

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. Januar 2007 (18.01.2007)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2007/006549 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:

C07J 9/00 (2006.01) **A61K 8/63** (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01) **A61P 17/00** (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2006/006772

(22) Internationales Anmeldedatum:

11. Juli 2006 (11.07.2006)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

10 2005 032 268.9 11. Juli 2005 (11.07.2005) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **PLT PATENT & LICENCE TRADING LTD.** [GB/GB]; c/o The B-Net, Sheraton House, Castle Park, Cambridge, CB3 0AX (GB).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **WOLF, Hans-Uwe** [DE/DE]; Lisztstrasse 10, 89231 Neu-Ulm (DE).

(74) Anwalt: **PFENNING, MEINIG & PARTNER GbR**; Theresienhöhe 13, 80339 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: OLIGOMERS OF CHOLESTEROL, CHOLESTEROL SULFATE AND CHOLESTEROL ESTERS, AND MEDICAMENTS CONTAINING THE SAME

(54) Bezeichnung: OLIGOMERE VON CHOLESTEROL, CHOLESTEROLSULFAT UND CHOLESTEROLESTERN SOWIE DIESE ENTHALTENDE ARZNEIMITTEL

(57) Abstract: The invention relates to novel substances derived from cholesterol, cholesterol sulfate and cholesterol esters of natural, semi-synthetic or synthetic origin, such that they represent oligomers with a specific type of link to starting substances based on cholesterol.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft neue Substanzen, die sich aus Cholesterol, Cholesterolsulfat und Cholesterolestern natürlichen, halbsynthetischen oder synthetischen Ursprungs dadurch ableiten, dass sie Oligomere mit spezifischer Art der Verknüpfung der auf Cholesterol basierenden Ausgangssubstanzen darstellen.



WO 2007/006549 A2

Oligomere von Cholesterol, Cholesterolsulfat und Cholesterolestern sowie diese enthaltende Arzneimittel

5 Die Erfindung betrifft neue Substanzen, die sich aus Cholesterol, Cholesterolsulfat und Cholesterolestern natürlichen, halbsynthetischen oder synthetischen Ursprungs dadurch ableiten, dass sie Oligomere mit spezifischer Art der Verknüpfung der auf Cholesterol basierenden Ausgangssubstanzen darstellen.

10

Grundsätzlich enthalten alle biologischen Membranen, insbesondere Zellmembranen, als essentielle Bestandteile sog. Lipide und Lipid-analoge Substanzen, die strukturell unterschiedlich aufgebaut sind, die sich jedoch in ihrer prinzipiellen Bauweise ähneln. Die prinzipielle Ähnlichkeit der Struktur besteht darin, dass sie aus einem hydrophoben und einem hydrophilen Anteil aufgebaut sind.

15

Im Fall der Lipid-analogen Substanzen aus der Gruppe des Cholesterols, des Cholesterolsulfat und der Cholesterolester besteht der hydrophobe Molekülbereich aus dem Ringsystem des Cyclopentanoperhydrophenanthrens mit dem in Position 17 stehenden 1,5-Dimethylhexyl-Rest, während der hydrophile Molekülbereich im Wesentlichen eine in Position 3 stehende Hydroxylgruppe ist. Cholesterol gehört somit im weitesten Sinne zu den Lipid-analogen Substanzen. Sinngemäß das gleiche gilt für die davon abgeleiteten Verbindungen Cholesterolsulfat und Cholesterolester.

Die amphiphile Struktur der Lipid-analogen Substanzen, d.h. die gleichzeitige Anwesenheit eines (stark) hydrophoben und eines hydrophilen, polaren Anteils der Molekülstruktur, führt dazu, dass sich die Lipid-analogen Substanzen in einer wässrigen Phase zusammen mit Lipiden spontan zu einer Lipid-Doppelschicht, einem so genannten "Lipid-Bilayer" anordnen, der u.a. die Grundlage der Struktur biologischer Membranen darstellt. Das Bauprinzip dieser Doppelschicht ist für alle Lipide und Lipid-analogen Substanzen gleich: Sie ordnen sich in zwei parallelen, eng zusammen liegenden Schichten an, wobei sich jeweils die hydrophoben Reste der betreffenden Moleküle direkt gegenüberliegen und in Kontakt treten. Sie bilden somit den hydrophoben inneren Bereich der Membrandoppelschicht, während die hydrophilen Reste auf beiden Seiten der Lipid-Doppelschicht mit der wässrigen Phase in Kontakt stehen. Die Tendenz zur Ausbildung dieser Lipid-Doppelschicht besteht sowohl innerhalb als auch au-

Berhalb eines Organismus, z.B. in einem wässrigen System, in welchem die Eigenschaften der Lipid-Doppelschichten in eigens hierzu ausgelegten experimentellen Anordnungen untersucht werden können.

5

Obwohl sich die Struktur der Lipid-Doppelschicht in einem Organismus spontan ausbildet und eine erhebliche Stabilität besitzt, besteht z.B. bei Vorliegen einer Lipid-Stoffwechselstörung die Möglichkeit, dass eine biologische Membran einen Teil ihrer Lipid-Komponenten verliert, weil diese Moleküle entweder zu langsam und/oder in einem unzureichenden Ausmaß gebildet oder (zu schnell) verstoffwechselt werden und damit der Membranstruktur entzogen werden, oder die betreffenden Membranen verarmen an diesen Komponenten im Zuge einer pathologischen Störung der Membranstruktur und -funktion. Ein gut bekanntes Beispiel für derartige Veränderungen ist die Verarmung der Lipid-Doppelschichten des Stratum corneum der menschlichen Haut an Fettsäuren und/oder an Cholesterol, Cholesterolsulfat und/oder Cholesterolestern. In verschiedenen Arbeiten wurde nachgewiesen, dass diese Gruppe von Cholesterol-Verbindungen für den Aufbau und die Funktion des Stratum corneum eine erhebliche Bedeutung besitzt (Proksch E, Holleran WM, Menon GK, Elias PM, and Feingold KR (1993): *Brit J Dermatol* **128**(5): 473-482; Man MQM, Feingold KR, Thornfeldt CR, Elias PM (1996): *J Invest Dermatol* **106**(5): 1096-1101; Di Nardo A, Wertz P, Gianetti A, and Seidenari S (1998): *Acta Derm Venerol* **78**(1): 27-30; Bouwstra J, Pilgram G, Gooris G, Koerten H, and Ponc M (2001): *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* **14** (Supp. 1): 52-

30

62) .

Verschiedene Hautveränderungen und Hauterkrankungen basieren auf den Veränderungen der Lipid-Zusammensetzung der Stratum-corneum-Schicht in der menschlichen Haut. Diese Veränderungen im Sinne eines Lipid-Verlusts führen zu einer mehr oder weniger stark verminderten Wasserbindefähigkeit der betroffenen Hautpartien. Hautveränderungen und Hauterkrankungen dieser Art sind beispielsweise:

1. Atopische Dermatitis
2. "trockene" Haut-Xerose, Xerodermie
3. dyshidrotisches Ekzem
4. chronisches kumulativ-toxisches Kontaktekzem
5. alternde Haut
6. durch UV-Licht stark beanspruchte Haut
7. Sebostase
8. Verhornungsstörungen

Insbesondere auf dem Gebiet der Klinischen Medizin ist es in den genannten Fällen von Erkrankungen wünschenswert, die Struktur der im Organismus vorhandenen biologischen Membran, i. e. der Lipid-Doppelschichten, in geeigneter Weise zu verändern und/oder zu stabilisieren.

Wie oben bereits ausgeführt, sind biologische Membranen sehr vieler Zellen aus einer Lipid-Doppelschicht aufgebaut, die eine wirksame Barriere gegenüber dem Extrazellularraum darstellt. Dies trifft auch für das Stratum corneum der Haut zu. Beim Menschen besteht

diese Hautstruktur aus mehreren Schichten keratini-
sierter Corneocyten, die in eine Lipidmatrix einer
stark geordneten lamellaren Struktur eingebettet
sind. Diese Lipid-Doppelschichten enthalten im We-
sentlichen Cholesterol sowie Ceramide und Fettsäuren
wie z.B. Palmitinsäure.

Gemäß neueren Erkenntnissen zum Pathomechanismus der
Atopischen Dermatitis (Arikawa J, Ishibashi M, Kawas-
hima M, Takagi Y, Ichikawa Y, and Imokawa G (2002): *J*
Invest Dermatol **119**(2): 433-439) und verwandter Er-
krankungen (Yarosh DB, Both D, and Brown D (2000)
Hormone Research **54**: 318-321) ist die Ursache für die
Anfälligkeit der Haut im Fall einer derartigen Er-
krankung u.a. ein veränderter Lipidstoffwechsel bzw.
reduzierter Lipid-Gehalt des Stratum corneum. Diese
Veränderungen betreffen u.a. den Cholesterol-Gehalt
der Haut. So zeigten sich im Fall der Atopischen Der-
matitis, aber auch bei anderen Hauterkrankungen wie
bei Psoriasis, bei der (lamellare) Ichthyosis und bei
Kontaktdermatitis in der Haut der Patienten ernied-
rigte oder veränderte Gehalte an freiem Cholesterol
oder Cholesterol-Verbindungen bzw. eine gestörte Re-
lation Cholesterolsulfat/Cholesterol (Barlag KE,
Goerz G, Ruzicka T, and Schurer NY (1995): *Br J Der-*
matol **133**(4): 639-643; Zettersten E, Man MQ, Sato J,
Denda M, Farrell A, Ghadially R, et al. (1998): *J In-*
vest Dermatol **111**(5): 784-790; Claudy A (2003): *Pa-*
thol Biol (Paris) **51**(5): 260-263).

Die physiologische Zusammensetzung der Membran-Lipide
des Stratum corneum der menschlichen Haut ist aller-

dings noch aus einem zweiten Grund für die normale Struktur und Funktion der Haut von essentieller Bedeutung. Die Anwesenheit eines ausreichenden Gehalts an diesen Lipiden gewährleistet die uneingeschränkte Fähigkeit der Haut zur Bindung einer physiologischen Menge an Wasser. Der Verlust eines Teils der Stratum-corneum-Lipide führt daher zu einer Einschränkung der Wasserbindefähigkeit, was sich in dem so genannten transepidermalen Wasserverlust der Haut äußert. Die Folge davon ist das Auftreten einer „trockenen“ und faltigen Haut, die häufig insbesondere, aber nicht ausschließlich, im höheren Lebensalter zu beobachten ist.

Die heutigen Möglichkeiten, die Symptome und Folgen der genannten Hautkrankheiten, insb. der Atopischen Dermatitis, zu lindern (von einer Heilung kann derzeit noch keine Rede sein), sind nach wie vor noch sehr begrenzt. Die topische Anwendung spezieller Glucocorticoide und immunsuppressiver Wirkstoffe ist wegen der gleichzeitigen Toxizität dieser Substanzen mit erheblichen Risiken verbunden. Bestimmte Corticoide verursachen sogar einen geradezu kontraproduktiven Effekt, indem sie zu einem Verlust an Ceramiden, Cholesterol und freien Fettsäuren führen.

Unter Berücksichtigung des heutigen Kenntnisstands über die Bedeutung einer physiologischen Lipid-Zusammensetzung der Stratum-corneum-Membranen ist es folgerichtig, dass versucht wird, die im Stratum corneum vorhandenen Defizite an Membran-Lipiden durch exogene Zufuhr auszugleichen. In der Praxis versucht

man daher, mit Hilfe von Salben, Cremes und dergleichen die fehlenden Lipide, z.B. Ceramide und freie Fettsäuren, der veränderten bzw. erkrankten Haut zuzuführen. Dies erfolgt beispielsweise durch speziell hierfür formulierte Lipid-Präparate unter Einschluss von Ceramiden und freien Fettsäuren, u. a. durch die Verwendung von Liposomen als Carrier-Systeme. Zahlreiche Produkte mit einer derartigen Zusammensetzung sind zur Therapie der genannten Hautkrankheiten inzwischen auf dem Markt.

Die hier geschilderten therapeutischen Maßnahmen sind sicherlich als prinzipiell richtig anzusehen, da sie in logischer Weise die vorhandenen Defizite des Stratum corneum an Lipiden und Lipid-analogen Substanzen auszugleichen versuchen. Die während der letzten Jahre mit diesen therapeutischen Maßnahmen gemachten Erfahrungen zeigen jedoch, dass trotz der prinzipiellen Richtigkeit des Therapieansatzes die Ergebnisse dieser Heilbehandlungen keineswegs überzeugend sind. Zum Teil ist der Erfolg der durchgeführten Maßnahmen unsicher. Selbst dann, wenn sich ein annähernd akzeptabler Erfolg der Heilbehandlung einstellt, hat eine derartige Heilbehandlung zumindest zwei gravierende Nachteile:

- Das Ausmaß des Heilerfolgs ist nicht so groß, dass von einer vollständigen Gesundung der erkrankten Haut gesprochen werden kann.
- Um einen einigermaßen akzeptablen Heilerfolg an der Haut über einen längeren Zeitraum zu gewähr-

leisten, müssen die genannten Lipide und Lipid-analogen Substanzen in kurzen Zeitabständen permanent der Haut zugeführt werden.

5 Beide Nachteile sind auf eine gemeinsame Ursache zurückzuführen. Die genannten Lipide bzw. Lipid-analogen Substanzen (außer Cholesterol noch z.B. Ceramide und freie Fettsäuren) sind keine statischen, sondern dynamische Komponenten der Haut. Dies bedeutet,
10 dass sie Membrankomponenten mit dem nicht membrangebundenen Lipidpool des Organismus in einem Gleichgewicht stehen. In diesem dynamischen Gleichgewicht können die einzelnen Lipidkomponenten schnell ausgetauscht werden. Im Lipidpool selbst stellen sie
15 Zwischenprodukte einer Reaktionsfolge dar, in der die von der Haut benötigten Lipide z.B. aus Nahrungsfetten (Triglyceriden) oder anderen Nahrungsbestandteilen zur Verfügung gestellt werden und nach der Wahrnehmung ihrer Funktion als Membranbestandteil des
20 Stratum corneum anschließend in den Fettsäure-Stoffwechsel eingeschleust werden. Dies trifft auch prinzipiell für das Cholesterol zu.

Diese Reaktionsabfolge stellt ein Fließgleichgewicht
25 dar, in welchem eine gewisse Menge der genannten Komponenten durch die Wirkung bestimmter Enzyme von Stufe zu Stufe metabolisch verändert wird. Es liegt somit ein gewisser Durchsatz an Substanz vor. Die als
Hauttherapeutica exogen zugeführten Lipide werden in
30 diese Reaktionsabfolge eingeschleust. Liegt *a priori* eine Störung einer solchen Reaktionsabfolge vor, die dann zu einer pathologischen Lipid-Zusammensetzung

des Stratum corneum führt, so ist zu erwarten, dass die exogene Zufuhr von Lipiden in Form eines Therapeuticums an diesem pathologischen Zustand grundlegend nichts oder nicht viel ändern kann, da der exogen zugeführte Lipid-Anteil vom Organismus in gleicher Weise weiterverarbeitet wird, wie dies bei dem endogenen zur Verfügung gestellten Lipid-Anteil der Fall ist. Ein Heilerfolg ist daher mit den derzeit zur Verfügung stehenden therapeutischen Möglichkeiten in hohem Maße davon abhängig, dass die betreffenden therapeutischen Ersatzstoffe schneller in die Haut eindringen können als sie in die vorhandenen physiologischen Abbauschritte eingeschleust werden, und dass sie über einen längeren Zeitraum, im Extremfall lebenslang, kontinuierlich zugeführt werden.

Das vorliegende Problem ist nicht ohne weiteres lösbar. Der Geschwindigkeit der Aufnahme von Lipiden und Lipid-analogen Substanzen in das Stratum corneum hinein sind gewisse physiologische und physikalisch-chemische bzw. biochemische Grenzen gesetzt, z. B. hinsichtlich der Diffusionsgeschwindigkeit der als Therapeutica zugeführten Wirkstoffe. Diese Geschwindigkeit kann, zumindest nach heutigem Kenntnisstand, nicht in dem für einen dauerhaften Heilerfolg notwendigen Ausmaß gesteigert werden.

An den genannten Reaktionsfolgen des Lipidauf- und -abbaus sind jeweils synthetisierende und metabolisierende Enzyme beteiligt, welche die Funktion des Lipidaufbaus und -abbaus haben. Zur Verbesserung eines Therapieerfolgs müssten die synthetisierenden En-

zyme aktiviert, die metabolisierenden Enzyme jedoch gehemmt werden. Die Aktivierung eines synthetisierenden Enzyms ist offenbar in humanen Keratinocytenkulturen möglich (Tanno O, Ota Y, Kitamura N, Katsube T, Inoue S (2000): *British J Dermatol* 143(3): 524-531), in denen die Biosynthese verschiedener Stratum-corneum-Lipide durch Nicotinamid deutlich erhöht wird. Allerdings ist ungewiss, ob dies auch im Gesamtorganismus des Menschen möglich ist und ob die bei einer derartigen Therapie auftretenden Nebenwirkungen tolerabel sind. Andererseits sind die Lipid-metabolisierenden Enzyme durch exogene Maßnahmen nicht oder nicht ohne gravierende Probleme im Sinne einer Minderung oder Hemmung ihrer Aktivität zu beeinflussen, da hierfür die erforderliche Spezifität für die Enzymhemmung fehlt.

Zur Lösung des beschriebenen Problems ist es erforderlich, grundsätzlich andere Prinzipien anzuwenden, um die therapeutische Wirksamkeit exogen zugeführter Lipid-Ersatzsubstanzen oder -Analogsubstanzen zu erhöhen.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, Verbindungen bereitzustellen, durch die im Organismus vorhandene biologische Membranen in geeigneter Weise modifiziert oder stabilisiert werden können.

Diese Aufgabe wird in Bezug auf die beschriebenen Oligomere durch die Merkmale des Patentanspruchs 1, in Bezug auf das Human- oder Veterinär-Arzneimittel

durch die Merkmale des Anspruchs 13, in Bezug auf das Kosmetik- oder Körperpflegemittel durch die Merkmale des Anspruchs 14, in Bezug auf die Verwendung als Arzneimittel durch die Merkmale des Anspruchs 15 gelöst. Die weiteren abhängigen Ansprüche zeigen vorteilhafte Weiterbildungen auf.

Die erfindungsgemäß vorgeschlagenen Verbindungen bestehen somit aus Oligomeren von Cholesterol, Cholesterolsulfat und Cholesterolestern. Unter Oligomeren im Sinne der Erfindung wird die Verknüpfung von zwei bis zwölf Monomeren verstanden. Bevorzugt sind hier insbesondere Dimere, Tetramere, Hexamere und Octamere.

Der Begriff "Dimerisierung" wird gemäß der vorliegenden Erfindung auch dann verwendet, wenn es sich nicht nur um die direkte Verbindung zweier Moleküle (unter genauer Verdopplung der Zahl der jeweils enthaltenen Atome) handelt, sondern auch dann, wenn die beiden ursprünglichen Einzelmoleküle durch eine kurze Molekülbrücke im Sinne eines sog. Spacers verbunden sind. Gemäß der vorliegenden Erfindung wird der Begriff "Oligomere" auch dann verwendet, wenn es sich bei diesen Verbindungen nicht nur um den Zusammenschluss mehrerer Moleküle handelt, sondern auch dann, wenn diese durch Molekülbrücken in Form unterschiedlicher Spacer verbunden sind.

Die Bausteine der erfindungsgemäßen Oligomere bestehen dabei bevorzugt aus dem natürlicherweise vorkommenden Cholesterol, dem Cholesterolsulfat und Cho-

lesterolestern.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen müssen den folgenden Anforderungen genügen:

5

1. Die Oligomerisierung muss unter Ausbildung ausschließlich kovalenter Bindungen zwischen den einzelnen Cholesterol-Spezies zustande kommen.

10

2. Die grundsätzliche Struktur der eingesetzten Lipide oder Lipid-analogen Substanzen, welche die Ausbildung der Lipid-Doppelmembran ermöglicht, soll nicht nur erhalten bleiben, sondern die Fähigkeit zur Ausbildung der Doppelmembran soll verstärkt werden, weil die durch die genannten Erkrankungen geschädigte Haut ohnehin nur eine eingeschränkte Fähigkeit zum Aufbau und zum Erhalt der physiologischen Lipid-Doppelmembran besitzt.

15

20

3. Die Struktur der eingesetzten Lipide oder Lipid-analogen Substanzen soll bei erhaltener Grundstruktur so weit verändert werden, dass sie nur noch in geringerem Umfang als Substrate der in der Haut vorhandenen Enzyme fungieren können. Dies bedeutet, dass sie in deutlich geringerem Umfang als die originären Lipide oder Lipid-analogen Substanzen in die jeweiligen enzymatischen Reaktionsfolgen ihrer Abbaureaktionen eingeschleust werden sollen und somit als wesentliche strukturelle Bestandteile des Stratum corneum über einen längeren Zeitraum als die origi-

25

30

nären Lipide bzw. Lipid-analogen Substanzen erhalten bleiben sollen.

5 4. Die Abänderung der Molekülstruktur soll jedoch
andererseits nur in einem so geringen Umfang erfolgen, dass durch den geringen stoffwechselbedingten Um- oder Abbau der zugeführten oligomeren Zusatz-Lipide solche Substanzen entstehen, die den körpereigenen Lipiden oder Lipid-
10 analogen Substanzen möglichst ähnlich sind. Auf diese Weise wird die Gefahr erheblich verringert, dass Stoffwechselprodukte mit toxischer Wirkung entstehen.

15 Die genannte Abänderung der Molekülstruktur, welche die oben angegebenen Forderungen erfüllt, besteht im speziellen Fall des Cholesterols zunächst in einer Dimerisierung des für die erwartete therapeutische Wirkung eingesetzten Cholesterols, des Cholesterol-
20 sulfat und/oder der Cholesterol-ester. Diese Dimerisierung muss, um die Anordnung des Cholesterols bzw. der Cholesterol-Verbindungen in einer Lipid-Doppelmembran nachzuahmen, durch Verknüpfung der hydrophoben 1,5-Dimethylhexyl-Reste der beiden Cholesterol-Monomeren bzw. der Monomere der genannten Cholesterol-Verbindungen erfolgen.
25

30 Wegen der strukturellen Asymmetrie der gesamten Gruppe der Lipide und Lipid-analogen Substanzen - auf der einen Seite der/die Fettsäurerest(e) bzw. der 1,5-Dimethylhexyl-Rest als hydrophober Strukturanteil (im englischen Sprachgebrauch als "tail" bezeichnet)

und auf der anderen Seite der hydrophile Rest, im Fall des Cholesterols die OH-Gruppe (im englischen Sprachgebrauch als "head" bezeichnet) - lassen sich drei prinzipiell verschiedene Arten unterscheiden, wie zwei monomere Moleküle, z.B. Cholesterol, zu einem dimeren Molekül dieser Substanz kovalent verbunden werden können:

1. in Form einer "tail-to-tail"-Anordnung, d. h. durch kovalente Bindung zwischen den hydrophoben 1,5-Dimethylhexyl-Resten der beiden zu verbindenden Cholesterol-Moleküle. Diese Verknüpfung erfolgt z. B. durch direkte kovalente Verbindung der beiden endständigen C-Atome (Position 27) oder den Einbau eines sog. intramembranären Spacers zwischen den beiden Cholesterol-Molekülen.
2. in Form einer "head-to-head"-Anordnung, d. h. durch kovalente Bindung zwischen den beiden hydrophilen, polaren Hydroxylgruppen der beiden zu verbindenden Cholesterol-Moleküle. Diese Verknüpfung erfolgt z.B. durch den Einbau eines sog. extramembranären Spacers.
3. in Form einer "head-to-tail"-Anordnung, d. h. durch kovalente Bindung zwischen der Hydroxylgruppe des einen Cholesterol-Moleküls und dem hydrophoben 1,5-Dimethylhexyl-Rest des zweiten Cholesterol-Moleküls.

Die Variante 1, d.h. die tail-to-tail-Anordnung, ba-

siert auf der Verknüpfung vorzugsweise der jeweils ω -ständigen Kohlenstoffatome der Fettsäurereste der beiden zusammenzufügenden Moleküle, z.B. mit Hilfe eines Spacers. Ein derartiger Spacer kann zum einen wegen der Verknüpfung zweier Monomerer zu einem Dimer als „intradimerer“ Spacer bezeichnet werden. Da dieser Spacer bei Einlagerung des Dimers in die biologische Membran im Membraninnern angeordnet ist, wird er jedoch vorzugsweise als „intramembranärer“ Spacer bezeichnet. Die Bezeichnungen intradimer und intramembranär sind somit von ihrer Bedeutung gleichzusetzen.

Dieser intramembranäre Spacer muss, da er sich im hydrophoben Innenbereich der biologischen Membran befindet, eine hydrophobe Natur besitzen. Somit liegt ein dimeres Molekül vor, das auf Grund der Anordnung seines hydrophoben Molekülbereichs im Innern des Dimers problemlos in eine biologische Lipid-Doppelschicht zu integrieren ist. Fig. 2 zeigt die Art der Verknüpfung und die Ähnlichkeit des Dimerisierungsprodukts mit der physiologischen Struktur der Lipid-Doppelmembran am Beispiel zweier Cholesterol-Moleküle (vgl. Fig. 1).

Die tail-to-tail-Anordnung stellt die unmittelbare Nachahmung der natürlicherweise in den biologischen Membranen vorhandenen stabilen Anordnung der Fettsäuren dar, wie durch einen Vergleich mit der Anordnung der Komponenten in Fig. 1 zu erkennen ist. Das tail-to-tail-Dimere ist als eine von zwei möglichen Grundstrukturen für die Gesamtheit aller weiteren hier be-

schriebenen Cholesterol-Oligomere anzusehen.

Die Dimerisierung des Cholesterols führt somit zu Molekülen, die sich nicht nur in die Struktur einer Lipid-Doppelmembran ohne Probleme einfügen, sondern die auch darüber hinaus durch die Anwesenheit einer kovalenten Bindung zwischen den ω -ständigen C-Atomen der 1,5-Dimethylhexyl-Reste zweier sich gegenüberliegenden Cholesterol-Moleküle zu einer erheblichen Strukturstabilisierung der Lipid-Doppelmembran beitragen.

Die Variante 2, i.e. das head-to-head-Dimere, besitzt eine Struktur, die eine Integration des Moleküls in nur eine einzige Lipid-Doppelschicht nicht erlaubt, weil der hydrophile Bereich dieses dimeren Moleküls in das hydrophobe Innere der Membrandoppelschicht zu liegen käme, was eine äußerst instabile Struktur darstellen würde, die sich demzufolge nicht spontan ausbildet. Die head-to-head-Dimeren haben jedoch insofern eine biologische oder medizinische Bedeutung, als die beiden derart verknüpften Cholesterol-Moleküle in zwei parallel in nahem Abstand angeordneten Lipid-Doppelschichten verankert sein können, wobei sich jedes der beiden Cholesterol-Monomere in jeweils einer Hälfte der beiden parallelen Lipid-Doppelschichten befindet. Solche in nahem Abstand angeordnete Lipid-Doppelschichten kommen z.B. in der Markscheide von Nervenzellen vor.

Im Fall des "head-to-head"-Cholesterol-Dimers kann es allerdings aus räumlichen Gründen erforderlich sein, zwischen die beiden Monomere einen sog. Spacer (mit

variabler Kettenlänge) einzubauen, um eine Integration der beiden Lipid-Komponenten in die beiden Lipid-Doppelschichten auch dann zu ermöglichen, wenn diese Membranen einen gewissen Abstand voneinander haben (s. hierzu Fig. 3). Dies trifft z.B. bei den parallel angeordneten Lipid-Doppelschichten des Stratum corneum der menschlichen Haut zu.

Die prinzipiell gleiche Struktur ergibt sich durch Verknüpfung der beiden vom Cholesterol abgeleiteten Molekül-Varianten Cholesterolsulfat und Cholesterolester. Hierbei wird im Fall des Cholesterolsulfats z.B. jeweils die freie Säurefunktion des Sulfats mit einer am Spacer bereitgestellten alkoholischen OH-Gruppe verestert. Im Fall der Cholesterinester wird eine kovalente Bindung an der Alkylgruppe des Esters dadurch erreicht, dass z.B. die ω -ständigen OH-Gruppen der Esteralkylgruppen durch Wasseraustritt zu einer Ätherbindung verknüpft werden.

Allerdings ist davon auszugehen, dass sich solche Moleküle noch nicht in optimaler Weise in zwei parallel angeordnete Lipiddoppelschichten integriert. Die optimale Integration wird durch ein Molekül erreicht, bei dem zwei Dimere (anstelle der beiden Monomere) miteinander verknüpft werden, die dann in den beiden parallel angeordneten biologischen Membranen integriert sind. Dieses (tetramere) Molekül hat dann die folgenden Strukturmerkmale (s. hierzu Fig. 4):

Die beiden Dimere sind jeweils aus den Monomeren in der tail-to-tail-Anordnung durch Verknüpfung mit Hil-

fe des oben erwähnten intramembranären Spacers aufgebaut. Die Verknüpfung der beiden Dimere erfolgt in der head-to-head-Anordnung über einen weiteren Spacer, der als interdimerer Spacer bezeichnet werden kann, weil er zwischen zwei präformierten Dimeren angeordnet ist. Da er sich nach der Integration des Gesamtmoleküls außerhalb der beiden Membranen befindet, wird er jedoch vorteilhafter als extramembranärer Spacer bezeichnet. Die beiden Bezeichnungen interdimer und extramembranär haben somit ihrem Sinn nach eine praktisch gleiche Bedeutung.

Der extramembranäre Spacer muss wegen seiner Lage außerhalb der Membran, d.h., im hydrophilen extramembranären Bereich der Zelle, eine hydrophile Struktur besitzen.

Die Verknüpfung der Cholesterol-Moleküle kann dabei in der "tail-to-tail"-Anordnung jeweils über den hydrophoben 1,5-Dimethylhexyl-Rest, vorzugsweise über dessen ω -ständiges Kohlenstoffatom erfolgen, wobei die Verbindung durch eine kovalente Bindung hergestellt wird. Eine zweite Möglichkeit besteht darin, dass statt einer kovalenten Bindung ein intramembranärer Spacer mit frei wählbarer Molekülkettenlänge eingesetzt wird. Der intramembranäre Spacer besteht dabei aus mindestens einem Kohlenstoffatom und/oder mindestens einem Heteroatom wie z. B. Sauerstoff oder Stickstoff. Bevorzugte Kettenlängen des intramembranären Spacers sind 1-4 Atome.

Auch bei der Verknüpfung der Cholesterol-Moleküle über die "head-to-head"-Anordnung kann diese über den hydrophilen Strukturanteil durch eine kovalente Bindung erfolgen. Im Falle der "head-to-head"-

5 Verknüpfung ist es erfindungsgemäß als Alternative vorgesehen, einen extramembranären Spacer mit freiwählbarer Molekülkettenlänge und Zusammensetzung einzusetzen. Für den Fall, dass ein extramembranärer Spacer eingesetzt wird, ist es bevorzugt, dass dieser
10 überwiegend hydrophil ist. Geeignete Strukturkomponenten für einen derartigen hydrophilen Spacer sind Glycerin, Aminosäuren und/oder Kohlenhydratkomponenten wie Monosaccharide, Disaccharide, Oligosaccharide, etc.

15 Die Variante 3 der Lipid-Dimerisierung hat praktisch keine biologische oder medizinische Bedeutung, da sich ein Molekül dieser Struktur nicht in irgendeiner Weise in eine oder zwei parallel angeordnete biologische Lipid-Doppelschichten integrieren lässt. In allen Fällen müssten zumindest zum Teil hydrophile
20 Strukturanteile in hydrophobe Bereiche der Membranen integriert werden, was bekanntermaßen zu sehr instabilen Strukturen führen würde, die sich aus diesem
25 Grunde nicht spontan bilden können.

Die Erfindung umfasst weiterhin die Möglichkeit, Hybriddimere aus Cholesterol + Cholesterolsulfat, Cholesterol + Cholesterolestern oder Cholesterolsulfat +
30 Cholesterolestern gemäß den Ansprüchen 1 und 2 herzustellen und in der unten beschriebenen Weise zu therapeutischen Zwecken einzusetzen.

Durch die Dimerisierung, letztendlich besonders durch die Oligomerisierung des Cholesterol-Moleküls und der Cholesterol-Verbindungen wird gleichzeitig erreicht,
5 dass ein derartiges Dimer bzw. Oligomer durch die in der Haut vorhandenen Enzyme des Cholesterol-Stoffwechsels sehr viel langsamer ab- bzw. umgebaut wird, als dies für die monomeren Cholesterolvarianten zutrifft. Die mit der Dimerisierung verbundene Ver-
10 größerung des Moleküls führt zu einer starken Minderung der enzymatisch gesteuerten Metabolisierung, weil bei der bekanntermaßen hohen Substratspezifität der meisten Enzyme die Größenänderung eines Substrats um den Faktor von mindestens 2 die Geschwindigkeit
15 des Substratumsatzes erheblich abfallen lässt.

Andererseits sind die entstehenden Abbauprodukte von ihrem allgemeinen Aufbau her dem natürlicherweise vorkommenden Cholesterolvarianten so ähnlich, dass
20 ein Einschleusen dieser Verbindungen in die entsprechenden Reaktionsabfolgen ohne Probleme möglich ist. Darüber hinaus ist auch in keiner Weise damit zu rechnen, dass die entstandenen oligomeren Cholesterol-Moleküle wegen der großen Ähnlichkeit mit physio-
25 logischerweise vorkommenden Monomeren eine relevante Toxizität besitzen.

Ein gewisser Grad der physiologische Abbaubarkeit der Cholesterol-Dimere und -Oligomere, die allerdings als
30 deutlich geringer anzusehen ist als die der monomeren Cholesterol-Moleküle, ist somit eine aus pharmakokinetischen und pharmakologischen Gründen erwünschte

Eigenschaft des erfindungsgemäßen Moleküls, weil hierdurch die Steuerbarkeit der Therapie besser gewährleistet ist, als wenn keinerlei metabolischer Abbau mehr möglich wäre.

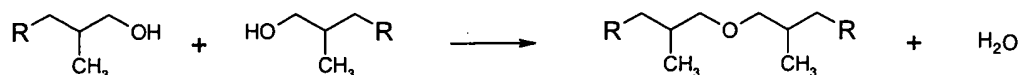
5

Für den Fall, dass die aus dem Cholesterol durch direkte Verknüpfung der beiden ω -ständigen C-Atome des 1,5-Dimethylhexyl-Restes entstehenden Produkte eine zu geringe metabolische Abbaubarkeit besitzen, kann
10 eine ausreichend hohe Abbaubarkeit dadurch erreicht und gewährleistet werden, dass in das Molekül quasi eine "metabolische Sollbruchstelle" eingeführt wird. Bei dieser Variante wird zwischen die beiden genannten ω -ständigen C-Atome ein so genannter intramembranärer Spacer eingeführt, der aus einem oder mehreren
15 C-, O- oder N-Atomen besteht (Fig. 2a).

Im einfachsten Fall kann dieser Spacer aus mindestens einem Heteroatom wie z. B. Sauerstoff oder Stickstoff, ggf. in Kombination mit wenigen C-Atomen, bestehen. Bevorzugte Kettenlängen des intramembranären
20 Spacers sind 1-4 Atome.

Bei der Synthese eines derartigen "head-to-head"-
25 Dimers ist nicht von den originären Cholesterol-Molekülen auszugehen, sondern von dem ω -Hydroxy-Derivat, i.e. dem 27-Hydroxycholesterol (oder dem 26-Hydroxycholesterol). Die Dimerisierung über das ω -ständige Kohlenstoffatom führt hier nicht zu einer reinen Kohlenwasserstoffkette, wie in Fig. 2a gezeigt, sondern unter Wasseraustritt zu einer Sauerstoffbrücke, die aus den beiden ursprünglichen Hydro-
30

xylgruppen entsteht. Sie besteht aus einem Äther-Sauerstoffatom.



5

Die in unmittelbarer Nachbarschaft zum Brückensauerstoffatom stehenden Kohlenstoffatome (die originären ω -C-Atome) sind nun gegenüber einer Hydroxylierung, etwa durch die Cytochrom-P₄₅₀-abhängigen mischfunktio-

10 nellen Monooxygenasen, besonders empfindlich. Eine derartige, in unmittelbarer Nachbarschaft zum O-Atom stattfindende Hydroxylierung führt zur Bildung instabiler Verbindungen mit Halbacetalstruktur, die in die entsprechenden Reaktionsprodukte zerfallen. Das Reak-

15 tionsprodukt mit ω -ständiger OH-Gruppe ist identisch mit dem Ausgangsprodukt 27-Hydroxycholesterol.

Gemäß einigen neueren Arbeiten der medizinischen Literatur steht 27-Hydroxycholesterol im Verdacht, eine

20 atherogene Wirkung zu haben. Allerdings wird eine derartige unerwünschte Wirkung praktisch nicht ins Gewicht fallen, da durch den geringen metabolischen Abbau der Cholesterol-Oligomere nur eine solche Menge an 27-Hydroxycholesterol freigesetzt wird, die gegen-

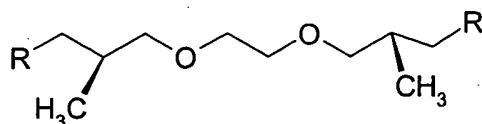
25 über der insgesamt im Organismus vorhandenen Menge vernachlässigbar gering ist.

Das andere Reaktionsprodukt ist ein Cholesterol mit ω -ständiger Aldehydfunktion, die zur Carbonsäuregruppe weiteroxidiert wird. Damit wird offensichtlich,

30 dass durch einen (ohnein verlangsamt ablaufenden)

biochemischen Abbau der beschriebenen dimeren Cholesterol-Moleküle Produkte entstehen, die der Ausgangsverbindung Cholesterol sehr ähnlich sind, und die auf Grund der Anwesenheit funktioneller Gruppen (einerseits eine -OH-Gruppe und andererseits eine -COOH-Gruppe) mit Hilfe physiologischer Konjugationsreaktionen sehr leicht in gut wasserlösliche und leicht ausscheidbare Endprodukte umgewandelt werden können.

Für den Fall, dass die Dimerisierung der beiden Cholesterol-Moleküle gleichzeitig zu einem kontrollierbaren Ausmaß der Abbaubarkeit des entstehenden dimeren Cholesterol-Moleküls führen soll oder/und dass - etwa aus sterischen Gründen - das entstehende dimere Cholesterol-Molekül eine längere Kette haben soll als der Summe der Kettenlängen der monomeren Moleküle entspricht, kann ein längerer intramembranärer Spacer zwischen die beiden Cholesterol-Moleküle eingebaut werden. Dies wird z.B. durch die Verwendung von Glycolen, im einfachsten Fall von Ethylenglycol, zur Verbrückung von 27-Hydroxy-Cholesterol erreicht. In diesem Fall entsteht ein Reaktionsprodukt, das zwei Sauerstoffatome in der Gesamtkette enthält:



Das Gesamtmolekül ist damit gegenüber der Summe der beiden monomeren Moleküle praktisch um die Länge des

intramembranären Spacers -O-CH₂-CH₂-O- gewachsen.

Durch die beiden in dieser Kette vorhandenen Sauerstoffatome kann infolge der Oxidierbarkeit der den O-Atomen benachbarten C-Atomen eine gut steuerbare Abbaugeschwindigkeit des Gesamtmoleküls erreicht werden.

Auf diese Weise kann durch die Wahl eines geeigneten intramembranären Spacers sowohl die Gesamtgröße des entstehenden dimeren Cholesterol-Moleküls als auch das Ausmaß seiner biochemischen Abbaubarkeit frei gewählt werden, weil es möglich ist, sog. "metabolische Sollbruchstellen" in den intramembranären Spacer einzubauen. Allerdings ist darauf zu achten, dass ein intramembranärer Spacer von mehr als 1 Atom Kettenlänge keine ausgeprägten hydrophilen Eigenschaften besitzen sollte, da sonst die Möglichkeit der Integration des Dimers in die Lipid-Doppelmembran zu stark verringert werden könnte.

In vollkommen analoger Weise wie beim Cholesterol selbst ist bei der Dimerisierung des Cholesterolsulfats und der verschiedenen Cholesterolester jeweils von den 27-Hydroxyverbindungen auszugehen, die dann jeweils durch Wasseraustritt zu den entsprechenden Dimeren verknüpft werden können. Dies kann, wiederum streng analog zu den oben beschriebenen Reaktionen, durch Ausbildung eines Brückensauerstoffatoms oder durch Einfügen eines oben beschriebenen intradimeren Spacers erfolgen.

Ein wesentlicher Aspekt der Pathogenese der oben genannten Hautveränderungen bzw. Hauterkrankungen ist die reduzierte Wasserbindefähigkeit des Hautgewebes, insbesondere im Bereich des Stratum corneum. Physiologisch
5
logischerweise wird das Wasser nicht innerhalb, sondern, da mehrere parallel angeordnete Lipid-Schichten vorliegen, zwischen die einzelnen Lipid-Doppelschichten eingelagert. Dies liegt in der Tatsache begründet, dass das Innere der Lipid-Doppelschicht aus
10
stark hydrophoben Molekülanteilen aufgebaut ist, z.B. aus Fettsäureresten und dem überwiegenden Anteil des Cholesterol-Moleküls (bzw. der Cholesterol-Analoga) incl. dem 1,5-Dimethylhexyl-Rest, während das Medium außerhalb der Lipid-Doppelschicht hydrophiler Natur
15
ist. Eine Speicherung von Wasser in den hydrophoben inneren Bereichen der Lipid-Doppelmembran ist praktisch nicht möglich.

Die anfangs genannten Hautveränderungen und -erkrankungen sind letztlich auf den Verlust eines Teiles der parallel angeordneten Lipid-Doppelschichten und der zwischen diesen Doppelschichten angeordneten hydrophilen Zwischenschichten zurückzuführen, was insbesondere zu einem Verlust der Wasserbindefähigkeit führt. Ziel der therapeutischen Maßnahmen bei diesen Erkrankungen ist somit nicht nur der Wiederaufbau und die Stabilisierung der Lipid-Doppelschichten selbst, wie dies mit Hilfe der oben beschriebenen Dimere des Cholesterols und seiner Analoga erfolgt, sondern weiterhin auch der Aufbau und die Stabilisierung der multilamellaren Lipid-Strukturen mit den dazwischen liegenden hydrophilen Zwischenschichten, die

letztendlich für die Wasserbindefähigkeit der Haut von ausschlaggebender Bedeutung sind.

Dieses Ziel wird dadurch erreicht, dass mindestens
5 zwei der oben erwähnten Dimere des Cholesterols oder seiner Analoga kovalent verknüpft werden. Im Gegensatz zu der oben beschriebenen Bildung dimerer Cholesterol-Moleküle durch Schaffung einer kovalenten Bindung im hydrophoben Bereich des Cholesterols, i.
10 e. am ω -ständigen C-Atom des 1,5-Dimethylhexyl-Rests, erfolgt die kovalente Verbindung zweier Dimere des Cholesterols oder seiner Analoga nach einem anderen Prinzip:

- 15 1. Die Verknüpfung zweier Dimere des Cholesterols oder seiner Analoga erfolgt im hydrophilen Bereich der betreffenden Moleküle. Wie aus Fig. 1 zu entnehmen ist, steht im hydrophilen Ende des Cholesterol-Moleküls jeweils eine reaktionsfähige OH-Gruppe zur Verfügung, an welcher der Aufbau größerer Moleküle, bestehend aus mindestens
20 zwei Cholesterol-Dimeren, erfolgen kann.

Im Fall des Cholesterolsulfats ist dieser reaktionsfähige Verknüpfungspunkt durch die zweite
25 Säurefunktion der am Cholesterol angekoppelten Schwefelsäure gegeben.

Im Fall der Cholesterolester ist eine reaktive
30 Verbindungsstelle für die Verkettung mehrerer Dimerer zunächst nicht vorhanden. Sie kann jedoch leicht dadurch geschaffen werden, dass die

in den Cholesterolestern vorhandene Carbonsäure (mit beliebiger Kettenlänge) eine endständige OH-Gruppe trägt. Dimere Cholesterolester lassen sich auch dadurch aufbauen, dass eine Veresterung zweier Cholesterol-Moleküle mit einer Dicarbonsäure erfolgt.

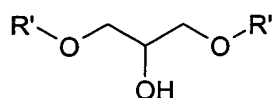
2. Die Verknüpfung zweier Cholesterol-Dimerer erfolgt nicht unmittelbar, was unter Wasseraustritt durch Ausbildung einer Ether-Gruppierung möglich wäre. (Die Existenz eines Cholestero-
lethers ist in der Literatur beschrieben.) Vielmehr ist es aus physiologischen Gründen notwendig, zwischen jeweils zwei sich ausbildenden parallel angeordneten Lipid-Schichten einen Zwischenraum einer definierten Mindestgröße entstehen zu lassen, in welchen sich Wasser und ggf. hydrophile Moleküle, möglicherweise auch das vergleichsweise große Molekül Collagen, einlagern können. Der Aufbau eines Zwischenraumes ist jedoch dann und nur dann möglich, wenn die beiden zu verknüpfenden Dimere des Cholesterols (und seiner Analoga Cholesterolsulfat und Cholesterolester) durch einen extramembranären
Spacer auf Abstand gehalten werden (Fig. 3).

Aus den oben erwähnten Gründen - der durch den Spacer geschaffene Zwischenraum zwischen zwei parallel angeordneten Lipid-Doppelschichten muss Wasser und hydrophile Moleküle aufnehmen und speichern können - sollte der extramembranäre Spacer stets hydrophile Eigenschaften besitzen. Er kann jedoch je

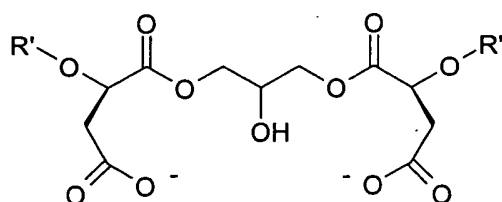
nach vorliegender oben erwähnter Hauterkrankung mit stark unterschiedlicher Kettenlänge ausgestattet sein.

5 Im folgenden sollen für die Verknüpfung von Cholesterol-Dimeren einige Beispiele von Strukturen extramembranärer Spacer gegeben werden, bei denen jeweils ein hydrophiler Molekülbaustein mit unterschiedlicher Struktur und Kettenlänge mit der jeweils im hydrophi-
10 len Bereich des Cholesterol-Moleküls vorhandenen OH-Gruppe verknüpft ist (In den folgenden Beispielen ist jeweils das Cholesterol-Molekül mit R' bezeichnet.):

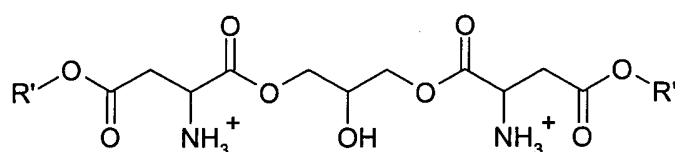
15 Mit Glycerin als Spacer-bildendem Molekül ergibt sich die folgende Struktur des extramembranären Spacers mit zwei Ethergruppierungen:



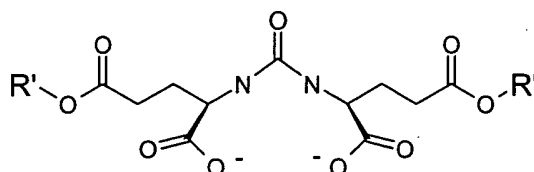
20 Der zusätzliche Einbau zweier Hydroxydicarbonsäuren wie der Äpfelsäure oder der Weinsäure führt unter Ausbildung zweier Etherbindungen und zweier Estergruppierungen zu einem verlängerten, wegen der Anwesenheit zweier freier, dissoziierter Carboxylgruppen
25 stark hydrophilen extramembranären Spacer:



Bei Verwendung von zwei Molekülen Asparaginsäure ergibt sich unter Einbeziehung der vier vorhandenen Carboxylgruppen und unter Ausbildung von vier Estergruppierungen ein verlängerter extramembranärer
5 Spacer, der wegen der Anwesenheit zweier bei physiologischen pH-Werten protonierbarer Aminogruppen auch stark hydrophil ist:



Von besonderem Interesse ist der Aufbau eines Harnstoff-Derivats als Strukturelement des extramembranären Spacers. Dies ist z.B. durch den Einsatz zweier Moleküle einer Aminodicarbonsäure wie z.B. der Glutaminsäure möglich. Hierbei entsteht ein relativ langer
15 Spacer mit stark hydrophiler Natur, die u. a. durch die Anwesenheit der beiden negativ geladenen Carboxylgruppen gegeben ist:



Der Aufbau einer Harnstoff-analogen Struktur ist deswegen von besonderem Interesse, weil Harnstoff über ein sehr hohes Wasserbindevermögen verfügt, was
25 heute bereits in Form Harnstoff-haltiger Salben zur Therapie von solchen Hauterkrankungen genutzt wird, bei denen ein Austrocknen der Haut ein wesentliches

Krankheitsmerkmal darstellt (z.B. beim dyshidrotischen Ekzem).

5 Der Vielfalt der Spacer-Strukturen und der Länge der
verwendbaren extramembranären Spacer sind praktisch
keine Grenzen gesetzt. Die Struktur wie auch die Ket-
tenlänge können je nach Bedarf den speziellen Thera-
pieanforderungen in weiten Bereichen angepasst wer-
den. Möglich ist u. a. auch der Einbau bestimmter Mo-
10 nosaccharide wie z.B. von Glucose, was wiederum zu
Derivaten physiologischer Substanzen führt.

Im Fall der Cholesterolester mit einer an der im Mo-
lekül vorhandenen Carbonsäure endständig stehenden
15 „alkoholischen“ OH-Gruppe ergeben sich die prinzi-
piell gleichen Anknüpfungsmöglichkeiten eines extra-
membranären Spacers: Mit einer alkoholischen OH-
Gruppe des Spacers tritt eine Verknüpfung unter Aus-
bildung einer Ethergruppierung, mit der COOH-Gruppe
20 des Spacers eine Verknüpfung unter Ausbildung einer
Esterfunktion ein. Die oben wiedergegebenen Struktu-
ren für den Einbau eines extramembranären Spacers
zwischen zwei Cholesterol-Dimeren gelten in gleicher
Weise auch für den Einbau eines extramembranären
25 Spacers zwischen zwei Dimeren von Cholesterolestern.
Der einzige Unterschied besteht darin, dass nun „R“
nicht mehr für „Cholesterol“, sondern für „Choleste-
rol-O-CO-Alkyl“ steht.

30 Lediglich beim Cholesterolsulfat tritt insofern eine
Änderung gegenüber den beiden vorangegangenen Fällen
ein, als hier die Verknüpfung der beiden Dimeren aus-

schließlich über zwei auf dem extramembranären Spacer
endständig vorhandene OH-Gruppen unter Ausbildung
zweier Schwefelsäureester-Gruppierungen möglich ist.
Eine Verknüpfung der Schwefelsäureester mit endstän-
5 digen COOH-Gruppen des extramembranären Spacers ist
praktisch nicht möglich, da die entstehenden sog. ge-
mischten Säureanhydride (aus Schwefelsäure und Car-
bonsäure) als energiereiche Verbindungen für eine
therapeutische Verwendung nicht ausreichend stabil
10 sind.

Die Wahl der genannten verschiedenen Strukturen im
extramembranären Spacer führt zu unterschiedlichen
biologischen Stabilitäten und damit zu einem unter-
15 schiedlichen Ausmaß der gewünschten Abbaubarkeit des
oligomeren Moleküle aus Cholesterol und Cholesterol-
Analoga, die einerseits unter dem Wert für die ent-
sprechenden monomeren Moleküle liegen soll, anderer-
seits jedoch nicht völlig fehlen soll. Damit ist auch
20 über diese intermolekulare Spacerstruktur eine gewis-
se Steuerbarkeit der Wirkungsstärke und -dauer der
zur Therapie eingesetzten Oligomere aus Cholesterol
oder Cholesterol-Analoga gegeben.

25 Auch beim metabolischen Abbau der beschriebenen oli-
gomeren Cholesterol-Moleküle, insbesondere ihrer
Spacer, entstehen Abbauprodukte, die identisch mit
physiologischen Substanzen sind (z.B. Aminosäuren
oder Zucker) oder eine sehr große Ähnlichkeit mit ih-
30 nen besitzen, so dass die Wahrscheinlichkeit uner-
wünschter Nebenwirkungen, i.e. toxischer Wirkungen,
denkbar gering ist.

Gegenüber den dimeren Molekülen aus Cholesterol oder Cholesterol-Analoga weisen die oligomeren Moleküle mit 4-12 Monomeren (bzw. 2-6 Dimeren), insb. Tetramere, Hexamere oder Octamere, eine größere Fähigkeit auf, die Struktur der parallel angeordneten Lipidmembran-Doppelschichten („Lipid-Bilayer“) zu stabilisieren. Durch diese Verbindungen kommt es zum Aufbau von 2 parallelen Doppelschichten im Fall der Tetrameren, von 3 parallelen Doppelschichten im Fall der Hexameren, von 4 parallelen Doppelschichten im Fall der Octameren, etc., mit einer verstärkten Tendenz zur Einlagerung von Wasser und hydrophilen Molekülen unterschiedlichster Größe in die Räume zwischen die parallelen Lipid-Doppelschichten.

Oligomere Cholesterol-Moleküle mit einer ungeraden Zahl von Monomeren, im einfachsten Fall also ein trimeres Molekül aus Cholesterol oder Cholesterol-Analoga mit einem intramembranären und einem extramembranären Spacer, sind für die hier angesprochenen Zwecke durchaus auch einsetzbar, wenn sie auch nicht über die optimalen Eigenschaften zur Integration in die vorhandenen Lipid-Doppelschichten verfügen. Im Beispiel eines trimeren Moleküls würden sich die beiden über einen intramembranären Spacer verbundenen Moleküle in eine Lipid-Doppelschicht optimal integrieren, während das über einen extramembranären Spacer verbundene weitere Molekül lediglich in die eine Hälfte der nächsten Lipid-Doppelschicht hineinragen würde.

Einen Sonderfall stellt ein dimeres Molekül aus Cholesterol oder Cholesterol-Analoga dar, das über einen extramembranären Spacer verbunden ist (gemäß der oben angegebenen Variante 2 der Verknüpfung bei der Dimerisierung). Auch für dieses Molekül gilt, dass es für die hier angesprochenen Zwecke durchaus einsetzbar ist, wenn es auch noch weniger über die optimalen Eigenschaften zur Integration in die vorhandenen Lipid-Bilayer verfügen. In diesem Fall ragen beide vorhandene Moleküle des Cholesterols oder der Cholesterol-Analoga lediglich in eine Hälfte der jeweils benachbarten Lipid-Doppelschichten hinein.

Letztendlich sind bei Aufbau der dimeren und oligomeren Moleküle auch sog. Hybrid-Formen möglich. Im einfachsten Fall eines Dimers ist dies z.B. ein Molekül, das aus einem Cholesterol-Monomer und einem Cholesterolsulfat-Monomer aufgebaut ist. Weitere Kombinationsmöglichkeiten sind: Cholesterol-Monomer + Cholesterol-ester-Monomer und Cholesterolsulfat-Monomer + Cholesterol-ester-Monomer. Der kombinierte Einsatz aller drei verschiedenen Monomere führt zu sog. „Hybrid-Oligomeren“. Durch diese Kombination aller drei Cholesterol-Komponenten ist es möglich, Präparate für die Therapie von Hautkrankheiten herzustellen, die optimale erwünschte Anteile bzw. Relationen der drei Komponenten Cholesterol, Cholesterolsulfat und Cholesterol-ester besitzen. Eine solche Zusammensetzung kann sich beispielsweise an der physiologischen Zusammensetzung der gesunden Haut an den drei genannten Monomeren orientieren (Hatfeld RM and Fung LW (1999): *Biochemistry* 38(2): 784-791).

Die Erfindung wird nachfolgend anhand der Figuren näher erläutert. Diese sollen jedoch die vorliegende Erfindung nicht auf die hier gezeigten Ausführungsformen beschränken.

Fig. 1 zeigt die Anordnung von Cholesterol-Molekülen in einer typischen stabilen Struktur der Lipid-Doppelschicht biologischer Membranen. Der in Position 17 des Cholesterol-Moleküls stehende, stark hydrophobe 1,5-Dimethylhexyl-Rest ist in das Innere der Doppelschicht gerichtet, während die hydrophile, in Position 3 stehende Hydroxylgruppe nach außen gerichtet ist.

Fig. 2 zeigt eine erfindungsgemäße Kopplung zweier Cholesterol-Moleküle zu einem Dimeren unter Ausbildung einer kovalenten Bindung (Fig. 2a) und durch Verknüpfung mit einem intramembranären Spacer, dargestellt durch ein Rechteck mit Diagonalen (Fig. 2b).

Fig. 3 zeigt in schematischer Darstellung die Struktur eines erfindungsgemäßen "head-to-head"-Cholesterol-Dimeren durch Verknüpfung mit einem extramembranären Spacer, dargestellt durch ein langes, leeres Rechteck. Das Dimer ist mit je einem Monomer in jeweils einer Hälfte zweier parallel angeordneter Lipid-Doppelschichten verankert. Dargestellt ist jeweils nur eine Hälfte der

beiden benachbarten Doppelmembranen.

Fig. 4 zeigt in schematischer Darstellung die Anordnung erfindungsgemäßer tetramerer Cholesterol-Moleküle dar, die als verbindendes Element zwischen zwei Lipid-Doppelschichten fungieren. Zwischen den beiden benachbarten Lipid-Doppelschichten liegt ein hydrophiler Zwischenraum. Die beiden in der „tail-to-tail“-Anordnung verbundenen Cholesterol-Dimere, die im Innern der Membran liegen, enthalten einen intramembranären Spacer (Rechteck mit Diagonalen). Die beiden Dimere selbst sind über einen extramembranären Spacer verknüpft (leeres Rechteck), der sich im hydrophilen Zwischenraum der beiden Membranen befindet.

In Analogie zu den in Abb. 4 gezeigten tetrameren Verbindungen können sich in gleicher Weise erfindungsgemäße Hexamere in drei voneinander getrennte, parallel angeordnete Lipidmembranen, Octamere in vier Lipidmembranen, usw., einlagern.

Cholesterol-Oligomere der beschriebenen Art können in der Medizin zu therapeutischen Zwecken überall dort angewandt werden, wo der natürliche Aufbau biologischer Membranen durch pathologische Vorgänge gestört ist und sich durch den Einsatz dieser oligomeren Verbindungen eine Stabilisierung der Membranstruktur und/oder eine Veränderung der Membraneigenschaften im Sinne eines therapeutischen Ziels (z. B. zur Erhöhung

der Membranstabilität, Erhöhung der Wasserbindefähigkeit, etc.) erreicht werden soll.

Nachfolgend seien einige Beispiele genannt:

5

- Im Fall bestimmter Vergiftungen, welche vorzugsweise die Leber angreifen, wie z.B. eine Vergiftung mit Tetrachlormethan (Tetrachlorkohlenstoff, "TETRA", CCl_4), werden die Lipide der Leberzellmembranen durch Radikale in ihrer Struktur angegriffen. Bei diesem Vorgang wird u.a. auch Cholesterin oxidiert. Die Folge hiervon ist ein partieller Abbau der Lipide und eine Destabilisierung der Membran, die zu einer teilweisen Auflösung der Zellmembran und damit einer schweren Schädigung der Zelle führt. Die Zufuhr der beschriebenen Cholesterin-Dimere kann in einem derartigen Vergiftungsfall zu einer deutlichen Stabilisierung der Membran der geschädigten Leberzellen beitragen.

20

- Eine Veränderung der Lipid-Zusammensetzung von Nervenzellen tritt bei einer großen Zahl unterschiedlicher pathologischer Schädigungen von Nervenzellen auf. Hierzu gehören u. a. die Neuropathie, die Axonopathie und die Myelinopathie. Als Ursachen für die Schädigung bzw. den Abbau der Lipid-reichen Myelinscheiden werden bestimmte exogene Schadstoffe wie z.B. Hexachlorophen, Isoniazid und Organozinnverbindungen in Betracht gezogen.

30

- Im Fall von Myelinopathien wie z.B. der Multiplen Sklerose kommen für eine Stabilisierung der Lipid-

Membranen der Myelinscheiden wegen deren spezifischer Struktur vorzugsweise Dimere des Cholesterols mit relativ kurzen hydrophoben intramembranären Spacern zwischen den Monomeren sowie Oligomere mit relativ kurzen hydrophilen extramembranären Spacern in Betracht.

- Nach derzeitiger Kenntnis sind Hauterkrankungen eines der Hauptgebiete für den Einsatz der genannten Oligomere des Cholesterols, des Cholesterol-sulfats und der Cholesterolester, nicht zuletzt deswegen, weil im Stratum corneum der menschlichen Haut Cholesterol und seine Derivate eine wesentliche Rolle spielt. Daher werden diese Einsatzmöglichkeiten in der vorliegenden Patentschrift ausführlich beschrieben.

Patentansprüche

- 5 1. Oligomere von mindestens zwei Cholesterol-
Monomeren ausgewählt aus der Gruppe bestehend
aus Cholesterol, Cholesterolsulfat und Choleste-
rolestern, wobei die Monomere über mindestens
10 ein Kettenende durch einen Spacer oder durch ei-
ne Bindung kovalent miteinander verbunden sind.
2. Oligomere nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet, dass die Oligomere Dime-
15 re, Trimere, Tetramere, Pentamere, Hexamere
und/oder höhere Oligomere sind.
3. Oligomere nach einem der Ansprüche 1 oder 2,

20 dadurch gekennzeichnet, dass die Cholesterol-
Monomere natürlichen, halbsynthetischen oder
synthetischen Ursprungs sind.
4. Oligomere nach einem der vorhergehenden Ansprü-
25 che,

dadurch gekennzeichnet, dass zwei benachbarte
Monomere des Cholesterols, des Cholesterolsul-
fats und der Cholesterolester jeweils über deren
30 hydrophobes Ende gebunden sind.
5. Oligomere nach einem der vorhergehenden Ansprü-
che,

35 dadurch gekennzeichnet, dass zwei benachbarte
Monomere des Cholesterols des Cholesterolsulfats

und der Cholesterolester jeweils an ihrem hydrophoben Ende über einen intramembranären Spacer kovalent miteinander verbunden sind.

5 6. Oligomere nach dem vorhergehenden Anspruch,

dadurch gekennzeichnet, dass der intramembranäre Spacer hydrophob ist.

10 7. Oligomere nach einem der Ansprüche 5 oder 6,

dadurch gekennzeichnet, dass der intramembranäre Spacer aus einem oder mehreren Kohlenstoff-Sauerstoff- und/oder Stickstoffatomen besteht.

15

8. Oligomere nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

20

dadurch gekennzeichnet, dass zwei benachbarte Monomere des Cholesterols, des Cholesterolsulfats und der Cholesterolester jeweils über deren hydrophiles Ende kovalent gebunden sind.

25

9. Oligomere nach dem vorhergehenden Anspruch,

30

dadurch gekennzeichnet, dass die Monomere des Cholesterols, des Cholesterolsulfats und der Cholesterolester jeweils über das ω -ständige Kohlenstoffatom des 1,5-Dimethylhexyl-Rests gebunden sind.

35

10. Oligomere nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet, dass zwei benachbarte Monomere des Cholesterols, des Cholesterolsul-

fats und der Cholesterolester jeweils an ihrem hydrophilen Ende mittels eines extramembranären Spacers miteinander verbunden sind.

- 5 11. Oligomere nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet, dass der extramembranäre Spacer hydrophil ist.

10

12. Oligomere nach einem der Ansprüche 10 oder 11,

15

dadurch gekennzeichnet, dass der extramembranäre Spacer als Strukturkomponenten Glycerin, hydroxylierte Dicarbonsäuren, Aminosäuren, Kohlenhydratkomponenten, insbesondere Monosaccharide, Disaccharide oder Oligosaccharide, Mevalonsäure und/oder Pyrrolidoncarbonsäure enthält.

20

13. Human- oder Veterinär-Arzneimittel enthaltend Oligomere nach einem der Ansprüche 1 bis 12.

14. Kosmetik- oder Körperpflegemittel enthaltend Oligomere nach einem der Ansprüche 1 bis 12.

25

15. Verwendung der Oligomere nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung eines Arzneimittels für die Prophylaxe und Therapie von Erkrankungen, bei denen eine Störung der Haut hinsichtlich des Gehaltes an Cholesterol, Cholesterol-sulfat und/oder Cholesterolestern vorliegt.

30

16. Verwendung nach Anspruch 15,

35

dadurch gekennzeichnet, dass eine Störung der Zusammensetzung des Stratum corneum der Haut

hinsichtlich des Gehaltes an Cholesterol, Cholesterolsulfat und/oder Cholesterolestern vorliegt.

5 17. Verwendung nach Anspruch 15,

dadurch gekennzeichnet, dass eine Störung der Stabilität und Zusammensetzung der Zellmembran der Leber hinsichtlich ihres Gehalts an
10 Cholesterol, Cholesterolsulfat und/oder Cholesterolestern infolge der schädigenden Wirkung von Leberzellgiften vorliegt.

15 18. Verwendung nach Anspruch 15,

dadurch gekennzeichnet, dass eine Störung der Stabilität und Zusammensetzung der Zellmembran von Nervenzellen hinsichtlich ihres Gehalts an Cholesterol, Cholesterolsulfat und/oder
20 Cholesterolestern, u.a. im Fall von Neuropathien, Axonopathien und Myelinopathien, vorliegt.

25 19. Verwendung nach Anspruch 15,

dadurch gekennzeichnet, dass im Fall einer Fettstoffwechselstörung mit nachfolgender Störung der Zusammensetzung der Zellmembran von Blut- und anderen Zellen im Sinne einer unerwünschten
30 Speicherung von Oxidationsprodukten des Cholesterols die erfindungsgemäßen Oligomere des Cholesterols, des Cholesterolsulfats und/oder der Cholesterolester der Verminderung des hohen thrombotischen, atherosklerotischen und cardio-
35 vaskulären Risikos dienen.

Fig. 1

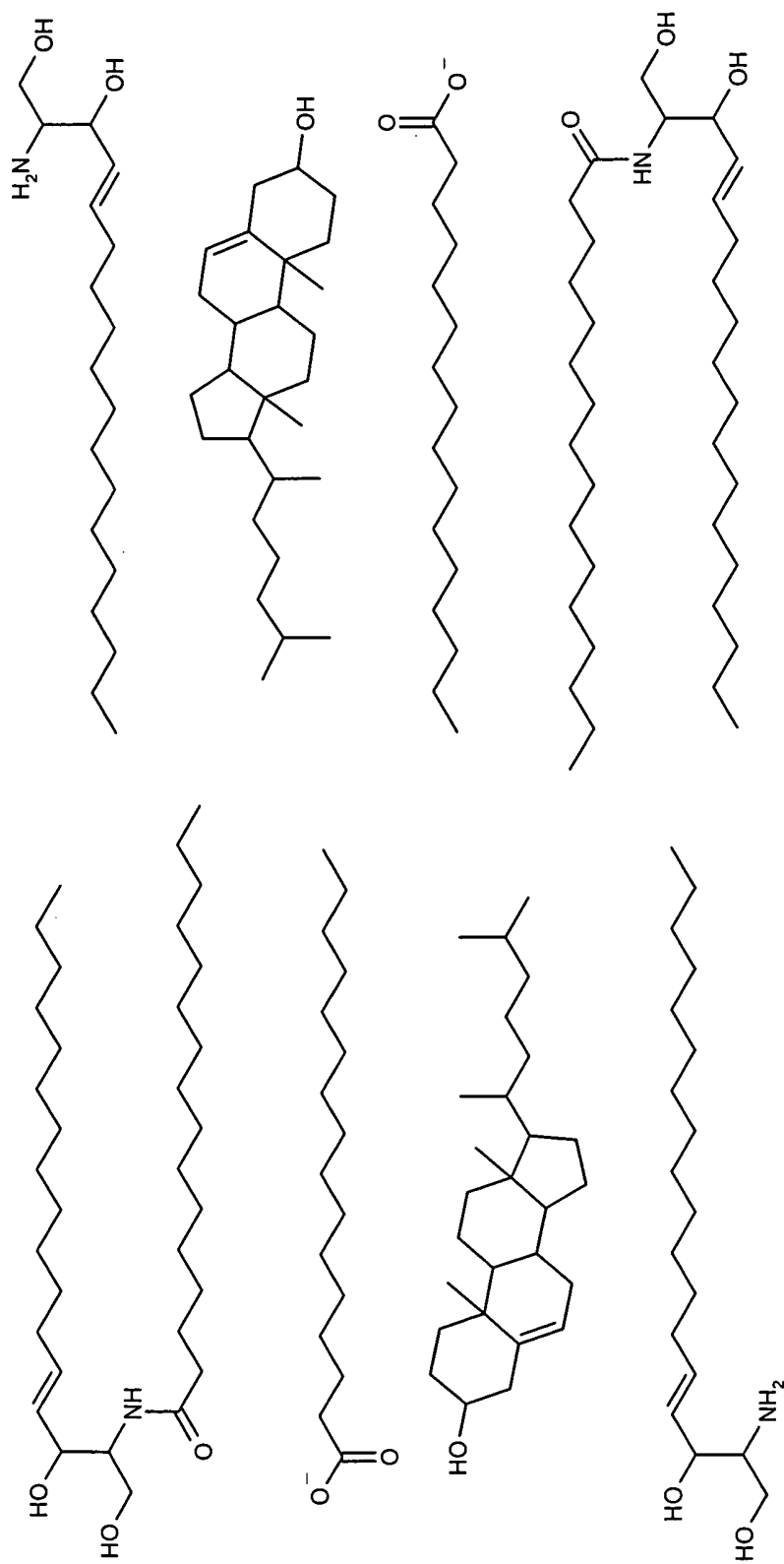


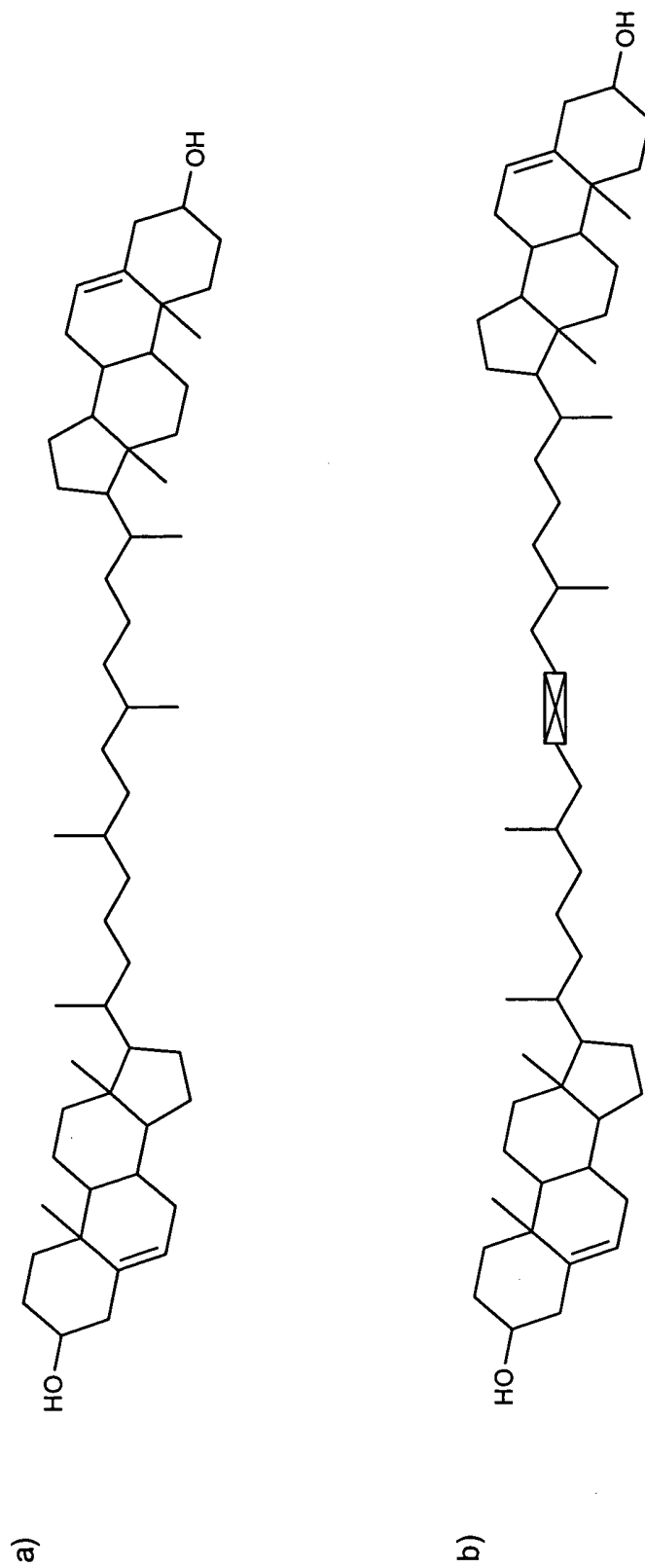
Fig. 2

Fig. 4

