


PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

| | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 51/08, 47/48</p> | A2 | <p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/24482</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 11. Juni 1998 (11.06.98)</p> |
| <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/06518</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 24. November 1997 (24.11.97)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 196 52 374.5 4. Dezember 1996 (04.12.96) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Müllerstrasse 178, D-13342 Berlin (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DINKELBORG, Ludger [DE/DE]; Emdenzeile 5, D-13585 Berlin (DE). SPECK, Ulrich [DE/DE]; Fürstendamm 20, D-13465 Berlin (DE). HILGER, Christoph-Stephan [DE/DE]; Ostender Strasse 3a, D-13353 Berlin (DE). BLUME, Friedhelm [DE/DE]; Nußhägerstrasse 47t, D-13505 Berlin (DE).</p> | <p>(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p> | |
| <p>(54) Title: USE OF ENDOTHELIN CONJUGATES IN THERAPY, NEW ENDOTHELIN CONJUGATES, SUBSTANCES CONTAINING THEM, AND PROCESSES FOR PRODUCING THEM</p> <p>(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON ENDOTHELIN-KONJUGATEN IN DER THERAPIE, NEUE ENDOTHELIN-KONJUGATE, DIESE ENTHALTENDE MITTEL, SOWIE VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG</p> <p>(57) Abstract</p> <p>This invention concerns use of conjugates composed of endothelins and active groups for the therapy of blood vessels, as well as new endothelin conjugates, substances containing them, and processes for their production.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die Erfindung betrifft die Verwendung von Konjugaten aus Endothelinen und Wirkgruppen zur Therapie von Gefäßerkrankungen, sowie neue Endothelin-Konjugate, diese Verbindungen enthaltende Mittel und Verfahren zu ihrer Herstellung.</p> | | |

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | | | |
|----|------------------------------|----|-----------------------------------|----|-------------------------------------------------|----|--------------------------------|
| AL | Albanien | ES | Spanien | LS | Lesotho | SI | Slowenien |
| AM | Armenien | FI | Finnland | LT | Litauen | SK | Slowakei |
| AT | Österreich | FR | Frankreich | LU | Luxemburg | SN | Senegal |
| AU | Australien | GA | Gabun | LV | Lettland | SZ | Swasiland |
| AZ | Aserbaidschan | GB | Vereinigtes Königreich | MC | Monaco | TD | Tschad |
| BA | Bosnien-Herzegowina | GE | Georgien | MD | Republik Moldau | TG | Togo |
| BB | Barbados | GH | Ghana | MG | Madagaskar | TJ | Tadschikistan |
| BE | Belgien | GN | Guinea | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | | | TR | Türkei |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | ML | Mali | TT | Trinidad und Tobago |
| BJ | Benin | IE | Irland | MN | Mongolei | UA | Ukraine |
| BR | Brasilien | IL | Israel | MR | Mauretanien | UG | Uganda |
| BY | Belarus | IS | Island | MW | Malawi | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada | IT | Italien | MX | Mexiko | | |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan | NE | Niger | UZ | Usbekistan |
| CG | Kongo | KE | Kenia | NL | Niederlande | VN | Vietnam |
| CH | Schweiz | KG | Kirgisistan | NO | Norwegen | YU | Jugoslawien |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | NZ | Neuseeland | ZW | Zimbabwe |
| CM | Kamerun | | | PL | Polen | | |
| CN | China | KR | Republik Korea | PT | Portugal | | |
| CU | Kuba | KZ | Kasachstan | RO | Rumänien | | |
| CZ | Tschechische Republik | LC | St. Lucia | RU | Russische Föderation | | |
| DE | Deutschland | LI | Liechtenstein | SD | Sudan | | |
| DK | Dänemark | LK | Sri Lanka | SE | Schweden | | |
| EE | Estland | LR | Liberia | SG | Singapur | | |

Verwendung von Endothelin-Konjugaten in der Therapie, neue Endothelin-Konjugate, diese enthaltende Mittel, sowie Verfahren zu deren Herstellung

Die Erfindung betrifft den in den Patentansprüchen gekennzeichneten Gegenstand, das
5 heißt die Verwendung von Konjugaten aus an Endothelin-Rezeptoren bindenden
Resten und Wirkgruppen zur Therapie von Erkrankungen.

Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung von Konjugaten aus
Endothelinderivaten, Teilsequenzen von Endothelinen, Endothelin-Analoga oder
10 Endothelin-Antagonisten und einer Wirkgruppe zur Therapie von Gefäßerkrankungen.

Ein weitere Aspekt der Erfindung betrifft neue Endothelin-Konjugate, diese
Verbindungen enthaltende Mittel und Verfahren zu ihrer Herstellung.

15 Herz-Kreislauserkrankungen sind eine der weitverbreitetsten Krankheiten in den
Industrienationen. Sie stellen eine der häufigsten Todesursachen dar. In den
allermeisten Fällen werden Herz-Kreislauserkrankungen durch die Atherosklerose
hervorgerufen. Diese ist eine entzündliche, fibroproliferative Erkrankung, die für 50%
aller Todesfälle in den USA, Europa und Japan verantwortlich ist (Ross 1993, Nature
20 362: 801-809). Mit ihrer peripheren Ausprägung bedroht sie den Erhalt der
Extremitäten, mit ihrer koronaren Manifestation besteht das Risiko des tödlichen
Herzinfarkts und mit supraaortalem Befall droht der Schlaganfall.

Eine Behandlung der Atherosklerose erfolgt derzeit auf unterschiedlichen Wegen. So
25 hat sich neben den konservativen Maßnahmen (z. B. die Senkung des
Cholesterinspiegels im Blut) und der Bypass-Operation, auch die mechanische
Dilatation (Angioplastie) sowie die intravasale Entfernung atheromatösen Gewebes
(Atherektomie) verengter Segmente in peripheren Arterien und den Koronarien als
Alternative im klinischen Alltag etabliert.

30 Wie nachfolgend ausgeführt, sind die genannten Methoden jedoch mit einer Vielzahl
von Nachteilen behaftet.

So wird der Wert mechanisch rekanalisierender Verfahren akut durch
35 Gefäßverschlüsse in Folge von Gefäßeinrissen und -dissektionen sowie akuten
Thrombosen beeinträchtigt (Sigwart et al. 1987, N. Engl. J. Med. 316: 701-706). Der
langfristige Erfolg wird durch das Wiederauftreten von Einengungen (Restenosen)
gefährdet. So ergab die CAVEAT-Studie, daß von 1012 Patienten die Restenoserate

sechs Monate nach Intervention bei der koronaren Atherektomie 50% und bei der koronaren Angioplastie sogar 57% betrug (Topol et al. 1993, N. Engl. J. Med. 329: 221-227). Weiterhin traten in dieser Studie in 7% der Atherektomie- und in 3% der Angioplastie-Patienten abrupte Gefäßverschlüsse auf. Nicolini und Pepine (1992, 5 Endovascular Surgery 72: 919-940) berichten von einer Restenoserate zwischen 35 und 40% und einer akuten Verschußrate von 4% nach angioplastischen Eingriffen.

Um diesen Komplikationen zu begegnen, wurden verschiedene Techniken entwickelt. Hierzu gehört die Implantation metallischer Endoprothesen (Stents), (Sigwart et al. 10 1987, N. Engl. J. Med. 316: 701-706; Strecker et al., 1990, Radiology 175: 97-102). Die Stentimplantation in großkalibrigen Arterien, z.B. bei Okklusionen in der Beckenachse hat bereits den Rang einer primär anzuwendenden Therapiemodalität erhalten. Der Einsatz von Stents in den Femoralarterien hat dagegen mit einer primären Offenheitsrate von 49% und einer Reokklusionshäufigkeit von 43% 15 enttäuschende Ergebnisse gezeigt (Sapoval et al., 1992, Radiology 184:833-839). Ähnlich unbefriedigende Resultate wurden mit bisher verfügbaren Stents in den Koronararterien erzielt (Kavas et al. 1992, J. Am. Coll. Cardiol 20: 467-474).

Alle bisherigen pharmakologischen und mechanischen Interventionen haben bis heute 20 die Restenose nicht verhindern können (Muller et al. 1992, J. Am. Coll. Cardiol. 19:418-432, Popma et al. 1991, Circulation 84:14226-1436).

Als Ursache für die nach mechanischen Eingriffen häufig auftretenden Restenosen wird angenommen, daß die Eingriffe eine Proliferation und Migration glatter 25 Muskelzellen in der Gefäßwand induzieren. Diese führen zu einer neointimalen Hyperplasie und den beobachteten Restenosen in den behandelten Gefäßabschnitten (Cascells 1992, Circulation 86, 723-729, Hanke et al. 1990, Circ. Res. 67, 651-659, Ross 1986, Nature 362, 801-809, Ross 1993, Nature 362, 801-809).

Ein alternatives Verfahren zur Behandlung von atherosklerotischen Erkrankungen 30 verwendet ionisierende Strahlung. So ist bekannt, daß ionisierende Strahlung die Proliferation von Zellen inhibiert. Eine Vielzahl von neoplastischen und nicht neoplastischen Erkrankungen wurde auf diese Weise bereits behandelt (Fletcher, Textbook of Radiotherapy, Philadelphia, P.A: Lea and Febiger, 1980, Hall, 35 Radiobiology for the Radiologist, Philadelphia, P.A: Lippincott, 1988).

Die Verwendung von außen kommender ionisierender Strahlung auf die Restenose ist jedoch mit dem Nachteil behaftet, daß bei der Applikation die Strahlungsdosis an der

gewünschten Stelle gering ist und darüber hinaus umgebendes (gesundes) Gewebe unerwünschterweise ebenfalls der Strahlung ausgesetzt wird. So verliefen verschiedene Studien bislang wenig erfolgversprechend (Gellmann et al. 1991, Circulation 84 Suppl. II: 46A-59A, Schwartz et al. 1992, J. Am. Coll. Cardiol. 19:1106-1113).

5

Diese Nachteile, die bei der Verwendung von externen Strahlungsquellen auftreten, können überwunden werden, wenn Gammastrahlung z.B. über einen Katheter an die Gefäßbereiche mit Restenose direkt verbracht werden. Durch diese Form der Applikation mit Iridium-192 wird eine hohe Strahlendosis von 20 Gy/h an die Restenoseherde verbracht. Einige Arbeiten berichten von der fast vollständigen Verhinderung der Restenose nach dieser Intervention (Wiedermann et al. 1994, Am. J. Physiol. 267:H125-H132, Böttcher et al. 1994, Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys. 29:183-186, Wiedermann et al. 1994, J. Am. Coll. Cardiol. 23: 1491-1498, Liermann et al 1994, Cardiovasc. Intervent. Radiol. 17: 12-16). Nachteil dieser Methode ist jedoch, daß die hierbei applizierte Strahlendosis von 20 Gy/h sehr hoch ist. Da die Läsionen irregulär an der Gefäßwand verteilt sind, ist eine gleichmäßige Applikation einer definierten Dosis mit Hilfe dieser Technik nicht möglich. Außerdem ist eine Behandlung großkalibriger Gefäße nicht möglich, da bedingt durch den Dosisabfall von der Iridiumquelle die applizierbare Dosis nicht ausreicht.

20

Eine weitere Möglichkeit die Restenose zu inhibieren, ist die Implantation von P-32-beschichteten Stents (Fischell et al. Stents III, Entwicklung, Indikationen und Zukunft, Konstanz: Kollath und Liermann, 1995). In dieser Arbeit reichte eine Aktivität von 0,2 kBq P-32 pro Zentimeter Stentlänge aus (entspricht einer Strahlendosis von 0,25 Gy), um eine maximale Inhibierung der glatten Gefäßmuskelzellen in-vitro zu erreichen. Damit konnte gezeigt werden, daß nicht nur γ - sondern auch β -Emitter die Proliferation glatter Muskelzellen verhindern. Vorteil dieser Methode ist, daß die applizierte Strahlendosis deutlich niedriger als bei allen bisher erwähnten Interventionen ist. Bei dieser geringen Dosis werden die das Gefäßbett auskleidenden Endothelzellen nicht geschädigt (Fischell et al. Stents III, Entwicklung, Indikationen und Zukunft, Konstanz: Kollath und Liermann, 1995). Diese Form der Intervention ist jedoch nur einmal, nämlich bei der Positionierung des Stents möglich. Weiterhin ist sie nur auf solche Interventionen beschränkt, bei denen Stents eingesetzt werden. Die bei den weitaus häufiger angewandten Interventionen wie Atherektomien und Angioplastien auftretenden Restenosen können mit dieser Methode nicht behandelt werden. Durch die geringe Reichweite der β -Strahlung gelingt es nicht, der gesamten Läsion eine gleichmäßige Energiedosis zu verabreichen. Schließlich ist es bis heute ein ungelöstes Problem, Stents stabil mit Isotopen wie z. B. P-32 zu beschichten.

35

Neben der Strahlentherapie werden auch eine Reihe andere therapeutische Strategien zur Inhibierung der neointimalen Hyperplasien (Restenosen) eingesetzt. Diese umfassen klassische Medikamente zur Restenosesuppression wie Antithrombotika, Thrombozytenaggregationshemmer, Calcium-Antagonisten, anti-Entzündungs- und anti-proliferative Substanzen, aber auch gentherapeutische Ansätze. Hierbei ist die Hemmung von Wachstumsstimulatoren z.B. durch Antisense-Oligonukleotide bzw. die Verstärkung inhibierender Faktoren durch Expressions-Vektor-Plasmide und die virusvermittelte Genintegration möglich. Auch Aptamer-Oligonukleotide können zur Inhibierung verschiedener Rezeptoren-vermittelter Prozesse, die bei der Restenose eine entscheidende Rolle spielen, eingesetzt werden.

Mit großer Energie und Sorgfalt wurden über Jahre Substanzen untersucht, die unter streng kontrollierten Bedingungen als Langzeittherapie verabreicht wurden, weil man theoretisch eine Herabsetzung der Restenoserate erhoffte (Herrmann et al., 1993, *Drugs* 46: 18-52).

Mehr als 50 kontrollierte Studien mit unterschiedlichen Substanzgruppen wurden durchgeführt, ohne daß sich der eindeutige Nachweis ergab, daß die geprüften Substanzen die Restenoserate gravierend herabsetzen könnten. Dieses gilt auch für die lokale Applikation, bei der die Substanzen über spezielle Ballonkatheter an den jeweils gewünschten Wirkort gebracht werden. Es hat sich jedoch gezeigt, daß die Substanzen zu schnell aus der Gefäßwand ausgewaschen werden, um therapeutisch wirksam werden zu können. Im Gegenteil werden durch diese druckvermittelten Flüssigkeitsinjektionen zusätzliche Gefäßwandveränderungen induziert, die Restenose-fördernd wirken.

Andere therapeutische Ansätze machen sich zunutze, daß bei atherosklerotischen Erkrankungen eine erhöhte Zellproliferation beobachtet wird. So konnte in jüngeren Untersuchungen bei Zellproliferationsprozessen eine erhöhte Tyrosinkinaseaktivität nachgewiesen werden (Bishop 1987, *Science* 335, 305-314, Ross 1986, *N. Engl. J. Med.* 314, 488-500, Ross 1993, *Nature* 362, 801-809). Durch die Verwendung von spezifischen Inhibitoren von Proteintyrosinkinasen (PTK) sollten die Zellproliferationsprozesse verlangsamt werden.

Die Hemmung der PTK-Aktivität ist jedoch nicht frei von Nebenwirkungen, da PTKs auch für normale Proliferations- sowie Stoffwechselprozesse (z.B. Insulinrezeptor oder NGF-Rezeptor) verantwortlich sind (Levitzki 1992, *FASEB* 6, 3275-3282).

Ein weiteres ungelöstes Problem stellt die ungenügende Verweildauer der PTK-Blocker sowie deren mangelnde Selektivität dar. Weiterhin müssen alle PTK-Blocker die Zellmembran passieren können, um wirksam werden zu können.

5

Neben PTK-Blockern werden auch Cytostatika wie z.B. Cis-diamindichlorplatin (Cisplatin) für die Therapie neoplastischer Erkrankungen eingesetzt (Rozenzweig et al., 1977. Ann. Intern. Med., 86, 803-812). Obwohl Cisplatin sich für die genannte Anwendung als sehr effektives Therapeutikum erweist, verbietet sich die breite Anwendung, da das therapeutische Fenster dieser Substanz durch die verschiedenen zum Teil drastischen systemischen Nebenwirkungen sehr begrenzt ist. Vor allem der nephrotoxische Effekt von renal eliminiertem Cisplatin ist für die limitierte klinische Anwendung dieser Substanz verantwortlich (Dentino et al. 1987, Cancer 41, 1274-1281, Groth et al. 1986, Cancer Chemother. Pharmacol. 17, 191-196).

15

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es daher, Verbindungen zu finden, die zur therapeutischen Behandlung von Herzkreislauf-Erkrankungen, insbesondere zur Behandlung von Gefäßerkrankungen wie z.B der Atherosklerose, geeignet sind und die die Nachteile der Verbindungen des Standes der Technik überwinden.

20

Diese Aufgabe wird durch die vorliegende Erfindung gelöst.

Es wurde gefunden, daß Konjugate aus Endothelinen, und mindestens einer Wirkgruppe hervorragend zur Therapie, insbesondere zur Therapie von Gefäßerkrankungen geeignet sind.

25

Unter dem Begriff Endothelin-Konjugat werden auch Konjugate von Endothelinderivaten, Teilsequenzen von Endothelinen, Endothelin-Analoga oder Endothelin-Antagonisten verstanden.

30

Die Erfindung betrifft somit die Verwendung von Endothelin-Konjugaten zur therapeutischen Behandlung von Gefäßerkrankungen.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft neue Konjugate aus Endothelinen, Endothelinderivaten, Teilsequenzen von Endothelinen, Endothelin-Analoga oder Endothelin-Antagonisten und mindestens einer Wirkgruppe, Verfahren zu deren Herstellung, diese Konjugate enthaltende Mittel, sowie deren Verwendung in der Diagnostik und Therapie.

35

Es wurde gefunden, daß Konjugate aus Endothelinen, Endothelinderivaten, Teilsequenzen von Endothelinen, Endothelin-Analoga oder Endothelin-Antagonisten und einer Wirkgruppe sich in Zellen und Geweben anreichern, in denen vermehrt

5 Endothelinrezeptoren exprimiert sind. Diese Rezeptoren werden insbesondere in atherosklerotischen Ablagerungen (Plaques) angetroffen. Überraschenderweise behalten die Endotheline trotz Kopplung an eine Wirkgruppe ihre hohe Spezifität gegenüber diesen Rezeptoren, so daß auch bei geringer Dosierung eine therapeutisch

10 wirksame Anreicherung der Wirkgruppe am Zielort erreicht werden kann. Auch ist die Verweilzeit der Konjugate lang genug, um den gewünschten therapeutischen Effekt zu erzielen. Die Konzentration in anderen Geweben erreicht bei dieser Dosierung keinen toxischen Bereich, insbesondere auch deswegen, weil die nicht an die glatten Muskelzellen bindenden, Wirkgruppen enthaltenden Konjugate schnell aus dem Körper

15 eliminiert werden und damit die durch ungebundenes Konjugat verursachte Belastung für den Patienten minimal ist. Die beobachteten systemischen Nebenwirkungen sind daher gering.

Überraschenderweise werden darüber hinaus einige der erfindungsgemäßen Konjugate nach Bindung an die Rezeptoren als Substanz-Rezeptor Komplex in die Zelle

20 aufgenommen. Somit gelingt es nicht nur, die Wirkgruppen gezielt an den Krankheitsherd zu transportieren, sondern auch intrazellulär zu deponieren. Vor allem bei solchen Wirkgruppen, welche weniger gut verträglich sind und vornehmlich intrazellulär ihre Wirkungen erzielen, ist dies für eine Therapie von entscheidendem Vorteil.

25

Als Endotheline, Endothelin-Derivate, Teilsequenzen von Endothelinen, Endothelin-Analoga oder Endothelin-Antagonisten seien beispielhaft die folgenden Strukturen genannt:

30

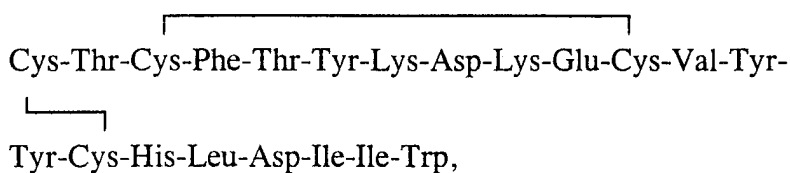
Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

└──┬──┘
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

35

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Trp-Leu-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

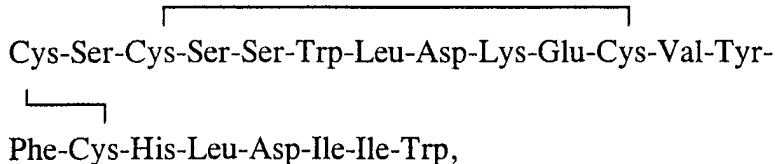
└──┬──┘
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,



Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

Tyr-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

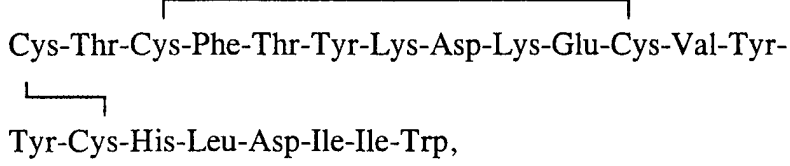
5



Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Trp-Leu-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,


10



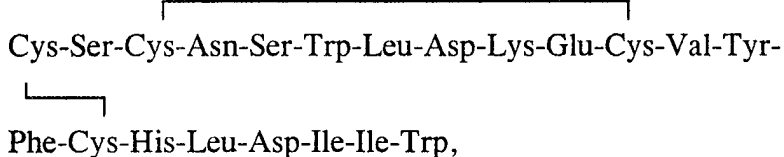
Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

Tyr-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-



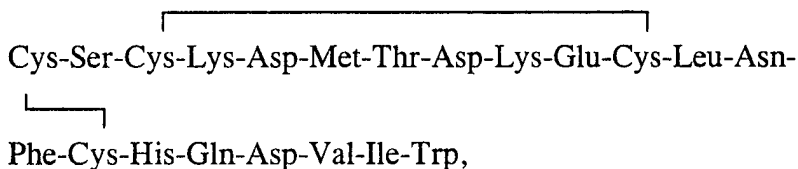
15 Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,



Cys-Ser-Cys-Asn-Ser-Trp-Leu-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

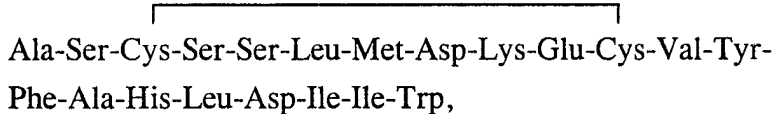
20



Cys-Ser-Cys-Lys-Asp-Met-Thr-Asp-Lys-Glu-Cys-Leu-Asn-

Phe-Cys-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

25



Ala-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-


Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ala-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-

Trp,

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Trp-Leu-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-

30 Trp,



Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

N-Acetyl-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

35 (DTrp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cyclo-(DTrp-DAsp-Pro-DVal-Leu),

Cyclo-(DGlu-Ala-alloDIle-Leu-DTrp),

Cyclo(D-Trp-D-Asp-Pro- α -(2-thienyl)-D-Gly-Leu),

H-Gly-Asn-Trp-His-Gly-Thr-Ala-Pro-Asp-Trp-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH,

Cys-Thr-Cys-Asn-Asp-Met-Tyr-Ala-Glu-Glu-Cys-Leu-Asn-

5

Phe-Cys-His-Glu-Asp-Val-Ile-Trp,

Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ac-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Suc-Asp-Glu-Glu-Ala-Val-Thr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

10

Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Asp-Leu-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

15

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

Phe-Cys-His-Leu-Thr- γ -methyl-Leu-Ile-Trp,

20

Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ac-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ac-D-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ile-Ile-Trp,

Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

25

Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ac-D-Bhg-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp, worin Bhg für einen 10,11-Dihydro-5 H-dibenzo-[a,d]-cycloheptenglycin-Rest steht,

Ac-D-Bip-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp, worin Bip für einen 4,4'-Biphenylalanin-Rest steht oder ein 4-t-Butyl-N-[6-(2-hydroxy-ethoxy)-5-(3-methoxy-phenoxy)-4-pyrimidinyl-

30

benzolsulfonamid-,

4-t-Butyl-N-[6-(1', 2'-dihydroxy-propyloxy)-5'-(2-methoxy-phenoxy)-2-methoxy-4-pyrimidinyl-benzolsulfonamid-,

4-t-Butyl-N-[6'-(2'-hydroxy-ethoxy)-5-(2-methoxy-phenoxy)-2,2'-bipyrimidin-4-yl-benzenylsulfonamid-,

35

27-O-Caffeoylmyriceron- oder ein

2(R)-[2-(R)-[2(S)-[[1-(hexahydro-1H-azepinyl)]carbonyl]amino-4-

methylpentanoyl]amino-3-[1-methyl-1H-indonyl]propinonyl]amino-3-(2-pyridyl)propionsäure-Rest.

Als Wirkgruppen kommen infrage Antikörper, Antikörperfragmente, Peptide, Kohlenhydrate, Oligonukleotide, Hormone oder Chemotherapeutika. Die Wirkgruppen können aber auch radioaktive Metallisotope und deren Metallkomplexe sowie
5 radioaktive Isotope verschiedener Nichtmetalle sein, wobei letztere entweder direkt oder über einen geeigneten Rest an das Endothelin gebunden sind.

Erfindungsgemäß verwendbar sind Konjugate mit einer oder mehreren, vorzugsweise 1 bis 10 Wirkgruppen bzw. Wirkstoffmolekülen.

10

Als Chemotherapeutika seien beispielhaft genannt Vinblastin, Doxorubicin, Bleomycin, Methotrexat, 5-Fluoruracil, 6-Thioguanin, Cytarabin, Cyclophosphamid und Cisplatin, sowie weitere konventionelle Chemotherapeutika (siehe z.B. Cancer: Principles and Practice of Oncology, 2nd ed., V.T. De Vita, Jr., S. Hellman, S.A. Rosenberg, J.B. Lippincot Co., Philadelphia, PA, 1985, Kapitel 14). Unter den
15 genannten bevorzugt ist Cisplatin.

Als Wirkgruppe geeignet sind weiterhin in experimentellen Studien verwendeten Arzneimittel, wie z.B. Mercaptopurin, N-Methyl-Formamid, 2-Amino-1,3,4-
20 thiadiazol, Melphalan, Hexamethylmelanin, Dichlormethotrexat, Mitoguzon, Sumarin, Bromdeoxyuridin, Ioddeoxyuridin, Semustin, 1-(2-Chlorethyl)-3-(2,6-dioxo-3-piperidyl)-1-nitrosoharnstoff, N,N'-Hexamethylen-bis-acetamid, Azacitidin, Dibromdulcitol, Erwinia-Asparaginase, Ifosfamid, 2-Mercaptoethansulfonat, Teniposid, Taxol, 3-Deazauridin, löslicher Baker's Folsäureantagonist,
25 Homoharringtonin, Cyclo-Cytidin, Acivicin, ICRF-187, Spiromustin, Levamisol, Chlorozotocin, Aziridinylnbenzochinon, Spirogermanium, Aclarubicin, Pentostatin, PALA, Carboplatin, Amsacrin, Caracemid, Iproplatin, Misonidazol, Dihydro-5-azacytidin, 4'-Deoxy-doxorubicin, Menogaril, Triciribinphosphat, Fazarabin, Tiazofurin, Teroxiron, Ethiofos, N-(2-Hydroxyethyl)-2-nitro-1H-imidazol-1-acetamid,
30 Mitoxantron, Acodazol, Amonafid, Fludarabinphosphat, Pibenzimol, Didemnin B, Merbaron, Dihydroleuperon, Flavon-8-essigsäure, Oxantrazol, Ipomeanol, Trimetrexat, Deoxyspergualin, Echinomyzin und Dideoxycytidin (vgl., NCI Investigational Drugs, Pharmaceutical Data 1987, NIH Publicatin No. 88-2141, Revised November 1987).

35

Als Wirkgruppe geeignet sind weiterhin Anti-Thrombotika wie z.B. Heparin, Hirudin, low molecular weight Heparin oder Marcumar; Wachstumsfaktorenhemmer wie z.B. Anti-PDGF, [z.B. Triazolopyrimidin (Trapidil®)]; Thrombozytenaggregationshemmer

wie z.B. RGD - Peptide, die an GP IIb/IIIa-Rezeptor - binden, Acetylsalicylsäure (Aspirin[®]), Dipyridamol, Thrombin, Gerinnungskaskadenhemmer wie z. B. Faktor VIIa oder Xa Inhibitoren; Anti-Inflammatorika wie z.B. Kortikoide oder nicht steroidale Anti-Inflammatorika; Ca-Antagonisten wie z.B. Verapamil, Nifedipin oder
5 Diltiazem; Lipid-Senker wie z.B. Simvastatin oder Probucol; Anti-Proliferativa wie z.B. Colchizin, Angiopeptin, Estradiol oder ACE-Hemmer (z. B. Ramipril[®]); Antisense-Oligonukleotide; Aptamer-Oligonukleotide; PTK-Blocker wie z.B. Quercetin, Genistein, Erbstatin, Lavendustin A, Herbimycin A oder Aeoplysinin-1
10 oder synthetische PTK-Blocker wie z.B. Tyrphostine, S-Aryl-Benzyldenmalononitril-Verbindungen oder Benzyldenmalononitril (BMN)-Verbindungen.

Als Wirkgruppen kommen insbesondere infrage Radionuklide enthaltende Gruppen. Erfindungsgemäß einsetzbare Radionuklide umfassen Alpha-, Beta- und/oder Gamma-Strahler, Positronen-Strahler, Auger-Elektronen-Strahler und Fluoreszenz-Strahler,
15 wobei beta- oder alpha-Strahler für therapeutische Zwecke bevorzugt sind.

Entsprechende Radionuklide sind dem Fachmann bekannt. Beispielhaft genannt seien die Radionuklide der Elemente Ag, As, At, Au, Ba, Bi, Br, C, Co, Cr, Cu, F, Fe, Ga, Gd, Hg, Ho, I, In, Ir, Lu, Mn, N, O, P, Pb, Pd, Pm, Re, Rh, Ru, Sb, Sc, Se, Sm,
20 Sn, Tb, Tc oder Y.

Die Bindung des Radionuklids an den Endothelin-Rest erfolgt entweder direkt oder - insbesondere bei metallischen Radionukliden, wie z.B. einem Nuklid der Elemente Ag, As, Au, Bi, Cu, Ga, Gd, Hg, Ho, In, Ir, Lu, Pb, Pd, Pm, Pr, Re, Rh, Ru, Sb,
25 Sc, Se, Sm, Sn, Tb, Tc oder Y - über einen entsprechenden Komplexbildner, der an das Endothelin gekoppelt ist.

Geeignete Endothelin-Konjugate mit Metallkomplexen werden u.a. von Dinkelborg et al. [J. N. M. 36 (1995) 102] sowie in der DE-43 01 871 und DE-44 25 778
30 beschrieben. Die Konjugate finden dort bei der Diagnose von Erkrankungen, insbesondere bei der Diagnose der Atherosklerose Anwendung.

Da bei β -Emittern der Dosisabfall sehr steil ist, sind Isotope die sowohl β - als auch γ -Strahlung emittieren (wie z.B. Rheniumisotope) besonders bevorzugt.

35

Konjugate mit Radionukliden, die γ -Strahlung emittieren eignen sich ferner, da ihre Dosierung leicht mit radiodiagnostischen Methoden überwacht werden kann.

Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

Tyr-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

5 Cys-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Asn-Ser-Trp-Leu-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

10 Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Lys-Asp-Met-Thr-Asp-Lys-Glu-Cys-Leu-Asn-

15 Phe-Cys-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

Ala-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-
Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

20 Ala-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-
Trp,

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Trp-Leu-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-
Trp,

Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

25 N-Acetyl-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,
His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cyclo-(DTrp-DAsp-Pro-DVal-Leu),

Cyclo-(DGlu-Ala-alloDlle-Leu-DTrp),

30 Cyclo(D-Trp-D-Asp-Pro- α -(2-thienyl)-D-Gly-Leu),

H-Gly-Asn-Trp-His-Gly-Thr-Ala-Pro-Asp-Trp-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-
Trp-OH,

Cys-Thr-Cys-Asn-Asp-Met-Tyr-Ala-Glu-Glu-Cys-Leu-Asn-

35 Phe-Cys-His-Glu-Asp-Val-Ile-Trp,
Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ac-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Suc-Asp-Glu-Glu-Ala-Val-Thr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

┌──────────┐
Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Asp-Leu-Ile-Ile-Trp,

5 Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

┌──┐
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

┌──────────┐
Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

10 ┌──┐
Phe-Cys-His-Leu-Thr- γ -methyl-Leu-Ile-Trp,

(DTrp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ac-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

15 Ac-D-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ile-Ile-Trp,

Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp

20 Ac-D-Bhg-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp, worin Bhg für einen 10,11-Dihydro-5 H-dibenzo-[a,d]-
cycloheptenglycin-Rest steht,

Ac-D-Bip-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp, worin Bip für einen 4,4'-Biphenylalanin-Rest steht oder
ein 4-t-Butyl-N-[6-(2-hydroxy-ethoxy)-5-(3-methoxy-phenoxy)-4-pyrimidinyl-
benzolsulfonamid-,

25 4-t-Butyl-N-[6-(1', 2'-dihydroxy-propyloxy)-5'-(2-methoxy-phenoxy)-2-methoxy-4-
pyrimidinyl-benzolsulfonamid-,

4-t-Butyl-N-[6'-(2'-hydroxy-ethoxy)-5-(2-methoxy-phenoxy)-2,2'-bipyrimidin-4-yl-
benzenylsulfonamid-,

27-0-Caffeoylmyriceron- oder ein

30 2(R)-[2-(R)-[2(S)-[[1-(hexahydro-1H-azepinyl)]carbonyl]amino-4-

methylpentanoyl]amino-3-[1-methyl-1H-indonyl]propinonyl]amino-3-(2-
pyridyl)propionsäure-Rest.

Als Wirkgruppe W¹ seien genannt die Radionuklid der Elemente At, Ba, Br, C, F, N,
O oder P.

35

Die Wirkgruppe (W¹) kann sich aber auch ableiten von Chemotherapeutika,
Antikörpern, Antikörperfragmenten, Peptiden, Kohlenhydraten, Oligonucleotiden,
PTK-Blockern, Anti-Thrombotika, Wachstumsfaktorenhemmer, Arzneimittel,

Thrombozytenaggregationshemmer, Anti-Inflammatorika, Ca-Antagonisten, Lipidsenkern oder Anti-Proliferativa. Dabei können jeweils ein oder mehr, vorzugsweise 1 bis 10 Wirkgruppen an den Endothelinrest gebunden sein. Die Bindung kann gegebenenfalls auch über entsprechende Linker erfolgen.

5

Als Chemotherapeutika seien beispielhaft genannt Vinblastin, Doxorubicin, Bleomycin, Methotrexat, 5-Fluoruracil, 6-Thioguanin, Cytarabin, Cyclophosphamid und vorzugsweise Cisplatin.

10

Als Arzneimittel seien beispielhaft genannt Mercaptopurin, N-Methyl-Formamid, 2-Amino-1,3,4-thiadiazol, Melphalan, Hexamethylmelanin, Dichlormethotrexat, Mitoguazon, Sumarin, Bromdeoxyuridin, Ioddeoxyuridin, Semustin, 1-(2-Chlorethyl)-3-(2,6-dioxo-3-piperidyl)-1-nitrosoharnstoff, N,N'-Hexamethylen-bis-acetamid, Azacitidin, Dibromdulcitol, Erwinia-Asparaginase, Ifosfamid, 2-

15

Mercaptoethansulfonat, Teniposid, Taxol, 3-Deazauridin, löslicher Baker's Folsäureantagonist, Homoharringtonin, Cyclo-Cytidin, Acivicin, ICRF-187, Spiromustin, Levamisol, Chlorozotocin, Aziridinylbenzochinon, Spirogermanium, Aclarubicin, Pentostatin, PALA, Carboplatin, Amsacrin, Caracemid, Iproplatin, Misonidazol, Dihydro-5-azacytidin, 4'-Deoxy-doxorubicin, Menogaril,

20

Triciribinphosphat, Fazarabin, Tiazofurin, Teroxiron, Ethiofos, N-(2-Hydroxyethyl)-2-nitro-1H-imidazol-1-acetamid, Mitoxantron, Acodazol, Amonafid, Fludarabinphosphat, Pibenzimol, Didemnin B, Merbaron, Dihydrolenperon, Flavon-8-essigsäure, Oxantrazol, Ipomeanol, Trimetrexat, Deoxyspergualin, Echinomyzin oder Dideoxycytidin.

25

Als Wirkgruppe geeignet sind weiterhin Anti-Thrombotika wie z.B. Heparin, Hirudin, low molecular weight Heparin oder Marcumar; Wachstumsfaktorenhemmer wie z.B. Anti-PDGF, [z.B. Triazolopyrimidin (Trapidil[®])]; Thrombozytenaggregationshemmer wie z.B. RGD - Peptide, die an GP IIb/IIIa-Rezeptor - binden, Acetylsalizylsäure

30

(Aspirin[®]), Dipyridamol, Thrombin, Gerinnungskaskadenhemmer wie z. B. Faktor VIIa oder Xa Inhibitoren; Anti-Inflammatorika wie z.B. Kortikoide oder nicht steroidale Anti-Inflammatorika; Ca-Antagonisten wie z.B. Verapamil, Nifedipin oder Diltiazem; Lipid-Senker wie z.B. Simvastatin oder Probucol; Anti-Proliferativa wie z.B. Colchizin, Angiopeptin, Estradiol oder ACE-Hemmer (z.B. Ramipril[®]);

35

Antisense-Oligonukleotide; Aptamer-Oligonukleotide; PTK-Blocker wie z.B. Quercetin, Genistein, Erbstatin, Lavendustin A, Herbimycin A oder Aeoplysinin-1 oder synthetische PTK-Blocker wie z.B. Tyrphostine, S-Aryl-Benzylidenmalononitril-Verbindungen oder Benzylidenmalononitril (BMN)-Verbindungen.

Die Verknüpfung der Wirkgruppen mit den Endothelinen erfolgt je nach Wirkgruppe in an sich bekannter Weise.

5 So können Tyrosin-Kinase-Hemmer (PTK-Blocker) vom Typ der Tyrphostine z.B. über ihre phenolischen OH-Gruppen an die Peptide vom Endothelin-Typ gebunden werden, indem diese zunächst mit cyclischen Anhydriden von aliphatischen und aromatischen Dicarbonsäuren verestert werden und anschließend mit dem N-Terminus des Peptids amidverknüpft werden.

10

Die Verknüpfung von Cisplatin an Endotheline erfolgt analog zu der von Bogdanov et al. (Bioconjugate Chem. 7 (1996) 144-149) beschriebenen Methode.

15 Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft Mittel enthaltend ein in Wasser gelöstes, suspendiertes oder emulgiertes Endothelin-Konjugat und die in der Galenik üblichen Zusätze und Stabilisatoren. Sofern das Endothelin-Konjugat als Wirkgruppe einen Komplex mit einem kurzlebigen Radioisotop trägt, werden die entsprechenden Mittel als Kit bereitgestellt, wobei in einem Behälter die Endothelinverbindung gekoppelt an den metallfreien Komplexbildner vorliegt. Zu diesem wird unmittelbar vor der
20 Verabreichung das gewünschte Radioisotop gegeben.

Die Mittel werden bevorzugt intravenös appliziert. So erlaubt diese Applikationsart, daß auch Metastasen oder solche Läsionen, die noch sehr klein sind und diagnostisch nicht erfaßt werden können, aber besonders gut z.B. auf die Therapie mit
25 Tyrosinkinasehemmern, Antimetaboliten oder ionisierender Strahlen ansprechen, gezielt erreicht werden können. Damit können z.B. Gefäßerkrankungen multifokal geheilt werden.

Wie im Beispiel 5 gezeigt wurde, eignen sich die erfindungsgemäßen Substanzen in
30 hervorragender Weise, um über einen Applikationskatheter in großen Mengen und über einen langen Zeitraum gezielt an die Wand eines Blutgefäßes verbracht zu werden.

Die jeweils applizierte Menge richtet sich nach der jeweiligen Wirkgruppe und dem
35 Ausmaß der Ablagerungen. Als orientierender oberer Grenzwert kann ein Wert angenommen werden, wie er auch bei Verabreichung des reinen Wirkstoffs verwendet werden würde. Aufgrund des wirkungsverstärkenden Effekts sowie der Möglichkeit

den Wirkstoff spezifisch (über einen Katheter) einzubringen, liegt die erforderliche Dosis im allgemeinen jedoch weit unter diesem oberen Grenzwert.

5 Handelt es sich bei der Wirkgruppe um ein radioaktiven Rest wird eine Menge verabreicht, die einer Strahlendosis von 1 bis 1000 MBq entspricht.

Überraschender Weise wird jedoch auch die systemische Verträglichkeit hoch potenter Wirkstoffe durch die Bindung an die Endothelin-Rezeptor-affinen Substanzen und Endothelinderivate verbessert. Es kommt zu einer Verminderung der Toxizität für
10 kritische Organe trotz höherer Dosis. Bei Bedarf kann daher in vielen Fällen die Dosis auch über das für den freien Wirkstoff zulässige Maß hinaus erhöht werden, ohne daß eine Endothelinrezeptor-vermittelte Unverträglichkeit oder eine durch den antiproliferativen Wirkstoff vermittelte Unverträglichkeit auftritt.

15 Es wurde weiterhin gegenüber der DE 43 01 871 und DE 44 25 778 gefunden, daß die Endothelinderivate überraschenderweise nicht nur für die Radiotherapie, sondern auch für die Pharmakotherapie ausreichende Konzentration in den Läsionen erreichen und dort eine für therapeutische Zwecke geeignete Verteilung und Aufenthaltsdauer aufweisen. Besonders vorteilhaft ist die außerordentlich rasche und effiziente
20 Aufnahme der Konjugate bei nur kurzzeitigem Kontakt mit dem atherosklerotischen Gefäß, wie er z.B. bei Verabreichung über einen Katheter zustande kommt.

Auf Grund ihrer hohen Endothelin-Rezeptoraffinität eignen sich die Endothelin-Konjugate nicht nur für die Therapie von Herz-Kreislaufkrankungen wie z.B. der
25 myokardialen Ischämie, dem kongestiven Herzversagen, Herzrhythmusstörungen, instabiler Angina, Herzinfarkt, Bluthochdruck, der Atherosklerose und der Restenose sondern auch z.B. bei der Behandlung von bronchokonstruktiven Erkrankungen wie Pulmonarhochdruck und Asthma, neuronalen Erkrankungen wie Hirninfarkt, cerebralen Vasospasmen und subarachnoiden Hämorrhagien, endokrinalen
30 Erkrankungen wie Präeklampsie, renalen Erkrankungen, Gefäßerkrankungen wie der Buergerischen Erkrankung, der Takayasu'schen Arteritis, dem Raynaudschen Phänomen, Mikro- und Makroangiopathien und allen Formen diabetischer Erkrankungen, neoplastischen Erkrankungen insbesondere dem Leiomyom, pulmonaren und Prostata-Karzinomen, Magenmukosaverletzungen, gastrointestinalen
35 Veränderungen, endotoxischem Schock, Septikämie sowie bakteriellen und sonstigen Entzündungen, daß heißt bei allen Erkrankungen bei denen der Endothelinspiegel sowie die Expression der Endothelin-Rezeptoren verändert sind (Doherty 1992, J. Med. Chem. 35, 1493-1508, Dashwood et al. 1991, J. Cardiovasc. Pharmacol. 17,

Suppl. 7: 458-462, Zeiher et al. 1994, Lancet 344: 1405-1406, Winklers et al. 1993, Biochem. Biophys. Res. Commun. 191: 1081-1088, Ari et al. 1990, Nature 348: 732-735, Goto and Warner 1995, 375: 539-540, Kowala et al. 1995, Am. J. Pathol. 4: 819-827, Douglas et al. 1995, Cardiovascular Research 29: 641-646).

5

Die nachfolgenden Beispiele dienen der näheren Erläuterung des Erfindungsgegenstandes, ohne ihn auf diese beschränken zu wollen.

Beispiel 1

a) *NHS-Ester des N',N',N''',N'''-Tetrakis(tert.-butyloxycarboxy-methyl)-N''-(hydroxy-carboxy-methyl)-diethylen-triamins*

5

6,178 g (10 mmol) N',N',N''',N'''-Tetrakis(tert.-butyloxycarboxy-methyl)-N''-(hydroxy-carboxy-methyl)-diethylen-triamin und 1,15 g (10 mmol) N-Hydroxy-succinimid werden in 90 ml absolutem Dimethylformamid gelöst. Anschließend tropft man 2,063 g (10 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid, gelöst in 10 ml absoluten
10 Dimethylformamid, zum Reaktionsgemisch. Man rührt 30 min bei Raumtemperatur, filtriert und erhält eine 0.1 molare Lösung des NHS-Esters. Diese wird für die folgenden Kopplungsreaktionen ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

b) *NH₂-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

15

Die Synthese von NH₂-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH erfolgte durch Festphasensynthese in Analogie zu E. Atherthon und R.C. Sheppard (Solid phase Peptide synthesis, a practical approach, IRL Press, Oxford, New York, Tokyo, 1989).

20 c) *N-[N',N',N''',N'''-Tetrakis(hydroxy-carboxy-methyl)-N''-(carboxy-methyl)-diethylin-triamino]-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

524,6 mg (0,5 mmol) NH₂-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH (Beispiel 1b) werden in 100 ml absolutem Dimethylformamid in Gegenwart von 202,4 mg (2 mmol)
25 Triethylamin in Lösung gebracht. Unter Argonatmosphäre tropft man 10 ml einer 0.1 molaren Lösung des NHS-Esters des N',N',N''',N'''-Tetrakis(tert.-butyloxycarboxy-methyl)-N''-(hydroxy-carboxy-methyl)-diethylen-triamins (hergestellt wie unter Beispiel 1a beschrieben) hinzu und rührt das Reaktionsgemisch 6 h bei Raumtemperatur. Anschließend wird filtriert und das Lösungsmittel im Feinvakuum verdampft. Zur Spaltung der tert.-Butylester wird der weiße Rückstand mit 150 ml
30 eines Gemisches aus Trifluoressigsäure: Anisol: Ethandithiol (95:2,5:2,5) behandelt. Anschließend wird im Feinvakuum bei Raumtemperatur aufkonzentriert (ca. 15-20 ml) und auf 150 ml absoluten Diethylether gegossen. Der weiße Niederschlag wird abgesaugt und durch Chromatographie an Kieselgel RP-18 (Eluent: A: Wasser / 0.1%
35 Trifluoressigsäure B: Acetonitril / 0.1% Trifluoressigsäure; Gradient: 0% B auf 100% B) aufgereinigt.

Ausbeute: 80,2 mg (11,3%) weißes Pulver

Molekulargewicht: ber.: 1424,58 gef.: 1425 (FAB-MS)

d) *In-111-Komplex des N-[N',N',N''',N'''-Tetrakis-(hydroxycarboxy-methyl)-N''-(carboxy-methyl)-diethylen-triamino]-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

5 1 mg N-[N',N',N''',N'''-Tetrakis (hydroxy-carboxy-methyl)-N''-(carboxy-methyl)-diethylin-triamino]-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH (Beispiel 1c) wird in 1 ml 0.1 molarer Natriumacetat-Lösung (pH = 6) gelöst und mit 1 mCi Indium-111-trichlorid-Lösung (Amersham) versetzt. Man läßt das Reaktionsgemisch 10 min bei Raumtemperatur stehen. Die Markierungsausbeute wird durch HPLC-Analytik
10 bestimmt und ist größer 95 %.

e) *Y-90-Komplex des N-[N',N',N''',N'''-Tetrakis (hydroxy-carboxy-methyl)-N''-(carboxy-methyl)-diethylen-triamino]-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

15 1 mg N-[N',N',N''',N'''-Tetrakis (hydroxy-carboxy-methyl)-N''-(carboxy-methyl)-diethylen-triamino]-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH (Beispiel 1c) wird in 1 ml 0.1 molarer Natriumacetat-Lösung (pH=6) gelöst und mit 1 mCi Yttrium-90-trichlorid (Amersham) versetzt. Man läßt das Reaktionsgemisch 10 min bei Raumtemperatur stehen. Die Markierungsausbeute wird durch HPLC-Analytik
20 bestimmt und ist größer 94 %.

Beispiel 2

25 a) *N-(8-Amino-1-oxo-octyl)-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

Die Synthese von N-(8-Amino-1-oxo-octyl)-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH erfolgte durch Festphasensynthese in Analogie zu E. Atherton und R.C. Sheppard (Solid phase Peptide synthesis, a practical approach, IRL Press, Oxford, New York,
30 Tokyo, 1989).

b) *N-[N',N',N''',N'''-Tetrakis (hydroxy-carboxy-methyl)-N''-(carboxy-methyl)-diethylin-triamino]-[(8-amino-1-oxo-octyl)-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH]*

35 566,7 mg (0,5 mmol) (8-Amino-1-oxo-octyl)-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH (Beispiel 2a) werden in 100 ml absolutem Dimethylformamid in Gegenwart von 202,4 mg (2 mmol) Triethylamin in Lösung gebracht. Unter Argonatmosphäre tropft man 10 ml einer 0.1 molaren Lösung des NHS-Esters des N',N',N''',N'''-Tetrakis(tert.-

butyloxycarboxy-methyl)-N''-(hydroxy-carboxy-methyl)-diethylen-triamins (hergestellt wie unter Beispiel 1a beschrieben) hinzu und rührt das Reaktionsgemisch 6 h bei Raumtemperatur. Anschließend wird filtriert und das Lösungsmittel bei Raumtemperatur im Feinvakuum verdampft. Zur Spaltung der tert.-Butylester wird der weiße Rückstand mit 150 ml eines Gemisches aus Trifluoressigsäure:Anisol:Ethandithiol (95:2,5:2,5) behandelt. Anschließend wird im Feinvakuum bei Raumtemperatur aufkonzentriert (ca. 15-20 ml) und auf 150 ml absoluten Diethylether gegossen. Der weiße Niederschlag wird abgesaugt und durch Chromatographie an Kieselgel RP-18 (Eluent: A: Wasser / 0.1% Trifluoressigsäure B: Acetonitril / 0.1% Trifluoressigsäure; Gradient: 0% B auf 100% B) aufgereinigt. Ausbeute: 135,2 mg (17,9%) weißes Pulver
Molekulargewicht: ber.: 1508,74
gef.: 1509 (FAB-MS)

c) *In-111-Komplex des N-[N',N',N''',N''']-Tetrakis-(hydroxycarboxy-methyl)-N''-(carboxy-methyl)-diethylen-triamino]-[(8-amino-1-oxo-octyl)-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH]*

1 mg N-[N',N',N''',N''']-Tetrakis-(hydroxycarboxy-methyl)-N''-(carboxy-methyl)-diethylen-triamino]-[(8-amino-1-oxo-octyl)-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH] (Beispiel 2b) wird in 1 ml 0.1 molarer Natriumacetat-Lösung (pH = 6) gelöst und mit 1 mCi Indium-111-trichlorid-Lösung (Amersham) versetzt. Man läßt das Reaktionsgemisch 10 min bei Raumtemperatur stehen. Die Markierungsausbeute wird durch HPLC-Analytik bestimmt und ist größer 94%.

25

d) *Y-90-Komplex des N-[N',N',N''',N''']-Tetrakis-(hydroxycarboxy-methyl)-N''-(carboxy-methyl)-diethylen-triamino]-[(8-amino-1-oxo-octyl)-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH]*

1 mg des N-[N',N',N''',N''']-Tetrakis-(hydroxycarboxy-methyl)-N''-(carboxy-methyl)-diethylen-triamino]-[(8-amino-1-oxo-octyl)-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH] (Beispiel 2b) wird in 1 ml 0.1 molarer Natriumacetat-Lösung (pH=6) gelöst und mit 1 mCi Yttrium-90-trichlorid-Lösung (Amersham) versetzt. Man läßt das Reaktionsgemisch 10 min bei Raumtemperatur stehen. Die Markierungsausbeute wird durch HPLC-Analytik bestimmt und ist größer 97%.

35

Beispiel 3

a) *NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

5 Die Synthese von *NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH* erfolgte durch Festphasensynthese in Analogie zu E. Atherton und R.C. Sheppard (solid phase Peptide synthesis, a practical approach, IRL Press, Oxford, New York, Tokyo, 1989).

10 b) *Rhenium-186-Komplex von NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

1 mg *NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH* in 600 μ l Phosphatpuffer (Na_2HPO_4 , 0,5 mol/l, pH=8,5) werden mit 100 μ l einer 0.15 molaren Trinatriumcitratdihydrat-Lösung, 500 μ Ci 186-Perrhenat-Lösung und abschließend mit
15 5 μ l einer 0.2 molaren Zinn(II)chlorid-Dihydratlösung versetzt. Man inkubiert 10 min bei Raumtemperatur. Die Analytik der Markierung erfolgt mittels HPLC.

20 **Beispiel 4**

a) *NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

Die Synthese von *NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*
25 erfolgte durch Festphasensynthese in Analogie zu E. Atherton und R.C. Sheppard (solid phase Peptide synthesis, a practical approach, IRL Press, Oxford, New York, Tokyo, 1989).

b) *Rhenium-186-Komplex von NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*
30

1 mg *NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH* in 600 μ l Phosphatpuffer (Na_2HPO_4 , 0,5 mol/l, pH=8,5) werden mit 100 μ l einer 0.15 molaren Trinatriumcitratdihydrat-Lösung, 500 μ Ci 186-Perrhenat-Lösung und abschließend mit
35 5 μ l einer 0.2 molaren Zinn(II)chlorid-Dihydratlösung versetzt. Man inkubiert 10 min bei Raumtemperatur. Die Analytik der Markierung erfolgt mittels HPLC.

Beispiel 5

a) *^{99m}Tc-Komplex von Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp*

5 0,5 mg des Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp [hergestellt wie in Beispiel 3 a) beschrieben] werden in 300 µl Phosphatpuffer (Na₂HPO₄ 0,5 mol/l, pH 8,5) werden mit 50 µl einer 0,15 molaren Trinitriumcitratdihydrat-Lösung und 2,5 µl einer 0,2 molaren Zinn(II)Chlorid-Dihydrat-Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wird mit einer Pertechetatlösung (0,4 bis 0,9 mCi) aus einem
10 Mo-99/Tc-99m-Generator versetzt, 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Analytik der Markierung erfolgt über HPLC.

b) *Lokale Applikation des Tc-99m-Komplex von NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH sowie von Tc-99m-Pertechetat in die A.-carotis comunis von weißen Neuseeländer Kaninchen.*
15

An narkotisierten weißen Neuseeländer Kaninchen (3,5 kg) wurde die A. carotis comunis dextra freigelegt. Über einem Schnitt wurde ein 2 F Ballonkatheter (Fa. Baxter) cranial eingeführt und ein ca. 5 cm langer Gefäßbereich zweimal nach
20 Inflation des Katheters mit 0.9 %iger Saline denudiert. Anschließend wurde ein Applikationskatheter (Coronary Perfusion/Infusion Catheter, Dispatch 3.0, Fa. Baxter) zum zuvor denudierten Bereich geführt. 0.9 ml mit einer Aktivität von entweder 7,4 MBq Tc-99m-NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH [hergestellt wie in 5 a) beschrieben] oder Tc-99m-Pertechetat wurden lokal
25 appliziert. Anschließend wurde der Katheter entfernt und der Blutfluß nach Verschuß der A.-carotis comunis dextra mittels Gefäßnaht wiederhergestellt. Über einen Zeitraum von 1 h wurden dynamische Szintigramme mit Hilfe einer handelsüblichen Gammakamera angefertigt. Anschließend wurden die Tiere getötet, beide Carotiden entnommen und eine Autoradiographie angefertigt.

30

Im Falle von Tc-99m-NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH konnten ca. 5 % der injizierten Dosis lokal an die denudierte Arterie verbracht werden. Die applizierte Aktivität nahm über den Untersuchungszeitraum nur unerheblich ab. Hingegen gelang eine lokale Applikation von Tc-99m-Pertechetat
35 nicht, da die gesamte lokal applizierte Aktivität unmittelbar nach Regeneration des Blutflusses aus dem Gefäß gespült wurde (siehe Fig. 1 und 2).

- Figur 1 zeigt ein anteriores Summationsszintigramm der dynamischen Studie 0 -1 h nach lokaler Applikation des Tc-99m-Komplex von NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH (Bild A), sowie von Tc-99m-Pertheneat (Bild B). Während das lokal applizierte Tc-99m-NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH über den Untersuchungszeitraum von 1 h nach Wiederherstellung des Blutflusses an der Applikationsstelle verbleibt (A, Pfeil), wird Tc-99m-Pertheneat (Bild B) unmittelbar nach Wiederherstellung des Blutflusses aus der Gefäßwand gespült und akkumuliert in den Speicheldrüsen sowie der Schilddrüse.
- Figur 2 zeigt den Verlauf der Aktivität (cpm/s) von Tc-99m-NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH in der A. carotis communis dextra nach lokaler Applikation über der Zeit. Die Aktivität wurde über einen Zeitraum von 1 h nach lokaler Applikation durch eine dynamische Studie aufgezeichnet. Während des Untersuchungszeitraumes nahm die lokal applizierte Menge von Tc-99m-NH₂-Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH nur marginal ab.

Beispiel 6

- In vivo und in vitro Anreicherung des ^{99m}Tc-Komplex von Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp in WHHL-Kaninchen*
- 2 mCi (1ml) des gemäß 5a) hergestellten Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp ^{99m}Tc-Komplexes werden einem narkotisierten WHHL-Kaninchen (Rompun/Ketavet 1:2) über eine Ohrvene appliziert. WHHL-Kaninchen weisen aufgrund eines fehlenden oder defekten LDL-Rezeptors hohe LDL-Spiegel im Blut auf und bilden daher spontan atherosklerotische Gefäßveränderungen aus. Während des Versuchszeitraums von 5 h nach der Applikation wurden statische Aufnahmen verschiedener Belichtungszeiten und aus verschiedenen Positionen mit einer Gammakamera (Elcint SP4HR) angefertigt. 5 Stunden nach der Applikation wurde das Kaninchen getötet und sowohl eine Autoradiographie der Aorta als auch eine Sudan - III-Färbung durchgeführt. Die atherosklerotischen Plaques im Bereich des Aortenbogens von WHHL-Kaninchen konnte 10 min p.i. in vivo dargestellt werden. Die anschließend durchgeführte Autoradiographie ergab eine Akkumulation von 3930 cpm/mm² atherosklerotischen Läsionen und eine Akkumulation von 380 cpm/mm² in der makroskopisch unveränderten Aorta. Der Anreicherungsfaktor zwischen normalen und atherosklerotischen Wandbereichen betrug 14.

Beispiel 7*Verknüpfung von Erbstatin mit H₂N-Gly-Phe-(DTrp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

5

1,79 g (0,01 Mol) Erbstatin wird in 100 ml Methylenchlorid gelöst, Stickstoffatmosphäre angelegt und 1 g (0,01 Mol) Bernsteinsäureanhydrid sowie 1,74 ml (0,01 Mol) Diisopropylethylamin zugesetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. In diese Lösung wird 1,15 g (0,01 Mol) N-Hydroxysuccinimid (NHS) in
10 fester Form zugegeben und nach dessen Auflösung eine Lösung von 2,06 g (0,01 Mol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCCI) in 20 ml Methylenchlorid zugetropft. Wieder wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, das Filtrat 2 mal mit 1%iger Zitronensäure und 1 mal mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat
15 getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird in wenig Methylenchlorid gelöst und der restliche ausgefallene Dicyclohexylharnstoff abfiltriert. Das Filtrat wird eingeengt und der Rückstand in DMF aufgenommen. Es wird 10,5 g (0,01 Mol) H₂N-Gly-Phe-(DTrp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH zugesetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird im Feinvakuum eingeengt und der Rückstand über Kieselgel
20 mit dem Laufmittelsystem Methylenchlorid/Methanol (Gradient von 3% auf 20% Methanol) chromatografiert.

Ergebnis: 3,14 g (24% d.Th.) hellgelbe Kristalle

Molekulargewicht ber.: 1310,47

gef.: 1310 m/e (FAB-MS)

25

Elementaranalyse:

ber.: C 62,3% H 6,4% N 11,8% O 19,5%

gef.: C 61,8% H 6,3% N 11,4%

30

Beispiel 8*2-Acetyloxybenzoyl-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

35 524,6 mg (0,5 mmol) NH₂-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH (Beispiel 1b) werden in 100 ml absolutem DMF in Gegenwart von 202,4 mg (2 mmol) Triethylamin in Lösung gebracht. Unter Stickstoffatmosphäre tropft man eine Lösung von 1,39 g Acetylsalicylsäure-N-Hydroxysuccinimidester (5 mmol) in 10 ml DMF zu und läßt über

Nacht bei Raumtemperatur rühren. Die Reaktionsmischung wird am Feinvakuum eingeeengt, mit Wasser versetzt und 30 min gerührt. Anschließend wird das Wasser und leichtflüchtige Komponenten am Feinvakuum entfernt und der Rückstand direkt über RP-18-Kieselgel chromatographiert (Eluent A: Wasser; Eluent B: Acetonitril; Gradient 0 %
 5 B auf 100 % B)

Ausbeute: 86,3 mg (=14,3 % d. Th.) eines weißen Pulvers

Molekulargewicht: ber.: 1212,35
 gef.: 1212 (FAB-MS)

10

Beispiel 9

a) *[21-O-(6 α , 9-Difluor-11 β , 21-dihydroxy-16 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion-
 15 yl)]-2-carboxy-ethylcarbonsäure*

15

3,945 (10 mmol) Diflucortolon und 1,0 g (10 mmol) Bernsteinsäureanhydrid werden unter Argonatmosphäre in 20 ml absolutem Pyridin 1h unter Rückfluß erhitzt. Das erkaltete Reaktionsgemisch wird auf eine Mischung aus Schwefelsäure/Eiswasser gegossen und der Feststoff abfiltriert. Man kristallisiert aus Aceton/n-Hexan um.

20 Ausbeute: 2,42 g (48,9 %) weißes Pulver

Elementaranalyse:

ber.: C 63,15 H 6,52 O 22,65 F 7,68

gef.: C 62,95 H 6,76 F 7,53

25 b) *[21-O-(6 α , 9-Difluor-11 β , 21-dihydroxy-16 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion-
 yl)]-2-carboxy-ethylcarbonsäure-N-hydroxysuccinimidester*

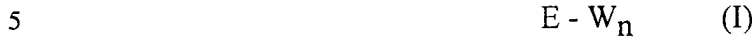
4,95 g (10 mmol) des unter Beispiel 9a) beschriebenen Diflucortolonderivates und 1,15 g (10 mmol) N-Hydroxysuccinimid werden in 90 ml absolutem Dimethylformamid gelöst.
 30 Anschließend tropft man 2,063 g (10 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid, gelöst in 10 ml absolutem Dimethylformamid, zum Reaktionsgemisch. Man rührt 45 min bei Raumtemperatur, filtriert und erhält eine 0,1 molare Lösung des NHS-Esters. Diese wird für die folgenden Kopplungsreaktionen ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

- c) *{[21-O-(6 α , 9-Difluor-11 β , 21-dihydroxy-16 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dionyl)]-2-carboxy-ethylcarboxy}Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH*

524,6 mg (0,5 mmol) NH₂-Gly-Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH (Beispiel 1b)
5 werden in 100 ml absolutem Dimethylformamid in Gegenwart von 202,4 mg (2 mmol) Triethylamin in Lösung gebracht. Unter Argonatmosphäre tropft man 10 ml einer 0,1 molaren Lösung des NHS-Esters (Beispiel 9b) hinzu und rührt das Reaktionsgemisch 14 h bei Raumtemperatur. Anschließend wird filtriert und das Lösungsmittel im Feinvakuum verdampft. Der Rückstand wird durch Chromatographie an RP-18 (Eluent:
10 A: Wasser, B: Acetonitril; Gradient: 0 % B auf 100 % B) aufgereinigt.
Ausbeute: 72,3 mg (9,5 %) weißes Pulver
Molekulargewicht: ber.: 1525,76
gef.: 1526 (FAB-MS)

Patentansprüche

1. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



worin

E für einen Endothelin-Rezeptoren bindenden Rest abgeleitet von Endothelinen, Endothelin-Analoga, Endothelin-Derivaten, Endothelin-Teilsequenzen, Endothelin-
10 Antagonisten steht und

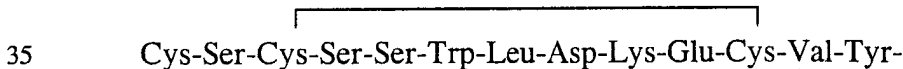
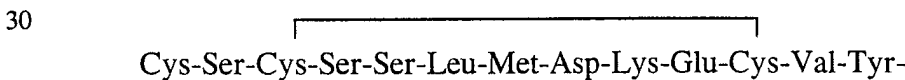
W für eine Wirkgruppe steht, die ein Radionuklid ist oder die abgeleitet ist von einem Chemotherapeutikum, einem Komplex mit radioaktiven Metallisotop, einem Antikörper, Antikörperfragment, Peptid, Kohlenhydrat, Oligonucleotid, PTK-
15 Blocker, Anti-Thrombotikum, Gerinnungskaskadenhemmer, Hormon, Wachstumsfaktorenhemmer, Arzneimittel, Thrombozytenaggregationshemmer, Anti-Inflammatorikum, Ca-Antagonist, Lipidsenker oder einem Anti-Proliferativum und

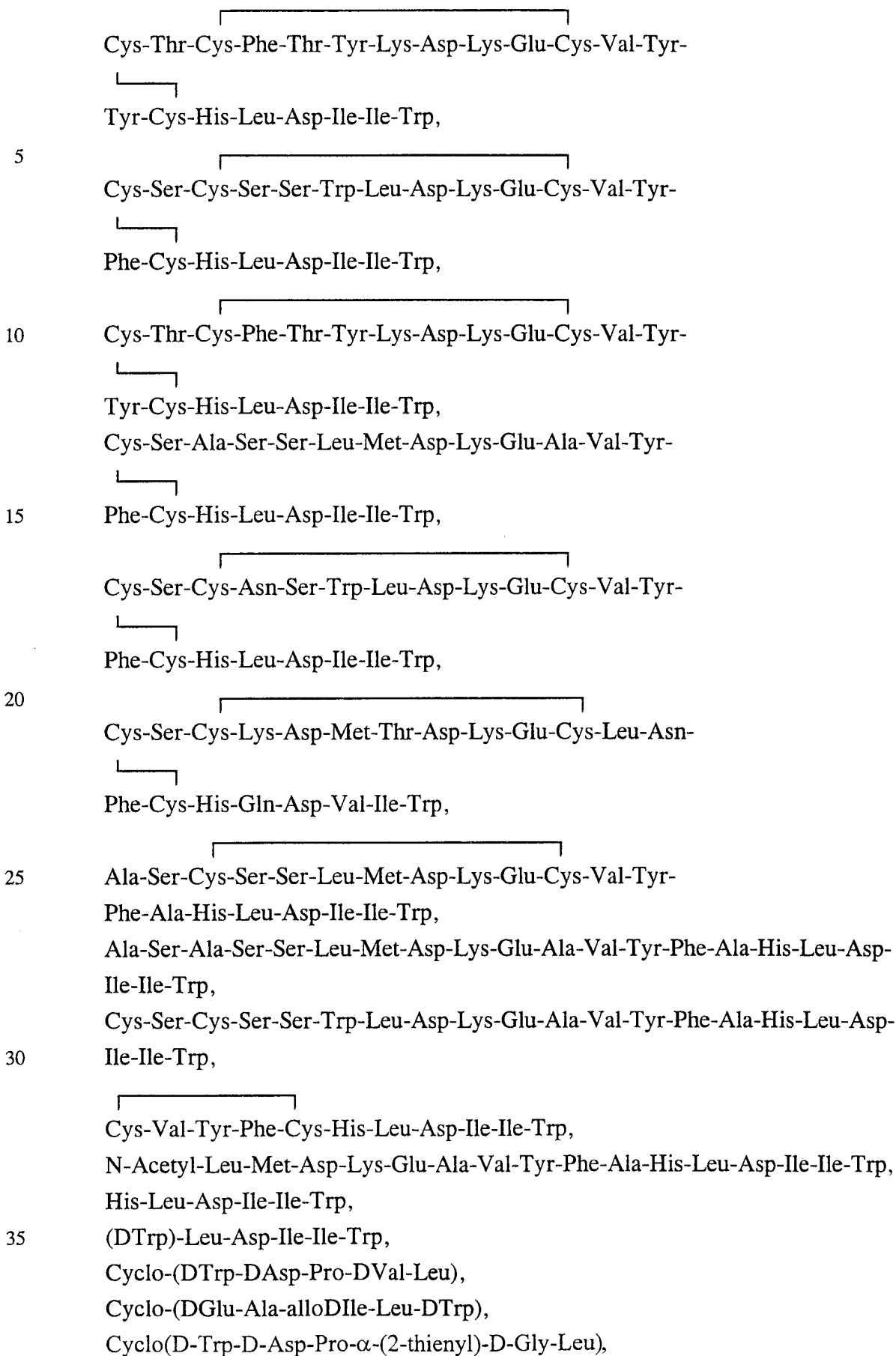
20 n für die Ziffern 1 bis 100, vorzugsweise 1 bis 10 steht,

als Therapeutikum.

2. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel $E - W_n$, worin E, W und n die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutung haben als Therapeutikum zur
25 Behandlung von Gefäßerkrankungen.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, worin der Endothelin-Rezeptor bindende Rest die Struktur





H-Gly-Asn-Trp-His-Gly-Thr-Ala-Pro-Asp-Trp-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-OH,

5 Cys-Thr-Cys-Asn-Asp-Met-Tyr-Ala-Glu-Glu-Cys-Leu-Asn-

Phe-Cys-His-Glu-Asp-Val-Ile-Trp,

Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ac-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Suc-Asp-Glu-Glu-Ala-Val-Thr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

10 Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Asp-Leu-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

15 Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

Phe-Cys-His-Leu-Thr- γ -methyl-Leu-Ile-Trp

20 aufweist oder ein

4-t-Butyl-N-[6-(2-hydroxy-ethoxy)-5-(3-methoxy-phenoxy)-4-pyrimidinyl-benzolsulfonamid-,

4-t-Butyl-N-[6-(1', 2'-dihydroxy-propyloxy)-5'-(2-methoxy-phenoxy)-2-methoxy-4-pyrimidinyl-benzolsulfonamid-,

25 4-t-Butyl-N-[6'-(2'-hydroxy-ethoxy)-5-(2-methoxy-phenoxy)-2,2'-bipyrimidin-4-yl-benzenylsulfonamid-,

27-0-Caffeoylmyriceron- oder ein

2(R)-[2-(R)-[2(S)-[[1-(hexahydro-1H-azepinyl)]carbonyl]amino-4-methylpentanoyl]amino-3-[1-methyl-1H-indonyl]]propinonyl]amino-3-(2-pyridyl)propionsäure-Rest ist.

30

4. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, worin der Endothelin-Rezeptor bindende Rest die Struktur

35

Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ac-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ac-D-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ile-Ile-Trp,

Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ac-D-Bhg-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp, worin Bhg für einen 10,11-Dihydro-5 H-dibenzo-
[a,d]-cycloheptenglycin-Rest steht,

5 Ac-D-Bip-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp, worin Bip für einen 4,4'-Biphenylalanin-Rest steht
oder die Struktur

Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys- Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp
aufweist.

10

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, worin die Wirkgruppe ein Alpha-,
Beta- und/oder Gamma-Strahler, Positronen-Strahler, Auger-Elektronen-Strahler,
Röntgen-Strahler und/oder ein Fluoreszenz-Strahler enthält.

15

6. Verwendung nach Anspruch 5, worin die Wirkgruppe ein Radionuklid der Elemente
Ag, As, At, Au, Ba, Bi, Br, C, Co, Cr, Cu, F, Fe, Ga, Gd, Hg, Ho, I, In, Ir,
Lu, Mn, N, O, P, Pb, Pd, Pm, Re, Rh, Ru, Sb, Sc, Se, Sm, Sn, Tb, Tc oder Y
enthält.

20

7. Verwendung nach Anspruch 5, worin die Wirkgruppen sich ableitet von einem
Metallkomplex eines Radionuklids der Elemente Ag, As, Au, Bi, Cu, Ga, Gd, Hg,
Ho, In, Ir, Lu, Pb, Pd, Pm, Pr, Re, Rh, Ru, Sb, Sc, Se, Sm, Sn, Tb, Tc oder Y.

25

8. Verwendung nach einem der Ansprüch 5 bis 7, worin das Radionuklid ^{188}Re , ^{90}Y
oder ^{111}In ist.

30

9. Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



35

worin

E für einen Endothelin-Rezeptoren bindenden Rest, abgeleitet von Endothelinen,
Endothelin-Analoga, Endothelin-Derivaten, Endothelin-Teilsequenzen, Endothelin-
Antagonisten, steht und

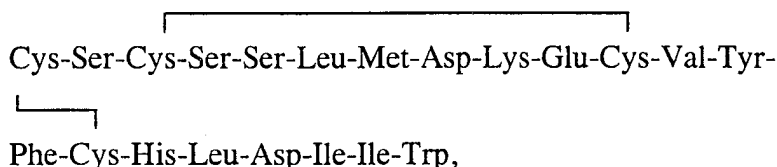
W¹ für eine Wirkgruppe steht, die ein Radionuklid der Elemente At, Ba, Br, C, F, N, O oder P enthält oder die abgeleitet ist von einem Chemotherapeutikum, einem Antikörper, Antikörperfragment, Peptid, Kohlenhydrat, Oligonucleotid, PTK-Blocker, Anti-Thrombotikum, Wachstumsfaktorenhemmer, Arzneimittel, Hormon, Thrombozytenaggregationshemmer, Anti-Inflammatorikum, Ca-Antagonist, Lipidsenker oder einem Anti-Proliferativum und

n für die Ziffern 1 bis 100, vorzugsweise 1 bis 10 steht

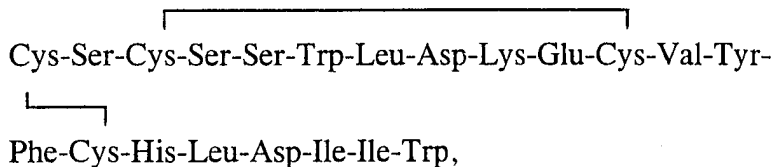
10

10. Verbindungen nach Anspruch 9, worin der Endothelin-Rezeptor bindende Rest die Struktur

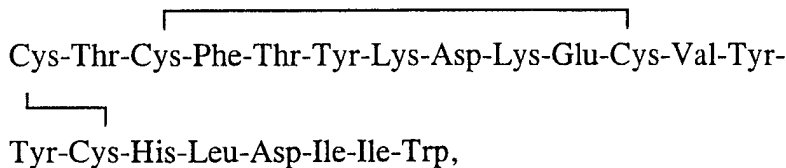
15



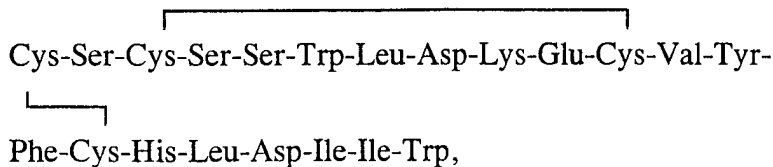
20



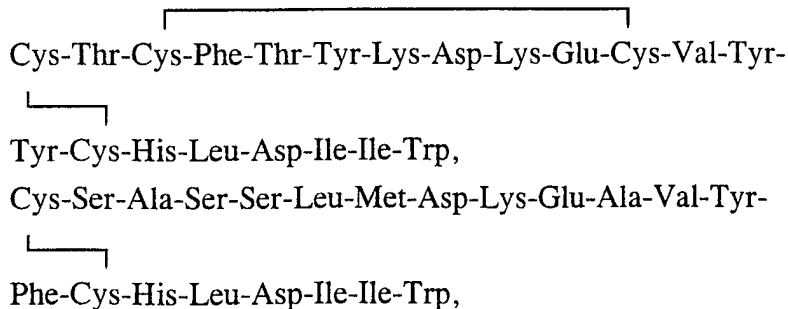
25

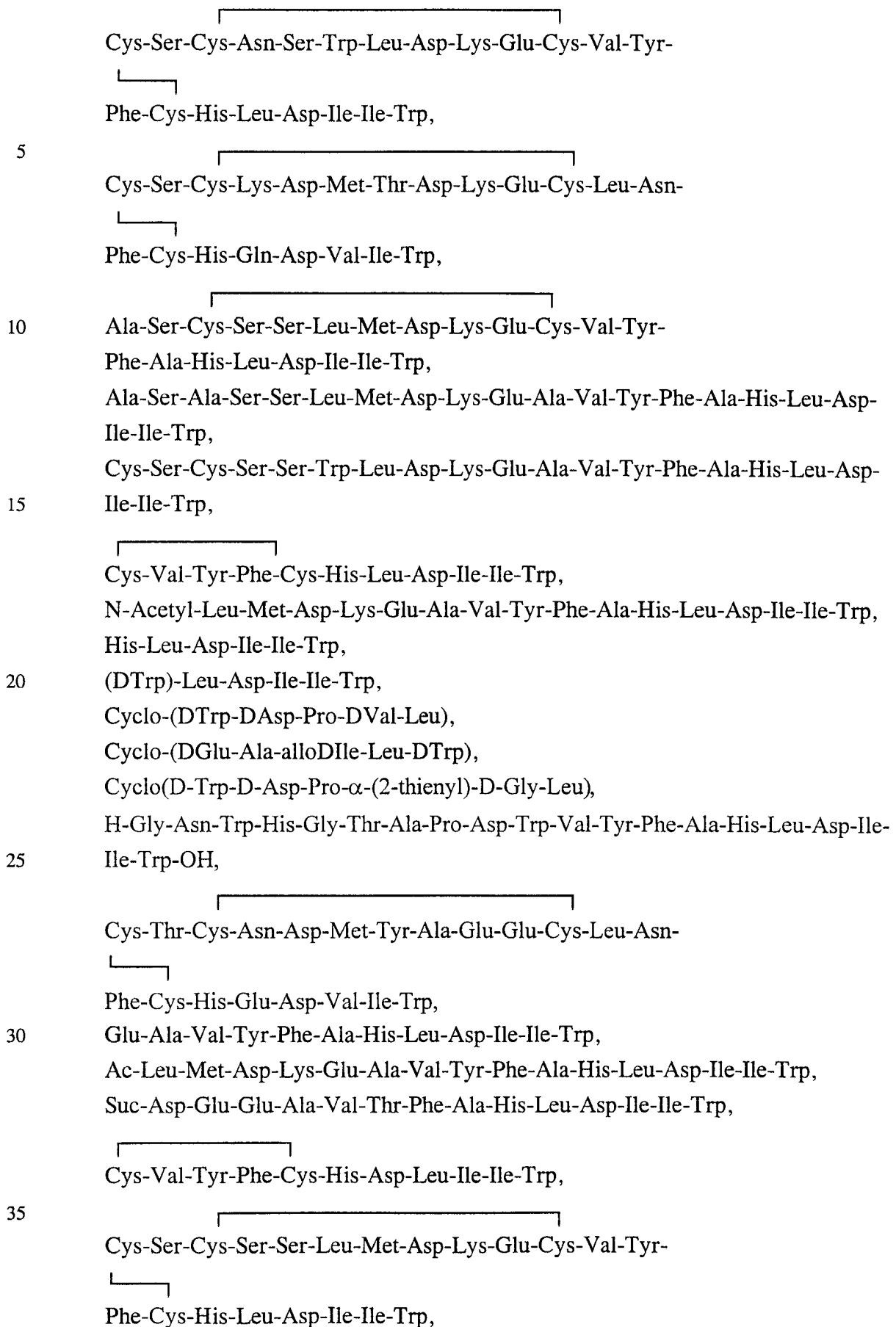


30



35





- ┌──────────────────────────────────┐
 Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-
└──┘
 Phe-Cys-His-Leu-Thr- γ -methyl-Leu-Ile-Trp,
 5 Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,
 Ac-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,
 Ac-D-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,
 Ile-Ile-Trp,
 Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,
 10 Ac-D-Bhg-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp, worin Bhg für einen 10,11-Dihydro-5 H-dibenzo-
 [a,d]-cycloheptenglycin-Rest steht,
 Ac-D-Bip-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp, worin Bip für einen 4,4'-Biphenylalanin-Rest steht
 oder die Struktur
 Asp-Gly-Gly-Cys-Gly-Cys- Phe-(D-Trp)-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp
 15 aufweist oder ein
 4-t-Butyl-N-[6-(2-hydroxy-ethoxy)-5-(3-methoxy-phenoxy)-4-pyrimidinyl-
 benzolsulfonamid-,
 4-t-Butyl-N-[6-(1', 2'-dihydroxy-propyloxy)-5'-(2-methoxy-phenoxy)-2-methoxy-
 4-pyrimidinyl-benzolsulfonamid-,
 20 4-t-Butyl-N-[6'-(2'-hydroxy-ethoxy)-5-(2-methoxy-phenoxy)-2,2'-bipyrimidin-4-
 yl-benzenylsulfonamid-,
 27-0-Caffeoylmyriceron- oder ein
 2(R)-[2-(R)-[2(S)-[[1-(hexahydro-1H-azepinyl)]carbonyl]amino-4-
 methylpentanoyl]amino-3-[1-methyl-1H-indonyl]]propinonyl]amino-3-(2-
 25 pyridyl)propionsäure-Rest ist.
11. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe die ein Radionuklid
 der Elemente At, Ba, Br, C, F, N, O oder P enthält.
 30
12. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe Vinblastin-,
 Doxorubicin-, Belomycin-, Methotrexat-, 5-Fluoruracil-, 6-Thioguanin-, Cytarabin-,
 Cyclophosphamid- oder ein Cisplatin-Rest ist.
 35
13. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von
 einem Quercetin-, Genistein-, Erbstatin-, Lavendustin A-, Herbimycin A-,

Aeoplysinin-1-Tyrphostine-, S-Aryl-Benylidenmalononitril- oder Benzylidenmalononitril-Rest.

- 5 14. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von einem Mercaptopurin-, N-Methyl-Formamid-, 2-Amino-1,3,4-thiadiazol-, Melphalan-, Hexamethylmelanin-, Dichlormethotrexat-, Mitoguazon-, Sumarin-, Bromdeoxyuridin-, Ioddeoxyuridin-, Semustin, 1-(2-Chlorethyl)-3-(2,6-dioxo-3-piperidyl)-1-nitrosoharnstoff-, N,N'-Hexamethylen-bis-acetamid-, Azacitidin-,
10 Dibromdulcitol-, Erwinia-Asparaginase-, Ifosfamid, 2-Mercaptoethansulfonat-, Teniposid-, Taxol-, 3-Deazauridin-, Folsäureantagonist, Homoharringtonin-, Cyclo-Cytidin-, Acivicin-, ICRF-187-, Spiromustin-, Levamisol-, Chlorozotocin-, Aziridinylnbenzochinon-, Spirogermanium-, Aclarubicin-, Pentostatin-, PALA-, Carboplatin-, Amsacrin-, Caracemid-, Iproplatin-, Misonidazol-, Dihydro-5-
15 azacytidin-, 4'-Deoxy-doxorubicin-, Menogaril-, Triciribinphosphat-, Fazarabin-, Tiazofurin-, Teroxiron-, Ethiofos-, N-(2-Hydroxyethyl)-2-nitro-1H-imidazol-1-acetamid-, Mitoxantron-, Acodazol-, Amonafid-, Fludarabinphosphat-, Pibenzimol-, Didemnin B-, Merbaron-, Dihydroolenperon-, Flavon-8-essigsäure-, Oxantrazol-, Ipomeanol-, Trimetrexat-, Deoxyspergualin-, Echinomyzin oder
20 einem Dideoxycytidin-Rest.
15. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von einem Anti-PDGF oder einem Triazolopyrimidin.
25
16. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von einem RGD - Peptid, das an GP IIb/IIIa-Rezeptoren bindet, von einem Acetylsalicylsäure-, Dipyridamol- oder Thrombin-Rest.
30
17. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von Heparin, Hirudin, low molecular weight Heparin oder Marcumar.
35
18. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von Faktor VIIa oder Xa-Inhibitoren.

19. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von einem Kortikoid oder einem nicht steroidalen Anti-Inflammatorikum.
- 5
20. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von Colchizin, Angiopeptin, Estradiol oder einem ACE-Hemmer.
- 10
21. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von Verapamil, Nifedipin oder Diltiazem.
- 15
22. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von Simvastatin oder Probucol.
- 20
23. Verbindung nach Anspruch 9 oder 10, worin die Wirkgruppe sich ableitet von einem Aptamer- oder Antisenseoligonucleotid.
- 25
24. Therapeutische Mittel enthaltend eine Verbindung nach einem der Ansprüche 9 bis 23 gelöst, emulgiert oder suspendiert in einem wäßrigen Medium und die in der Galenik üblichen Hilfsstoffe, Zusätze und/oder Stabilisatoren.

Fig. 1

A

B

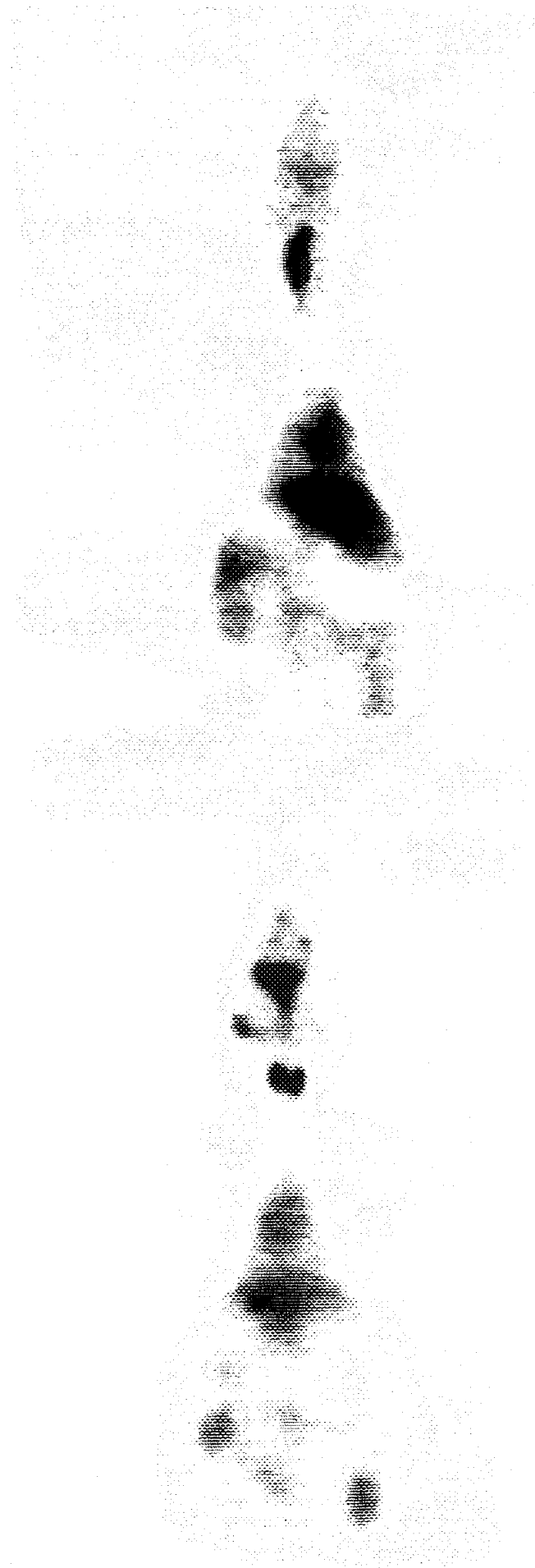


Fig. 2

