disease
10 site and the platelet surface using agents or drugs of higher selectivity would cause fewer side effects on the blood coagulation properties of the peripheral circulation and thus potentially allow safer and more effective dosing regimens in combination therapies.

Processes that compromise the integrity of the vascular wall result in the activation of the hemostatic mechanism affecting the blood coagulation cascade and platelet activation pathways. See Furie et al., "Molecular and Cellular Biology of Blood
15 Coagulation," *N. Eng. J. Med.* (1992) 326: 800-806. This response to wound repair results in the growth of a thrombus forming an occlusion that impedes the flow of blood and thus oxygen and needed nutrients to the vital tissues. For example, atherosclerosis is a disease process affecting the coronary arteries and major arterioles of the heart in which
20 both inflammatory reactions (leukocytes, neutrophils, complement activation) and the accumulation of lipids (e.g., cholesterol, cholesterol esters, saturated fats, oxidized lipids and foam cells) occur. These events are toxic to the endothelial cells that line the blood vessel wall, the purpose of these cells being to form a protective non-thrombogenic surface or barrier separating blood from tissue. The exfoliation of the endothelial cells
25 exposes blood to the subendothelial surface which has a high thrombogenic potential. This results in the activation of the blood coagulation cascade and the generation of active thrombin. This active thrombin becomes bound to the disease site and promotes the formation of the clot. Contact of blood with foreign surfaces such as those of extracorporeal circuits and vascular devices (stents, guidewires, etc.) also induces
30 thrombin generation.

WO 02/072132

PCT/US02/06969

Thrombin converts soluble fibrinogen into insoluble fibrin at the vascular injury site where it is stabilized by enzymatic crosslinking reactions and platelet interactions. Thrombin is a potent platelet agonist and can interact on the platelet surface with receptors that lead to activation. See Furman et al, "The Cleaved Peptide of the
5 Thrombin Receptor Is a Strong Platelet Agonist," *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1998) 95(6):3082-3087; Zucker et al, *Platelet Activation Arteriosclerosis* (1985) 5(1):2-18. This leads to a thrombus rich in fibrin and platelets that may then become occlusive to the flow of blood to the heart and other organs such as the brain, resulting in serious life-threatening illnesses such as myocardial infarction and stroke.

10 There are many variations of vessel disease of the arterial and venous circulations. Clots of the arterial side tend to be enriched in platelets whereas those on the venous side contain fewer platelets and are enriched in fibrin. Thrombo-embolic diseases involving thrombus formation of the arterial and venous circulations include acute coronary syndromes (ACS), myocardial infarction (MI), deep vein thrombosis (DVT), pulmonary
15 embolism (PE) and stroke to name a few. Procedures involving clamping of arteries such as carotid endarterectomy and peripheral vascular surgery also induce vascular damage, thrombin formation and platelet activation. Invasive cardiovascular procedures such as coronary artery bypass grafts (CABG), percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA), cardiac catheterizations and the use of extracorporeal interventions, including
20 cardiopulmonary bypass surgery (CPB), end-stage renal dialysis (ESRD) and extracorporeal membrane oxygenation (ECMO), potently activate the clotting system and affect platelet function.

Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is a special class of platelet thrombosis that occurs as an immune response to heparin, the anticoagulant drug most often
25 employed first in the prevention and treatment of thrombo-embolic diseases. HIT leads to a precipitous drop in platelet count, an increase in platelet-induced thrombin generation and potentially to a fatal thrombosis. Standard treatment of HIT involves the discontinuation of heparin and use of an alternative anticoagulant such as a thrombin inhibitor, followed by close patient monitoring for the recovery of platelet counts.
30 Despite the use of these alternatives, the morbidity and mortality of HIT patients remains

WO 02/072132

PCT/US02/06969

high. Recently, a standard dose of GPIIb/IIIa antagonist, combined with a lowered dose of thrombin inhibitor to minimize hemorrhagic events, was used to treat HIT thrombosis. See Walenga et al, "Clinical Experience with Combined Treatment of Thrombin Inhibitors and GPIIb/IIIa Inhibitors in Patients with HIT," *Semin. Thromb. Hemost.* (1999) 25 (suppl. 1):77-81. While initial thrombosis of the coronary arteries tends to be susceptible to first treatment with fibrin-dissolving agents (e.g., tissue plasminogen activator or streptokinase), a fibrinolytic-resistant re-thrombosis often occurs that is platelet-rich. This most often requires the use of fast-acting antiplatelet drugs such as GPIIb/IIIa antagonists combined with thrombin inhibitors to control the local generation of active thrombin. However, more effective combinations of improved anticoagulants in combination with the GPIIb/IIIa antagonists are needed in the treatment of HIT and other thrombo-embolic disorders.

These improved anticoagulants require greater selectivity for thrombin at the diseased site. Surface-bound thrombin at residual levels amplifies the generation of systemic thrombin by catalyzing prothrombin consumption via the thrombin feedback loop at the site of vascular injury. See, for example, Ofose et al, "Thrombin-Catalyzed Amplification and Inhibitory Reactions of Blood Coagulation in Thrombin: Its Key Role in Thrombogenesis-Implications for its Inhibition Clinically," *CRC Press* (1995) pp. 1-18. Moreover, when thrombin is generated in response to an injury or disease, it can be found not only in the systemic circulation or fluid phase, but is also associated with the fibrin clot, with cell surfaces such as platelets, the vessel wall and with the biomaterial surfaces of biometric circuits and devices.

Heparin affects the potent inhibition of systemic thrombin and is widely effective in the management of these thrombotic states. However, it is relatively ineffective in bringing about the inhibition of surface-bound thrombin key to the self-promotion of systemic thrombin generation. Evidence suggests that heparin may enhance clot growth when bound to the clot. See Kumar et al, "The Influence of Fibrinogen and Fibrin on Thrombin Generation-Evidence for Feedback Activation of the Clotting System by Clot Bound Heparin," *Thromb. Hemost.* (1994) 72: 713-721. Heparin's principle mode of action occurs at the level of antithrombin III (AT), a circulating proteinase inhibitor that

WO 02/072132

PCT/US02/06969

binds thrombin and other factors of the coagulation cascade to block their activity. Heparin serves as a template to promote the assembly of the thrombin-antithrombin III complex (TAT) that then binds to exosite 2 on the surface of systemic thrombin, thereby forming a ternary complex which greatly accelerates the second order rate constant for thrombin inhibition by the serine proteinase inhibitor. However, when thrombin becomes surface-bound, such as to the fibrin clot, exosite 2 on the thrombin surface becomes unavailable to the HAT complex and surface-bound thrombin resists inhibition. Thus, recurrent thrombosis may ensue following the discontinuation of heparin therapy. See Hogg et al, "Fibrin Monomer Protects Thrombin from Inactivation by Heparin-Antithrombin III: Implications for Heparin Efficacy," *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (1989) 86:3619-23.

European patent application 668,875 and PCT application WO 94/09034A1 disclose a targeted-anticoagulant concept where the efficacy of heparin to inhibit clot bound thrombin is increased by its covalent attachment to a fibrin-specific monoclonal antibody used to deliver the glycosaminoglycan (or drug) into the clot. The efficacy of this approach with respect to heparin is still limited by the unavailability of exosite 2 on clot-bound thrombin that is critical to the binding of the HAT complex. Moreover, such targeted-anticoagulant concepts do not address the catalytic thrombins that remain active and bound to surfaces such as the platelet membrane, vessel wall or biomaterial surfaces of extracorporeal circuits. Even with these targeted-anticoagulant concepts, thrombin generation can be perpetuated at other sites, causing the disease process to linger.

Clot-bound heparin is susceptible to inhibition by exosite 1 directed inhibitors such as the leech anticoagulant peptide hirudin and heparin cofactor II. See Weitz et al, "Clot-Bound Thrombin Is Protected from Inhibition by Heparin-Antithrombin III But Is Susceptible to Inactivation by Antithrombin III-Independent Inhibitors," *J. Clin. Invest.* (1990) 86: 385-391; Bendayan et al., "Dermatan Sulfate is a More Potent Inhibitor of Clot-Bound Thrombin Than Unfractionated and Low Molecular Weight Heparins," *Thromb. Haemost.* (1994) 71:576-580. However, like heparin, hirudin exhibits significant bleeding side effects associated with its use. See Kwapis et al, "Prolonged Bleeding After Cardiopulmonary Bypass with Recombinant Hirudin," *Eur. J.*

WO 02/072132

PCT/US02/06969

Cardiothorac. Surg. (1999) 16(2):256-257; Gast et al, "Inhibition of Clot-Bound and Free (Fluid-Phase Thrombin) by a Novel Synthetic Thrombin Inhibitor (Ro 46-6240), Recombinant Hirudin and Heparin in Human Plasma," *Blood Coagul. Fibrinolysis* (1994) 5(6):879-887. Although hirudin has a marginally increased selectivity for clot-bound heparin, fluid-phase thrombin, present in significant excess, is first neutralized before completing the inhibition of the surface-bound enzyme, thus increasing anticoagulation in the systemic circulation and promoting its hemorrhagic risk potential. Attempts to reduce these side effects have been directed at improving the selectivity for inhibiting thrombin in its bound state. An inhibitor with greater selectivity for surface-bound thrombin would be predicted to have a more potent antithrombotic action and reduced effects on systemic anticoagulation. See Buchanan et al, "A Rationale for Targeting Antithrombotic Therapy at the Vessel Wall: Improved Antithrombotic Effect and Decreased Risk of Bleeding," *Wien Klin Wochenschr* (1999) 111: 81-89. This is supported by studies where the selectivity of hirudin for surface-bound thrombin was enhanced by its covalent conjugation to the anti-fibrin monoclonal antibody 59D8. See Bode et al, "Fibrin-Targeted Recombinant Hirudin Inhibits Fibrin Deposition on Experimental Clots More Efficiently than Recombinant Hirudin," *Circulation* (1994) 90(4):1956-1963; Bode et al, "Antithrombotic Potency of Hirudin Is Increased in Nonhuman Primates by Fibrin Targeting," *Circulation* (1997) 95(4):800-804. These studies support the general concept that an increased selectivity for agents or drugs that target thrombin bound to surfaces would afford a greater inhibition of intravascular/extracorporeal circuit thrombosis, enhance hemostasis in the surgical wound and potentially, decrease the duration of anticoagulant therapy. Although the above utility increases the selectivity of hirudin by its covalent attachment to fibrin-specific monoclonal antibodies, it is limited to thrombin bound to the clot and does not address improvements in the inhibition of thrombin bound to platelets, vessel wall or biomaterials which perpetuate the systemic thrombotic state.

Expression of GPIIb/IIIa receptors on the surface of activated platelets greatly enhances their adhesiveness, aggregation and adherence to the fibrin clot and the injured vessel wall. See, for example, Shen et al, "Interaction of Thrombin-Activated Platelets with Extracellular Matrices (Fibronectin and Vitronectin): Comparison of the Activity of

WO 02/072132

PCT/US02/06969

Arg-Gly-Asp-Containing Venom Peptides and Monoclonal Antibodies Against Glycoprotein IIb/IIIa Complex," *J. Pharm. Pharmacol.* (1997) 49(1):78-84. Thus thrombin-activated platelets promote thrombus growth indicating a need for improved thrombin inhibitors with antiplatelet therapies. See Eisenberg et al, "Platelet-Dependent and Procoagulant Mechanisms in Arterial Thrombosis," *Int. J. Cardiol.* (1999) 5 68(suppl.1):S3-S10. It is now well known that compounds that antagonize the function and/or induction of the platelet GPIIb/IIIa receptors are among the most potent antithrombotic drugs for the treatment of disease states involving platelet rich-thrombi. Indeed, these compounds inhibit platelet function or adhesion so effectively that 10 hemorrhagic effects become a risk. See, for example, Sitges et al, "Massive Pulmonary Hemorrhage in a Patient Treated with a Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Inhibitor," *Int. J. Cardiol.* (1997) 62(3):269-271; Gammie et al, "Abciximab and Excessive Bleeding in Patients Undergoing Emergency Cardiac Operations," *C.M. Ann. Thorac. Surg.* (1998) 65(2):465-469; Blankenship, "Bleeding Complications of Glycoprotein IIb-IIIa Receptor 15 Inhibitors," *Am. Heart J.* (1999) 138(4 pt. 2):287-296. Moreover, depending on the clinical or experimental setting, these compounds have limited effects on thrombin generation and virtually no effect on thrombin activity. See Kleiman et al, "Inhibition of Platelet Aggregation with a Glycoprotein IIb-IIIa Antagonist Does Not Prevent Thrombin Generation in Patients Undergoing Thrombolysis for Acute Myocardial Infarction," *J. 20 Thromb. Thrombolysis* (2000) 9(1):5-12; Dangas et al., "Effects of Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Inhibition with Abciximab on Thrombin Generation and Activity during Percutaneous Coronary Interventions" *Am.Heart J.* (1999) 138:45-54.

The combination of thrombin inhibition therapies with platelet GPIIb/IIIa receptor therapies has been recognized as desirable in the art. See PCT applications WO 25 99/38827 and WO 97/35592 which disclose the inclusion of hirudin, heparin and low molecular weight heparins with a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist. However, the inclusion of these thrombin inhibitors can significantly contribute to the overall hemorrhagic risk. Indeed, the additivity of inhibition by the combination of heparin with GPIIb/IIIa c7E3 Fab suggests these agents may have a greater bleeding liability than the 30 use of either agent alone. See Pedicord et al., "Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Antagonists

WO 02/072132

PCT/US02/06969

Inhibit the Development of Platelet procoagulant Activity," *Thromb. Res.* (1998) 90: 247-258. The therapeutic utility of lepirudin, or recombinant hirudin, is limited by its hemorrhagic potential and has shown limited benefit on thrombin generation and platelet aggregation with GPIIb/IIIa. See Koestenberger et al., "Effects of the Glycoprotein
5 IIb/IIIa Receptor Antagonist c7E3 Fab and Anticoagulants on Platelet Aggregation and Thrombin potential Under High Coagulant Challenge In Vitro," *Blood Coagul.* (2000) 11: 425-432.

There are other problems associated with heparin and hirudin use, including antigenic reactions. Anti-hirudin antibodies are elicited in ~74% of the recipients and is
10 contraindicated in patients with a known hypersensitivity to this anticoagulant. Huhle et al., "Immunologic Response to Recombinant hirudin in HIT Type II Patients during Long-Term Treatment," *Br. J. Haematol.* (1999) 106(1):195-201 (appendix U); Gollnick, "Allergy to Heparin, Heparinoids, and Recombinant Hirudin: Diagnostic and Therapeutic
15 Alternatives," *Hautarzt* (1999) 50(6):406-411. The lack of an antidote to hirudin and other thrombin inhibitors may necessitate transfusion as the only option to remedy adverse events.

Heparin-induced thrombocytopenia type II (HIT) is a consequence of heparin exposure, especially in situations such as CPB where high doses of heparin are required to manage high levels of thrombin that are continually produced during and after clinical
20 procedures are performed. See Brister et al., "Thrombin Generation during Cardiac Surgery: Is Heparin the Ideal Anticoagulant?," *Thromb. Haemostas.* (1993) 70(2):259-262; Bauer et al., "Prevalence of Heparin-Associated Antibodies without Thrombosis in Patients Undergoing Cardiopulmonary Bypass Surgery," *Circulation* (1997) 95:1242-1246; Pouplard et al., "Antibodies to Platelet Factor 4-Heparin After Cardiopulmonary
25 Bypass in Patients Anticoagulated with Unfractionated Heparin or a Low Molecular Weight Heparin: Clinical Implications for Heparin-Induced Thrombocytopenia," *Circulation* (1999) 99:2539-2536; Trossaert et al., "High Incidence of Anti-Heparin/Platelet Factor 4 Antibodies After Cardiopulmonary Bypass surgery," *Br. J. Haematol.* (1998) 101(4):653-655. The bleeding problems associated with heparin use
30 during CPB requires its neutralization by protamine salts post-CPB; this enhances the

WO 02/072132

PCT/US02/06969

activation of inflammatory mediators, such as complement and proinflammatory cytokines which complicate outcome. See Morel et al, "C5a and Thromboxane Generation Associated with Vaso-and Broncho-Constriction During Protamine Reversal of Heparin," *Anesthesiology* (1987) 66(5):597-604; Fehr et al, "In Vivo Complement Activation by Polyanion-Polycation Complexes: Evidence that C5a Is Generated Intravascularly During Heparin-Protamine Interaction," *Clin. Immunol. Immunopathol.* (1983) 29(1):7-14. Thrombin rebound (i.e., the inability of the HAT complex to neutralize trace levels of thrombin deposited on surfaces, such as the CPB circuit, surgical wound, etc.) can also occur, predisposing the patient to increased risk of thrombosis.

Accordingly, it would be desirable to be able to provide the combination of an improved thrombin inhibition therapy that provides sustained inhibition of catalytic thrombins bound to surfaces with a platelet GPIIb/IIIa receptor therapy that minimizes or prevents undesired hemorrhagic side effects, as well as potential antigenic reactions.

15 SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention relates to pharmaceutical combinations that can inhibit thrombin generation and platelet aggregation with minimized or reduced hemorrhagic properties and high selectivity for surface-bound thrombin inhibition. These combinations comprise:

- 20 (a) a heparin cofactor II agonist; and
- (b) a platelet glycoprotein (GP)IIb/IIIa receptor antagonist;
- (c) the amount of a heparin cofactor II agonist and the amount of the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist combined being therapeutically effective to inhibit thrombin generation and platelet aggregation.

25 The present invention further relates to methods for inhibiting platelet aggregation and thrombin generation, which comprises the step of: administering (as a combined dose or as separate related doses) to a mammal in need thereof (e.g., to prevent and/or treat a variety of thrombo-embolic disorders) a combined therapeutically effective amount of a heparin cofactor II agonist and a platelet (GP) IIb/IIIa receptor antagonist.

WO 02/072132

PCT/US02/06969

It has been found that the administration of a combined therapeutically effective amount of a heparin cofactor II agonist or activating substance with a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist can provide a superior therapeutic effect in inhibiting platelet aggregation and thrombin generation (especially thrombin generation due to surface bound thrombin) than either component alone, or prior combinations of a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist with either unfractionated heparin, low molecular weight heparins or hirudin. Indeed, it has been found that subtherapeutic amounts of a heparin cofactor II agonist activating substance can be combined with subtherapeutic amounts of a platelet (GP) IIb/IIIa receptor antagonist to provide a therapeutically effective benefits in inhibiting platelet aggregation and thrombin generation. These surprising therapeutic benefits can be achieved while at the same time minimizing or reducing the risk of hemorrhagic side effects (e.g., prolonged bleeding), and without causing undesired antigenic responses.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

As used herein, the terms "therapeutic amount" and "therapeutically effective amount" mean that the dosage or amount of the particular compound, drug or pharmaceutical agent is sufficient to achieve the desired pharmacological action.

As used herein, the term "subtherapeutic amount" means that the dosage or amount of a particular compound, drug or pharmaceutical agent is insufficient to achieve the desired pharmacological action in the absence of other compounds, drugs or pharmaceutical agents. Subtherapeutic amounts and doses will usually not be less than about 5%, typically not less than about 10%, and typically not greater than about 75%, more typically not greater than about 60%, of the therapeutic dosage or amount.

As used herein, the term "pharmaceutically acceptable salt" means non-toxic salts of the compounds (which are generally prepared by reacting the free acid with a suitable organic or inorganic base) and include, but are not limited to, the acetate, benzenesulfonate, benzoate, bicarbonate, bisulfate, bitartrate, borate, bromide, calcium, camsylate, carbonate, chloride, clavulanate, citrate, dihydrochloride, edetate, edisylate, estolate, esylate, fumarate, gluceptate, gluconate, glutamate, glycolylarsanilate, hexylresorcinate, hydrabamine, hydrobromide, hydrochloride, hydroxynapthoate, iodide,

WO 02/072132

PCT/US02/06969

isothionate, lactate, lactobionate, laurate, malate, maleate, mandlate, mesylate, methylbromide, methylnitrate, methylsulfate, mucate, napsylate, nitrate, oleate, oxalate, pamaote, palmitate, panthothenate, phosphate, diphosphate, polygalacturonate, salicylate, stearate, subacetate, succinate, tannate, tartrate, teoelate, tosylate, triethiodide, and
5 valerate salts, as well as mixtures of these salts.

As used herein, the terms "active ingredient," "active component," "active drug," and "drug" are used interchangeably to refer to the heparin cofactor II agonist, the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist or both.

As used herein, the term "mammal" includes primates (e.g., humans, monkeys,
10 etc.), dogs, rabbits, rats, mice and other species commonly known to be mammals.

As used herein, the term "comprising" means various components and steps can be conjointly employed in the present invention. Accordingly, the term "comprising" encompasses the more restrictive terms "consisting essentially of" and "consisting of."

All amounts, parts, ratios and percentages used herein are by weight unless
15 otherwise specified.

A key active ingredient or component of the combinations of the present invention is a heparin cofactor II (HCII) agonist. As used herein, an HCII agonist (also referred to hereafter interchangeably as an "HCII activating substance") is a compound (typically a sulfated polysaccharide) that binds to HCII and enhances its intrinsic thrombin inhibitory
20 action without the direct interaction of the agonist with thrombin (i.e., by allosteric activation). See Buchanan et al, "Evidence for a Conformational Change of Surface-Bound Thrombin That Promotes Vessel Wall Thrombogenicity: Selective and Sustained Inhibition of Its (Surface-Bound Thrombin) by Intimatan (DS)/HCII," *Thromb. Haemost.* (2001, In Press). HCII is a natural inhibitor of thrombin ubiquitously present in tissues and the circulation. Like antithrombin III (AT), it is an endogenous proteinase inhibitor
25 of the circulatory system but it is also present in extravascular tissues. However, and unlike AT, HCII specifically inhibits thrombin and not other proteases of the coagulation cascade. By a process somewhat analogous to hirudin, HCII inhibits clot-bound thrombin by first binding to exosite 1 allowing its C-terminal inhibitory domain to react with the
30 active site. See, for example, Hortin et al, "Antithrombin Activity of a Peptide

WO 02/072132

PCT/US02/06969

Corresponding to Residues 54-75 of Heparin Cofactor II," *J. Biol. Chem.* (1989) 264(24):13979-13982; Van Deerlin et al, "The N-Terminal Acidic Domain of Heparin Cofactor II Mediates the Inhibition of Alpha-Thrombin in the Presence of Glycosaminoglycans," *J. Biol. Chem.* (1991) 266(30):20223-20231. However, and unlike
5 hirudin, HCII assumes a latent state in vivo such that its thrombin inhibitory activity can be switched on by a second molecule, such as dermatan sulfate (to be discussed hereafter.). See Tollefsen et al, "Activation of Heparin Cofactor II by Dermatan Sulfate," *J. Biol. Chem.* (1983) 258(11):6713-6716.

Some representative but nonlimiting examples of HCII activating substances
10 suitable for use in the present invention include various sulfated polysaccharides such as dermatan sulfate (and various oversulfated derivatives thereof), sulfated polysaccharides derived from sea cucumber, sulfated polysaccharides derived from green algae and PI-88, a sulfated pentomannose, and their pharmaceutically acceptable salts. See U.S. Patent 5,922,690 (Van Gorp et al), issued July 13, 1999; U.S. Patent 5,993,797 (Kitazato et al),
15 issued November 30, 1999; Hayakawa et al., "Inhibition of Thrombin by Sulfated Polysaccharides Isolated from Green Algae," *Biochim. Biophys. Acta* (2000) 130: 86-94; Demir et al., "Ecarin Clotting Time is Sensitive to Heparinoids: Comparison of Two different Techniques," *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* (2001) 7: 38-43, all of which are incorporated by reference.

20 Combinations of the present invention that are particularly useful are those where the HCII activating substance is dermatan sulfate and its oversulfated derivatives. Dermatan sulfate offers significant advantages relative to the other thrombin inhibitors that have lower selectivity for bound thrombin and thus higher hemorrhagic potentials. It is also advantageous and superior to conjugates of these thrombin inhibitors even when
25 they are bound to targeting agents such as monoclonal antibodies. Dermatan sulfate is particularly advantageous as it more effectively subdues thrombin activity associated with all surfaces, thus lowering the overall systemic thrombogenic potential including the activation of platelets due to inhibition of thrombin associated with the platelet surface. When used in conjunction with a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist, dermatan sulfate
30 is especially beneficial in permitting lower concentrations of the GPIIb/IIIa antagonist to

WO 02/072132

PCT/US02/06969

be used to achieve the same and/or superior anti-thrombotic effects with lower risk of bleeding side-effects than if either agent were used alone.

The dermatan sulfates useful in the present invention have more than about 25%, preferably more than about 50%, repeating L-iduronic acid→4,6-di-O-sulfated N-acetyl-
5 D-galactosamine disaccharide units, and typically having a molecular weight of from about 1,000 Daltons to about 60,000 Daltons. Particularly preferred dermatan sulfates useful in the present invention are oversulfated derivatives that have more than about 75%, preferably more than about 90%, repeating L-iduronic acid→4,6-O-disulfated-N-acetyl-D-galactosamine disaccharide units, and are disclosed in U.S. Patent 5,922,690
10 (Van Gorp et al), issued July 13, 1999, which is incorporated by reference. These preferred oversulfated dermatan sulfates (hereinafter referred to as "dermatan disulfate" or "DDS") comprise a mixture of dermatan polymeric chains principally containing connected disulfated disaccharide dimers obtained by chemical sulfation of native dermatan sulfate (primarily L-iduronic acid→N-acetyl-D-galactosamine-4-O-sulfate) that
15 comprises primarily repeating L-iduronic acid→N-acetyl-D-galactosamine-4,6-O-disulfated disaccharide units. Preferably, DDS has an average molecular weight in the range of from about 2,500 to about 37,500 Daltons, preferably from about 5,000 to about 30,000 Daltons, corresponding to from about 6 to about 100 monosaccharide units in the polymeric chains. The DDS having an average molecular weight less than about 30,000
20 Daltons is preferably obtained by cleaving longer chain polysaccharides of: (1) native dermatan sulfate (hereinafter referred to as "native DS") followed by site-specific sulfation of the N-acetyl-D-galactosamine 4-O-sulfate ring at the 6-O hydroxyl to yield primarily the 4,6-O-disulfated disaccharide, or (2) by depolymerization of the DDS. Dermatan chains can be depolymerized by a variety of enzymatic and chemical methods
25 known to those skilled in the art, including those disclosed in U.S. Patent 5,922,690, supra.

The preferred DDS useful in the present invention has significant AT-independent antithrombin activity mediated through the action of HClI and can be synthesized from commercially obtained DS or preferably native DS according to methods disclosed in
30 U.S. Patent 5,922,690, supra. The preferred DDS can be in the form of a salt, where the

WO 02/072132

PCT/US02/06969

cation is selected from barium, calcium, copper, lithium, sodium, potassium, zinc, and ammonium ions. See U.S. Patent 5,922,690, *supra*.

Another key active ingredient or component of the combinations of the present invention is a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist. The platelet GPIIb/IIIa antagonists include a variety of antibody, antibody fragments, peptides and small molecule compounds that effectively inhibit the expression and/or function of platelet GPIIb/IIIa receptors, as well as their pharmaceutically acceptable salts. Some representative but nonlimiting examples of platelet GPIIb/IIIa antagonists suitable for use in the present invention include various peptides, such as those disclosed in U.S. Patents 5,470,894, 5,463,011, 5,455,243, 5,451,578, 5,446,056, 5,441,952, 5,422,249, 5,416,099, 5,405,854, 5,397,791, 5,393,670, 5,389,631, 5,380,713, 5,374,622, 5,353,956, 5,344,783, 5,340,798, 5,338,723, 5,334,596, 5,321,034, and 5,318,899 (e.g., cyclic heptapeptides Mpr-(Acetimidyl-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂, Mpr-(Acetimidyl-Lys)-Cly-Asp-Trp-Phe-Pen-NH₂, Mpr-(Phenylimidyl-Lys)-gly-asp-Trp-Phe-Pen-NH₂, and Mpr-(Phenylimidyl-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂, where Mpr is mercapto propionyl); and various nonpeptide compounds such as those disclosed in U.S. Patents 5,312,923, 5,294,616 and 5,292,756 (e.g., 2-S(n-butylsulfonylamino)-3-[4-(piperidin-4-yl)butyloxyphenyl]propionic acid and 2-S(n-butylsulfonylamino)-[4-(piperidin-4-yl)butyloxyphenyl]propionic acid hydrochloride), those disclosed in U.S. Patents 5,281,585, 5,272,158, 5,264,420, 5,260,307, and 5,239,113 (e.g., ethyl 3-[[4-[4-(aminoiminomethyl)phenyl]amino]-1,4-dioxobutyl]amino]-4-pentynoate), disclosed in U.S. Patents 5,227,490, 5,206,373, and 4,703,036 (e.g., N-methyl-D-phenylalanyl-N-[(1S)-1-formyl-4-guanidinobutyl]-L-prolinamide), those disclosed in European Patent Document 505,868 (e.g., ((1-(2-((4-piperidinyl)oxy)-(S)-acetic acid), those disclosed in PCT application WO 93/11152 (e.g., N-(2-(2-(((3-(aminoiminomethyl)amino)propyl)amino)-carbonyl)-1-piperidinyl)-1-(cyclohexylmethyl)-2-oxoethyl)-(R,S)-glycine), and those disclosed in European patent application 333,356 and PCT applications WO 94/22820, WO 95/14683 and 94/18981, all of which are incorporated by reference. See also U.S. Patents 5,976,532, 5,952,306, 5,968,902, 6,001,961, 6,008,193, 5,731,324, 6,022,523, 6,020,362 and 6,013,625, all of which are incorporated by reference. Preferred platelet GPIIb/IIIa antagonists suitable for

WO 02/072132

PCT/US02/06969

use in the present invention include [3(R)-[2-piperidin-4yl)ethyl]-2-piperidone-1]acetyl-3(R)-methyl-b-alanine, 2(S)-[(p-toluenesulfonyl)amino]amino]-3-[[[5,6,7,8-tetrahydro-4-oxo-5-[2-(piperidin-4-yl)ethyl]-4H-pyrazolo-[1,5-a][1,4]diazepin-2-yl]carbonyl]-amino]propionic acid, 5-[[4-piperidinyl)methoxy]-2-indolecarbonyl-2(S)-phenylsulfonyl-amino-b-alanine, 2-S-(n-butylsulfonylamino)-3-[4-piperidin-4-yl]butyloxypheyl]propionic acid hydrochloride (also known as tirofiban), (R)-methyl-3-[[[3-[4-(aminoiminomethyl)phenyl]-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]acetyl]amino]-N-(butoxycarbonyl)-L-alanine monoacetate (DMP 754), RO44-9883 and RO43-8857 from Hoffman-LaRoche, xemlofiban (also know as xemilofiban) from Searle/Sankyo, fradafiban from Boehringer Ingleheim/K. Thomae, SB 2144856 from SmithKline Beecham, ZD2486 from Zeneca, TAK 029 from Takeda, orbofiban and SC-58635 from Searle, GR144053 from Glaxo, compound 109891 from Rhone Poulenc Rorer (now Aventis), and sibralfiban from Hoffman-LaRoche, as well as mixtures thereof. See PCT application WO 99/38827 (Cook et al), published August 5, 1999, which is incorporated by reference. Other preferred platelet GPIIb/IIIa antagonists suitable for use in the present invention include Integrilin[®] (also known as eptifibatide of Cor Therapeutics), a cyclic heptapeptide inhibitor with an active pharmacophore derived from the structure of barbourin from the venom of the southeastern pigmy rattlesnake. See Phillips et al., "Clinical Pharmacology of Eptifibatide" Am. J. Cardiol. (1997):11B-20B and related compounds disclosed in U.S. Patents 5,968,902, 5,958,732, 5,935,926, 5,851,839, 5,843,897, 5,807,828, 5,807,825, 5,795,868, 5,795,867, 5,786,333, 5,780,595, 5,759,999, 5,756,451, 5,686,571, 5,686,570, 5,686,569, 5,686,568, 5,686,567, 5,686,566, and 5,344,783, all of which are incorporated herein by reference. Mixtures of these of preferred platelet GPIIb/IIIa antagonists can also be used in the present invention.

A particular advantage of using combinations of the heparin cofactor II agonist and the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist to inhibit platelet aggregation and thrombin generation is that a therapeutically effective amount of either active ingredient is necessarily not required to achieve the desired therapeutic effect. While the present invention encompasses combined use (and combinations) of the heparin cofactor II agonist and a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist where each is in a therapeutically

WO 02/072132

PCT/US02/06969

effective amount, therapeutically effective amounts of each active ingredient are not necessarily required to inhibit platelet aggregation and thrombin generation. Indeed, it has been found that subtherapeutic amounts of either or both active ingredients can be used so long as the amount of each active ingredient, when used in combination, achieves
5 the desired therapeutic effect.

The present invention can be in the form of injectable or oral compositions for administering HCII agonists and platelet GPIIb/IIIa receptor antagonists. Suitable injectable compositions for use in the present invention can be given intravenously, parenterally, intramuscularly, or subcutaneously and include bolus or extended infusion
10 compositions. Injectable compositions suitable for use in the present invention are well known to those skilled in the pharmaceutical arts. The HCII agonists and platelet GPIIb/IIIa receptor antagonists can be administered to the patient together, i.e., as a combined dose in one composition, or can be administered separately to the patient, i.e., as separate doses of HCII agonists and platelet GPIIb/IIIa receptor antagonists in different
15 compositions that are administered simultaneously, concurrently or otherwise sufficiently close in time to provide the desired therapeutic benefit. Injectable administration of HCII agonists and platelet GPIIb/IIIa receptor antagonists according to the present invention, whether administered together as one dose or composition, or as separate doses or compositions, typically involves the preparation of suitable infusion solutions according
20 to procedures well known to those skilled in the pharmaceutical arts. Administration in these various ways are suitable for the present invention as long as the beneficial pharmaceutical effect of the HCII agonists and platelet GPIIb/IIIa receptor antagonists is realized by the patient. Such beneficial effect is usually achieved when the target plasma level concentrations of each active drug are maintained at substantially the same time.
25 Such target plasma level concentrations are readily determined for each patient by physicians and veterinarians skilled in the art.

The dosage regimen for the active ingredients is selected in accordance with a variety of factors, including type, species, age, weight, sex and medical condition of the patient; the severity of the condition to be treated or prevented; the routes of
30 administration; the renal and hepatic function of the patient; and the particular HCII

WO 02/072132

PCT/US02/06969

agonist and platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist to be used. An ordinarily skilled physician or veterinarian can be readily determine and prescribe the therapeutically effective amount of the combined active ingredients required to prevent, counter, or arrest the progress of the condition. For example, in the case of the preferred H2II agonist

5 DDS, therapeutic doses will typically be in the range of from about 0.1 to about 5 mg/kg. (as an intravenous bolus), followed by a maintenance intravenous infusion of from about 5 to about 30 microg/kg/min. Subtherapeutic doses of DDS that can be useful in the combinations according to the present invention will typically be in the range of from about 0.01 to 0.1 mg/kg. (as an intravenous bolus), followed by a maintenance

10 intravenous infusion of from about 0.5 to about 5 microg/kg/min. With regard to the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist, for example, tirofiban, therapeutic doses for treating unstable angina pectoris can be administered intravenously at an initial infusion rate of from about 0.2 to about 1 microg/kg/min. for 30 minutes or 10 microg/kg/min. over 3 minutes, followed by a maintenance infusion dose of from about 0.1 to about 1

15 microg/kg/min.; for treating angioplasty/arterectomy, an initial intravenous infusion in the range of from about 3 to about 30 microg/kg/min. over 3 minutes, followed by a maintenance dose at the rate of from about 0.1 to about 1 microg/kg/min. Subtherapeutic doses of tirofiban that can be useful in the combinations according to the present invention for treating unstable angina pectoris are typically be administered intravenously

20 at an initial infusion rate of from about 0.02 to about 0.1 microg/kg/min. for 30 minutes or from about 0.1 to about 1 microg/kg/min. over 3 minutes, followed by a maintenance infusion dose of from about 0.01 to about 0.1 microg/kg/min.; for treating angioplasty/arterectomy, an initial intravenous infusion in the range of from about 0.3 to about 3 microg/kg/min. over 3 minutes, followed by a maintenance dose at the rate of

25 from about 0.01 to about 0.1 microg/kg/min.

The active ingredient can be administered in admixture with suitable pharmaceutical diluents, excipients or carriers (collectively referred to hereinafter as "pharmaceutical carriers") suitable selected with respect to the intended form of administration, that is oral tablets, capsules, elixirs, syrups and the like, and consistent

30 with conventional pharmaceutical practices. Typically, suitable injectable (e.g.,

WO 02/072132

PCT/US02/06969

intravenous) solutions include pharmaceutically acceptable pH buffers (e.g., sodium citrate), tonicity adjusting agents and other components providing a storage stable and therapeutically effective injectable solution. Tonicity adjusting agents, including sodium chloride, are used to adjust tonicity for osmotic pressure and to prevent blood cell lysing.

5 These agents minimize pain and thrombophlebitis often experienced by patients receiving intravenous administrations of pharmaceutical compositions. The amount used is that which makes the formulation isotonic with the osmotic pressure of the biological system of the patient. Expressed in osmolarity units, the preferred amounts of tonicity adjusting agent suitable for use in the present invention (e.g., sodium chloride) are from about 50 to

10 about 500 milliosmoles, more preferably about 290 milliosmoles. In compositions of the present invention, pharmaceutically acceptable osmolarity can be achieved by formulating with an amount of sodium chloride of from about 1.5 to about 15 mg/ml, preferably about 9 mg/ml. Such osmolality can also be achieved by using an amount of mannitol of from about 7 to about 75 mg/ml, preferably about 50 mg/ml. Other tonicity adjusting agents

15 which can be used to adjust tonicity include, but are not limited to, dextrose and other sugars. The formulations according to the present invention can also be suitable for long-term storage in glass containers commonly used in the pharmaceutical industry, e.g., in concentrated form in standard USP Type * borosilicate glass containers.

In general, the method for preparing compositions of the present invention comprising the active ingredients (i.e., H2N agonist, platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist or both) involves combining the various ingredients in a mixing vessel, e.g., at room temperature. The active ingredients (in salt or free base form), buffers sources (e.g., citric acid and sodium citrate), and tonicity adjusting agent(s), are combined to obtain an active ingredient concentration typically in the range of from about 0.01 mg/ml to about 1

25 mg/ml. In one embodiment for preparing such compositions, a substantial portion of the finished product amount of water (for example, from about 60 to 100%) is introduced into a standard pharmaceutical mixing vessel. An amount of the active ingredients suitable for obtaining the desired finished product concentration is dissolved in the water. Amounts of sodium citrate and citric acid sufficient to obtain a finished citrate

30 concentration of from about 2 to about 20 mM, are added. A pharmaceutically acceptable

WO 02/072132

PCT/US02/06969

amount of tonicity adjusting agent in the isotonic range is added. Any remaining portion of water is then added to achieve the desired final concentrations of ingredients. The amount of water initially used in preparing the formulation, and the amount of the remaining portion of water added at the end of the procedure, does not affect the properties of the finished product. Such amounts are a matter of choice for those skilled in the pharmaceutical arts, allowing for pH adjustment during formulation. Concentrated formulations of the compositions of the present invention can be diluted at the time of administration with a suitable diluent to obtain a finished concentration, for example, of about 0.05 mg/ml, which is suitable for transfer to an infusion bag and use by a patient in need of the treatment.

HClII agonists and/or platelet GPIIb/IIIa receptor antagonists that are orally active can be administered as oral dose forms one or more times during the day, e.g., one, two, three or four times daily. For oral administration in the form of a tablet or capsule, the active ingredient (i.e., the HClII agonists, the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist or both) can be combined with an oral, non-toxic pharmaceutically acceptable, inert carrier such as lactose, starch, sucrose, glucose, methyl cellulose, magnesium stearate, dicalcium phosphate, calcium sulfate, mannitol, sorbitol and the like. For oral administration in liquid form, the oral drug components can be combined with any oral, non-toxic, pharmaceutically acceptable inert carrier such as ethanol, glycerol, water and the like. Moreover, when desired or necessary, suitable binders, lubricants, disintegrating agents and coloring agents can also be incorporated into the mixture. Suitable binders include starch, gelatin, natural sugars such as glucose or β -lactose, corn-sweeteners, natural and synthetic gums such as acacia, tranacanth or sodium alginate, carboxymethylcellulose, polyethylene glycol, waxes and the like. Lubricants used in these dosage forms include sodium oleate, sodium stearate, magnesium stearate, sodium benzoate, sodium acetate, sodium chloride and the like. Disintegrators include, without limitation, starch, methyl cellulose, agar, bentonite, xanthan gum and the like.

Oral compositions with enteric coatings can be prepared by mixing the active ingredient with an excipient to form a spheroid, and coating the spheroid with a thin polymer film. For example, the active ingredient can be mixed with non-water swellable

WO 02/072132

PCT/US02/06969

microcrystalline cellulose to form a spheroid which is then coated with a film of hydroxypropyl methyl cellulose phthalate and or a plasticizer which prevents any release of the active ingredient in the stomach. When the composition reaches the intestine, the active ingredient is then released. Other suitable materials for enteric coatings include, 5 for example, hydroxypropyl methyl cellulose acetate succinate, hydroxypropyl methyl cellulose hexahydrophthalate, shellac, cellulose acetate, cellulose acetate phthalate, polyvinyl acetate phthalate, carboxymethyl ethyl cellulose, methacrylic acid copolymers, methacrylic ester copolymers and the like.

Oral compositions can also be prepared by mixing the active ingredient with a wetting agent such as fatty acid esters, lecithin, sucrose, mannitol or sorbitol and then 10 spheronizing or granulating the mixture into microgranules. These are then coated with a microporous membrane polymer such as Eudragit® E30D (Rohm Pharma GmbH, Weiterstadt, Germany), hydroxypropyl methyl cellulose phthalate and other wetting agents, plasticizers and the like. These formulation are enteric by nature and the active 15 ingredient does not become bioavailable until the system reaches the intestine.

Oral compositions can also be prepared by mixing the active ingredient and an acid such as fumeric or tartaric acid which is compressed into a spherical tablet and coated with lacquers that are insoluble in gastric juices but soluble in intestinal juices. These lacquers include copolymers of acrylic acid and methacrylic acid esters. The acidic 20 matrix prevents quick dissolution early and yet promotes the active ingredient's bioavailability further downstream in the digestive tract.

Oral compositions can also be prepared by coating a solid dosage form of the active ingredient with hydroxypropyl methyl cellulose phthalate or acidic succinyl and acetyl esters of hydroxypropyl methyl cellulose. Triethylcitrate is added as a plasticizer 25 which aids in the binding of the coating material to the core pellet. The coating resists dissolution in the stomach but completely dissolves in the small intestine.

In general, solid dosage forms comprising the active ingredient can be coated using conventional coating techniques such as conventional pan coating techniques or column spray coating techniques. See PCT application WO 99/38827 (Cook et al),

WO 02/072132

PCT/US02/06969

published August 5, 1999 (herein incorporated by reference) for a more detailed description of these techniques.

The active ingredients can also be administered in the form of liposome delivery systems, such as small unilamellar vesicles, large unilamellar vesicles and multilamellar vesicles. The liposomes can be formed from a variety of phospholipids, such as cholesterol, stearylamine or phosphatidylcholines.

The active ingredients can also be delivered using monoclonal antibodies as individual carriers to which the active ingredient molecules are coupled or the active ingredients can be coupled with soluble polymers as targetable drug carriers. These soluble polymers include polyvinylpyrrolidone, pyran copolymer, polyhydroxy-propyl-methacrylamide-phenol, polyhydroxy-ethyl-aspartamide-phenol, or polyethyleneoxide-polylysine substituted with palmitoyl residues. In addition, the active ingredients can be coupled to biodegradable polymers that control the release of the active ingredient, for example, polylactic acid, polyglycolic acid, copolymers of polylactic and polyglycolic acid, polyepsilon caprolactone, polyhydroxy butyric acid, polyorthoesters, polyacetals, polydihydropyrans, polycynacrylates and cross-linked or amphiphatic block copolymers of hydrogels.

The active ingredients can also be formulated as ocular eye drops. See PCT application WO 99/38827 (Cook et al), published August 5, 1999 (herein incorporated by reference) for a more detailed description of the other ingredients in ocular eye drop formulations, suitable dosing schemes for such formulations and methods for preparing such formulations. Suitable eyedrop formulations are those which are isotonic and maintain sufficient contact with the eye surface to systemically deliver the active ingredient to the patient. The ocular preparation can be a solid insert, such as one which, after dispensing the active ingredient, remains essentially intact, or a bioerodible insert that is soluble in lacrimal fluids, or otherwise disintegrates. See PCT application WO 99/38827 (Cook et al), published August 5, 1999 (herein incorporated by reference) for a more detailed description of solid insert embodiments. The ocular preparation can also be in the form of an ointment which is compounded, for example, by mixing finely milled powdered ingredients with a small amount of petrolatum (e.g., white petrolatum) and

WO 02/072132

PCT/US02/06969

levigating or otherwise mixing until a uniform distribution is achieved with the balance of the petrolatum being added by geometric addition until the desired dosage form is made.

The active ingredients can also be formulated for intranasal delivery. See Mousa et al, "Intranasal Antiplatelet/Antithrombotic Efficacy of a Novel Platelet GPIIb/IIIa Receptor Antagonist DMP755," *Thromb. Res.* (1998) 92:115-124, which is incorporated by reference.

The HCII agonists and a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonists when administered as a combined dosage or when administered as separate dosages in combination can be used to prevent, moderate, minimize, reduce or otherwise treat a variety of disease states or conditions that require inhibition of platelet aggregation and thrombin generation. The combined use of heparin cofactor II agonists and a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonists according to the present invention is especially beneficial where the risk of hemorrhagic side effects (e.g., prolonged bleeding) and potential antigenic responses need to be avoided or at least minimized.

The combined use of HCII agonists and a GPIIb/IIIa receptor antagonists according to the present invention can be used to treat or prevent various arterial and venous thrombo-embolic disorders and disease states. Disorders and disease states that the present invention can be useful in treating or preventing include, but are not limited to, acute coronary syndromes (e.g., angina), myocardial infarction, pulmonary embolism, deep vein thrombosis, stroke, as well as antigenic reactions or responses caused by heparin, hirudin and other similar derivatives, such as heparin-induced thrombocytopenia (the allergic reaction caused by treatment with heparin).

The combined use of HCII agonists and a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonists according to the present invention can be used to various clinical or surgical procedures where platelet aggregation and thrombin generation can be a potential problem. These procedures include but are not limited to cardiopulmonary bypass surgery, extracorporeal membrane oxygenation procedures, coronary artery bypass graft surgery, percutaneous transluminal coronary angiography procedures (e.g., where stent thrombosis is a particular problem), and similar procedures.

WO 02/072132

PCT/US02/06969

While specific embodiments of the present invention have been described, it will be apparent to those skilled in the art that various modifications thereto can be made without departing from the spirit and scope of the present invention as defined in the appended claims.

WO 02/072132

PCT/US02/06969

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A pharmaceutical combination, which comprises:
 - (a) a heparin cofactor II agonist; and
 - 5 (b) a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist;
 - (c) the amount of a heparin cofactor II agonist and the amount of the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist combined being therapeutically effective to inhibit thrombin generation and platelet aggregation.
- 10 2. The combination of claim 1 wherein heparin cofactor II agonist is a sulfated polysaccharide.
3. The combination of claim 2 wherein the sulfated polysaccharide is dermatan sulfate having more than about 25% repeating L-iduronic acid→4,6-di-O-sulfated N-
15 acetyl-D-galactosamine disaccharide units.
4. The combination of claim 3 wherein the dermatan sulfate has more than about 50% repeating L-iduronic acid→4,6-di-O-sulfated N-acetyl-D-galactosamine disaccharide units.
20
5. The combination of claim 3 wherein the dermatan sulfate has a molecular weight of from about 1,000 Daltons to about 60,000 Daltons.
6. The combination of claim 5 wherein the dermatan sulfate has more than about
25 75% repeating L-iduronic acid→4,6-di-O-sulfated N-acetyl-D-galactosamine disaccharide units.
7. The combination of wherein the dermatan sulfate has a molecular weight of from about 2,500 to about 37,500 Daltons.
30

WO 02/072132

PCT/US02/06969

8. The combination of claim 3 wherein the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist is a cyclic heptapeptide selected from the group consisting of Mpr-(Acetimidyl-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂, Mpr-(Acetimidyl-Lys)-Cly-Asp-Trp-Phe-Pen-NH₂, Mpr-(Phenylimidyl-Lys)-gly-asp-Trp-Phe-Pen-NH₂, and Mpr-(Phenylimidyl-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂, wherein Mpr is mercapto propionyl.

9. The combination of claim 3 wherein the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist is selected from the group consisting of [3(R)-[2-piperidin-4yl)ethyl]-2-piperidone-1]acetyl-3(R)-methyl-b-alanine, 2(S)-[(p-toluenesulfonyl)amino]amino]-3-[[[5,6,7,8- tetrahydro-4-oxo-5-[2-(piperidin-4-yl)ethyl]-4H-pyrazolo-[1,5-a][1,4]diazepin-2-yl]carbonyl]-amino]propionic acid, 5-[(4-piperidinyl)methoxy]-2-indolecarbonyl-2(S)-phenylsulfonyl-amino-b-alanine, 2-S-(n-butylsulfonylamino)-3[4-piperdin-4-yl]butyloxypheyl]propionic acid hydrochloride, (R)-methyl-3-[[[3-[4-(aminoiminomethyl)phenyl]-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]acetyl]amino]-N-(butoxycarbonyl)-L-alanine monoacetate, xemlofiban, orbofiban, eptifibatide and mixtures thereof.

10. The combination of claim 1 wherein the amount of at least one of the heparin cofactor II agonist and the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist is a subtherapeutic amount.

11. The combination of claim 10 wherein the amount of each of the heparin cofactor II agonist and the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist is a subtherapeutic amount.

12. A method for inhibiting platelet aggregation and thrombin generation, which comprises the step of administering to a mammal in need thereof a combined therapeutically effective amount of a heparin cofactor II agonist and a platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist.

13. The method of claim 12 wherein the heparin cofactor II agonist and the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist are each administered as separate doses.

WO 02/072132

PCT/US02/06969

14. The method of claim 12 wherein the heparin cofactor II agonist and the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist are administered as a combined dose.
- 5 15. The method of claim 12 wherein the amount administered of at least one of the heparin cofactor II agonist and the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist is a subtherapeutic amount.
16. The method of claim 15 wherein the amount administered of each of the heparin
10 cofactor II agonist and the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist is a subtherapeutic amount.
17. The method of claim 12 wherein the heparin cofactor II agonist is a dermatan sulfate having more than about 25% repeating L-iduronic acid→4,6-di-O-sulfated N-acetyl-D-galactosamine disaccharide units and wherein the platelet glycoprotein IIB/IIIA
15 receptor antagonist is selected from the group consisting Mpr-(Acetimidyl-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂, Mpr-(Acetimidyl-Lys)-Cly-Asp-Trp-Phe-Pen-NH₂, Mpr-(Pheylimidyl-Lys)-gly-asp-Trp-Phe-Pen-NH₂, and Mpr-(Phenylimidyl-Lys)-Gly-Asp-Trp-Phe-Cys-NH₂, wherein Mpr is mercapto propionyl, [3(R)-[2-piperidin-4yl)ethyl]-2-piperidone-
20 1]acetyl-3(R)-methyl-b-alanine, 2(S)-[(p-toluenesulfonyl)amino]amino]-3-[[[5,6,7,8-tetrahydro-4-oxo-5-[2-(piperidin-4-yl)ethyl]-4H-pyrazolo-[1,5-a][1,4]diazepin-2-yl]carbonyl]-amino]propionic acid, 5-[(4-piperidinyl)methoxy]-2-indolecarbonyl-2(S)-phenylsulfonyl-amino-b-alanine, 2-S-(n-butylsulfonylamino)-3[4-piperdin-4-yl]butyloxyphenyl]propionic acid hydrochloride, (R)-methyl-3-[[[3-[4-
25 (aminoiminomethyl)phenyl]-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]acetyl]amino]-N-(butoxycarbonyl)-L-alanine monoacetate, xemlofiban, orbofiban, eptifibatide and mixtures thereof.
18. The method of claim 17 wherein the dermatan sulfate has more than about 75% repeating L-iduronic acid→4,6-di-O-sulfated N-acetyl-D-galactosamine disaccharide
30 units.

WO 02/072132

PCT/US02/06969

19. The method of claim 12 wherein the administration step comprises injecting the heparin cofactor II agonist and the platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist into the mammal.

20. The method of claim 19 wherein the mammal is a human.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/06969
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) :A61K 35/12 US CL :514/11 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/11 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAS ONLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5,922,690 A (VAN GORP et al.) 13 July 1999, see entire document.	1-20
Y	US 5,635,477 A (DEGRADO et al.) 03 June 1997, see entire document.	1-20
Y	WO 99/38827 A1 (COOK et al.) 05 August 1999, see entire document.	1-20
Y	WALENGA et al. Clinical Experience with Combined Treatment of Thrombin Inhibitors and GPIIb/IIIa Inhibitors in Patients with HIT. Seminars in Thrombosis and Hemostasis. 1999, Vol. 25, Suppl. 1, pages 77-81.	1-20
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reasons (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 29 JUNE 2002		Date of mailing of the international search report 05 AUG 2002
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer PETER G. O'SULLIVAN Telephone No. (703) 308-1225

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)*

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/06968
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Chem. abstr., Vol. 121, 1994, (Columbus, OH, USA), the abstract No. 170096, NICOLINI, et al., 'Combination of Platelet Fibrinogen Receptor Antagonist and Direct Thrombin Inhibitor at Low Doses Markedly Improves Thrombolysis.' Circulation. 1994, 89(4), 1502-9 (English).	I-20

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/551	A 6 1 K 31/551	
A 6 1 K 31/737	A 6 1 K 31/737	
A 6 1 K 38/00	A 6 1 P 7/02	
A 6 1 P 7/02	A 6 1 K 37/02	

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

(72) 発明者 ヴァン ゴープ, コーニリアス エル
 アメリカ合衆国 オハイオ州 45066 スプリングボロー ポイント オーウッズ コート
 8439

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA20 BA01 BA08 BA17 BA25 MA02 MA66 NA06 NA07
 NA14 ZA54 ZB21
 4C086 AA01 AA02 BC21 BC67 CB11 GA07 GA12 MA02 MA04 NA06
 NA07 ZA54 ZB21