



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 21 498 T2 2004.12.02**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 007 055 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 21 498.6**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US98/03614**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 906 688.1**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 98/34622**

(86) PCT-Anmeldetag: **11.02.1998**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **13.08.1998**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **14.06.2000**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **04.02.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **02.12.2004**

(51) Int Cl.7: **A61K 31/66**

A61K 31/13, A61P 43/00

(30) Unionspriorität:
798840 12.02.1997 US

(73) Patentinhaber:
**Medimmune Oncology, Inc., West Conshohocken,
Pa., US**

(74) Vertreter:
Andrae Flach Haug, 81541 München

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

(72) Erfinder:
**STOGNIEW, Martin, Blue Bell, US; SCHEIN, S.,
Philip, Bryn Mawr, US**

(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG VON AMIFOSTIN**

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

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

Beschreibung

Querverweis auf verwandte Anmeldungen

[0001] Die vorliegende Anmeldung ist eine Continuation-in-part-Anmeldung der parallelen anhängigen Anmeldung Serial No. 08/798 840, angemeldet am 12. Februar 1997, die durch Bezugnahme vollständig in diese Anmeldung aufgenommen wird.

1. Einleitung

[0002] Die vorliegende Erfindung betrifft Verfahren zur Verabreichung von Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindungen an eine Person in einer Weise, die die unerwünschten Nebenwirkungen der Verbindungen vermindert oder verringert. Ein Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die subkutane Verabreichung von Amifostin und/oder seinem aktiven Metaboliten an einen Patienten, die schädliche Nebenwirkungen vermindert. Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft Verfahren zur Verabreichung von Amifostin und/oder seinem aktiven Metaboliten an einen Patienten in einer solchen Weise, daß ein charakteristisches pharmakokinetisches Profil erhalten wird. Wenn die Verabreichung gemäß dem charakteristischen pharmakokinetischen Profil erfolgt, leiden die Patienten an weniger negativen Nebenwirkungen.

2. Hintergrund der Erfindung

[0003] Es wurde gezeigt, daß Amifostin (auch bekannt als WR-2721) als Strahlungsschutzmittel bei Krebspatienten, die eine Bestrahlungstherapie erhalten, von Nutzen ist (Constine et al., 1986, "Protection by WR-2721 of Human Bone Marrow Function Following Irradiation" *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 12: 1505–8; Liu et al., 1992, "Use of Radiation with or Without WR-2721 in Advanced Rectal Cancer", *Cancer* 69(11): 2820–5; Wadler et al., 1993, "Pilot Trial von Cisplatin, Radiation and WR-2721 in Carcinoma of Uterine Cervix: A New York Gynecologic Oncology Group Study", *J. Clin. Oncol.* 11(8): 1511-6; Bünzel et al., 1996, "Selectiv Cytoprotection with Amifostin in Simultaneous Radiochemotherapy of Head Neck Cancer", *Ann. Oncol.* 7 (Suppl. 5): 81(3810)). Amifostin ist eine Prodrug, die vor Ort im Gewebe durch alkalische Phosphatase zu dem freien Thiol dephosphoryliert wird, das der aktive Metabolit ist (auch bekannt als WR-1065). Wenn es einmal in der Zelle ist, kann das aktive freie Thiol einen Schutz gegen toxische Wirkungen gewähren, die mit der Bestrahlung verknüpft sind, indem es als Fänger für freie Sauerstoffradikale dient, die durch die ionisierende Strahlung erzeugt werden (Yuhas, 1977, "On the Potential Application of Radioprotective Drugs in Solid Tumor Radiotherapie," in: *Radiation-Drug Interactions in Cancer Management* pp. 303–527 Yuhas, 1973, "Radiotherapy of Experimental Lung Tumors in the Presence and Absence of a Radioprotective Drug 5-2-(3-Aminopropylamino)ethylphosphorothioic Acid (WR-2721); *J. Natl. Cancer Inst.* 50: 69–787 Philips et al., 1984, "Promise of Radiosensitizers and Radioprotectors in the Treatment of Human Cancer", *Cancer Treat. Rep.* 68: 291–302).

[0004] Die Fähigkeit von Amifostin, normales Gewebe selektiv zu schützen, basiert auf dem unterschiedlichen Stoffwechsel und der unterschiedlichen Aufnahme von Amifostin durch normales Gewebe gegenüber Tumorgewebe. Von normalem Gewebe wird Amifostin rasch aufgenommen und zurückgehalten. Unterschiede bezüglich der Kapillarität und der Membran-gebundenen Konzentration an alkalischer Phosphatase und pH zwischen normalen und Tumor-Geweben begünstigen die Umwandlung des Pro-Medikaments und die Aufnahme der aktiven Form von Amifostin, dem freien Thiol, in normalem Gewebe. Verknüpft mit der Tatsache, daß normale Zellen das freie Thiol mit einer rascheren Geschwindigkeit anreichern als Tumoren und dieses für längere Zeiträume zurückhalten, ist Amifostin in der Lage, selektiv normale Gewebe gegen die Toxizitäten zu schützen, die mit der Bestrahlung assoziiert sind, ohne die Antitumor-Reaktion negativ zu beeinträchtigen. Die ausgeprägten Unterschiede bei der Gewebeaufnahme und der Rückhaltung zwischen normalen und Tumorgeweben führt zu einem temporären Zustand einer erworbenen Arzneimittelresistenz in normalem Gewebe, und zwar analog derjenigen, die durch einen Überschuß an endogenem Glutathion erzeugt wird.

[0005] Damit ein Zellschutzmittel bei der Bestrahlungstherapie von Nutzen ist, muß die Verbindung auf einer täglichen Base toleriert werden, und zwar bis zu 4 oder 5 Tage einer Woche über mehrere Wochen, bevor die herkömmlichen Bestrahlungsdosen verabreicht werden. McDonald et al. (McDonald, 1994, "Preliminary Results of a Pilot Study Using WR-2721 Before Fractionated Irradiation of Head and Neck to Reduce Salivary Gland Dysfunction", *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 29(4): 747–547 McDonald et al., 1995, "Amifostine Preserves the Salivary Gland Function During Irradiation of the Head and Neck", *Eur. J. Cancer* 31a (Supp. 5): 415) haben eine Dosissteigerungsstudie von Amifostin und Bestrahlung bei Patienten mit Kopf- und Halskrebs durchgeführt. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß eine tägliche Verabreichung von Amifostin (200 mg/m² mittels einer 6-minütigen intravenösen Infusion) vor der Bestrahlung die Speicheldrüse gegen die Toxizitäten

der Bestrahlung schützt.

[0006] Es wurde auch gezeigt, daß Amifostin das Knochenmarkswachstum stimuliert, und es befindet sich gegenwärtig in klinischen Versuchen der Phase II eines Knochenmarksstimulans bei Patienten, die am myelodysplastischen Syndrom leiden (List et al., 1996, "Amifostine Promotes Multilineage Hematopoiesis in Patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS): Results of a Phase I/II Clinical Trial", *Am. J. Hem.* 1 (Abstract); List et al., 1996, "Aminofostine Promotes in vitro and in vivo Hematopoiesis in Myelodysplastic Syndromes", *Chem. Found. Sympos.* (Abstract); List et al., 1996, "Amifostine Promotes Multilineage Hematopoiesis in Patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS): Results of a Phase I/II Clinical Trial," Abstract, 8th Annual Meeting, American Society of Hematology, Orlando, FL). Bei dieser Studie wird Amifostin per intravenöse Infusion verabreicht.

[0007] Die intravenöse Verabreichung von Amifostin ist mit verschiedenen ernsten Nachteilen belastet. Erstens ist die Verabreichung von Verbindungen intravenös extrem unbequem, insbesondere wenn ein täglicher Dosierungsplan über mehrere Wochen, oder möglicherweise sogar mehrere Monate im Falle von MDS, erforderlich ist, was einen erfahrenen medizinischen Praktiker erfordert, um die Dosis zu verabreichen. Außerdem leiden die Patienten bei einer intravenösen Verabreichung an dosisabhängigen unerwünschten Nebeneffekten wie Übelkeit, Vomitus, Erbrechen und Hypotonie, sowie Hitzewallungen oder einem Gefühl der Wärme, Frösteln, einem Gefühl von Kälte, Schwindel, Schläfrigkeit, Aufstoßen und Niesen. Eine Abnahme der Serum-Calcium-Konzentration ist ein bekannter pharmakologischer Effekt von intravenös verabreichtem Amifostin. Allergische Reaktionen, die von milden Hautrötungen bis zu Schüttelfrost reichen, sind im Zusammenhang mit intravenös verabreichtem Amifostin ebenfalls in seltenen Fällen aufgetreten. Gegenwärtig gibt es keine bekannten Verfahren, außer einer gleichzeitigen Verabreichung von Mitteln wie Antiemetika, um diese unerwünschten Nebenwirkungen zu vermindern oder zu vermeiden. Drittens sind mit einer intravenösen Verabreichung Kosten verbunden, zu denen Personal, die Ausrüstung und die zur Verminderung der Nebenwirkungen erforderlichen medizinischen Maßnahmen gehören.

[0008] Das humane pharmakokinetische Profil von Amifostin wurde bei Krebspatienten im Anschluß an eine einzige intravenöse Bolusdosis untersucht (150 mg/kg) (Shaw et al., 1986, "Human Pharmacokinetics of WR-2721", *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 12: 1501-4), eine einzige 15-minütige intravenöse Infusion (bis zu 910 mg/m²) (Shaw et al., 1988, "Pharmacokinetics of WR-2721", *Pharmac. Ther.* 39: 195-201; Shaw et al., 1994, "Pharmacokinetics of Amifostine in Cancer Patients: Evidence for Saturable Metabolism", *Proc. Amer. Cos. Clin. Oncol.* 13: 144; U.S. Bioscience, 1994, "Pharmacokinetics of Single Dose Amifostine (WR-2721; Ethylol)" ETH PK 3) und wiederholt Infusionen (bis zu 910 mg/m² pro Dosis) (U.S. Bioscience, 1994, "Pharmacokinetics of Double Dose Amifostine (WR-2721; Ethylol) with Corresponding Measurements of WR-1065 in Plasma and Bone Marrow Cells" ETH PK 4). Diese Untersuchungen zeigten, daß Amifostin rasch aus dem Plasma entfernt wird, und zwar mit einer Verteilungs-Halbwertszeit von weniger als 1 Minute und einer Eliminierungshalbwertszeit von etwa 9 Minuten. 6 Minuten nach einer intravenösen Verabreichung blieben weniger als 10% Amifostin im Plasma zurück. Es wurden bisher keine humanen klinischen pharmakokinetischen Untersuchungen unter Verwendung von entweder oral oder subkutan verabreichtem Amifostin durchgeführt.

[0009] Tabachnik berichtet, daß die orale Verabreichung von Amifostin die Viskosität des Auswurfs von Patienten mit cystischer Fibrose vermindert (Tabachnik et al., 1980, "Studies on the Reduction of Sputum Viscosity in Cystic Fibrosis Using an Orally Absorbed Protected Thiol." *J. Pharm. Exp. Ther.* 214: 246-9; Tabachnik et al., 1982, "Protein Binding of N-2-Mercaptoethyl-1,3-Diaminopropane via Mixed Disulfide Formation After Oral Administration of WR-2721" *J. Pharm. Exp. Ther.* 220: 243-6). Diese Untersuchungen haben jedoch nicht gezeigt, daß diese Art der Verabreichung die negativen Nebenwirkungen vermindert, die üblicherweise mit intravenös verabreichtem Amifostin verknüpft sind. Ferner wurde keine Untersuchung des pharmakokinetischen Profils der verabreichten Verbindungen bei diesen Patienten durchgeführt.

3. Kurzdarstellung der Erfindung

[0010] Die vorliegende Erfindung schafft ein Verfahren zur Verabreichung von Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindungen an eine Person, einschließlich Menschen, auf eine solche Weise, die die unerwünschten Nebenwirkungen der Verbindungen vermindert oder verringert. Ein Aspekt der Erfindung betrifft die subkutane Verabreichung einer Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindung an einen menschlichen Patienten. Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft die Verabreichung einer Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindung an einen Patienten auf eine solche Weise, daß ein charakteristisches pharmakokinetisches Profil erhalten wird. Das pharmakokinetische Profil ist allgemein durch einen ersten Abschnitt charakterisiert, in dem die Konzentrationen der verabreichten Verbindung, eines aktiven

Metaboliten davon oder von beiden im Plasma und/oder einem Vollblut allmählich bis auf eine Maximalkonzentration ansteigen, einen zweiten Abschnitt, in dem die maximale Plasma- und/oder Vollblut-Konzentration im wesentlichen aufrechterhalten wird, oder ein Plateau bildet, sowie einen dritten Abschnitt, in dem die Plasma- und/oder Vollblut-Konzentration allmählich Grundlinienwerte abnimmt. Die Geschwindigkeit, mit der die Plasma- und/oder Vollblut-Konzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) auf das Maximalniveau ansteigt, ist ausgeprägt langsamer als diejenige, die bei der herkömmlichen intravenösen Verabreichung verabreicht wird.

[0011] Die Verabreichung von Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindungen gemäß den Verfahren der Erfindung vermindert oder verringert signifikant die negativen oder unerwünschten Nebenwirkungen, an denen Patienten leiden, und zwar im Vergleich mit einer herkömmlichen intravenösen Verabreichung, ohne daß die Wirksamkeit der verabreichten Dosis wesentlich beeinträchtigt ist. Somit können die erfindungsgemäßen Verfahren vorteilhaft in Verbindung mit Behandlungsstrategien zur Zuführung von Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindungen an Patienten angewandt werden, ohne ein Erbrechen, eine Übelkeit, Emesis, Hypotonie oder andere unerwünschten Nebenwirkungen, zu denen, ohne darauf beschränkt zu sein, gehören Hitzewallungen oder Wärmegefühle, Frösteln oder Kältegefühle, Benommenheit, Schläfrigkeit, Aufstoßen, Niesen, verminderte Serum-Calciumspiegel und allergische Reaktionen, die bei der herkömmlichen intravenösen Verabreichung häufig anzutreffen sind.

4. Kurze Beschreibung der Figuren

[0012] Fig. 1 ist eine graphische Darstellung für die Kurven der mittleren Vollblut-Konzentration über die Zeit für Amifostin (Grundmedikament WR-2721 plus aktiver Metabolit WR-1065) im Anschluß an eine subkutane Injektion von 500 mg, eine orale Lösung von 500 mg und eine intravenöse Infusion (über 7,5 Minuten) von 200 mg/m² an 12 Personen, 0 bis 240 Minuten nach der Arzneimittelverabreichung (___ iv; --- sc; ____ oral).

[0013] Fig. 2 ist eine graphische Darstellung der Kurven der mittleren Plasmakonzentration gegen die Zeit für Amifostin (Grundmedikament WR-2721) im Anschluß an eine subkutane Injektion von 500 mg und eine intravenöse Infusion (über 7,5 Minuten) von 200 mg/m² an 12 Personen, 0 bis 240 Minuten nach der Verabreichung des Arzneimittels (___ iv; --- sc).

[0014] Fig. 3 ist eine graphische Darstellung der Kurven der mittleren Serumkonzentration gegen die Zeit für den aktiven Metaboliten (WR-1065) im Anschluß an eine subkutane Injektion von 500 mg, eine orale Lösung von 500 mg und eine intravenöse Infusion (innerhalb von 7,5 Minuten) von 200 mg/m² an 12 Personen, 0 bis 240 Minuten nach der Verabreichung des Medikaments (___ iv; --- sc; ____ oral).

[0015] Fig. 4A und 4B sind zwei graphische Darstellungen des Körpergewichts von Tieren, die mit Amifostin oder einer Salzlösung und einer einzigen Bestrahlungsdosis von 16,5 Gy behandelt wurden. Amifostin und Salzlösung wurden auf i.p.- und s.c.-Wegen verabreicht. Kontrolltiere erhielten Salzlösung ohne Bestrahlung. Amifostin wurde zu 500 mg in 9,7 ml 9,8%iger NaCl gelöst, um eine Endkonzentration von 50 mg/ml zu erreichen. Jedem Tier wurden etwa 0,1 bis 0,2 ml Amifostin injiziert, und zwar auf der Basis des Körpergewichts. Amifostin wurde in einer Dosis von 400 mg/kg Körpergewicht (**Fig. 4A**) und bei einer Dosis von 200 mg/kg Körpergewicht (**Fig. 4B**) verabreicht.

[0016] Fig. 5A und 5B sind zwei graphische Darstellungen der Bewertung der Schleimhaurötung von Tieren, die mit Amifostin oder Salzlösung und einer einzigen Bestrahlungsdosis bei 16,5 Gy behandelt wurden. Amifostin und Salzlösung wurden auf i.p.- und s.c.-Wegen verabreicht. Kontrolltiere erhielten eine Salzlösung ohne Bestrahlung. Amifostin wurde zu 500 mg in 9,7 ml 9,8%iger NaCl gelöst, um eine Endkonzentration von 50 mg/ml zu erhalten. Jedem Tier wurden etwa 0,1 bis 0,2 ml Amifostin injiziert, und zwar auf der Basis des Körpergewichts. Amifostin wurde in einer Dosis von 400 mg/kg Körpergewicht (**Fig. 5A**) und einer Dosis von 200 mg/kg Körpergewicht (**Fig. 5B**) verabreicht.

[0017] Fig. 6A und 6B sind zwei graphische Darstellungen der Bewertung des Schleimhautödems von Tieren, die mit Amifostin oder Salzlösung und einer einzigen Bestrahlungsdosis bei 16,5 Gy behandelt wurden. Amifostin und Salzlösung wurden auf i.p.- und s.c.-Wegen verabreicht. Kontrolltiere erhielten eine Salzlösung ohne Bestrahlung. Amifostin wurde zu 500 mg in 9,7 ml 9,8%iger NaCl gelöst, um eine Endkonzentration von 50 mg/ml zu erhalten. Jedem Tier wurden etwa 0,1 bis 0,2 ml Amifostin injiziert, und zwar auf der Basis des Körpergewichts. Amifostin wurde in einer Dosis von 400 mg/kg Körpergewicht (**Fig. 6A**) und einer Dosis von 200 mg/kg Körpergewicht (**Fig. 6B**) verabreicht.

[0018] Fig. 7A bis 7C sind drei graphische Darstellungen der Koloniebildung durch Knochenmarks-Vorläuferzellen, die aus MDS-Patienten nach der subkutanen Verabreichung von Amifostin erhalten wurden. Fig. 7A zeigt die Bildung von CFU-GEMM-Kolonien, Fig. 7B zeigt die Bildung von BFU-E-Kolonien und Fig. 7C zeigt die Bildung von CFU-GM-Kolonien.

5. Detaillierte Beschreibung der Erfindung

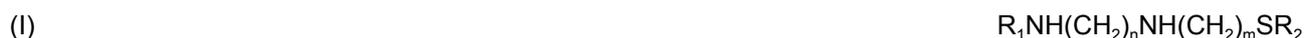
[0019] Die vorliegende Erfindung stellt Verfahren zur Verabreichung von Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindungen an Patienten in einer solchen Weise bereit, die die unerwünschten Nebenwirkungen der Verbindungen im Vergleich mit einer herkömmlichen intravenösen Verabreichung vermindert. Die Erfindung beruht teilweise auf der recht unerwarteten Entdeckung, daß bei humanen Patienten, denen Amifostin subkutan verabreicht wurde, deutlich weniger Fälle von Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerz, Hypotonie, Schwindel, Schläfrigkeit und anderen unerwünschten Nebenwirkungen auftraten, die üblicherweise mit der herkömmlichen intravenösen Verabreichung von Amifostin verbunden sind, als bei Patienten, denen Amifostin über die herkömmliche intravenöse Infusion verabreicht wurde. Diese Nebenwirkungen fallen mit der "Spitzen-" oder "Ausbruchs"-Phase des pharmakokinetischen Profils des intravenös verabreichten Medikaments zusammen.

[0020] Die Erfindung basiert außerdem teilweise auf der Beobachtung, daß die pharmakokinetischen Profile von Amifostin und seinem aktiven Metaboliten WR-1065 für intravenös und subkutan verabreichtes Amifostin signifikant unterschiedlich sind. Während die Vollblut-Konzentrationen von sowohl Amifostin als auch seinem aktiven Metaboliten WR-1065 im Anschluß an die intravenöse Verabreichung von Amifostin innerhalb der ersten 10 Minuten ein Maximum erreichten und rasch abnahmen, stiegen im Anschluß an eine subkutane Amifostin-Verabreichung die Vollblut-Konzentrationen beider Verbindungen mit ausgeprägt langsamerer Geschwindigkeit an, wobei sie die maximale und die konstante Konzentration etwa 15 bis 45 Minuten nach der Verabreichung erreichten.

[0021] Ohne daß gewünscht wird, durch eine Theorie gebunden zu sein, wird angenommen, daß die Abnahme der unerwünschten Nebenwirkungen, die bei subkutan verabreichtem Amifostin im Vergleich zu intravenös verabreichtem Amifostin beobachtet wird, teilweise auf dem charakteristischen pharmakokinetischen Profil beruht, das mit einer subkutanen Verabreichung assoziiert ist. Somit wird bei den Verfahren der vorliegenden Erfindung die therapeutisch wirksame Menge einer Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindung einem Patienten auf eine Weise verabreicht, so daß ein charakteristisches pharmakokinetisches Profil für die verabreichte Verbindung und/oder einen aktiven Metaboliten davon erhalten wird, wodurch die unerwünschten Nebenwirkungen signifikant vermindert werden, die Patienten zu ertragen haben, die eine derartige Therapie erhalten, und zwar im Vergleich mit einer herkömmlichen intravenösen Verabreichung.

5.1. Die Verbindungen

[0022] Verbindungen, die mit Vorteil nach den hierin beschriebenen Verfahren verabreicht werden können, sind Aminoalkylphosphorothioat- oder Aminoalkylthiol-Verbindungen, die einen selektiven Strahlungsschutz oder Chemikalienschutz von normalen Geweben und/oder das Knochenmark stimulierende oder heilende Wirkungen zeigen, und die bei minimaler Toxizität für eine menschliche Verwendung geeignet sind. Derartige Aminoalkylphosphorothioat- oder Aminoalkylthiol-Verbindungen, sowie pharmazeutisch annehmbare Additionssalze und/oder Hydrate davon, sind entweder dem einschlägigen Fachmann bekannt oder können ohne unzumutbaren experimentellen Aufwand unter Verwendung etablierter Tests, die auf dem Fachgebiet routinemäßig angewandt werden, identifiziert werden. Gemäß einer illustrativen Ausführungsform sind Verbindungen, die mit Vorteil mittels der Verfahren der vorliegenden Erfindung verabreicht werden können, Verbindungen mit der Formel:



oder pharmazeutisch annehmbare Additionssalze oder Hydrate davon, wobei:

R₁ Wasserstoff, C₁-C₇-Aryl, C₁-C₇-Acyl oder C₁-C₇-Alkyl ist;

R₂ Wasserstoff oder PO₃H₂ ist;

n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist; und

m eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist.

[0023] Alle Verbindungen der Formel (I) können nach dem Fachmann bekannten Verfahren hergestellt werden (vgl. z. B. Cortese, 1943, Organic Synthesis pp. 91–93, Coll. Vol. II, Blatt, Ed., John Wiley & Sons, Inc.,

New York, NY; Akerfeldt, 1960, Acta Chem. Scand. 14: 1980; Piper et al., 1966, Chem. Ind. (London): 2010).

[0024] Bestimmte Aminoalkylphosphorothioat-Verbindungen gemäß Formel (I) sowie Verfahren zur Synthese derartiger Verbindungen, sind im Detail im US-Patent Nr. 3 892 924 und in WO 96125045 beschrieben, die beide durch ausdrückliche Bezugnahme vollständig in diese Beschreibung aufgenommen werden.

[0025] Die Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindungen, die bei den Verfahren der Erfindung nützlich sind, können in der Form freier Säuren, freier Basen oder pharmazeutisch annehmbarer Additionssalze davon vorliegen. Derartige Salze können einfach durch Behandlung einer Aminoalkylphosphorothioat- oder Aminoalkylthiol-Verbindung mit einer geeigneten Säure hergestellt werden. Derartige Säuren schließen z. B. und ohne Beschränkung ein anorganische Säuren wie Halogenwasserstoffsäuren (Chlorwasserstoff-, Bromwasserstoff-, Fluorwasserstoff- usw.), Schwefelsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure usw., sowie organische Säuren wie Essigsäure, Propionsäure, 2-Hydroxyessigsäure, 2-Hydroxypropionsäure, 2-Oxopropionsäure, Propandionsäure, Butandionsäure usw. Umgekehrt kann das Salz durch Behandlung mit Alkali in die freie Base umgewandelt werden.

[0026] Die bei den Verfahren der Erfindung nützlichen Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindungen, sowie die pharmazeutisch annehmbaren Additionssalze davon, können in einer hydratisierten oder nicht-hydratisierten Form vorliegen. Verfahren zur Herstellung derartiger Formen verstehen sich für den Fachmann auf dem Gebiet der organischen Chemie von selbst.

[0027] Bei einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind die Verbindungen diejenigen der Formel (I), oder pharmazeutisch annehmbare Additionssalze oder Hydrate davon, wobei:

R_1 Wasserstoff oder Methyl ist;

R_2 Wasserstoff oder PO_3H_2 ist;

n 3 ist; und

m 2 oder 3 ist.

[0028] Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist die Verbindung S-2-(3-Aminopropylamino)ethylidihydrogenphosphorothioat, $NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_2SPO_3H_2$ (Amifostin oder WR-2721), insbesondere die Mono- und Trihydrate davon; 2-[3-Aminopropylamino]ethanthiol, $NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_2SH$ (der aktive Metabolit von Amifostin oder WR-1065); S-3-(3-Methylaminopropylamino)propylidihydrogenphosphorothioat, $CH_2NH(CH_2)_3NH(CH_2)_3SPO_3H_2$ (WR-151327); oder S-3-(3-Methylaminopropylamino)propanthiol, $CH_3NH(CH_2)_3NH(CH_2)_3SH$ (WR-151326).

5.2. Pharmakokinetisches Profil

[0029] Eine Analyse der pharmakologischen Profile von Amifostin und seinem aktiven Metaboliten WR-1065 im Anschluß an die intravenöse und subkutane Verabreichung von Amifostin zeigt verschiedene grundlegende Unterschiede. Bezugnehmend auf die **Fig. 1** bis **3** sind die pharmakologischen Profile von Amifostin (**Fig. 2**), einem aktiven Metaboliten von Amifostin (WR-1065) (**Fig. 3**) und Amifostin und WR-1065 kombiniert (**Fig. 1**), die nach einer intravenösen Verabreichung von Amifostin (200 mg/m² Arzneimittel infundiert über 7,5 min) durch eine initiale Plasmakonzentrations-"Spitze" oder einen entsprechenden "Ausbruch" innerhalb der ersten 20 Minuten im Anschluß an die Verabreichung gekennzeichnet, was ein Zeitfenster darstellt, das mit der Nebenwirkung zusammenfällt, die klinisch beobachtet wird: das infundierte Arzneimittel und/oder sein aktiver Metabolit werden rasch innerhalb der ersten Minuten der Verabreichung aufgenommen, wobei sie eine maximale Vollblut-Konzentration etwa 8 bis 10 Minuten nach der Verabreichung erreichen, woran sich eine rasche (etwa 5- bis 10-fache) Abnahme der Konzentration etwa 10 bis 20 Minuten nach der Verabreichung anschließt. Im Anschluß an diese initiale Konzentrations-"Spitze" oder den "Ausbruch", nehmen die Blutspiegel allmählich auf Null ab.

[0030] Ähnliche pharmakokinetische Profile wurden mit Amifostin bei Krebspatienten im Anschluß an eine einzige intravenöse Bolusdosis (150 mg/m²) Shaw et al., 1986, "Human Pharmacokinetics of WR-2721", Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 12: 1501–4), eine einzige 15-minütige intravenöse Infusion (bis zu 910 mg/m²) (Shaw et al., 1988, "Pharmacokinetics of WR-2721"; Pharmac. Ther. 39: 195–201; Shaw et al., 1994, "Pharmacokinetics of Amifostine in Cancer Patients: Evidence for Saturable Metabolism", Proc. Amer. Cos. Clin. Oncol. 13: 144; U.S. Bioscience, 1994, "Pharmacokinetics of Single Dose Amifostine (WR-2721); Ethylol" ETH PK 3) und wiederholte Infusionen (bis zu 910 mg/m² pro Dosis) (U.S. Bioscience, 1994, "Pharmacokinetics of Double Dose Amifostine (WR-2721; Ethylol) with Corresponding Measurements of WR-1065 in Plasma and Bone Marrow Cells" ETH PK 4) beobachtet. Bei diesen Untersuchungen wurde Amifostin rasch aus dem Blut entfernt,

wobei es eine Verteilungshalbwertszeit von weniger als 1 Minute und eine Eliminierungshalbwertszeit von etwa 9 Minuten zeigte.

[0031] Die pharmakokinetischen Profile von Amifostin, dem aktiven Metaboliten WR-1065 und Amifostin und WR-1065 in Kombination im Anschluß an die subkutane Verabreichung von Amifostin (500 mg-Dosis) unterscheiden sich signifikant von denjenigen, die bei einer intravenösen Verabreichung erhalten werden. Erstens werden, nunmehr bezugnehmend auf die **Fig. 1** und **3**, die maximalen Blut-Konzentrationen nicht über eine anfängliche Konzentrationsspitze oder einen Ausbruch erreicht. Statt dessen steigen die Blut-Konzentrationen mit einer signifikant langsameren Geschwindigkeit an, wobei sie ein Maximum nach etwa 5 bis 60 Minuten, vorzugsweise 10 bis 40 Minuten nach der Verabreichung erreichen. Die maximalen Spiegel bilden ein Plateau, wobei sie etwa 10 bis 130 Minuten, vorzugsweise 15 bis 120 Minuten, beibehalten werden, bevor sie allmählich auf Grundlinienkonzentrationen abnehmen.

[0032] Zusätzlich waren die maximalen Blut-Konzentrationen von sowohl Amifostin als auch WR-1065 im Anschluß an die subkutane Verabreichung signifikant niedriger als bei intravenöser Verabreichung. Beispielsweise betragen bei der intravenösen Verabreichung die Spitzenwerte für Amifostin und WR-1065 etwa 100 μM bzw. etwa 23 μM . Für eine subkutane Verabreichung betragen die maximalen Blutspiegel für Amifostin und WR-1065 etwa 12 μM bzw. 4 μM . Diese Konzentrationen sind biologisch wirksam, und zwar sowohl als Zellschutzmittel als auch bei MDS (Dorr et al., 1995, Eur. J. Cancer 31a (supp. 5): 579, List et al., 1995, Blood 86(10) Supp. 1: 1327 (Abstract)).

[0033] Somit sind die vorteilhaften pharmakokinetischen Profile der Erfindung im allgemeinen durch drei Hauptmerkmale gekennzeichnet:

(i) einen ersten Abschnitt, in dem die Plasma- und/oder Vollblut-Konzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) langsam auf einen Maximalwert ansteigt; (ii) einen zweiten Abschnitt, in dem die maximale Plasma- und/oder Vollblut-Konzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) ein Plateau bildet; und (iii) ein dritten Abschnitt, in dem die maximale Plasma- und/oder Vollblut-Konzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) langsam auf Grundlinienniveau abnimmt.

[0034] In dem ersten Abschnitt des pharmakokinetischen Profils nehmen die Plasma- und/oder Blut-Konzentration im allgemeinen mit einer Geschwindigkeit von 0,1 $\mu\text{M}/\text{min}$ bis 40 $\mu\text{M}/\text{min}$, vorzugsweise etwa 0,3 $\mu\text{M}/\text{min}$ bis 20 $\mu\text{M}/\text{min}$ und besonders bevorzugt etwa 0,5 $\mu\text{M}/\text{min}$ bis 10 $\mu\text{M}/\text{min}$ zu. Dieser Anstieg in Richtung der Maximalkonzentration erfolgt üblicherweise innerhalb eines Zeitraums von etwa 1 min bis 60 min, in der Regel innerhalb eines Zeitraums von etwa 5 min bis 25 min, typischerweise innerhalb eines Zeitraums von etwa 10 min bis etwa 20 min und vorzugsweise innerhalb eines Zeitraums von etwa 15 min. Die maximale Plasma- und/oder Blut-Konzentration wird üblicherweise in etwa 5 bis 60 Minuten nach der Verabreichung erreicht, und sie wird vorzugsweise etwa 12 bis 18 min nach der Verabreichung erreicht.

[0035] Die Erhöhung der Plasma- und/oder Blut-Konzentration im ersten Abschnitt ist üblicherweise eine von nullter Ordnung, d. h. die Geschwindigkeit der Erhöhung ist während des Zeitraums des Anstiegs im wesentlichen konstant.

[0036] Die maximale Plasma- und/oder Blut-Konzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon), die am Ende des ersten Abschnitts erreicht wird, bleibt relativ konstant, d. h. bildet ein Plateau, im zweiten Abschnitt des pharmakokinetischen Profils. Vorzugsweise fluktuieren die Plasma- und/oder Blut-Konzentration nicht mehr als $\pm 75\%$. Stärker bevorzugt fluktuieren die Plasma- und/oder Blut-Konzentration nicht um mehr als $\pm 35\%$. Das Plateau wird üblicherweise für etwa 10 min bis 130 min, vorzugsweise etwa 15 min bis 120 min aufrechterhalten und wird etwa 15 min bis 80 min nach der Verabreichung erreicht.

[0037] Im dritten Abschnitt nimmt die Plasma- und/oder Blut-Konzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) langsam in Richtung der Grundlinienkonzentrationen ab. Die Geschwindigkeit der Abnahme der Plasma- und/oder Blut-Konzentration wird typischerweise vom Stoffwechsel des Patienten bestimmt, und es wird nicht angenommen, daß in ihr ein kritisches Merkmal in Richtung einer Verminderung oder Abnahme der unerwünschten Nebenwirkungen im Anschluß an die Verabreichung zu sehen ist. Auch wenn die tatsächliche Geschwindigkeit der Abnahme der Plasma- und/oder Blut-Konzentration der verabreichten Verbindung (oder des aktiven Metaboliten davon) von Patient zu Patient variieren wird, nimmt die Konzentration üblicherweise mit einer Geschwindigkeit von etwa 0,001 $\mu\text{M}/\text{min}$ bis 0,2 $\mu\text{M}/\text{min}$ innerhalb eines Zeitraums von etwa 30 min bis 220 min ab. Der dritte Abschnitt tritt etwa 60 min bis 180 min im

Anschluß an die Verabreichung auf.

[0038] Ohne daß beabsichtigt ist, durch irgendeine spezielle Theorie gebunden zu sein, wird angenommen, daß die Verminderung oder Abnahme negativer Nebenwirkungen im Anschluß an die Verabreichung auf die Eigenschaften des oben beschriebenen pharmakokinetischen Profils zurückgehen. Die langsame Geschwindigkeit, mit der die Plasma- und/oder Blut-Konzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) auf das Maximum ansteigt, sowie die Beibehaltung des Maximalwerts für einen gewissen Zeitraum, werden als besonders wichtig angesehen. Es wird somit angenommen, daß die pharmakokinetischen Profile der Erfindung die negativen Nebenwirkungen der Verbindungen dadurch vermindern oder verringern, daß die anfängliche "Spitze" oder der "Ausbruch" der Plasma- und/oder Blut-Konzentrationen der Verbindung und/oder des Metaboliten, eliminiert werden, die mit der herkömmlichen intravenösen Verabreichung verknüpft sind, und die höchstwahrscheinlich für eine Wirksamkeit nicht erforderlich sind.

[0039] Die tatsächliche maximale Plasma- und/oder Blut-Konzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) wird nicht als eine von kritischer Bedeutung für die Verminderung oder Verringerung schädlicher Nebenwirkungen angesehen. Solange die Verbindungen gemäß den hierin beschriebenen pharmakologischen Profilen verabreicht werden, sollte eine Verminderung oder Verringerung bezüglich der unerwünschten Nebenwirkungen beobachtet werden, und zwar unabhängig von der tatsächlich erreichten Plasma- und/oder Blut-Konzentration. Somit, wie in näheren Einzelheiten in einem späteren Abschnitt diskutiert wird, kann im wesentlichen jede Menge an Verbindung gemäß den hierin beschriebenen pharmakokinetischen Profilen verabreicht werden, die zu einer Plasma- und/oder Vollblut-Konzentration der verabreichten Verbindung und/oder eines aktiven Metaboliten davon führt, die therapeutisch wirksam ist. Die maximale Plasma- und/oder Blut-Konzentration liegt üblicherweise im Bereich von etwa 1 µM bis 40 µM.

5.3 Anwendungen der Verfahren

[0040] Die erfindungsgemäßen Verfahren können dazu angewandt werden, die hierin beschriebenen Verbindungen in wirksamer Weise an Patienten zu verabreichen, um im wesentlichen jede Erkrankung zu behandeln, für die bekannt ist, oder für die später noch entdeckt wird, daß sie mit derartigen Verbindungen behandelbar ist.

[0041] Da die hierin beschriebenen Verbindungen in der Lage sind, selektiv normale Gewebe gegen die Toxizitäten zu schützen, die mit einer ionisierenden Strahlung assoziiert sind, ohne die Tumorreaktion negativ zu beeinträchtigen (Constine et al., 1986, "Protection by WR-2721 of Human Bone Marrow Function Following Irradiation" *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 12: 1505–8; Liu et al., 1992, "Use of Radiation with or Without WR-2721 in Advanced Rectal Cancer", *Cancer* 69(11): 2820–5; Wadler et al., 1993, "Pilot Trial von Cisplatin, Radiation and WR-2721 in Carcinoma of Uterine Cervix: A New York Gynecologic Oncology Group Study", *J. Clin. Oncol.* 11(8): 1511–6; Büntzel et al., 1996, "Ethylol (Amifostine) Provides Multilineage hematoprotection und Protection Against Nonhematologic Toxicities Reduced by Radiochemotherapy (RCT) of Head and Neck Cancer," *Blood* 88 (10) Supp. 1: 448a [1781] [Abstract]), können die hierin beschriebenen Verfahren dazu angewandt werden, die Verbindungen an Krebspatienten zu verabreichen, die eine Bestrahlungstherapie erhalten.

[0042] Die hierin beschriebenen Verbindungen sind auch in der Lage, normale Gewebe selektiv gegen Toxizitäten zu schützen, die mit chemotherapeutischen Krebsmitteln assoziiert sind, zu denen, ohne darauf beschränkt zu sein, Alkylierungsmittel, Platinmittel, Anthracycline und Taxane gehören (Kemp et al., 1996, "Amifostine Pretreatment for Protection Against Cyclophosphamide- and Cisplatin-Induced Toxicities: Results of A Randomized Control Trial in Patients with Advanced Ovarian Cancer", *J. Clin. Oncol.* 14: 2101–12; Wasserman et al., 1981 "Differential Protection Against Cytotoxic Chemotherapeutic Effects on Bone Marrow CFUs by WR-2721", *Cancer Clin. Trials* 4: 3–6; Glover et al., 1986, "WR-2721 Protects Against the Hematologic Toxicity of Cyclophosphamide: A Controlled Phase II Trial", *J. Clin. Oncol.* 4: 584–8; Schiller et al., 1996, "Amifostine, Cisplatin and Vinblastine in Metastatic Non-small Cell Lung Cancer: A Report of, High Response Rates and Prolonged Survival", *J. Clin. Oncol.* 14: 1913–21; Dorr et al., 1995, "Selective Cardioprotection of Rat Heart Myocytes Exposed to DNA Intercalating Agents Using Aminofostine (AMI) and It's Dephosphorylated Metabolite, WR-1065," *Eur. J. Cancer* 31a (Supp. 5): 579; Betticher et al., 1995, "Carboplatin Combined with Amifostine, a Bone Marrow Protectant, in the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer: A Randomised Phase II Study", *Br. J. Cancer* 5: 1551–5; DiPaola et al., 1996, "A Phase I Study of Amifostine and Paclitaxel in Patients with Advanced Malignancies", *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.* 15: 488 (1556) Abstract). Somit können die erfindungsgemäßen Verfahren auch mit Vorteil dazu verwendet werden, die hierin beschriebenen Verbindungen an Krebspatienten zu verabreichen, die eine Chemotherapie erhalten.

[0043] Die hierin beschriebenen Verbindungen sind auch in der Lage, das Wachstum des Knochenmarks zu stimulieren (WO 96/25045) und die Knochenmarksfunktion zu veranlassen, sich im Anschluß an eine Chemotherapie schneller zu erholen (List et al., "Amifostine Stimulated Formation of Multipotent Progenitor and Generated Macroscopic Colonies in Normal and Myelodysplastic Bone Marrow," Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 15: 449 [1403] [Abstract], List et al., 1996, "Amifostine Protects Primitive Hematopoietic Progenitors Against Chemotherapy Cytotoxicity," Semin. Ocol. (23 (4) Supp. 8: 58–3). Somit stellen die erfindungsgemäßen Verfahren außerdem ein nützliche Maßnahme zur Verabreichung dieser Verbindungen an Patienten dar, die an Krankheiten leiden, die ein Knochenmarkwachstum erfordern, wie das myelodysplastische Syndrom (MDS), sowie an Patienten, deren Knochenmark einer Chemotherapie ausgesetzt wurde. Zusätzlich stellen die erfindungsgemäßen Verfahren ein nützliches Mittel zur Verabreichung der Verbindungen an Patienten dar, die an Krebs und einer HIV-Infektion leiden.

[0044] Die Verabreichung von Aminoalkylphosphorothioat- und/oder Aminoalkylthiol-Verbindungen an Patienten gemäß der vorliegenden Erfindung bietet eine Unzahl von Vorteilen gegenüber den derzeit zur Verfügung stehenden intravenösen Verabreichungsformen. Ein signifikanter Vorteil liegt in der Verminderung oder Abnahme der unerwünschten Nebenwirkungen, die Patienten, die die Therapie erhalten, erleiden. Da darüber hinaus die Verfahren keine i.v.-Injektion benötigen, die diejenige Verabreichungsform ist, die von Patienten am wenigsten gemocht wird, führen die hierin beschriebenen Verfahren im allgemeinen zu einer besseren Patienten-Compliance. Außerdem erfordern die Verfahren der vorliegenden Erfindung nicht unbedingt eine Verabreichung durch erfahrene Mediziner, was die Therapie für Patienten bequemer macht.

5.4. Formulierung und Verabreichungswege

[0045] Die hierin beschriebenen Verbindungen, oder pharmazeutisch annehmbare Additionssalze oder Hydrate davon, können einem Patienten zugeführt werden, so daß unerwünschten Nebenwirkungen gemäß der vorliegenden Erfindung vermieden oder vermindert werden, und zwar unter Anwendung einer Vielzahl von, Verabreichungswegen und -arten. Das einzige Erfordernis ist, daß die Verbindung, und/oder ein aktiver Metabolit davon, gemäß den hierin beschriebenen pharmakokinetischen Profilen verabreicht wird. Geeignete Verabreichungswege schließen, ohne darauf beschränkt zu sein, ein eine Inhalation, die transdermale, orale, rektale, transmucosale, intestinale und parenterale Verabreichung, einschließlich intramuskulärer, subkutaner und intravenöser Injektionen.

[0046] Bei jeder beliebigen Verabreichungsart hängen die tatsächliche verabreichte Menge der Verbindung, sowie die zur Erreichung der hierin beschriebenen vorteilhaften pharmakokinetischen Profile erforderlichen Dosierungspläne teilweise von Faktoren ab wie der Bioverfügbarkeit der Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon), der behandelten Erkrankung, der gewünschten therapeutischen Dosis sowie anderen Faktoren, die für einen Fachmann offensichtlich sind. Die tatsächlich zugeführte Menge und der Dosierungsplan können durch einen Fachmann einfach ohne unzumutbare Versuche bestimmt werden, indem man die Blutplasmaspiegel der verabreichten Verbindung und/oder eines aktiven Metaboliten davon überwacht, und die Dosierung oder den Dosierungsplan an die Erfordernisse anpaßt, um das gewünschte pharmakokinetische Profil zu erhalten.

[0047] Beispielsweise können für den Fall einer intravenösen Verabreichung die vorteilhaften Profile gemäß der Erfindung dadurch erhalten werden, daß man eine erhebliche niedrigere Infusionsgeschwindigkeit nutzt als bisher üblich ist, oder durch Verwendung einer ambulatorischen Pumpe. Verfahren zur Erreichung der gewünschten pharmakokinetischen Profile mittels anderer Verabreichungsformen sind für Fachleute offensichtlich, insbesondere im Lichte der hierin zu findenden detaillierten Offenbarung.

[0048] Die hierin beschriebenen Verbindungen, oder pharmazeutisch annehmbare Salze und/oder Hydrate davon, können allein verabreicht werden, in Kombination mit anderen erfindungsgemäßen Verbindungen und/oder in Kombination mit anderen therapeutischen Mitteln, einschließlich chemotherapeutischen Krebsmitteln. Die aktiv(en) Verbindung(en) können allein oder in Form einer pharmazeutischen Zusammensetzung verabreicht werden, wobei die aktiv(en) Verbindung(en) in Mischung mit einem oder mehreren pharmazeutisch annehmbaren Trägern, Streckmitteln oder Verdünnungsmitteln verabreicht werden. Pharmazeutische Zusammensetzungen zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung können auf herkömmliche Art und Weise unter Verwendung von einem oder mehreren physiologisch annehmbaren Trägern formuliert werden, die Streckmittel und Hilfsstoffe umfassen, die die Verarbeitung der aktiven Verbindungen in Präparate unterstützen, die pharmazeutisch verwendet werden können. Eine sachgerechte Formulierung hängt von dem gewählten Verabreichungsweg ab.

[0049] Für die Injektion können die erfindungsgemäßen Mittel in wäßrigen Lösungen formuliert werden, vorzugsweise in physiologisch kompatiblen Puffern wie Hank's-Lösung, Ringer's-Lösung oder in einem physiologischen Salzpuffer. Für eine transmucosale Verabreichung werden Penetrationsmittel, die für die zu permeierende Barriere geeignet sind, in der Formulierung verwendet. Derartige Penetrationsmittel sind auf dem Fachgebiet allgemein bekannt.

[0050] Für eine orale Verabreichung können die Verbindungen in einfacher Weise durch Kombination der aktiven Verbindung(en) mit pharmazeutisch akzeptablen Trägern formuliert werden, die dem Fachmann gut bekannt sind. Derartige Träger ermöglichen es, die erfindungsgemäßen Verbindungen als Tabletten, Pillen, Dragees, Kapseln, Flüssigkeiten, Gele, Sirupe, Aufschlämungen, Suspensionen und dgl. für die orale Einnahme durch einen zu behandelnden Patienten zu formulieren. Pharmazeutische Präparate für eine orale Verwendung können mit einem festen Streckmittel erhalten werden, gegebenenfalls unter Vermahlen der erhaltenen Mischung, und durch Verarbeiten der Mischung als Granulat, nach der Zugabe von geeigneten Hilfsstoffen, soweit gewünscht, um Tabletten oder Dragee-Kerne zu erhalten. Geeignete Streckmittel sind insbesondere Füllstoffe wie Zucker, einschließlich Lactose, Saccharose, Mannit oder Sorbit; Cellulose-Präparate wie beispielsweise Maisstärke, Weizenstärke, Reisstärke, Kartoffelstärke, Gelatine, Tragantgummi, Methylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und/oder Polyvinylpyrrolidon (PVP). Gewünschtenfalls können Zerfallshilfsmittel zugesetzt werden, wie das vernetzte Polyvinylpyrrolidon, Agar oder Alginsäure oder ein Salz davon wie beispielsweise Natriumalginat.

[0051] Drageekerne werden mit geeigneten Überzügen versehen. Zu diesem Zweck können konzentrierte Zuckerlösungen verwendet werden, die gegebenenfalls Gummi arabicum, Talk, Polyvinylpyrrolidon, Carboxypol-Gel, Polyethylenglykol und/oder Titandioxid enthalten können, Lacklösungen und geeignete organische Lösemittel oder Lösemittelmischungen. Farbstoffe oder Pigmente können den Tabletten oder Drageeüberzügen zur Identifikation zugesetzt werden oder dazu, unterschiedliche Kombinationen von Dosierungen der aktiven Verbindung zu charakterisieren.

[0052] Pharmazeutische Präparate, die oral verwendet werden können, schließen Stechkapseln aus Gelatine ein, sowie weiche verschlossene Kapseln aus Gelatine und einem Weichmacher wie Glycerin oder Sorbit. Die Stechkapseln können die aktiven Bestandteile in Mischung mit Füllstoffen wie Lactose, Bindemitteln wie Stärken und/oder Gleitmitteln wie Talk oder Magnesiumstearat sowie gegebenenfalls Stabilisatoren enthalten. In weichen Kapseln können die aktiven Verbindungen in geeigneten Flüssigkeiten wie beispielsweise fetten Ölen, flüssigem Paraffin oder flüssigen Polyethylenglykolen gelöst oder suspendiert sein. Zusätzlich können Stabilisatoren zugesetzt werden. Alle Formulierungen für die mündliche Verabreichung sollten in solchen Dosierungen vorliegen, wie sie für eine derartige Verabreichung geeignet sind.

[0053] Für eine bukkale Verabreichung können die Zusammensetzungen die Form von Tabletten oder Pastillen aufweisen, die auf herkömmliche Weise formuliert sind.

[0054] Für eine Verabreichung durch Inhalation können die Verbindungen zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung bequemerweise in der Form einer Aerosolspray-Darreichung aus Druckpackungen oder einem Vernebler zugeführt werden, unter Verwendung eines geeigneten Treibmittels, z. B. Dichlordifluormethan, Trichlorfluormethan, Dichlortetrafluorethan, Kohlendioxid oder eines anderen geeigneten Gases. Im Falle eines Druckaerosols kann die Dosierungseinheit dadurch bestimmt werden, indem man ein Ventil vorsieht, das eine abgemessene Menge abgibt. Kapseln und Patronen aus z. B. Gelatine zur Verwendung in einem Inhalator oder Pulverzerstäuber können formuliert werden, die eine Pulvermischung der Verbindung und eine geeignete Pulverbasis wie beispielsweise Lactose oder Stärke enthalten.

[0055] Die Verbindungen können für die parenterale Verabreichung durch Injektion formuliert werden, z. B. durch Bolusinjektion oder kontinuierliche Infusion. Es ist bevorzugt, daß die Verbindungen durch kontinuierliche subkutane Infusion innerhalb eines Zeitraums von 15 Minuten bis 24 Stunden verabreicht werden. Formulierungen für die Injektion können in einer Einheitsdosisform präsentiert werden, z.B. in Ampullen oder in Multidosis-Behältern, mit einem zugesetzten Konservierungsmittel. Die Zusammensetzungen können Formen wie Suspensionen, Lösungen oder Emulsionen in öligen oder wäßrigen Trägern aufweisen, und sie können Formulierungsmittel wie Suspensier-, Stabilisier- und/oder Dispergiemittel enthalten.

[0056] Pharmazeutische Formulierungen für die parenterale Verabreichung schließen ein wäßrige Lösungen der aktiven Verbindungen in wasserlöslicher Form. Zusätzlich können Suspensionen der aktiven Verbindungen in geeigneten öligen Injektionssuspensionen hergestellt werden. Geeignete lipophile Lösemittel oder Träger schließen ein fette Öle wie Sesamöl oder synthetische Fettsäureester wie Ethyloleat oder Triglyceride oder Li-

posomen. Wäßrige Injektionssuspensionen können Substanzen enthalten, die die Viskosität der Suspension erhöhen, wie beispielsweise Carboxymethylcellulose, Sorbit oder Dextran. Gegebenenfalls kann die Suspension auch geeignete Stabilisatoren oder Mittel enthalten, die die Löslichkeit der Verbindungen erhöhen, um die Herstellung von hochkonzentrierten Lösungen zu ermöglichen.

[0057] Alternativ kann der aktive Bestandteil in Pulverform zur Aufbereitung mit einem geeigneten Träger vor der Verwendung vorliegen, z. B. sterilem pyrogenfreiem Wasser.

[0058] Die Verbindungen können auch in rektalen Zusammensetzungen wie beispielsweise Suppositorien oder Retentionsklistieren formuliert werden, die beispielsweise herkömmliche Suppositorienbasen wie Kakao-butter oder andere Glyceride enthalten.

[0059] Zusätzlich zu den oben beschriebenen Formulierungen können die Verbindungen auch als Depotpräparat formuliert werden. Derartige langwirkende Formulierungen können durch Implantation (beispielsweise subkutan oder intramuskuläre) oder durch intramuskuläre Injektion verabreicht werden. So können die Verbindungen beispielsweise mit geeigneten Polymeren oder hydrophoben Materialien (beispielsweise als Emulsion in einem akzeptablen Öl) oder mit Ionenaustauschharzen formuliert werden, oder als nur schwachlösliche Derivate, beispielsweise als ein schwachlösliches Salz.

[0060] Die pharmazeutischen Zusammensetzungen können auch geeignete Fest- oder Gelphasen-Träger oder -Streckmittel aufweisen. Beispiele für derartige Träger oder Streckmittel schließen, ohne darauf beschränkt zu sein, ein Calciumcarbonat, Calciumphosphat, verschiedene Zucker, Stärken, Cellulose-Derivate, Gelatine und Polymere wie beispielsweise Polyethylenglykole.

5.5 Wirksame Dosierungen

[0061] Pharmazeutische Zusammensetzungen, die zur Verwendung mit der vorliegenden Erfindung geeignet sind, schließen Zusammensetzungen ein, bei denen der wirksame Bestandteil in einer therapeutisch wirksamen Menge enthalten ist, d. h. einer Menge, die im Hinblick auf die Erreichung des angestrebten Zwecks wirksam ist. Beispielsweise hängt die tatsächliche Menge des aktiven Bestandteils unter anderem ab von seinem beabsichtigten Zweck. Wenn derartige Zusammensetzungen an Krebspatienten als Zellschutzmittel in Verbindung mit Strahlung oder eine Chemotherapie verabreicht werden, enthalten derartige Zusammensetzungen eine Menge des Wirkbestandteils, der unter anderem wirksam ist, die schädlichen Wirkungen einer ionisierenden Strahlung oder von chemotherapeutischen Mitteln gegenüber normalen Geweben zu verbessern. Wenn derartige Verbindungen an Patienten verabreicht werden, die an Krankheiten leiden, die ein Wachstum des Knochenmarks erfordern, wie beispielsweise MDS, oder die eine schnellere Erholung der Knochenmarksfunktion im Anschluß an eine Chemotherapie benötigen, enthalten sie eine Menge des aktiven Bestandteils, die im Hinblick auf die Stimulierung der Knochenmarksproduktion oder -funktion, zur Verhinderung der Ausbildung von oder zur Erleichterung der existierenden Symptome oder zur Verlängerung der Überlebenszeit des behandelten Patienten wirksam ist. Die Bestimmung einer wirksamen Menge liegt ohne weiteres innerhalb der Fähigkeiten eines Fachmanns, insbesondere im Lichte der hierin gelieferten detaillierten Beschreibung.

[0062] Für jede hierin beschriebene Verbindung kann die therapeutisch wirksame Menge zuerst auf der Basis von Zellkultur-Assays abgeschätzt werden. Beispielsweise kann eine Dosis in Tiermodellen formuliert werden, um einen zirkulierenden Konzentrationsbereich der Verbindung und/oder eines aktiven Metaboliten davon zu erreichen, der eine wirksame Konzentration enthält, wie sie in einer Zellkultur bestimmt wurde. Eine derartige Information kann dazu verwendet werden, nützliche Dosierungen bei Menschen genau zu bestimmen. Vgl. z. B. Washburn et al., 1976, "Prediction of the Effective Radioprotective Dose of WR-2721 in Humans Through an Interspecies Tissue Distribution Study", *Radiat. Res.* 66: 100–5.

[0063] Therapeutisch wirksamen Mengen zur Verwendung bei Menschen können ebenfalls auf dieser Basis von Tiermodellen abgeschätzt werden. Beispielsweise kann eine Dosis für Menschen formuliert werden, um eine zirkulierende Konzentration zu erreichen, die sich bei Tieren als wirksam erwiesen hat.

[0064] Eine therapeutisch wirksame Dosis kann auch anhand humaner pharmakokinetischer Daten abgeschätzt werden. Ohne daß gewünscht wird, durch irgendeine besondere Theorie gebunden zu werden, wird angenommen, daß die Wirksamkeit zu der Gesamteinwirkung einer angewandten Dosis eines verabreichten Arzneimittels und/oder eines aktiven Metaboliten davon in Beziehung steht, wie sie bestimmt werden kann, indem man die Fläche unter der Kurve für die Blut-Konzentration gegen die Zeit mißt (AUC). So wird angenommen, daß eine nach den erfindungsgemäßen Verfahren verabreichte Dosis, die einen AUC-Wert der verab-

reichen Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) innerhalb von etwa 50% der AUC einer Dosis aufweist, für die bekannt ist, daß sie für die behandelte Indikation wirksam ist, wirksam ist. Die Dosis, die zu einer AUC der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) innerhalb von etwa 70%, 80% oder sogar 90% oder mehr der AUC der bekannten wirksamen Dosis führt, ist bevorzugt. Die Einstellung der Dosis zur Erreichung einer maximalen Wirksamkeit bei Menschen auf der Basis der oben beschriebenen Verfahren, insbesondere auf der Blut-Konzentration und der Verweilzeit der verabreichten Verbindung und/oder ihrer aktiven Metaboliten liegt ohne weiteres innerhalb der Fähigkeiten des Durchschnittsfachmanns.

[0065] Zur Verwendung als Zellschutzmittel für einen selektiven Schutz gegen Toxizitäten von ionisierender Strahlung oder chemotherapeutischen Mitteln wird angenommen, daß eine zirkulierende Konzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) von etwa 2 µM bis etwa 100 µM wirksam ist, wobei etwa 5 µM bis 50 µM bevorzugt sind. Alternativ dazu, oder zusätzlich wird angenommen, daß eine Gewebekonzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) von etwa 4 µM bis etwa 700 µM wirksam ist, wobei etwa 20 µM bis 350 µM bevorzugt werden.

[0066] Übliche Patientendosen zur Verabreichung von Amifostin und/oder seinem aktiven Metaboliten WR-1065 liegen üblicherweise im Bereich von etwa 50 mg/Tag bis 6000 mg/Tag, üblicherweise von etwa 100 mg/Tag bis 4000 mg/Tag, und typischerweise von etwa 200 mg/Tag bis 3500 mg/Tag. Erfolgt die Angabe bezogen auf das Körpergewicht des Patienten, liegen übliche Dosierungen im Bereich von etwa 0,6 bis 100 mg/kg/Tag, üblicherweise von etwa 1,1 bis 66 mg/kg/Tag und typischerweise von etwa 2,2 bis 58 mg/kg/Tag. Bezieht man auf die Körperoberfläche des Patienten, liegen übliche Dosierungen im Bereich von etwa 23 bis 4000 mg/m²/Tag, üblicherweise von etwa 45 bis 2666 mg/m²/Tag und typischerweise von etwa 90 bis 2333 mg/m²/Tag.

[0067] Für die subkutane Verabreichung von Amifostin und/oder seinem aktiven Metaboliten WR-1065 liegen Patientendosen üblicherweise im Bereich von etwa 50 mg/Tag bis 1500 mg/Tag, üblicherweise von etwa 100 mg/Tag bis 1000 mg/Tag und typischerweise von etwa 200 mg/Tag bis 750 mg/Tag. Bezogen auf das Körpergewicht liegt übliche Dosierungen im Bereich von 0,5 mg/kg/Tag bis 25 mg/kg/Tag, üblicherweise von etwa 1 mg/kg/Tag bis 16 mg/kg/Tag und typischerweise von etwa 3,3 mg/kg/Tag bis 12,5 mg/kg/Tag. Bezogen auf die Körperoberfläche des Patienten liegen übliche Dosen im Bereich von 22 mg/m²/Tag bis 1000 mg/m²/Tag, üblicherweise von etwa 45 mg/m²/Tag bis 666 mg/m²/Tag, und typischerweise von etwa 133 mg/m²/Tag bis 500 mg/m²/Tag.

[0068] Zur Verwendung als Strahlenschutzmittel gegen die Toxizitäten von ionisierender Strahlung oder als chemisches Schutzmittel gegen die Toxizitäten einer Krebstherapie sollte die Dosis lange genug vor der Einwirkung der Strahlung oder der Chemotherapie verabreicht werden, um eine Wirkung zu haben. Für die i.v.-Verabreichung wird die Dosis vorzugsweise innerhalb 30 Minuten vor der Anwendung einer Strahlung oder Chemotherapie verabreicht. Für die subkutane Verabreichung wird die Dosis vorzugsweise etwa 20 bis 90 Minuten vor der Verabreichung einer Strahlungstherapie verabreicht.

[0069] Zur Verwendung zur Behandlung von Erkrankungen, die ein Knochenmarkswachstum erfordern, wie MDS, oder eine Erholung der Knochenmarksfunktion, wird eine zirkulierende Konzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) von etwa 2 µM bis 100 µM als wirksam erwartet. Alternativ dazu, oder zusätzlich ist anzunehmen, daß eine Gewebekonzentration der verabreichten Verbindung (und/oder eines aktiven Metaboliten davon) von etwa 0,1 µM bis 1000 µM wirksam ist, wobei etwa 10 µM bis 500 µM bevorzugt werden.

[0070] Übliche Patientendosen zur Verabreichung von Amifostin und/oder seinem aktiven Metaboliten WR-1065 liegen üblicherweise im Bereich von etwa 50 mg/Tag bis 1000 mg/Tag, üblicherweise von etwa 100 mg/Tag bis 900 mg/Tag, und typischerweise von etwa 200 mg/Tag bis 800 mg/Tag. Erfolgt die Angabe bezogen auf das Körpergewicht des Patienten, liegen übliche Dosierungen im Bereich von 0,5 bis 16 mg/kg/Tag, üblicherweise von etwa 1,1 bis 15 mg/kg/Tag und typischerweise von etwa 2,2 bis 13,5 mg/kg/Tag. Erfolgt die Angabe bezogen auf die Körperoberfläche des Patienten, liegen übliche Dosierungen im Bereich von etwa 22 bis 666 mg/m²/Tag, üblicherweise von etwa 45 bis 600 mg/m²/Tag und typischerweise von etwa 90 bis 540 mg/m²/Tag.

[0071] Für die subkutane Verabreichung von Amifostin und/oder seinem aktiven Metaboliten WR-1065 liegen Patientendosen üblicherweise im Bereich von etwa 50 mg/Tag bis 1200 mg/Tag, üblicherweise von etwa 100 mg/Tag bis 1100 mg/Tag und typischerweise von etwa 200 mg/Tag bis 1000 mg/Tag. Erfolgt die Angabe bezogen auf das Körpergewicht, liegen übliche Dosierungen im Bereich von 0,5 mg/kg/Tag bis 20 mg/kg/Tag, übli-

cherweise von etwa 1,1 mg/kg/Tag bis 18 mg/kg/Tag und typischerweise von etwa 2,2 mg/kg/Tag bis 16,2 mg/kg/Tag. Erfolgt die Angabe bezogen auf die Körperoberfläche des Patienten, liegen übliche Dosen im Bereich von etwa 22 mg/m²/Tag bis 800 mg/m²/Tag, üblicherweise von etwa 45 mg/m²/Tag bis 720 mg/m²/Tag und typischerweise von etwa 90 mg/m²/Tag bis 650 mg/m²/Tag.

[0072] Für andere Formen der Verabreichung kann die Dosierungsmenge und das Dosierungsintervall individuell angepaßt werden, um wirksame Plasma- und/oder Gewebespiegel der verabreichten Verbindung und/oder eines aktiven Metaboliten davon gemäß den hierin beschriebenen pharmakokinetischen Profilen einzustellen, wie vorher beschrieben wurde.

[0073] Die tatsächliche Menge der verabreichten Zusammensetzung hängt natürlich von dem behandelten Patienten ab, dem Gewicht des Patienten, dem Ernst des Leidens, der Art der Verabreichung und dem Urteil des verschreibenden Arztes.

6. Beispiel: Subkutane Verabreichung von Amifostin vermindert in vivo-Toxizitäten

[0074] Die vorteilhaften Wirkungen der subkutanen Verabreichung von Amifostin an Patienten wurde in einer randomisierten Dreifach-Überkreuz-Untersuchung demonstriert. Die Untersuchung wurde an einem Ort in den Vereinigten Staaten durchgeführt.

[0075] Normalpersonen wurden statistisch ausgewählt, damit sie an drei aufeinanderfolgenden Tagen Amifostin als intravenöse Infusion (200 mg/m²) als orale Formulierung (500 mg) und als subkutane Injektion (500 mg) erhielten, wie in Tabelle 1 beschrieben wird. In der Untersuchung wurde eine Gesamtheit von 12 Personen behandelt.

Tabelle 1
Behandlungsschema
(Dreiwege-Überkreuz-Muster)

	Tag 1	Tag 2	Tag 3
Folge 1	A	B	C
Folge 2	B	C	A
Folge 3	C	A	B

Behandlung A Amifostin (200 mg/m²) als kontinuierliche intravenöse Infusion innerhalb von 7,5 Minuten
 Behandlung B Amifostin (500 mg) in flüssiger Formulierung als einzelne orale Dosis.
 Behandlung C Amifostin (500 mg) als zwei simultane subkutane Injektionen.

[0076] Alle Personen wurden am Ort der Untersuchung vom Abend vor der Verabreichung der ersten Dosis des untersuchten Medikaments bis die endgültige Vollblutprobe erhalten worden war isoliert. Vollblutproben wurden bis zu vier Stunden nach jeder Amifostin-Dosis gesammelt.

[0077] Auswählbare Personen schlossen gesunde normale männliche Freiwillige im Alter zwischen 18 und 35 Jahren (einschließlich) ein. Alle Personen, die an der Studie teilnahmen, wiese Vorbehandlungswerte für das vollständige Blutbild (CBC), die Serumchemie und Urinanalyse innerhalb von ±10% des Normalbereichs für das Bezugslabor auf, die von den Erfindern als klinisch insignifikant angesehen wurden. Außerdem hatten alle Personen ein normales Vorbehandlungs-Elektrokardiogramm (EKG).

[0078] Personen, von denen bekannt war, daß sie HIV-positiv waren, Wirksubstanzen mißbrauchten oder Raucher waren (wenigstens innerhalb der letzten 6 Monate) wurden ausgeschlossen. Ebenfalls ausgeschlossen wurden Personen mit einem Vorbehandlungs-Hochdruck (systolischer Blutdruck >140 mmHg), Personen mit bekannten kardiovaskulären Erkrankungen, Personen mit allgemeinen oder psychologischen Zuständen, die verhinderten, daß sie die Studie abschließen oder ihre informierte Zustimmung unterschrieben, und Personen, die nicht Willens waren oder nicht in der Lage waren von alkoholischen Getränken und allen Medikamen-

ten Abstand zu nehmen, einschließlich verschreibungspflichtiger oder frei verkäuflicher Arzneimitteln und Vitaminen innerhalb von 7 Tagen vor Studienbeginn und innerhalb der drei Tage während der Teilnahme an der Studie.

6.1 Präparat von intravenösem Amifostin

[0079] Für die intravenöse Infusion wurde jede Ampulle Amifostin (500 mg pro Ampulle, U.S. Bioscience, lot. no. C3017C) mit 9,7 ml 0,9% Natriumchlorid-Injektion USP rekonstituiert. Die geeignete Amifostin-Dosis (200 mg/m²) wurde weiter mit 0,9% Natriumchlorid-Injektion USP, verdünnt, um ein Volumen von 50 ml für die Verabreichung zu erzeugen.

6.2 Präparat von oralem Amifostin

[0080] Für die orale Verabreichung wurde jede Ampulle Amifostin (500 mg pro Ampulle, U.S. Bioscience, lot. no. C3017C) mit 5 ml einer normalen Salzlösung rekonstituiert. Die rekonstituierte Lösung wurde zur Verabreichung in eine 10 ml-Spritze aufgezogen.

6.3 Präparat von subkutanem Amifostin

[0081] Für die subkutane Injektion wurde jede Ampulle Amifostin (500 mg pro Ampulle, U.S. Bioscience, lot. no. C3017C) mit 2,5 ml normaler Salzlösung rekonstituiert. Diese Lösung wurde auf zwei Spritzen (1,25 ml pro Spritze) für die Verabreichung aufgeteilt.

6.4 Verabreichung von intravenösem Amifostin

[0082] Die Personen erhielten das intravenöse Amifostin in einer Dosis von 200 mg/m² als 7,5-minütige Infusion (mittels einer Infusionspumpe), beginnend um 8 Uhr morgens. Während der Infusion wurden die Personen in einer supinierten Stellung gehalten. Nach der Amifostin-Verabreichung wurde allen Personen ein Standardfrühstück gestattet. Darüber hinaus erhielten alle Personen ein Standardmittagessen zu Mittag, ein Standardabendessen um 6 Uhr am Abend und einen Standardsnack um 10 Uhr abends.

[0083] Der systolische Grundliniendruck und Puls wurden direkt vor der Amifostin-Infusion gemessen, alle 2,5 Minuten während der Infusion und 5 Minuten nach der Infusion. Die Amifostin-Infusion wurde unterbrochen, wenn der systolische Blutdruck abnahm, wie in Tabelle 2 gezeigt ist, oder wenn die Person Symptome entwickelte, die mit einem vermindertem Blutdruck in Beziehung standen (Schwindel, Diaphoresis oder Brustschmerz).

[0084] Wenn es zu einer Hypotonie kam, erhielt die Person eine rasche Infusion von normaler Salzlösung und wurde in einer supinierten oder Trendelenburg-Lagerung gehalten, bis der Blutdruck zur Grundlinie zurückkehrte. Während dieser Zeit wurde der Blutdruck alle 3 Minuten überwacht.

[0085] Wenn der Blutdruck auf den in Tabelle 2 angenommenen Wert innerhalb von 5 Minuten nach dem Abbruch der Amifostin-Infusion zurückkehrte, und die Person ansonsten keine Symptome zeigte, konnte die Amifostin-Infusion wieder gestartet werden, bei anhaltendem häufigen Überwachen des Blutdrucks. Wenn es zu irgendeiner weiteren Episode von Bluthochdruck kam, wurden die obigen Richtlinien wiederum angewandt. Wenn der Blutdruck eines Patienten nicht innerhalb 5 Minuten nach dem Abbruch der Amifostin-Infusion zu dem Schwellenwert für einen Neubeginn der Amifostin-Infusion zurückgekehrt war, wurde die Infusion gestoppt, und nicht verwendetes Arzneimittel wurde verworfen.

Tabelle 2
Blutdruck-Richtlinien zur Unterbrechung und Aufnahme von Amifostin

	Systolischer Grundlinienblutdruck (mmHg)			
	≤110	111-130	131-150	>170
Unterbrechung der Infusion, wenn der systolische Blutdruck absinkt auf:	≤80	≤100	≤105	≤130
Wiederbeginn der Infusion, wenn der systolische Blutdruck zurückkehrt auf:	>80	>100	>120	>130

6.5 Verabreichung von oralem Amifostin

[0086] Personen, die orales Amifostin erhielten, ließ man (mit Ausnahme von Wasser) fasten, und zwar beginnend um Mitternacht in der Nacht vor der Aufnahme der oralen Dosis, bis Mitternacht des folgenden Tages, wenn sie ein Standardmittagessen erhielten. Während des Tags erhielten die Personen orales Amifostin, Ranitidin (50 mg) wurde durch intravenöse Injektion eine Stunde vor dem Beginn der Amifostin-Verabreichung verabreicht.

[0087] Personen erhielten orales Amifostin in einer Dosis von 500 mg in einer flüssigen Formulierung. Die Formulierung wurde dadurch verabreicht, daß man die Lösung leicht in den hinteren Abschnitt des Rachens eines Patienten spritzte. Man ließ die Patienten eine Stunde im Anschluß an die Verabreichung der oralen Lösung von Amifostin in der supinierten Stellung. Nach der Verabreichung von Amifostin ließ man alle Personen 4 oz. Wasser trinken und einen Drops essen, um den unangenehmen Geschmack des oralen Amifostins zu mildern. Alle Personen erhielten mittags ein Standardmittagessen, um 6 Uhr ein Standardabendessen und einen Standardsnack um 10:00 am Abend.

[0088] Lebenszeichen (Blutdruck und Puls) wurden direkt vor der oralen Verabreichung von Amifostin gemessen sowie wiederholt alle 5 Minuten innerhalb einer Stunde. Wenn es zu einem Blutunterdruck kam, erhielt die Person eine rasche Infusion von 500 ml normaler Salzlösung und wurde in der supinierten Stellung oder in der Trendelenburg-Stellung gehalten, bis der Blutdruck zur Grundlinie zurückkehrte. Während dieser Zeit wurde der Blutdruck alle 3 Minuten überwacht.

6.6 Verabreichung von subkutanem Amifostin

[0089] Subkutanes Amifostin wurde in einer Dosis von 500 mg (als flüssige Formulierung) verabreicht. Die Amifostin-Dosis wurde in gleichen Teilen auf zwei Spritzen aufgeteilt, und an zwei Orten der Bauchwand verabreicht. Man hielt die Personen 30 Minuten im Anschluß an die beiden Injektionen von Amifostin in der supinierten Stellung. Im Anschluß an die Amifostin-Verabreichung durften alle Personen ein Standardfrühstück zu sich nehmen. Allen Personen wurde ein Standard-Mittagessen zur Mittagszeit gegeben, ein Standardabendessen um 6 Uhr abends und ein Standardsnack um 10 Uhr abends.

[0090] Lebenszeichen (Blutdruck und Puls) wurden direkt vor der subkutanen Verabreichung von Amifostin und wiederholt alle 5 Minuten innerhalb von 30 Minuten gemessen. Wenn es zu einer Hypotonie kam, erhielt die Person eine rasche Infusion von 500 ml normale Salzlösung und wurde in der supinierten Stellung oder in der Trendelenburg-Stellung gehalten, bis der Blutdruck zur Grundlinie zurückkehrte. Während dieser Zeit wurde der Blutdruck alle 3 Minuten überwacht.

6.7 Vorherige und gleichzeitige Medikamentenbehandlung

[0091] Alle Personen erhielten an dem Tag, an dem Amifostin oral verabreicht wurde, Ranitidin. Jeder Person, bei der es zu einer Übelkeit von Stufe 2 oder höher und/oder einem Erbrechen kam, gestattete man, Prochlorperazin (10 mg, oral oder als Suppositorium) zu nehmen, und zwar alle 4 Stunden, wenn nötig.

6.8 Bewertungen der Vorbehandlung

[0092] Vorbehandlungsbewertungen erfolgten innerhalb 7 Tagen der Behandlungsaufnahme und schlossen folgendes ein:

- Geschichte und physikalische Untersuchung, einschließlich Größe, Gewicht und Lebenszeichen (Blutdruck, Puls und Temperatur);
- CBC mit Differential und Plättchen;
- Blutchemieuntersuchungen, einschließlich Blutharnstoffstickstoff (BUN), Serumkreatinin, Calcium, totales Bilirubin, Albumin, SGOT, SGPT, alkalische Phosphatase, Glucose und Gesamtprotein;
- Urinanalyse; und
- EKG.

[0093] Wenn die Laborparameter irgendeiner Person anormal waren, wurden die Laboratoriumstests wiederholt. Wenn beim neuerlichen Test die Parameter normal waren, wurde die Person in die Studie aufgenommen. Wenn die anormalen Parameter anhielten, wurde die Person aus der Studie ausgeschlossen.

6.9 Wirksamkeitsbeurteilungen

[0094] Der primäre Endpunkt dieser Studie war die relative Bioverfügbarkeit von 500 mg Amifostin, subkutan oder oral verabreicht, und zwar verglichen mit 200 mg/m² Amifostin, verabreicht intravenös. Da es sich hierbei um einer Überkreuzstudie handelte, bei der jede Person Amifostin auf allen drei Verabreichungswegen erhielt, wurden die Bioverfügbarkeiten von subkutanen und oralem Amifostin relativ zu intravenösem Amifostin bei jeder Person bewertet.

6.9.1 Sammlung von Blutproben

[0095] Blutproben (5 bis 7 ml jeweils) wurden entweder durch Venenpunktion oder ein Dauer-Venenkatheter (IVC) mit Heparinverschluß gesammelt. Wenn IVC angewandt wurde, wurde es in den Arm gegenüber der Infusionsstelle eingeschoben. Wenn eine Zentralleitung verwendet wurde, wurde das intravenöse Amifostin über eine distale intravenöse Stelle verabreicht. Für jede Leitung wurden die ersten 3 bis 5 cm³ Blut vor der Blutabnahme verworfen (Leervolumen).

[0096] Bei Personen, die Amifostin intravenös erhielten, wurden Blutproben 5 Minuten vor der Amifostin-Verabreichung (Grundlinie) sowie 2,5, 5, 7,5, 10, 15, 20, 30 und 60 Minuten und 2 und 4 Stunden nach der Amifostin-Verabreichung gesammelt.

[0097] Bei Personen, die orales Amifostin als flüssige Formulierung erhielten, wurden Blutproben unmittelbar vor der Amifostin-Verabreichung (Grundlinie) und 5, 10, 15, 30, 45 und 60 Minuten sowie 2 und 4 Stunden nach der Amifostin-Verabreichung gesammelt.

[0098] Bei Personen, die subkutanes Amifostin erhielten, wurden Blutproben unmittelbar vor der Amifostin-Verabreichung (Grundlinie) und 5, 10, 15, 30, 45 und 60 Minuten 2 und 4 Stunden nach der Amifostin-Verabreichung gesammelt.

6.9.2 Blutprobenpräparierung

[0099] Blutproben wurden zu angegebenen Zeiten während einer 4-stündigen Periode nach jeder Dosis von Amifostin gesammelt. Jede Blutprobe wurde wie in Tabelle 3 beschrieben präpariert. Zu Analyse Zwecken wurden die Blutproben geteilt: eine Probe wurde verwendet, um die Anwesenheit von Amifostin zu bestimmen, und die andere Probe wurde verwendet, um die Anwesenheit von WR-1065 (aktiver Metabolit) zu bestimmen.

Tabelle 3

Präparation von Plasma-Proben zur Bestimmung der Konzentrationen von Amifostin und WR-1065

	Vollblut wurde in EDTA-Vacutainer-Röhrchen auf Eis abgezogen	
	↓	↓
	1,5 ml Vollblut wurde entfernt und in Polypropylen-Röhrchen pipettiert, die 1,5 ml PCA/EDTA-Lösung auf Eis enthielten	Rest des Gesamtbluts nach der Entfernung von 1,5 ml
	↓	↓
	Sofort sorgfältige Vermischung durch Verwirbeln	Zentrifugieren der Röhrchen bei hoher Geschwindigkeit für 5 Minuten bei 4°C
	↓	↓
	Röhrchen wurden bei hoher Geschwindigkeit 10 Minuten bei 4°C zentrifugiert	Plasmaüberstand wurde in etikettierte Polypropylen-Röhrchen auf Eis entfernt
↓	↓	↓
Sammele das Pellet	Der klare Überstand wurde in etikettierte Polypropylen-Röhrchen auf Eis überführt	Lagerung bei -70°C (diese Proben sind zur Bestimmung von Amifostin)
↓	↓	
Lagern bei -70°C	Lagerung bei -70°C (diese Proben sind zur Bestimmung von WR-1065, dem aktiven Metaboliten)	

EDTA ist Ethylendiamintetraessigsäure

PCA ist Perchlorsäure

[0100] Wie in Tabelle 3 gezeigt ist unterschieden sich die Präparationen von Amifostin (Grundarzneimittel) und WR-1065 (aktiver Metabolit) für die pharmakokinetische Analyse voneinander. Dieser Unterschied beruhte auf dem Stoffwechselweg von Amifostin. Amifostin ist eine Prodrug, die am Ort des Gewebes durch alkalische Phosphatase zu dem aktiven Metaboliten WR-1065 dephosphoryliert wird. WR-1065 kann weiter oxidiert werden, um sowohl symmetrische als gemischte Disulfide zu bilden, oder einem weiteren Metabolismus über eine kupferabhängige Aminoxidase unter Bildung von Acrolein und Cysteamin unterliegen. Um eine weitere Oxidation von WR-1065 zu verhindern, wurde den Proben vor der Zentrifugation PCA/EDTA zugesetzt. Da PCA/EDTA den Zellgehalt des Bluts zerreißt, wurden die Proben länger zentrifugiert, um eine Kontamination/einen Me-

tabolismus der aktiven Metaboliten zu verhindern. Folglich wurde nur der klare Überstand (Serum) für die Analyse von WR-1065 verwendet. Im Gegensatz dazu wurde den Blutproben, die für die Analyse des Grundmedikaments bestimmt waren, kein PCA/EDTA zugesetzt; zur Analyse des Grundmedikaments wurden daher Plasma-Proben präpariert.

6.9.3 Pharmakokinetische Analyse

[0101] Konzentrationen an Amifostin (unverändertes Medikament) und WR-1065 (aktiver Metabolit) wurden unter Verwendung von Hochdruck-Flüssigkeitschromatographieverfahren (HPLC) mit elektrochemischem Nachweis gemessen, wie von Shaw et al. beschrieben wird (Shaw et al. 1984, "A Liquid Chromatographic Electrochemical Assay for S-2-(3-Aminopropylamino)ethylphosphorothioate (WR-2721) in Human Plasma," J. Liq. Chromatog. 7: 2447–2465; Shaw et al., 1986, "Measurement of S-2-(3-Aminopropyl Amino)ethanethiol (WR-1065) in Blood and Tissue," J. Liq. Chromatog. 9: 845–859). WINNONLIN, die WINDOWS-Version von PCNONLIN, wurde zur Bestimmung von pharmakokinetischen Parametern für jede Person im Anschluß an jeden Verabreichungsweg verwendet. Es wurde eine nicht-kompartierte Modellierung der Daten durchgeführt.

6.10 Sicherheitsbewertungen

[0102] Alle Personen, die wenigstens eine Dosis der Protokolltherapie erhalten hatten, wurden als zu Sicherheitszwecken bewertbar angesehen. Die Sicherheit wurde während und nach der Verabreichung von Amifostin bewertet (bevor die Personen den Ort der Studie verließen) und zwar durch Analyse von negativen Vorfällen, eine physikalische Prüfung und Laboratoriumstests.

[0103] Die Toxizitätsermittlung erfolgte nach jeder Dosis Amifostin. Die Toxizität beruhte auf National Cancer Institute (NCI) Common Toxicity Criteria.

[0104] Die folgenden Sicherheitsbewertungen erfolgten nach der letzten Dosis Amifostin (am Tag 3), jedoch bevor die Personen den Ort der Studie verließen:

- physikalische Untersuchung, einschließlich Lebenszeichen (Blutdruck, Puls und Temperatur);
- CBC mit Differential und Plättchen;
- Blutchemie, einschließlich BUN, Serumkreatinin, Calcium, Gesamtbilirubin, Albumin, SGOT, SGPT, alkalische Phosphatase, Glucose und Gesamtprotein;
- Urinanalyse; und
- Toxizitätsaufzeichnung.

[0105] Bei Personen, bei denen bei der Entlassung anormale Laboratoriumswerte festgestellt wurden, wurden diese Parameter wiederholt. Wenn die Parameter anormal blieben, wurde die Person an einen Arzt ihrer Wahl für eine Nachsorge überwiesen.

6.11 Bestimmung der Probengröße

[0106] Unter Verwendung eines 3×3 "latin square"-Verfahrens mit 12 Personen, betrug die Nachweisbarkeit einen 30%igen Unterschied bei der Fläche unter der Kurve (AUC) für Amifostin (Grundmedikament) und WR-1065 80%. Dieser Unterschied war definiert als Veränderung bei der AUC-Werten (67% mehr oder 40% weniger) für einen Verabreichungsweg gegenüber den anderen beiden Verabreichungswegen. Die Nachweisbarkeit-Ermittlung beruht auf der Annahme einer Standardabweichung von 50% der mittleren AUC und einer 70% Korrektur mit Personen.

6.12 Statistische Analyse

[0107] Der primäre Endpunkt dieser Studie war die relative Bioverfügbarkeit von 500 mg Amifostin, die oral oder subkutan verabreicht wurden, verglichen mit 200 mg/m² Amifostin, die intravenös verabreicht wurden. Da dieses eine Überkreuz-Studie war, bei der jede Person Amifostin auf allen drei Verabreichungswegen erhielt, wurden die Bioverfügbarkeiten von subkutanem und oralem Amifostin innerhalb jeder Person relativ zu intravenösem Amifostin bewertet.

[0108] Die Bioverfügbarkeit wurde dadurch bewertet, daß man die Fläche unter der Kurve für die Plasma/Serum-Konzentration gegen die Zeit (AUC) von 0 bis 4 Stunden verwendete. AUCs wurden unter Verwendung einer Extrapolation gemäß einer geraden Linie vom letzten Nicht-Null-Punkt errechnet.

[0109] Die Bioverfügbarkeit von Amifostin (Grundarzneimittel plus aktiver Metabolit) im Anschluß an die orale und subkutane Verabreichung beruhte auf dem Verhältnis der AUCs dieser Verabreichungswege, zu der AUC von intravenösem Amifostin. Die AUCs wurden dann analysiert unter Verwendung eines Varianz-Analysemodells (ANOVA) mit Weg, Zeitraum und Person als Variable. Die Abfolge wurde nicht in das Modell aufgenommen, da diese Variable gleichermaßen durch Weg und Zeitraum bestimmt wurde. Das Konfidenzintervall im Verhältnis des subkutanen oder oralen Wegs zum intravenösen Weg wurde dadurch errechnet, daß man den mittleren Quadratfehler des gesamten ANOVA-Modells errechnete.

[0110] Da es sich um eine Überkreuzstudie handelte, die an drei aufeinanderfolgenden Tagen durchzuführen war, wurden Toxizitäten dem Verabreichungsweg an dem Tag zugeordnet, an dem die Toxizität auftrat. Ein vollständiges nicht-parametrisches Überkreuzmodell (Wahrscheinlichkeit des Verhältnis-Tests) wurde dazu verwendet, Toxizitäten zu bewerten, die im Hinblick auf Zeitraum- und Folge-Effekte korrigiert war. Ein PROC CATMOD von SAS® wurde für diese Analyse verwendet.

6.13 Ergebnisse

[0111] Zwischen dem 2. April 1996 und dem 23. Juli 1996 nahmen 12 gesunde Freiwillige an dieser Phase I-Bioverfügbarkeitsstudie vom Amifostin, das intravenös, oral und subkutan verabreicht wurde (Protokoll WR-A507) teil. Diese Studie wurde an einem Ort in den Vereinigten Staaten durchgeführt. Alle 12 Personen schlossen die Studie gemäß dem Protokoll ab.

[0112] Eine Gesamtheit von 12 gesunden Männern nahmen am Protokoll WR-A057 teil (Tabelle 4). Das mittlere Alter dieser Personen betrug 25,5 Jahre, im Bereich von 18 bis 34 Jahren. Die mittlere Körperoberfläche (BSA) betrug 1,84 m² und lag im Bereich von 1,69 bis 2,15 m². Alle Personen hatten normale Vorbehandlungs-Laborwerte innerhalb von 10% des Normalbereichs und keine Anomalitäten der Vitalzeichen, bevor sie die Medikamente gemäß der Studie erhielten. Darüber hinaus hatten alle Personen normale Vorbehandlungs-EKG-Werte.

Tabelle 4

Demographische Ausgangswert-Charakteristika der 12 Personen, die Amifostin intravenös, oral und subkutan erhielten

Parameter	Zahl (n = 12)	Prozent
Alter (Jahre)		
Mittelwert	25,5	
Bereich	18 - 34	
Rasse		
Kaukasisch	6	(50,0 %)
Schwarz	5	(41,7 %)
Andere	1	(8,3 %)
Körperoberfläche (m ²)		
Mittelwert	1,84	
Bereich	1,69 - 2,15	
Gewicht (kg)		
Mittelwert	70,2	
Bereich	59 - 91	
Größe (cm)		
Mittelwert	176,5	
Bereich	158 - 188	

6.13.1 Bioverfügbarkeit

[0113] Fig. 1 zeigt die Kurven für die Plasma/Serum-Konzentration gegen die Zeit für Amifostin (Grundmedikament plus aktiver Metabolit) im Anschluß an die orale, subkutane und intravenöse Verabreichung von Amifostin an alle 12 Personen. Wie in dieser Figur zu erkennen ist, unterschied sich die Form der Kurven für die Plasma/Serum-Konzentration gegen die Zeit für alle drei Verabreichungswege ausgeprägt. Nach einer 200 mg/m² intravenösen Infusion (innerhalb von 7,5 Minuten) kam es zu einer raschen Aufnahme von Amifostin innerhalb <1 Minute nach der Verabreichung des Medikaments. Danach nahmen die Plasma/Serum-Konzentrationen von Amifostin rasch ab. Die Maximalkonzentration von Amifostin betrug etwa 130 µM 8 bis 10 Minuten nach der intravenösen Verabreichung die 45 Minuten nach der Verabreichung des Medikaments auf unter 10 µM abfiel.

[0114] Im Anschluß an eine 500 mg Subkutaneinjektion kam es zu einem ausgeprägt langsameren Anstieg der Plasma/Serum-Konzentrationen vom Amifostin verglichen mit der intravenösen Verabreichung. Die Maximalkonzentration von Amifostin (etwa 15 µM) wurde 15 Minuten nach der subkutanen Verabreichung beobachtet und wurde etwa 30 Minuten beibehalten. Danach fielen die Amifostin-Konzentrationen etwa 50 Minuten nach der subkutanen Verabreichung auf unter 10 µM. 30 Minuten nach der Verabreichung von 200 mg/m² Amifostin intravenös und 500 mg Amifostin subkutan waren die Kurven für die Plasma/Serum-Konzentration gegen die Zeit für Amifostin (Grundmedikament plus aktiver Metabolit) identisch.

[0115] Nach der oralen Verabreichung (500 mg als flüssige Formulierung) wurde die Maximalkonzentration von Amifostin (etwa 5 µM) 5 bis 8 Minuten nach der Verabreichung des Medikaments beobachtet. Die Amifostin-Konzentrationen sanken 10 bis 13 Minuten nach der oralen Verabreichung des Medikaments auf unter 1,0 µM. Ein zweiter Peak von etwa 4 µM wurde 45 Minuten nach der oralen Verabreichung des Medikaments beobachtet, der 60 Minuten nach der Verabreichung des Medikaments auf etwa 1 µM absank.

[0116] Fig. 2 zeigt die Kurven für die mittlere Plasma-Konzentration gegen die Zeit für Amifostin (Grundmedikament) im Anschluß an die orale, subkutane und intravenöse Verabreichung von Amifostin an die 12 Personen. Nach oralem Amifostin existierte keine feststellbare Menge des Grundmedikaments in Plasmaproben der Personen. Die Form der Kurven der Plasma-Konzentration gegen die Zeit für die intravenöse und subkutane Dosis waren den in Fig. 1 gezeigten ähnlich. Nach der 200 mg/m² Intravenösdosis kam es zu einer raschen Aufnahme von Amifostin innerhalb <1 Minute nach der Verabreichung des Medikaments. Danach sanken die Plasma-Konzentrationen vom Amifostin rasch ab. Die Maximalkonzentration von Amifostin betrug etwa 100 µM 8 bis 10 Minuten nach der intravenösen Verabreichung, und sie sank etwa 30 Minuten nach der Verabreichung des Medikaments auf unter 10 µM. Im Anschluß an eine 500 mg-Subkutaneinjektion kam es zu einem langsameren Anstieg bei den Plasma-Konzentrationen von Amifostin. Die Maximalkonzentration von Amifostin (etwa 10 µM) wurde 15 Minuten nach der Subkutandosis beobachtet und wurde etwa 30 Minuten aufrechterhalten. Danach fielen die Konzentrationen von Amifostin etwa 45 Minuten nach der subkutanen Verabreichung auf unter 10 µM. 30 Minuten nach der Verabreichung von 200 mg/m² Intravenös-Amifostin und 500 mg Subkutan-Amifostin waren die Kurven für die Plasma-Konzentration gegen die Zeit des Grundmedikaments ähnlich, wobei jedoch höhere Konzentrationen des Grundmedikaments für subkutanes Amifostin gegenüber intravenösem Amifostin festgestellt wurden.

[0117] Fig. 3 zeigt die Kurven für die mittlere Serumkonzentration gegen die Zeit für WR-1065 (aktiver Metabolit) im Anschluß an die subkutane, orale und intravenöse Verabreichung von Amifostin bei allen 12 Personen.

[0118] Wie in dieser Figur zu erkennen ist, war die Form der Kurven für die Serumkonzentration gegen die Zeit für alle drei Verabreichungswege der in Fig. 1 gefundenen ähnlich. Tatsächlich war die Kurve für die Serumkonzentration gegen die Zeit für orales Amifostin in Fig. 1 exakt die gleiche Kurve wie in Fig. 3; der Grund dafür ist, daß im Anschluß die orale Amifostin-Verabreichung keine nachweisbare Menge des Grundmedikaments in den Plasmaproben der Personen nachweisbar war. Nach einer 200 mg/m² intravenösen Infusion kam es zu einer raschen Aufnahme von WR-1065 innerhalb <1 Minute der Verabreichung des Medikaments. Danach nahmen die Serumkonzentrationen von WR-1065 ebenfalls rasch ab, jedoch mit einer langsameren Geschwindigkeit als die, die für das Grundmedikament beobachtet wurde (vgl. Fig. 2). Die Maximalkonzentration von WR-1065 betrug 10 Minuten nach der intravenösen Verabreichung etwa 30 µM, und sie fiel etwa 45 Minuten nach der Verabreichung des Medikaments auf unter 5 µM. Im Anschluß an eine 500 mg-Subkutaneinjektion kam es zu einem langsameren Anstieg der Serumkonzentrationen von WR-1065. Die Maximalkonzentration von WR-1065 (etwa 5 µM) wurde 15 Minuten nach der subkutanen Verabreichung beobachtet und wurde etwa 30 Minuten aufrechterhalten. Danach fielen die Konzentrationen von WR-1065 etwa 60 Minuten nach der subkutanen Verabreichung auf unter 5 µM. 40 Minuten nach der Verabreichung von 200 mg/m² intravenösem Ami-

fostin und 500 mg subkutanem Amifostin waren die Kurven für die Serumkonzentration gegen die Zeit für den aktiven Metaboliten identisch.

[0119] Der primäre Endpunkt dieser Studie war die relative Bioverfügbarkeit von 500 mg Amifostin, die oral oder subkutan verabreicht wurden gegenüber 200 mg/m² Amifostin, die intravenös verabreicht wurden. Tabelle 5 führt die AUC-Werte für Amifostin (Grundmedikament und aktiver Metabolit in Kombination) für jede Person im Anschluß an die orale, subkutane und intravenöse Verabreichung von Amifostin auf. Bezogen auf das Verhältnis von AUCs, betrug die relative Bioverfügbarkeit von Amifostin (Grundmedikament und aktiver Metabolit) im Anschluß an eine subkutane 500 mg-Dosis 0,67 (95% Konfidenzintervall von 0,37 bis 0,98) der intravenösen 200 mg/m²-Dosis. Die relative Bioverfügbarkeit von Amifostin im Anschluß an eine orale 500 mg-Dosis betrug 0,11 (95% Konfidenzintervall von 0,04 bis 0,18) der 200 mg/m²-Intravenösdosis.

Tabelle 5

Relative Bioverfügbarkeit von 500 mg Amifostin, die oral oder subkutan verabreicht wurden, gegenüber 200 mg/m² Amifostin, die intravenös verabreicht wurden, bei 12 gesunden männlichen Personen (Grundmedikament und aktiver Metabolit in Kombination)

AUC ($\mu\text{M} \times \text{min}$) Kombination				Bioverfügbarkeit	
Person Nr.	500 mg subkutan (sc)	500 mg oral (po)	200 mg/m ² intravenös (iv)	Verhältnis po/iv	Verhältnis sc/iv
1001	1726	656	1573	0,42	1,10
1002	2411	243	2820	0,09	0,86
1003	3946	456	2432	0,19	1,62
1004	475	131	2198	0,06	0,22
1005	643	378	1383	0,27	0,46
1006	180	132	1876	0,07	0,10
1007	732	50	2102	0,02	0,35
1008	3080	42	1811	0,02	1,70
1009	550	86	1296	0,07	0,42
1010	348	0	1343	0,00	0,26
1011	985	121	1382	0,09	0,71
1012	550	2	1832	0,00	0,30
Mittelwert	1302	191	1837	0,11	0,67
95 % CI*	611-1993	75-307	1565-2109	0,04-0,18	0,37-0,98

*Unter Verwendung des mittleren Quadratfehlers aus dem ANOVA-Modell

CI Konfidenzintervall

[0120] Tabelle 6 führt die AUC-Werte für das Grundmedikament für jede Person nach der oralen, subkutanen und intravenösen Verabreichung von Amifostin auf. Bezogen auf das Verhältnis von AUCs betrug die relative Bioverfügbarkeit des Grundmedikaments im Anschluß an eine 500 mg-Subkutandosis 0,72 (95% Konfidenzintervall von 0,26 bis 1,18) der 200 mg/m²-Intravenösdosis. Die relative Bioverfügbarkeit des Grundmedikaments im Anschluß an eine orale 500 mg-Dosis betrug 0,00, da im Anschluß an eine orale Verabreichung von Amifostin in den Blutproben der Personen kein Grundmedikament nachgewiesen wurde (vergleiche **Fig. 2**).

Tabelle 6

Relative Bioverfügbarkeit von 500 mg Amifostin, die oral oder subkutan verabreicht wurden, gegenüber 200 mg/m² Amifostin, die intravenös verabreicht wurden, bei 12 gesunden männlichen Personen (Grundmedikament)

Person Nr.	AUC ($\mu\text{M} \times \text{min}$) Grundmedikament			Bioverfügbarkeit	
	500 mg subkutan (sc)	500 mg oral (po)	200 mg/m ² intravenös (iv)	Verhältnis po/iv	Verhältnis sc/iv
1001	1208	0	840	0,00	1,44
1002	1135	0	1305	0,00	0,87
1003	2883	0	1238	0,00	2,33
1004	224	0	1759	0,00	0,13
1005	305	0	805	0,00	0,38
1006	0	0	1526	0,00	0,00
1007	515	0	1723	0,00	0,30
1008	2924	0	1378	0,00	2,12
1009	154	0	812	0,00	0,19
1010	264	0	928	0,00	0,28
1011	697	0	1156	0,00	0,60
1012	0	0	1351	0,00	0,00
Mittelwert	859	0	1235	0,00	0,72
95 % CI*	274-1444	---	1044-1426	---	0,26-1,18

*Unter Verwendung des mittleren Quadratfehlers aus dem ANOVA-Modell

CI Konfidenzintervall

[0121] Tabelle 7 führt die AUC-Werte des aktiven Metaboliten (WR-1065) für jede Person im Anschluß an die orale, subkutane und intravenöse Verabreichung von Amifostin auf. Bezogen auf das Verhältnis von AUCs, betrug die relative Bioverfügbarkeit des aktiven Metaboliten im Anschluß an eine subkutane 500, mg-Dosis 0,71 (95% Konfidenzintervall von 0,55 bis 0,86), der 200 mg/m²-Intravenösdosis. Die relative Bioverfügbarkeit des aktiven Metaboliten im Anschluß an eine orale 500 mg-Dosis betrug 0,32 (95% Konfidenzintervall von 0,16 bis 0,48) der 200 mg/m²-Intravenösdosis.

Tabelle 7

Relative Bioverfügbarkeit von 500 mg Amifostin, die oral oder subkutan verabreicht wurden, gegenüber 200 mg/m² Amifostin, die intravenös verabreicht wurden, bei 12 gesunden männlichen Personen (aktiver Metabolit)

Person Nr.	AUC ($\mu\text{M} \times \text{min}$) aktiver Metabolit			Bioverfügbarkeit	
	500 mg subkutan (sc)	500 mg oral (po)	200 mg/m ² intravenös (iv)	Verhältnis po/iv	Verhältnis sc/iv
1001	518	656	745	0,88	0,70
1002	1587	243	1583	0,15	1,00
1003	1047	456	1234	0,37	0,85
1004	251	131	424	0,31	0,59
1005	338	378	569	0,66	0,59
1006	180	132	265	0,50	0,68
1007	218	50	381	0,13	0,57
1008	142	42	437	0,10	0,32
1009	379	86	482	0,18	0,79
1010	84	0	338	0,00	0,25
1011	188	121	203	0,59	0,93
1012	550	2	457	0,00	1,20
Mittelwert	457	191	593	0,32	0,71
95 % CI*	207-707	75-307	360-826	0,16-0,48	0,55-0,86

*Unter Verwendung des mittleren Quadratfehlers aus dem ANOVA-Modell

CI Konfidenzintervall

[0122] Die obigen AUC-Daten, die in den Tabellen 5, 6 und 7 präsentiert werden, wurden dazu verwendet, die absolute Bioverfügbarkeit von Amifostin im Anschluß an die orale und subkutane Verabreichung zu errechnen. Indem man die intravenöse 200 mg/m²-Dosis als diejenige Dosis verwendete, die für eine 100%ige Bioverfügbarkeit steht, wurden die AUC-Daten für orales und subkutanes Amifostin bezüglich der Dosis angepaßt und mit den AUC-Daten für intravenöses Amifostin verglichen. Auf der Basis des Verhältnisses von AUCs, im Kontrast zu den relativen Bioverfügbarkeiten, betrug die absolute Bioverfügbarkeit von Amifostin (Grundmedikament plus aktiver Metabolit) im Anschluß an die subkutane Verabreichung 0,50 (95% Konfidenzintervall von 0,27 bis 0,73) der Intravenösdosis. Die absoluten Bioverfügbarkeiten des Grundmedikaments und des aktiven Metaboliten im Anschluß an die subkutane Verabreichung betrugen 0,53 (95% Konfidenzintervall von 0,18 bis 0,88) bzw. 0,53 (95% Konfidenzintervall von 0,41 bis 0,64) der intravenösen Dosis. Die absolute Bioverfügbarkeit von Amifostin (Grundmedikament plus aktiver Metabolit) im Anschluß an eine orale Verabreichung betrug 0,08 (95% Konfidenzintervall von 0,03 bis 0,13) der intravenösen Dosis.

6.13.2 Wirksamkeit

[0123] Plasma-Konzentrationen vom Amifostin (Grundmedikament) und Serumkonzentrationen von WR-1065 (aktiver Metabolit) wurden in Proben von 12 gesunden männlichen Personen vor und bis zu 4 Stunden nach der Verabreichung von Amifostin als eine subkutane 500 mg-Injektion, eine orale 500 mg-Lösung und eine intravenöse 200 mg/m²-Infusion (innerhalb von 7,5 Minuten) gemessen. Anhand dieser Daten wurden Kurven für Plasma/Serum-Konzentration gegen die Zeit erzeugt und dazu verwendet, das pharmakokinetische Profil vom Amifostin (sowohl Grundmedikament als auch aktiver Metabolit) im Anschluß an jeden Verabreichungsweg zu bestimmen.

[0124] Wie in Fig. 1 gezeigt ist, unterschieden sich die Formen der Kurven für die Plasma/Serum-Konzentra-

tion gegen die Zeit für Amifostin (Grundmedikament plus aktiver Metabolit) bei den drei Verabreichungswegen. Im Anschluß an alle drei Verabreichungswege kam es zu einer raschen Aufnahme von Amifostin innerhalb von 5 Minuten der Verabreichung des Medikaments. Der intravenöse Weg zeigte die schnellste Aufnahmege-
 schwindigkeit, gefolgt von dem subkutanen Weg und dem oralen Weg. Danach nahmen die Plasma/Serum-Konzentrationen von Amifostin ab. Die Geschwindigkeit der Abnahme war für den intravenösen Weg am schnellsten und am langsamsten für den subkutanen Weg. Die maximale Konzentration von Amifostin (Grundmedikament plus aktiver Metabolit) im Anschluß an die intravenöse Verabreichung betrug etwa 130 µM (etwa 100 µM für das Grundmedikament und 30 µM für den aktiven Metaboliten). Die maximalen Konzentrationen von Amifostin (Grundmedikament plus aktiver Metabolit) nach der subkutanen und oralen Verabreichung betrugen etwa 15 µM bzw. 5 µM. Die Maximalkonzentrationen wurden nach etwa 15 Minuten erreicht und bildeten bis etwa 45 Minuten nach der Verabreichung des Medikaments ein Plateau. Wie in **Fig. 2** gezeigt ist, existierte in Plasmaproben von Personen im Anschluß an orales Amifostin keine nachweisbare Menge des Grundmedikaments.

6.13.3 Negative Vorfälle

[0125] Tabelle 8 führt die Personen auf, die im Anschluß an die intravenöse, orale und subkutane Verabreichung von Amifostin ein negatives Ereignis berichteten. Keine Person unterbrach Amifostin aufgrund der negativen Ereignisse. Alle negativen Ereignisse waren bezüglich der Schwere mild, vorübergehend und wurden als mit Amifostin in Beziehung stehend betrachtet. Fünf Personen berichteten von negativen Ereignissen im Anschluß an intravenöses Amifostin gegenüber einer Person jeweils im Anschluß an orales und subkutanes Amifostin. Übelkeit war das häufigste negative Ereignis. Andere negative Ereignisse schlossen ein Kopfweg, Hypotonie, Erbrechen, Schwindigkeiten und Schläfrigkeit.

Tabelle 8

Liste von Personen, die im Anschluß an die intravenöse, orale und subkutane Verabreichung von Amifostin von negativen Ereignissen* berichteten (N = 12)

Negatives Ereignis	Intravenös	Oral	Subkutan
Kopfschmerz	1008		
Hypotonie	1003	1003	
Übelkeit	1001, 1003, 1005, 1007, 1008		1002
Erbrechen	1008		
Schwindel	1003	1003	
Schläfrigkeit	1008		

*Alle negativen Ereignisse waren von milder Schwere und mit Amifostin verbunden.

6.13.3.1 Hypotonie

[0126] Eine Person berichtete von milden und vorübergehenden Hypotonieepisoden nach der intravenösen und oralen Verabreichung von Amifostin (Tabelle 10). Am Tag 2 der Studie wies Person 1003 einen Blutdruckwert vor der Infusion von 115/58 mmHg auf, der 5 Minuten nach dem Abschluß der Infusion auf 99/56 mmHg abnahm. 5 Minuten später kehrte der Blutdruck auf die Grundlinie (114/56 mmHg) zurück. Person 1003 hatte auch im Anschluß an die orale Verabreichung von Amifostin am Tag 3 zwei Hypotonieepisoden. Bei einem Ausgangswert für den Blutdruck von 121/70 mmHg wurden vorübergehende Abnahmen des Blutdrucks (99/49 und 98/51 mmHg) 5 und 25 Minuten nach der oralen Verabreichung von Amifostin beobachtet. Danach erfüllte kein weiterer der Blutdruckwerte die Kriterien für eine Hypotonie.

[0127] Im Anschluß an die subkutane Verabreichung von Amifostin kam es zu keinem Fall einer Hypotonie.

6.13.3.2 Erbrechen

[0128] Sechs Personen berichteten von Übelkeit, und eine Person erbrach sich während der Studie. Von

Übelkeit wurde von fünf Personen im Anschluß an intravenöses Amifostin und von einer Person im Anschluß an subkutanes Amifostin berichtet (Tabelle 10). Ein Erbrechen wurde bei einer Person nach intravenösem Amifostin berichtet. Alle Übelkeits/Erbrechens-Episoden waren von milder Schwere und vorübergehend. Zwei Personen wurde im Anschluß an intravenöses Amifostin eine antiemetische Therapie verschrieben. Person 1007 erhielt Prochlorperazin (10 mg) gegen Übelkeit, und Person 1008 erhielt Prochlorperazin (10 mg) gegen Übelkeit/Erbrechen.

6.13.3.3 Klinische Bewertungen

[0129] Physikalische Untersuchungen, die das Gewicht und die Vitalzeichen (Blutdruck, Puls und Temperatur) einschlossen, wurden nach der letzten Amifostin-Dosis, jedoch vor der Entlassung der Person vom Studienort durchgeführt. Nach der letzten Amifostin-Dosis wurden keine erwähnenswerten Veränderungen dieser Parameter festgestellt.

6.13.3.4 Klinische Laboratoriumstests

[0130] Laboratoriumstests, die Hämatologie, Serumchemie und Urinanalyse einschlossen, wurden nach der letzten Amifostin-Dosis, jedoch vor der Entlassung der Personen vom Studienort durchgeführt. Die Laboratoriumsergebnisse wurden mit Laboratoriums-Bezugsbereichen sowie NCI Common Toxicity Criteria verglichen. Eine Person (Person 1010) zeigte einen Serum-Keratininwert (0,60 mg/dl) von >10% unter der unteren Grenze des Bezugsbereichs (0,70 bis 1,40 mg/dl); sein Ausgangswert betrug 0,90 mg/dl. Dieser niedrige Wert wurde von den Erfindern als klinisch insignifikant betrachtet. Außerdem kam es bei keiner der Personen zu einer Laboratoriumstoxizität gemäß NCI Common Toxicity Criteria von Stufe 2 oder mehr.

6.13.3.5 Sicherheitsschlußfolgerungen

[0131] Amifostin wurde unabhängig vom Weg der Verabreichung gut toleriert. Alle 12 Personen schlossen die für die Studie erforderlichen Medikamentenverabreichungen protokollgemäß ab. Keine Person setzte Amifostin aufgrund negativer Ereignisse ab. Alle negativen Ereignisse waren von milder Schwere, vorübergehend und als mit Amifostin im Zusammenhang stehend betrachtet. Fünf Personen berichteten von negativen Ereignissen im Anschluß an intravenöses Amifostin gegenüber einer Person jeweils im Anschluß an orales und subkutanes Amifostin (Tabelle 8). Übelkeit war das häufigste negative Ereignis. Andere negative Ereignisse schlossen Kopfschmerz, Hypotonie, Erbrechen, Schwindel und Schläfrigkeit ein. Eine Person berichtete nach der intravenösen und oralen Verabreichung von Amifostin von milden und vorübergehenden Hypotonieepisoden. Diese Episoden traten nach der Amifostin-Verabreichung auf und keine dauerte länger als 5 Minuten. Im Anschluß an die subkutane Verabreichung von Amifostin kam es zu keinem Auftreten von Hypotonie. Es gab keinerlei erwähnenswerte Befunde für irgendeine der klinischen Bewertungen oder klinischen Laboratoriumstests.

7. Beispiel: Subkutane Verabreichung von Amifostin schützte Tiere gegen strahlungsinduzierte Mucositis

[0132] Eine der wichtigsten limitierenden akuten Toxizitäten, die mit einer Radiotherapie assoziiert sind, ist die strahlungsinduziert Mucositis. Die Fähigkeit, die Dauer und Schwere von akuten Schleimhautreaktionen zu vermindern ist besonders wichtig bei der Radiotherapie und/oder Chemotherapie von Kopf- und Halskrebs. Die radioprotektiven Wirkungen von Amifostin wurden daher in einem experimentellen Mucositis-Modell untersucht. Insbesondere verglich die Studie die radioprotektiven Wirkungen von Amifostin nach subkutaner (s.c.) und intraperitonealer (i.p.) Verabreichung. Es wurde das von Parkins et al. entwickelte Maus-Modell verwendet, um die Schleimhautreaktionen in der unteren Mäuselippe nach der Bestrahlung zu untersuchen, wobei dieses Modell auf dem Fachgebiet als reproduzierbares Modell etabliert ist (Parkins et al., 1983, Radiother. Oncol. 1: 159–165).

7.1 Versuchsaufbau

[0133] Weibliche C57BL/6 Mäuse eines Alters von 8 bis 10 Wochen wurden verwendet und mit halbflüssiger Nahrung gefüttert. Eine Gesamtheit von 40 Mäusen wurde statistisch auf 8 Behandlungsgruppen von jeweils 5 Mäusen aufgeteilt. Die Behandlungsgruppen waren:

Gruppe 1:	Salzlösung (i.p.) und Bestrahlung
Gruppe 2:	Salzlösung (s.c.) und Bestrahlung
Gruppe 3:	Amifostin (200 mg/kg, i.p.) und Bestrahlung
Gruppe 4:	Amifostin (400 mg/kg, i.p.) und Bestrahlung
Gruppe 5:	Amifostin (200 mg/kg, s.c.) und Bestrahlung
Gruppe 6:	Amifostin (400 mg/kg, s.c.) und Bestrahlung
Gruppe 7:	Salzlösung (i.p.)
Gruppe 8:	Salzlösung (s.c.)

[0134] Nichtanästhesierte Mäuse wurden in einer supinierten Stellung gehalten und ausschließlich an der Spitze ihres Munds bestrahlt. Sie wurden unter Verwendung von Führungen immobilisiert, die mit denen vergleichbar waren, wie sie bereits früher von Ang et al. verwendet wurden (1982, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8: 145–148). Die Bestrahlung erfolgte mit einem RT 250-Philips-Gerät, das 1,98 Gy pro Minute lieferte (200 Kv, 20 mA, Filter von 0,2 mm de Cu). Während der Bestrahlung wurde eine konstante Normdruck-Lufterneuerung aufrechterhalten. Die Amifostin-Wirkungen wurden unter Verwendung einer einzigen Dosis von 16,5 Gy bewertet.

7.2 Verabreichung von Amifostin

[0135] Amifostin wurde in physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl, um eine Endkonzentration von 50 mg/ml zu erreichen) unmittelbar vor Injektionen mit 200 oder 400 mg/kg Körpergewicht gelöst. Sowohl die i.p.- als auch die s.c.-Injektionen wurden 30 Minuten vor der Bestrahlung durchgeführt. Eine Placebolösung aus nur Salzlösung wurde für die Kontrollgruppe verwendet.

7.3. Mucositis-Bewertungssystem

[0136] Die Wirkungen der Bestrahlung auf die Lippenschleimhaut wurden unter Anwendung des Bewertungssystems bewertet, das von Parkins et al. Beschrieben wird (1983, Radiother. Oncol. 1: 159–165). Das Körpergewicht der behandelten Mäuse wurde täglich nach der Behandlung bewertet. Eine Verminderung des Körpergewichts wurde als ein objektives Anzeichen für die Schwere der Mucositis verwendet, die von der Bestrahlung herrührte, die vermutlich auf die Unfähigkeit der Tiere, Nahrung zu sich zu nehmen, zurückzuführen war. Bei diesem Modell erreichten die akuten Reaktionen etwa am Tag 10 oder 11 nach der Bestrahlung ihren Höhepunkt.

[0137] Andere Mucositis-Symptome wie Schleimhauterythem und -ödem wurden ebenfalls aufgezeichnet. Diese Symptome entwickelten sich langsamer als der Gewichtsverlust im Anschluß an die Bestrahlung. Schleimhauterythem- und -ödem wurden separat bewertet und konnten als separate Bewertungen oder als kombinierte Bewertung analysiert werden, die eine Maximalbewertung von 7 lieferte. Das Schleimhauterythem der Mauslippe wurde gemäß Tabelle 9 bewertet.

Tabelle 9
Bewertungssystem für Schleimhauterythem

Bewertung	Schleimhautbeobachtung
0,5	zweifelhaft, ob anormal rosa
1	leichte, aber eindeutige Rötung
2	starke Rötung
3	herdförmige Abschälung
4	Benässung oder Verkrustung, die etwa 1/2 der Lippenfläche bedeckte
5	Nässen oder Verkrustung, die mehr als die Hälfte der Lippenfläche bedeckte

[0138] Ein Schleimhautödem (Anschwellung) der Lippen wurde gemäß Tabelle 10 bewertet.

Tabelle 10
Bewertungssystem für Schleimhautödem

Bewertung	Schleimhautbeobachtung
0,5	50/50 fraglich, ob eine Schwellung vorliegt
1	leichte, jedoch eindeutige Schwellung
2	starke Schwellung

7.4 Ergebnisse

[0139] Eine Körpergewichtsverminderung von bestrahlten Mäusen wurde als objektives Anzeichen für eine Mucositis gemessen (Tabelle 11). Eine einzige Bestrahlungsdosis verminderte das Körpergewicht der Tiere erheblich, und zwar insbesondere 7 bis 13 Tage nach der Behandlung (**Fig. 4A und 4B**). Unbestrahlte Tiere behielten während des Verlaufs der Studie ihr konstantes Körpergewicht. Eine Verminderung des Körpergewichts wurde bei Tieren verhindert, die Amifostin entweder als i.p.- oder s.c.-Injektion erhielten. Die radioprotektiven Wirkungen von Amifostin waren dosisabhängig.

[0140] Nicht bestrahlte Mäuse zeigten während des gesamten Versuchszeitraums kein Erythem (Tabelle 12). Im Gegensatz dazu wurden bei allen Bestrahlungsgruppen (**Fig. 5A und 5B**) Erytheme beobachtet. Sowohl eine i.p.-Verabreichung als auch eine s.c.-Verabreichung von Amifostin verminderten die mittlere Erythembewertung, und zwar im Vergleich zur Salzlösung plus Bestrahlung. Ähnlich verminderten sich auch die Schleimhautödem-Bewertungen durch beide Injektionsmethoden von Amifostin (**Fig. 6A und 6B, Tabelle 13**).

[0141] Die in den **Fig. 4A, 4B, 5A, 5B, 6A, 6B** und in den Tabellen 11 bis 13 gezeigten Daten zeigen, daß sowohl die s.c.- als auch die i.p.-Verabreichung im Hinblick auf eine Verminderung von negativen Wirkungen der Bestrahlung wirksam war, und zwar gemessen anhand der drei Mucositis-Indikatoren, d. h. Körpergewicht, Erythem-Bewertung und Ödem-Bewertung. Außerdem ergab die subkutane Verabreichung von Amifostin bei 200 mg/kg die höchste Wirksamkeit zu den Zeitpunkten maximaler negativer Wirkungen (d. h. am Tag 9 im Hinblick auf das Körpergewicht und Tag 12 bei Erythem und Ödem). Eine Erhöhung der Amifostin-Dosis von 200 mg/kg bis 400 mg/kg lieferte nur minimale zusätzliche Vorteile. Diese Ergebnisse zeigen somit an, daß subkutan verabreichtes Amifostin gegenüber anderen Verabreichungswegen wie beispielsweise i.p. eine verbesserte Wirksamkeit aufweisen kann.

TABELLE 11
Körpergewicht

Salzlösung (i.p.) + Bestrahlung

Tage	0	6	7	9	12	13	14
1	20	19.8	16.3	16.5	15.1	15.5	18.4
2	20	17.4	14.6	13.3	14.3	13.87	15.4
3	20	17.8	16	13.9	14.8	15.6	16.9
4	19.5	16.8	15.6	13.7	15.2	16.4	17.9
5	19	18.2	16.1	15.4	15.1	14	16.8
Mittel	19.7	18	15.72	14.56	14.9	15.074	17.08
Standard	0.2	0.505964	0.302324	0.601332	0.164317	0.490893	0.517107

Salzlösung (s.c.) + Bestrahlung

Maus	0	6	7	9	12	13	14
1	20	20.1	18.8	18	17.6	18.46	20.9
2	20	17.8	15.5	14.5	15.7	16	18.2
3	20	19	18.1	17.1	16.9	18.5	20.2
4	21	19	17.7	16.4	17.7	19	21.5
5	20	18.2	15.7	14.4	16.6	17.5	18.8
Mittel	20.2	18.82	17.16	16.08	16.9	17.892	19.92
Standard	0.2	0.395474	0.661513	0.71232	0.364692	0.531662	0.622415

Amifostin (i.p.) 200 mg/kg + Bestrahlung

Maus	0	6	7	9	12	13	14
1	20	18.1	19.1	18	19.3	19.3	19.8
2	20	18.1	16.7	17	19.7	19.6	20.1
3	20	18.6	18.3	17.3	19.3	19.4	20
4	20	19	19.6	20.1	21.3	21.4	21.6
5	20	20	20.7	20.4	21.3	21	21
Mittel	20	18.76	18.88	18.56	20.18	20.14	20.5
Standard	0	0.352987	0.669627	0.710352	0.463033	0.44	0.343511

Amifostin (i.p.) 400 mg/kg + Bestrahlung

Maus	0	6	7	9	12	13	14
1	20.5	19.7	20	20.4	21.2	20.8	21.6
2	19	18.1	19.4	18.2	18.7	19	18.8
3	21	19.2	20.7	21.8	21	21.3	21.8
4	19	19.4	20.4	20.8	20.8	21.2	21.1
Mittel	19.875	19.1	20.125	20.3	20.425	20.575	20.825
Standard	0.515388	0.348807	0.280995	0.759386	0.580768	0.535996	0.690863

Amifostin (s.c.) 200 mg/kg + Bestrahlung

Maus	0	6	7	9	12	13	14
1	20	17.7	18.3	19.4	18.6	19.2	19.8
2	20	18.8	19.9	20.6	19.5	19.8	20.9
3	19.5	18.2	19.3	19.6	19.5	19.7	20.2
4	19	18.7	19	19.5	20.3	20.3	22.2

DE 698 21 498 T2 2004.12.02

	5	19	18.9	18.8	19.8	19.9	20	21.5
Mittel		19.5	18.46	19.06	19.78	19.56	19.8	20.92
Standard		0.223607	0.224944	0.265707	0.215407	0.282135	0.181659	0.432897

Amifostin (s.c.) 400 mg/kg + Bestrahlung

Mouse		0	6	7	9	12	13	14
1		20	19	19.4	20.6	19.9	20.5	21.4
2		20	19.7	19.8	20.8	18.8	20.3	21
3		19.5	20	20.6	21.4	20.7	21.1	21.4
4		21	16.9	19.2	20.7	21.7	22	24
5		20	19.6	20	20.7	20.8	21.3	21.7
Mittel		20.1	19.04	19.8	20.84	20.38	21.04	21.9
Standard		0.244949	0.559106	0.244949	0.143527	0.487237	0.302655	0.536656

Salzlösung (i.p.)

Maus		0	6	7	9	12	13	14
1		20	20.7	19.8	20.4	19.9	20.7	20.9
2		19.3	19.6	19.1	20.5	20.1	19.9	20.5
3		20.6	21.1	21.1	21.5	21.5	21.5	23.1
4		19.3	20.2	20.1	20.3	20.6	21.2	21.1
5		21	20.1	21	21.8	21.1	21.6	21.6
Mittel		20.04	20.34	20.22	20.9	20.64	20.98	21.44
Standard		0.341467	0.25807	0.376032	0.311448	0.299333	0.31209	0.451221

Salzlösung (s.c.)

Maus		0	6	7	9	12	13	14
1		20	19.8	19.7	20.7	20	20.7	21.5
2		19.3	19.2	19.4	20.1	19.8	20.3	20.9
3		20.5	20	20.4	21	20.1	21	21.6
4		20.2	20.1	20.3	21	20.2	20.8	21.3
5		20	20.2	20.2	21.1	20.8	21.4	22.6
6		19	19.2	19.2	20.1	19.6	20.2	20.9
Mittel		19.83333	19.75	19.86667	20.66667	20.08333	20.73333	21.46667
Standard		0.2319	0.182117	0.20602	0.18738	0.16816	0.181965	0.256472

TABELLE 12
Erythem
Tage nach der Behandlung

Salzlösung (i.p.) + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0.5	0	2	5	2	2
2	0	0.5	4	4	3	3
3	0.5	0.5	4	5	5	4
4	0.5	0.5	1	5	2	3
5	0	0.5	2	5	3	2
Mittel	0.3	0.4	2.6	4.8	3	2.8
Standard	0.122474	0.1	0.6	0.2	0.547723	0.374166

Salzlösung (s.c.) + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0	0.5	2	4	3	2
2	0	0.5	2	5	3	3
3	0	0	2	5	5	3
4	0	0	2	4	2	2
5	0	0.5	1	3	2	2
Mittel	0	0.3	1.8	4.2	3	2.4
Standard	0	0.122474	0.2	0.374166	0.547723	0.244949

Amifostin (i.p.) 200 mg/kg + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0.5	0.5	1	4	0.5	0.5
2	0	0	2	4	2	2
3	0	0	1	3	2	1
4	0.5	0.5	1	3	1	0
5	0	0	1	1	0.5	0
Mittel	0.2	0.3	1.2	3	1.2	0.7
Standard	0.122474	0.122474	0.2	0.547723	0.339116	0.374166

Amifostin (i.p.) 400 mg/kg + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0.5	3	0	0
2	0	0	1	1	0.5	0.5
3	0	0	0.5	1	0.5	0
4	0	0	1	2	0	0
Mittel	0	0	0.75	1.75	0.25	0.125
Standard	0	0	0.144338	0.478714	0.144338	0.125

Amifostin (s.c.) 200 mg/kg + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0.5	2	1	0.5
2	0	0	1	2	0.5	0.5

3	0	0.5	1	1	2	0.5
4	0	0	3	2	1	0.5
5	0	0	3	3	1	1
Mittel	0	0.1	1.7	2	1.1	0.6
Standard	0	0.1	0.538516	0.316228	0.244949	0.1

Amifostin (s.c.) 400 mg/kg + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0	0	2	3	1	1
2	0	0	1	1	0	0
3	0	0	2	1	0.5	0
4	0	0	2	3	1	0
5	0	0	1	2	1	0.5
Mittel	0	0	1.6	2	0.7	0.3
Standard	0	0	0.244949	0.447214	0.2	0.2

Salzlösung (i.p.)

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
Mittel	0	0	0	0	0	0
Standard	0	0	0	0	0	0

Salzlösung (s.c.)

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
Mittel	0	0	0	0	0	0
Standard	0	0	0	0	0	0

TABELLE 13
Oedem
Tage nach der Behandlung

Salzlösung (i.p.) + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0.5	0.5	1	2	2	1
2	0	0.5	0.5	2	2	2
3	0.5	0.5	2	2	2	2
4	0.5	0.5	1	2	2	2
5	0.5	0.5	2	2	2	7
Mittel	0.4	0.5	1.3	2	2	2.8
Standard	0.1	0	0.3	0	0	1.067708

Salzlösung (s.c.) + Bestrahlung

Maus	6	9	12	13	14
1	0	1	2	2	1
2	0.5	1	2	2	2
3	0.5	0.5	2	2	1
4	0.5	1	2	2	1
5	0.5	2	2	2	2
Mittel	0.4	1.1	2	2	1.4
Standard	0.1	0.244949	0	0	0.244949

Amifostin (i.p.) 200 mg/kg + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	1	1	1	2	0.5	0.5
2	0	0	1	2	2	2
3	0.5	0.5	1	2	2	1
4	0.5	0.5	0.5	1	1	0.5
5	0	0	0.5	0.5	0.5	0
Mittel	0.4	0.4	0.8	1.5	1.2	0.8
Standard	0.187083	0.187083	0.122474	0.316228	0.339116	0.339116

Amifostin (i.p.) 400 mg/kg + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0.5	0.5	0.5	1	0.5	0.5
2	0	0	0.5	0.5	0.5	0.5
3	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0
4	0	0.5	0.5	1	0.5	0.5
Mittel	0.25	0.375	0.5	0.75	0.375	0.375
Standard	0.144338	0.125	0	0.144338	0.125	0.125

Amifostin (s.c.) 200 mg/kg + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0.5	0.5	0.5	1	0.5	0.5
2	1	0.5	1	1	1	1
3	0.5	0.5	1	0.5	1	0.5
4	0.5	0.5	1	1	1	0

5	0.5	0.5	2	1	1	1
Mittel	0.6	0.5	1.1	0.9	0.9	0.6
Standard	0.1	0	0.244949	0.1	0.1	0.187083

Amifostin (s.c.) 400 mg/kg + Bestrahlung

Maus	6	7	9	12	13	14
1	1	0.5	1	0.5	0.5	1
2	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0
3	0.5	0	1	0.5	0.5	0.5
4	1	0.5	1	1	1	0.5
5	0	0.5	1	1	1	0.5
Mittel	0.6	0.4	0.9	0.7	0.7	0.5
Standard	0.187083	0.1	0.1	0.122474	0.122474	0.158114

Salzlösung (i.p.)

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
Mittel	0	0	0	0	0	0
Standard	0	0	0	0	0	0

Salzlösung (s.c.)

Maus	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
Mittel	0	0	0	0	0	0
Standard	0	0	0	0	0	0

8. Beispiel: Subkutane Verabreichung von Amifostin stimulierte das Wachstum von Knochenmarkszellen bei Menschen

8.1. Subkutane Verabreichung von Amifostin bei MDS-Patienten

[0142] Alle Patienten der Studie litten an MDS und wurden diagnostisch einem der folgenden Untertypen zugeordnet: refraktäre Anämie, refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten, refraktäre Anämie mit Exzeß-Ausbrüchen oder refraktäre Anämie mit Exzeßausbrüchen in Transformation. Zusätzlich litten die Patienten an Thrombocytopenie (Plättchen <100 000/ μ l), Neutropenie (ANC oder absoluter Neutrophilenwert <1500/ μ l) oder nicht-transfundiertem Hämoglobin <10 g/dl und/oder waren definitionsgemäß Transfusions-abhängig, indem sie wenigstens 4 Einheiten RPC in den 10 Wochen vor Studieneintritt benötigten. Abgesehen von der Transfusion hatten sie keine vorhergehende Behandlung gegen MDS innerhalb von 30 Tagen vor der Studie erhalten.

[0143] Eine 500 mg-Ampulle Amifostin wurde in 2,5 ml 0,9% NaCl für die s.c.-Verabreichung gelöst. Wenn die berechnete Amifostin-Dosis mehr als 2 ml Volumen für die Auflösung benötigte, wurde ein Gesamtvolumen gleichmäßig aufgeteilt und als zwei s.c.-Injektionen verabreicht. Der Blutdruck wurde vor der Behandlung und nach der ersten Dosis in 30 Minuten-Intervallen für bis zu 90 Minuten überwacht. Eine einzige Amifostin-Dosis wurde zu 500 mg verabreicht. Wenigstens drei Patienten wurden mit jeder Dosis behandelt. Für einen Behandlungszyklus erhielten die Patienten Montag bis Freitag drei Wochen lang Amifostin einmal täglich, gefolgt von zwei Wochen Ruhe. Die hämatologischen Reaktionen auf die Behandlung wurden dadurch bewertet, daß man die Neutrophilenzahl (ANC), die Plättchenzahl, die Erythroid-Reaktion einschließlich der Hämoglobinspiegel und der Retikulozytenzahlen sowie eine in vitro-Koloniebildung maß.

8.2. Ergebnisse

[0144] Von den Patienten, die eine s.c.-Verabreichung von Amifostin erhielten, wurden 17 Patienten auf die hämatologische Reaktion bewertet. Unter den 17 bewerteten Patienten hatten vier vorher vor der Studie Amifostin intravenös erhalten. Die Patienten hatten unterschiedliche cytogenetische Muster, wobei 8 Patienten den normalen Karyotyp zeigten und 9 Patienten einen anormalen Karyotyp zeigten. Bei den behandelten Patienten wurden minimale negative Wirkungen beobachtet: Übelkeit (Stufe I/II) bei einem Patienten, Müdigkeit (Stufe I/II) bei vier Patienten, Hitzegefühle (Stufe I/II) bei 6 Patienten, Erbrechen (Stufe I/II) bei einem Patienten, lokale Reaktion (Stufe III) bei einem Patienten und metallischer Geschmack (Stufe I/II) bei einem Patienten.

[0145] Tabelle 14 zeigt, daß 29% der behandelten Patienten eine 50% oder höhere Zunahme von ANC zeigten und zwar im Vergleich mit den Spiegeln vor der Behandlung. Zusätzlich zeigten 33% der Patienten eine 50%ige oder höhere Zunahme an Plättchen, und zwar verglichen mit den Spiegeln vor der Behandlung. Darüber hinaus zeigten 71% der Patienten eine 50%ige oder höhere Zunahme der Retikulozytenzahl, verglichen mit den Spiegeln vor der Behandlung.

Tabelle 14

	Bewertbar	Responder	[Werte]
ANC \geq 50 % \uparrow	17	5 (29 %)	[330-105/ μ l]
ANC < 1000	8	3 (38,5 %)	
ANC > 1000	9	2 (22 %)	
Plättchen \geq 50 % \uparrow	9	3 (33 %)	[23-32 000/ μ l]
> 50 000/ μ l	3	3 (100 %)	
< 50 000/ μ l	6	0	
Retik.-Zahl \geq 50 % \uparrow	14	10 (17 %)	[0,4 % - 4,8 %]
RBC-Transfusion (\leq 50 % \downarrow)	13	0	
BM Blasten \uparrow (RAEB)	5	2 (RAEB-t, AML)	
Hämoglobin > 1,5 g/dl \uparrow	7	1	
Ringsideroblasten	7	3 \downarrow [47 %-100 %]	

[0146] Knochenmarks-Vorläuferzellen wurden von den behandelten Patienten gewonnen und auf ihre Fähigkeit untersucht, in Standard-Methylcellulose-Assays CFU-GEMM-, BFU-E- und CFU-GM-Kolonien zu bilden. Die Fig. 7A-7C zeigt, daß Zellen, die von einer Anzahl von Patienten erhalten wurden, Knochenmarkskolonien produzierten. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß die subkutane Verabreichung von Amifostin an MDS-Patienten im Hinblick auf eine Induzierung des Wachstums von Knochenmarkszellen wirksam war.

[0147] Die vorliegende Erfindung ist in ihrem Schutzbereich durch die mit Beispielen belegten Ausführungsformen nicht beschränkt; die nur als Illustrationen von individuellen Aspekten der Erfindung gemeint sind. Tatsächlich ergeben sich aus der obigen Beschreibung und den beigefügten Zeichnungen für die Fachleute zahlreiche Modifikationen der Erfindung zusätzlich zu denjenigen, die hierin gezeigt und beschrieben sind. Derartige Modifikationen sollen in den Bereich der beigefügten Ansprüche fallen.

Patentansprüche

1. Verwendung einer Aminoalkylphosphorothioat- oder Aminoalkylthiol-Verbindung der Formel:



oder eines pharmazeutisch annehmbaren Additionssalzes oder Hydrats davon, worin:

R_1 Wasserstoff, C_6-C_7 -Aryl, C_2-C_7 -Acyl oder C_1-C_7 -Alkyl ist;

R_2 Wasserstoff oder PO_3H_2 ist;

n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist; und

m eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist

bei der Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung in der Therapie, wobei das genannte Arzneimittel dafür bestimmt ist, auf eine Weise verabreicht zu werden, daß ein pharmakokinetisches Profil erhalten wird, bei dem die Plasma- oder Vollblutkonzentration der verabreichten Verbindung, eines aktiven Metaboliten davon oder von beiden mit einer Geschwindigkeit von etwa $0,1 \mu\text{M}/\text{min}$ bis $40 \mu\text{M}/\text{min}$ zunimmt, wobei eine Maximalkonzentration etwa 5 min bis 60 min nach der Verabreichung erreicht wird.

2. Verwendung einer Aminoalkylphosphorothioat- oder Aminoalkylthiol-Verbindung der Formel:



oder eines pharmazeutisch annehmbaren Additionssalzes oder Hydrats davon, wobei:

R_1 Wasserstoff, C_6-C_7 -Aryl, C_2-C_7 -Acyl oder C_1-C_7 -Alkyl ist;

R_2 Wasserstoff oder PO_3H_2 ist;

n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist; und

m eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist

bei der Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung in der Therapie durch subkutane Verabreichung.

3. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die genannte Maximalkonzentration für einen Zeitraum von etwa 10 min bis 130 min auf einem Niveau bleibt.

4. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Maximalkonzentration etwa 12 min bis 18 min nach der Verabreichung erreicht wird.

5. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Maximum etwa $1 \mu\text{M}$ bis $40 \mu\text{M}$ beträgt.

6. Verwendung nach Anspruch 1, wobei in der Verbindung der Formel (I) R_1 Wasserstoff oder Methyl ist; R_2 Wasserstoff oder PO_3H_2 ist; m 2 oder 3 ist; und n 3 ist.

7. Verwendung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, wobei die Verbindung Amifostin, WR-1065, WR-151326 oder WR-151327 ist.

8. Verwendung nach Anspruch 7, wobei die Verbindung Amifostin ist.

9. Verwendung nach Anspruch 7, wobei die Verbindung WR-1065 ist.

10. Verwendung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, wobei die Verbindung in Form einer pharmazeutischen Zusammensetzung verabreicht wird, wobei die Zusammensetzung die Verbindung und einen pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoff, Träger oder ein Verdünnungsmittel umfaßt.

11. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Verbindung dem Individuum subkutan verabreicht wird.

12. Verwendung nach Anspruch 2 oder Anspruch 10, wobei die Verbindung dem Individuum durch subkutane kontinuierliche Infusion verabreicht wird.

13. Verwendung nach Anspruch 2, wobei etwa 50 mg bis 1500 mg der Verbindung dem Individuum pro Dosis verabreicht werden.

14. Verwendung nach Anspruch 10, wobei das pharmazeutisch annehmbare Verdünnungsmittel eine normale Salzlösung ist.

15. Verwendung nach Anspruch 2, wobei die subkutan verabreichte Verbindung eine verbesserte therapeutische Wirksamkeit zeigt.

16. Verwendung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, wobei die genannte Therapie darin besteht, Toxizitäten zu behandeln oder gegen diese zu schützen, die mit einer ionisierenden Strahlung assoziiert sind, Toxizitäten zu behandeln oder gegen diese zu schützen, die mit der Verabreichung von einer oder mehreren chemothe-

rapeutischen Mitteln assoziiert sind, die aus der Gruppe ausgewählt sind, die besteht aus Alkylierungsmitteln, Platinmitteln, Anthracyclinen, Taxanen und Mischungen davon, das normale Gewebe eines Krebspatienten, der eine Strahlentherapie erhält, zu schützen, Toxizitäten zu behandeln oder gegen diese zu schützen, die mit einer Krebstherapie assoziiert sind, das Knochenmarkwachstum zu stimulieren und/oder einen Patienten zu behandeln, der an dem myelodysplastischen Syndrom, Krebs oder einer HIV-Infektion leidet.

17. Verwendung nach Anspruch 16, wobei das eine oder die mehreren chemotherapeutischen Mittel aus der Gruppe ausgewählt sind, die besteht aus Cyclophosphamid, Cisplatin, Vinblastin, Carboplatin, Paclitaxel und Mischungen daraus.

18. Verwendung nach Anspruch 16, wenn dieser auf Anspruch 2 rückbezogen ist, wobei die subkutan verabreichte Verbindung eine verbesserte therapeutische Wirksamkeit aufweist.

Es folgen 10 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

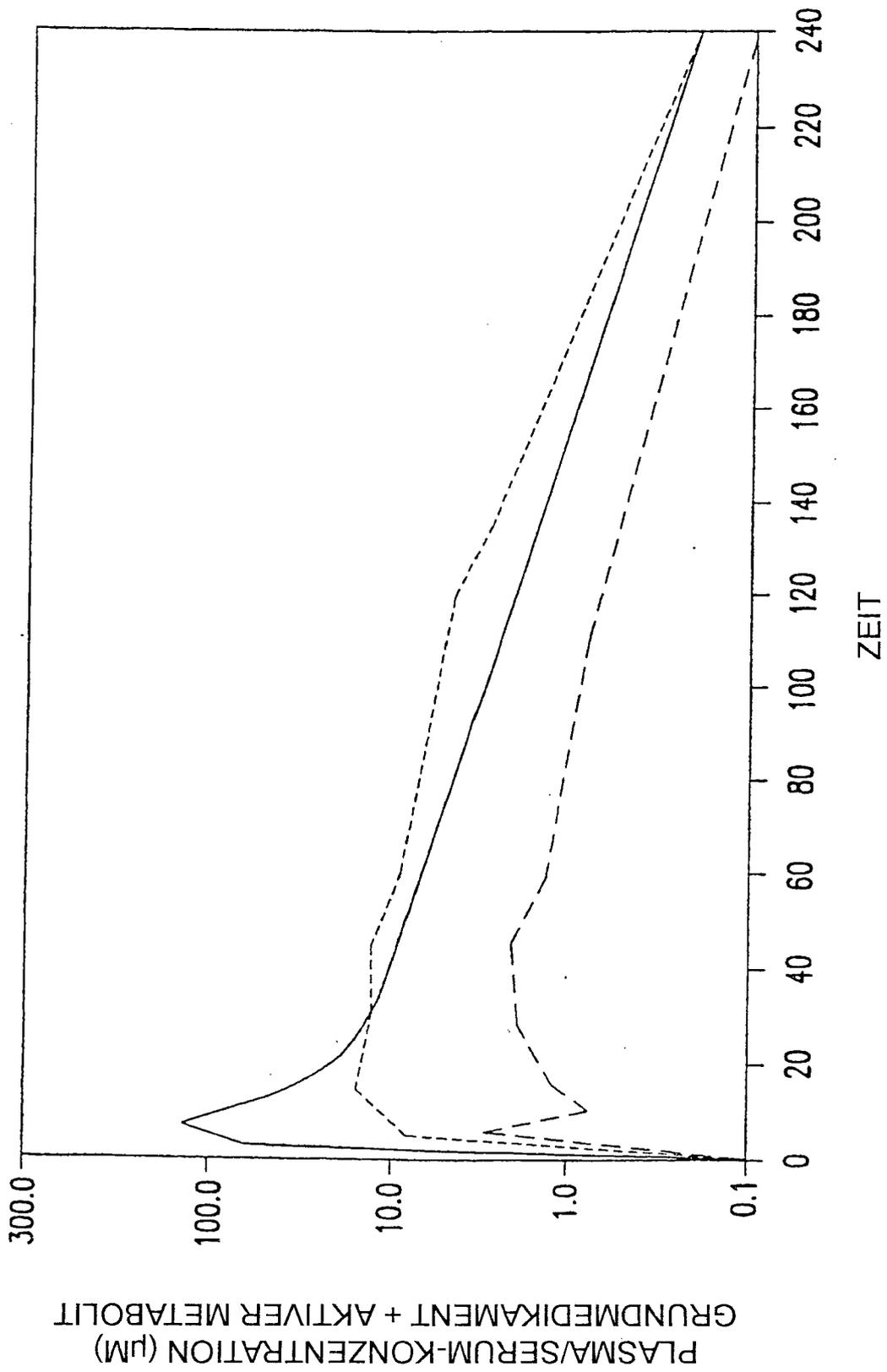


FIG.1

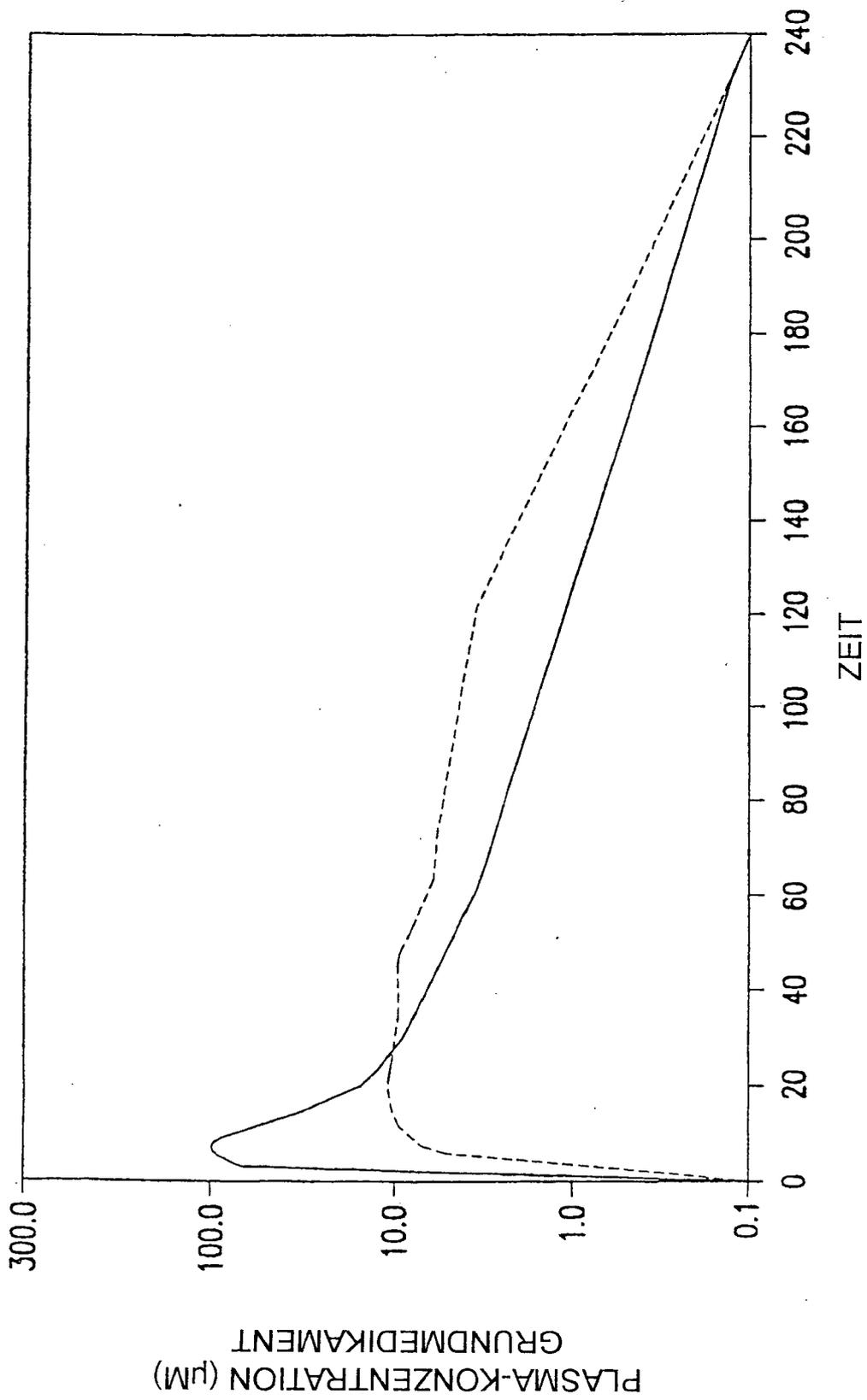


FIG.2

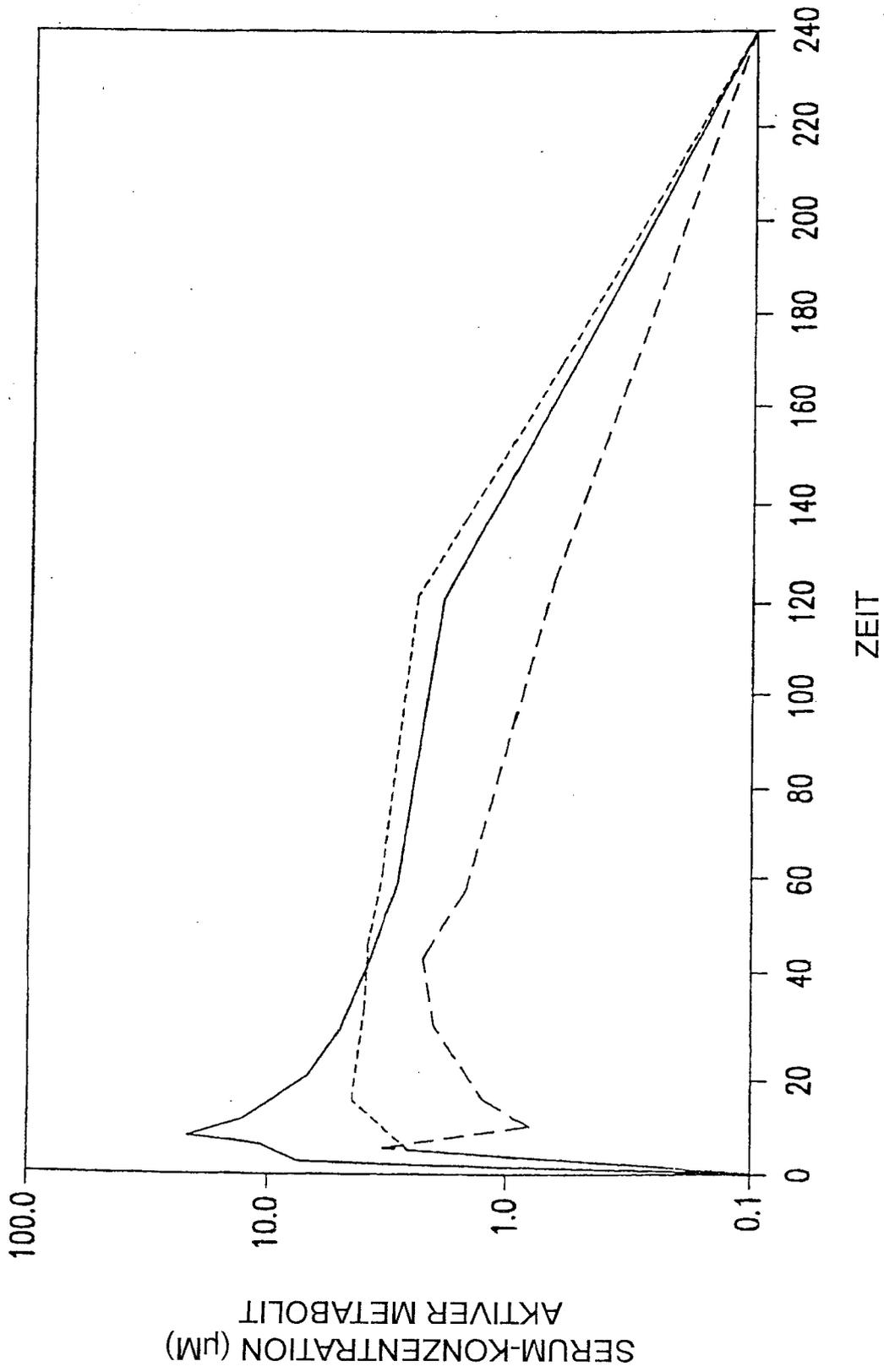


FIG.3

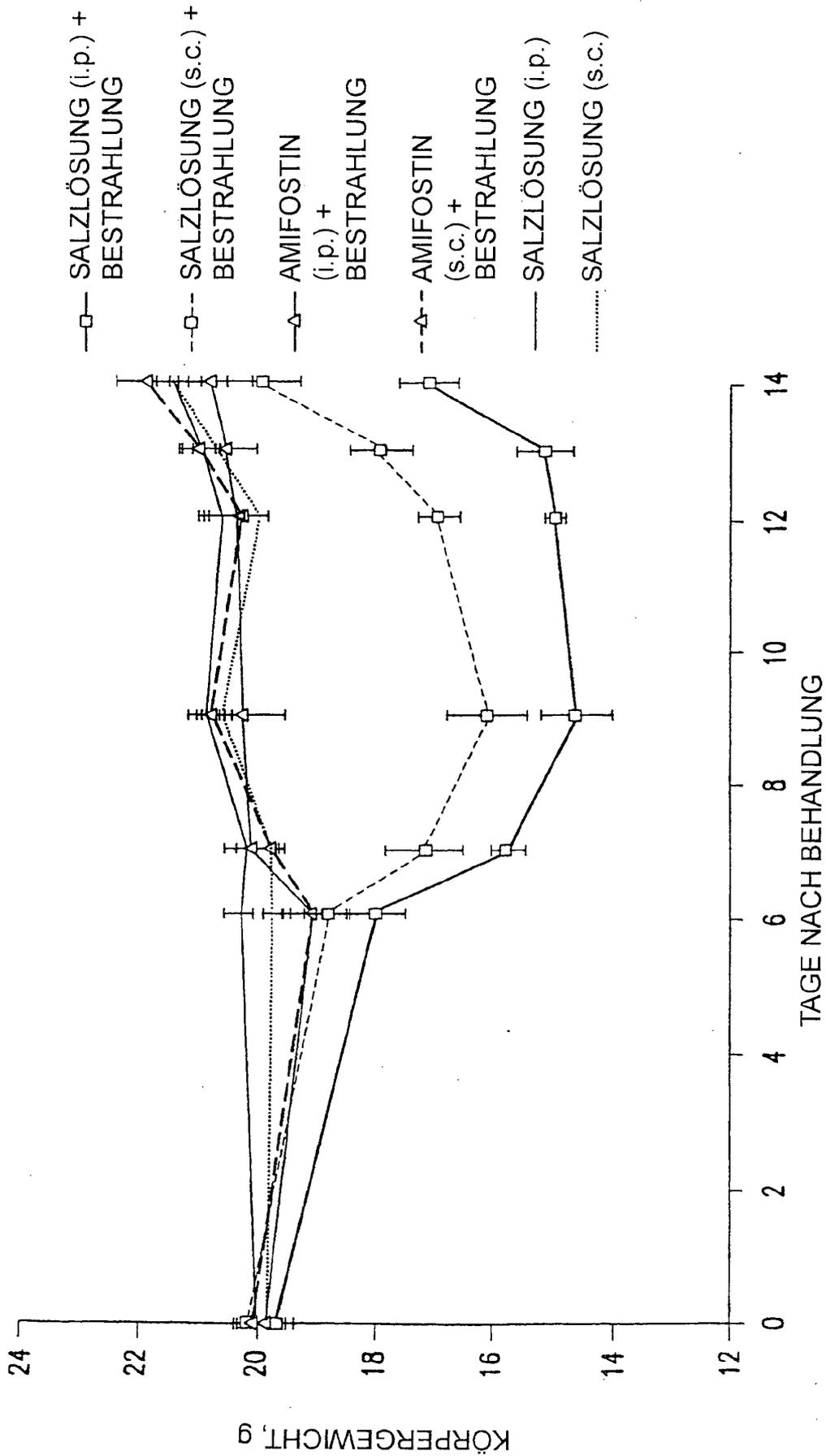


FIG.4A

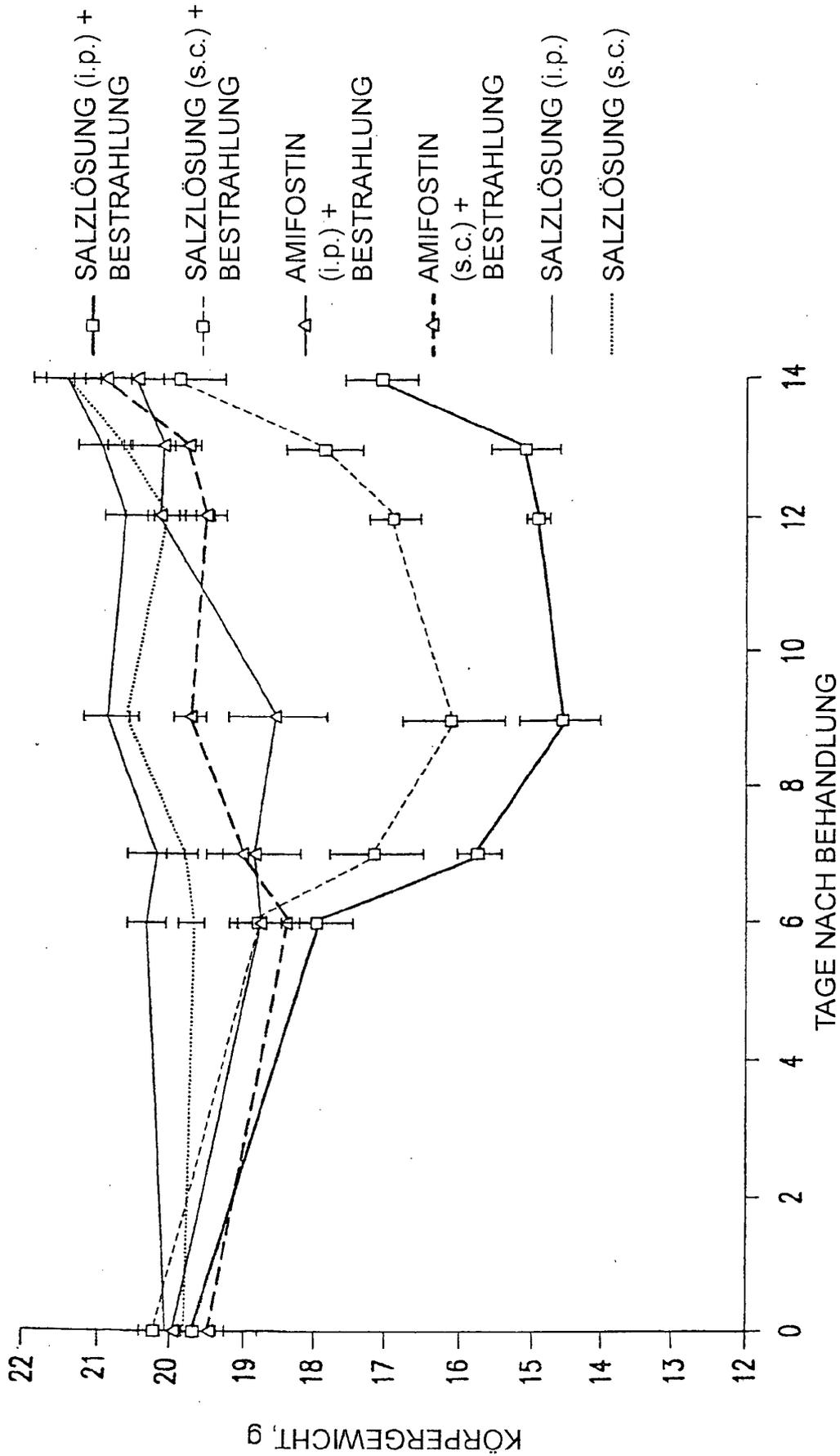


FIG.4B

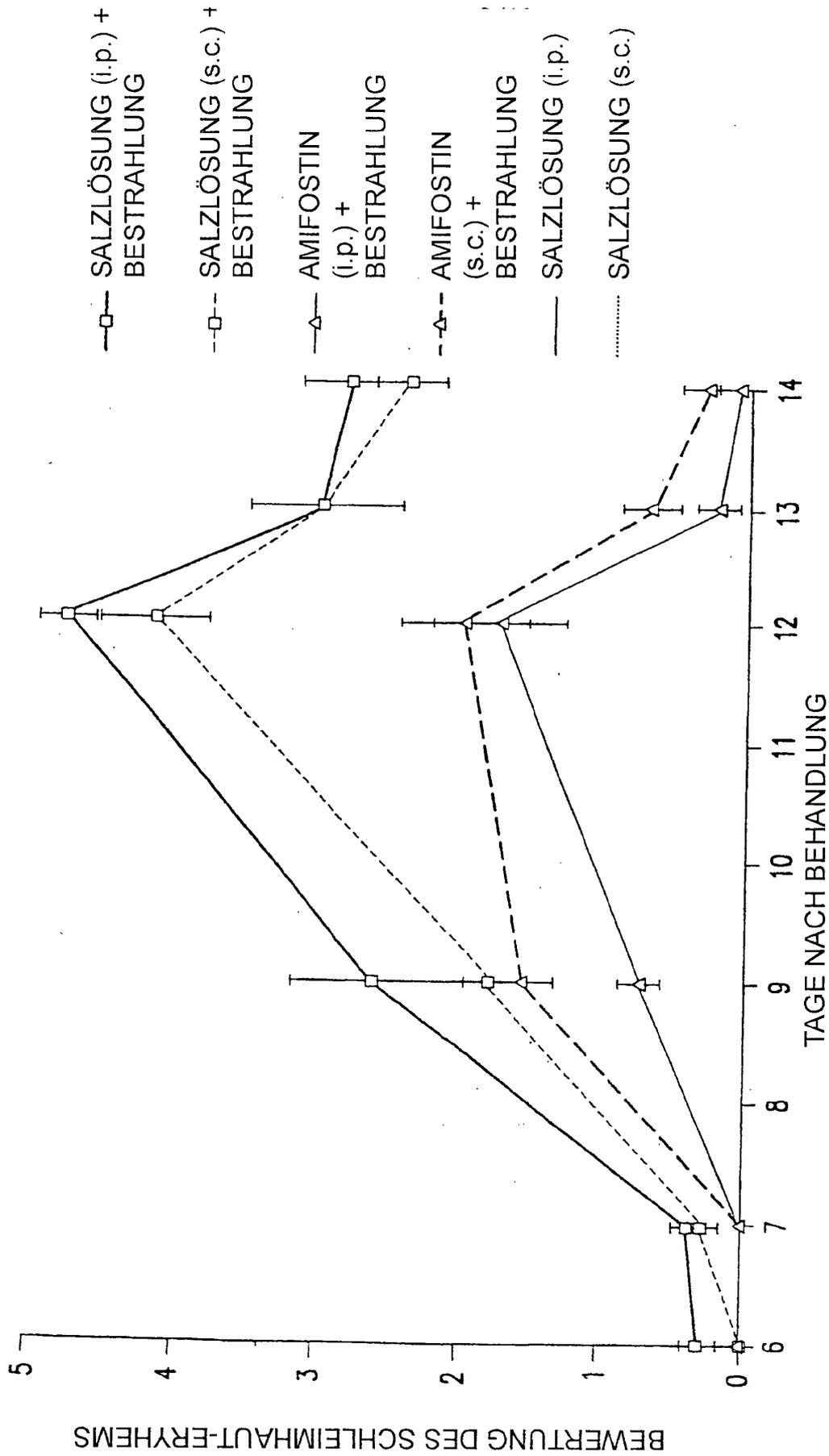


FIG.5A

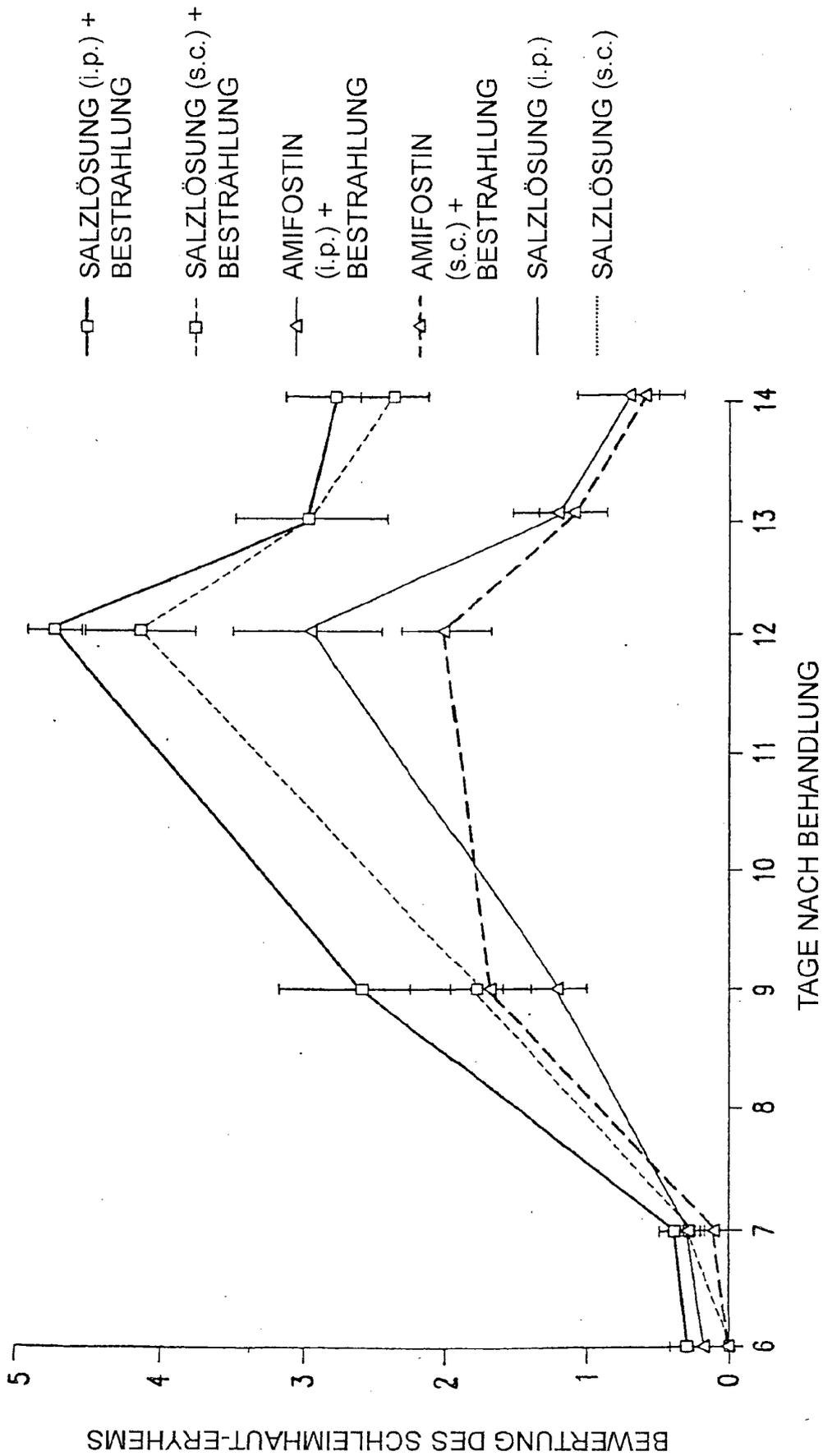


FIG.5B

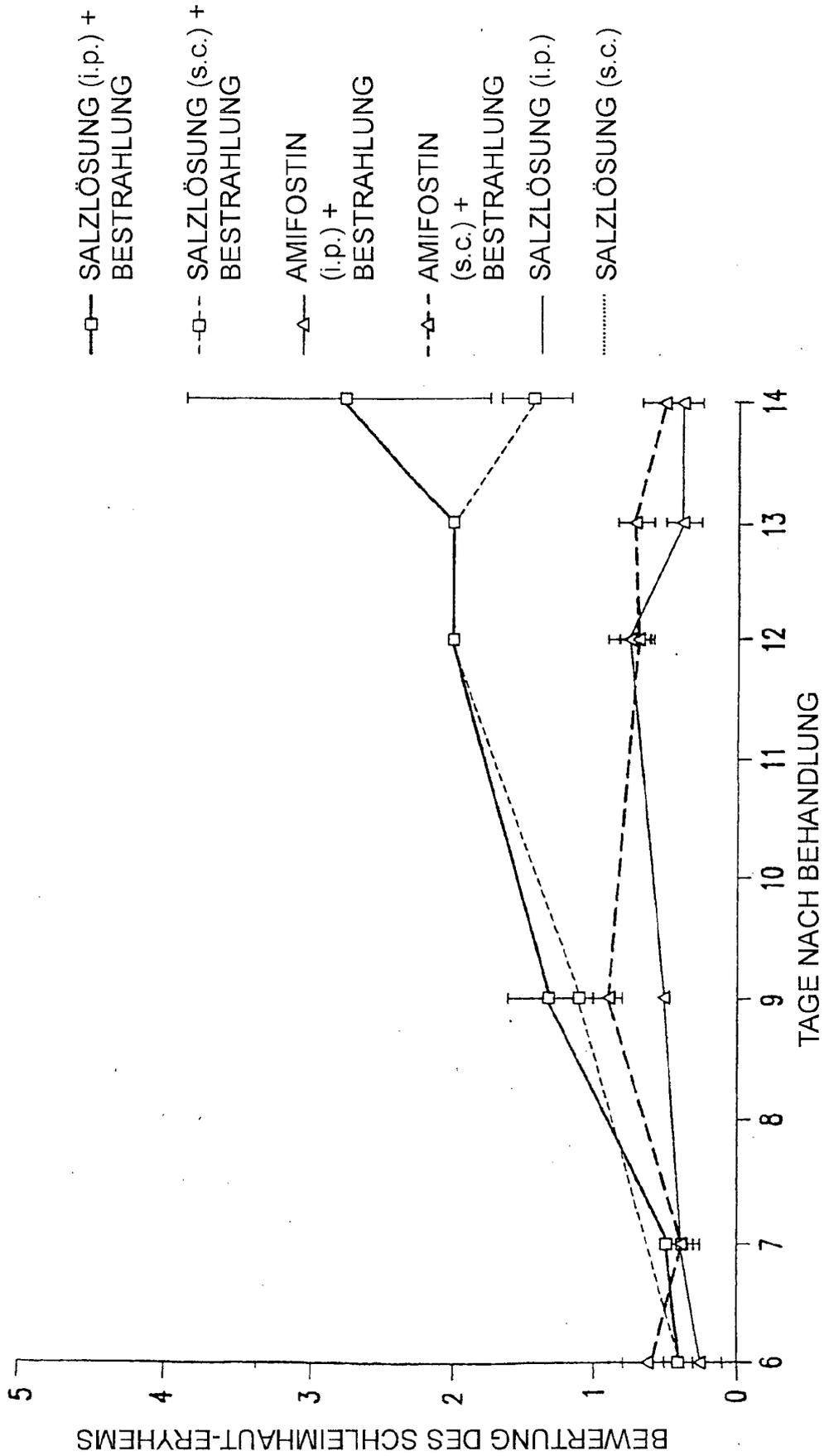


FIG.6A

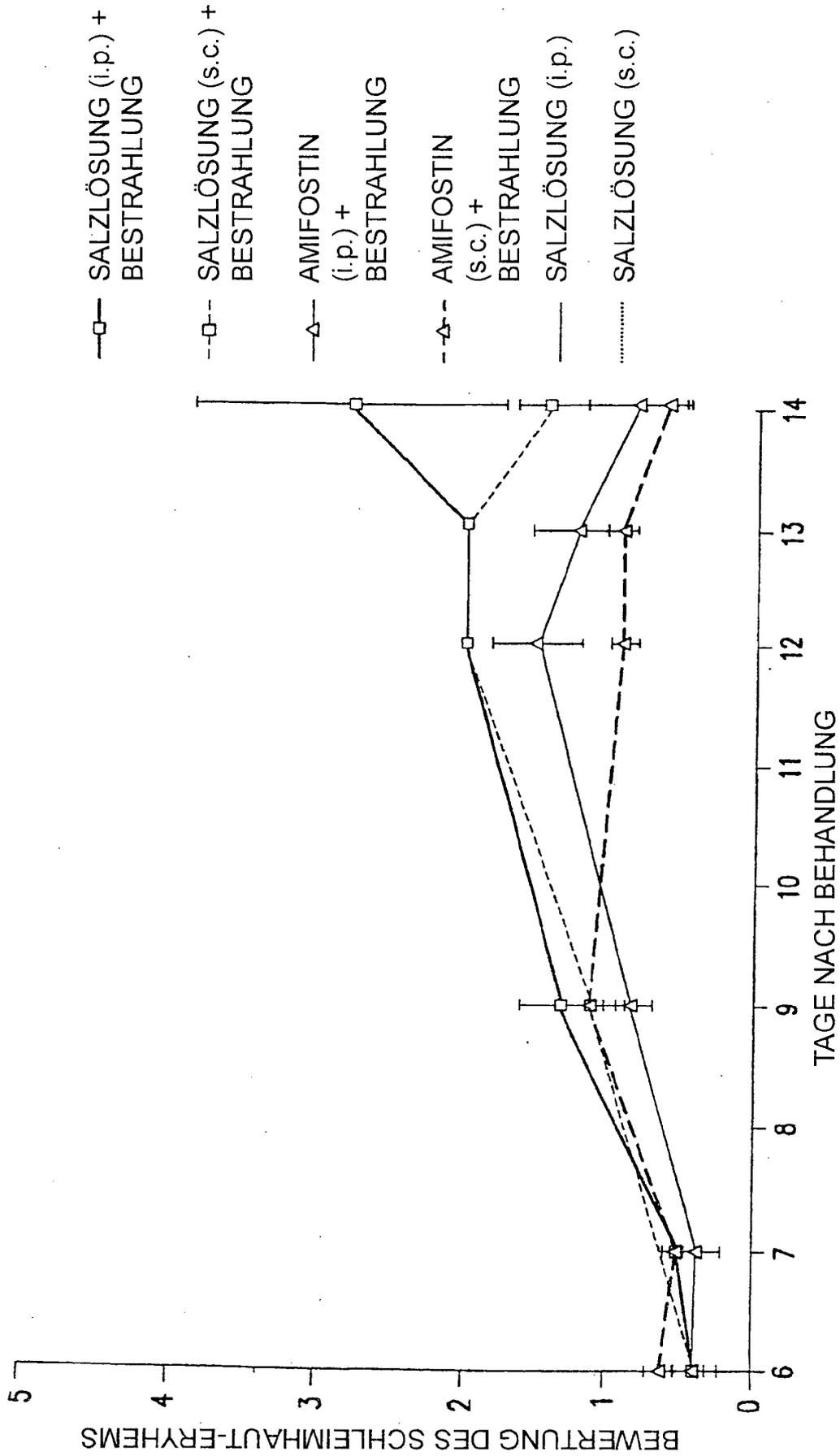


FIG.6B

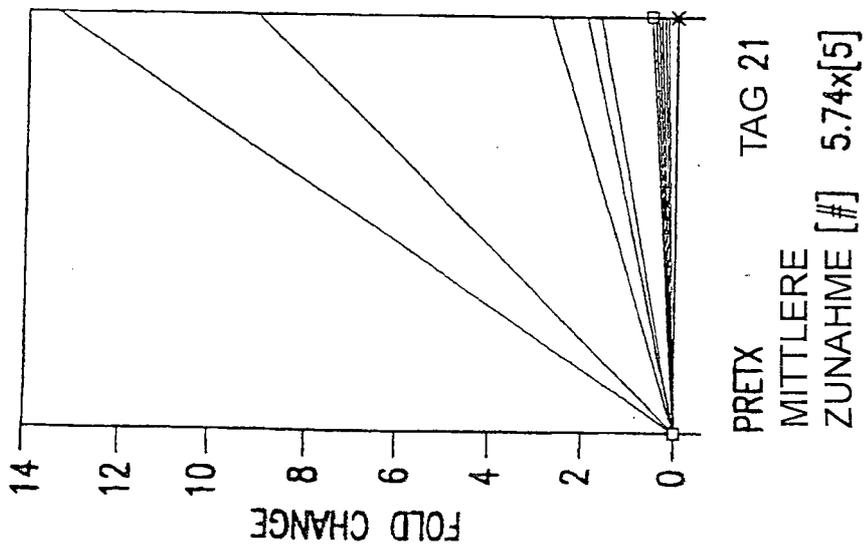


FIG.7A

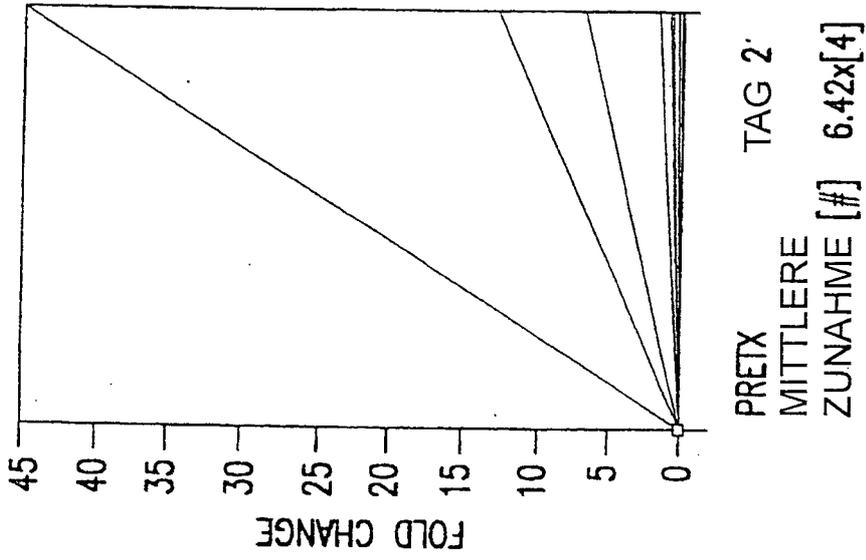


FIG.7B

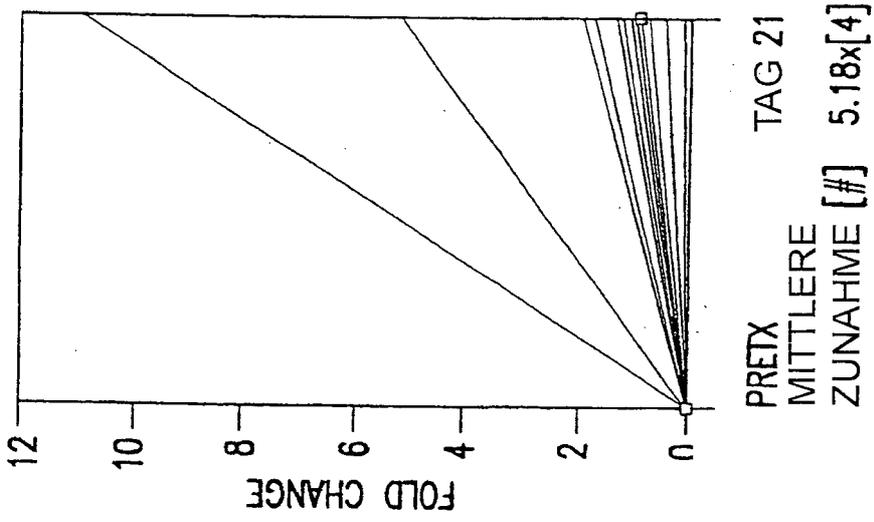


FIG.7C