

(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
26. März 2009 (26.03.2009)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2009/036852 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
A61K 31/455 (2006.01) *A61P 13/12* (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2008/006753

(22) Internationales Anmeldedatum:
18. August 2008 (18.08.2008)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2007 045 038.0
13. September 2007 (13.09.2007) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): MEDICE ARZNEIMITTEL PUETTER GMBH
& CO. KG [DE/DE]; Kuhloweg 37, 58638 Iserlohn (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LANG, Florian -
[DE/DE]; Im Rotbad 52, 72076 Tuebingen (DE).

(74) Anwalt: FINDEISEN, Marco; Witte, Weller & Partner,
Postfach 105462, 70047 Stuttgart (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ,
LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM,
ST, SV, 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,

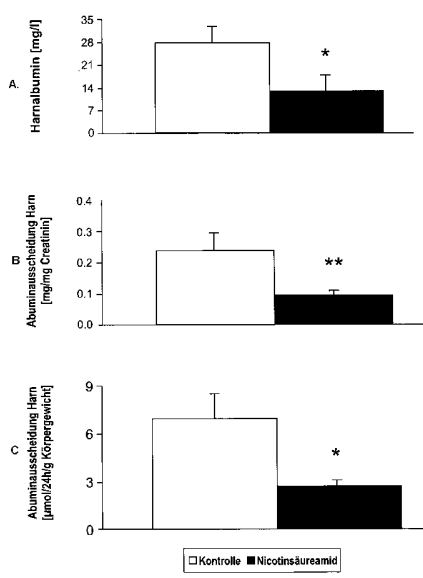
[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: MEDICAMENT FOR TREATING OR PREVENTING PROTEINURIA

(54) Bezeichnung: ARZNEIMITTEL ZUR BEHANDLUNG ODER PRÄVENTION VON PROTEINURIE

(57) Abstract: The present invention relates to a medicament for treating
and/or preventing proteinuria, to a process for preparing such a medicament
and to a method of therapeutic and/or prophylactic treatment of a living being
which is affected by proteinuria and/or in which there is a risk of proteinuria.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Arzneimittel
zur Behandlung und/oder Prävention von Proteinurie, ein Verfahren zur Her-
stellung eines solchen Arzneimittels sowie ein Verfahren zur therapeutischen
und/oder prophylaktischen Behandlung eines Lebewesens, das von Proteinurie
betroffen ist und/oder bei dem die Gefahr von Proteinurie besteht.



Figur 6

A... Urine albumin [mg/l]
B... Albumin excretion, urine
[mg/mg creatinine]
C... Albumin excretion, urine
[μmol/24h/g body weight]
D... Control
E... Nicotinamide

WO 2009/036852 A1



TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, 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:

— *mit internationalem Recherchenbericht*

Arzneimittel zur Behandlung oder Prävention von Proteinurie

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Arzneimittel zur Behandlung und/oder Prävention von Proteinurie, ein Verfahren zur Herstellung eines solchen Arzneimittels sowie ein Verfahren zur therapeutischen und/oder prophylaktischen Behandlung eines Lebewesens, das von Proteinurie betroffen ist und/oder bei dem die Gefahr von Proteinurie besteht.

Unter Proteinurie, die im deutschen Sprachraum auch als "Eiweißharn" bezeichnet wird, versteht man die erhöhte Ausscheidung von Serumproteinen im Urin. Eine Proteinurie liegt vor, wenn die Eiweißausscheidung über den Urin über 200 bis 300 mg pro Tag beträgt. Ein kritischer Schwellenwert für die Diagnose einer Proteinurie stellt dabei ferner eine Konzentration von 150 mg Eiweiß in einem Liter Harn dar. Bei einem Überschreiten dieser Konzentration wird ebenfalls von Proteinurie gesprochen.

Bei den ausgeschiedenen Serumproteinen handelt es sich insbesondere um Albumin und Transferrin, niereneigene Proteine und Proteine der ableitenden Harnwege.

Bei den meisten Menschen findet sich bei einem einmaligem Auftreten einer Proteinurie keine Grunderkrankung. Bei häufigem oder chronischem Auftreten von Proteinurie wird oft eine Schädigung der Glomeruli der Niere festgestellt, so dass man von glomerulärer Proteinurie spricht. Findet man eine Schädigung der Tubuli der Niere, spricht man von tubulärer Proteinurie.

So zeigt sich, dass die Ursachen der Proteinurie äußerst vielfältig sind. Der glomerulären Proteinurie kann bspw. ein Diabetes mellitus zugrunde liegen. Weitere Ursachen können in einer arteriellen Hypertonie, Entzündungen der Niere, Medikamenten, EPH-Gestose in der Schwangerschaft, erblichen Schädigungen oder Stress bzw. zu hohen oder zu niedrigen Körpertemperaturen liegen.

Ursachen der tubulären Proteinurie können Entzündungen im Bereich der Tubuli, zu hohe Harnsäurewerte (Gicht), ein längerer Schmerzmittelmissbrauch, multiples Myelom, Störungen der Harnblasenentleerung mit Rückstau in der Niere, Hypokaliämie oder Hypercalcämie sein.

Die Ursachen können jedoch auch "stromaufwärts" der Niere lokalisiert sein. Dabei liegt meist ein Überangebot eines bestimmten Eiweißes im Blut vor, wie im Falle

einer Hämolyse, Myoglobinämie oder eines Plasmocytoms mit der Entstehung von Bence-Jones-Proteinen.

Die Ursachen können ferner "stromabwärts" der Niere lokalisiert sein, beispielsweise in Form von Harnleitersteinen, Blasensteinen, Harnleiter- bzw. Blasenentzündungen oder Tumoren.

Die Proteinurie ist also nicht (nur) ein Faktor in der Progression einer Nierenerkrankung, sondern stellt ein eigenständiges Krankheitsbild dar.

Die Therapie einer Proteinurie beschränkt sich derzeit im Wesentlichen auf die Behandlung der Grunderkrankung, sofern eine solche bekannt ist, beispielsweise eine Diabetes mellitus oder einer Entzündung der Niere. Häufig ist die Behandlung der Grunderkrankung nicht hinreichend erfolgreich, um das Auftreten einer Proteinurie zu verhindern. Auch ist häufig die Grunderkrankung nicht bekannt, so dass keine zielgerichtete Therapie möglich ist.

Vor diesem Hintergrund ist es Aufgabe der Erfindung, eine Substanz bereitzustellen, mit der zielgerichtet eine Proteinurie behandelt oder dieser vorgebeugt werden kann.

Diese Aufgabe wird durch die Bereitstellung von Nicotinsäureamid gelöst.

Die Erfinder haben über Versuche an diabetischen Mäusen überraschenderweise festgestellt, dass durch die Verabreichung von Nicotinsäureamid die Ausscheidung von Serumproteinen, wie bspw. Albumin, über den Urin signifikant gehemmt werden kann.

Diese Erkenntnis der Erfinder war überraschend. Nicotinsäureamid, das auch als Nicotinamid, Niacinamid, Antipellagravitamin, Vitamin PP (engl. pellagra preventive factor), 3-Pyridincarboxamid (IUPAC), bezeichnet wird, ist ein Bestandteil des Vitamin-B2-Komplexes sowie von NAD(P). Nicotinsäureamid kommt in Leber, Fisch,

Hefe und Getreidekeimlingen vor. Nicotinsäureamid weist ein Molekulargewicht von 122,12, die Summenformel $C_6H_6N_2O$ und die CAS-Nummer 98-92-0 auf.

Nicotinsäureamid werden bislang völlig andere Eigenschaften zugeschrieben.

So beschreiben bspw. Eto et al.: Nicotinamide prevents the development of hyperphosphataemia by suppressing intestinal sodium-dependent phosphate transporter in rats with adenine-induced renal failure. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2005; 20:1378-1384, dass Nicotinsäureamid in Ratten den natriumabhängigen Phosphattransporter NaPiIIb und damit die Aufnahme von Phosphat in den Organismus hemme. Die Autoren stellen die Hypothese auf, dass Nicotinsäureamid einen Schutz gegenüber einer Verschlechterung der Nierenfunktion bieten könne.

Tenenhouse H.S. und Chu Y.L.: Hydrolysis of nicotinamide-adenine dinucleotide by purified renal brush-border membranes. Mechanism of NAD⁺ inhibition of brush-border membrane phosphate-transport activity. *Biochem. J.* 1982; 204:635-638, behaupten ferner, dass Nicotinsäureamid die renale Resorption von Phosphat hemme und damit die renale Ausscheidung von Phosphat steigern.

Katai et al.: Nicotinamide inhibits sodium-dependent phosphate cotransport activity in red small intestine. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999; 14: 1195-1201, schlagen vor, dass Nicotinsäureamid die Na/Pi-Cotransportaktivität in den renalen proximalen Tubuli inhibieren könne.

Takahashi et al: Nicotinamide suppresses hyperphosphatemia in hemodialysis patients. *Kidney International* 2004; 65: 1099-1104, schlagen vor, dass Nicotinsäureamid zur Kontrolle von Hyperphosphatämie und Hyperparathyreoidismus in Dialysepatienten eingesetzt werden könnte.

Für Nicotinsäureamid ist ferner beschrieben worden, dass ein Mangel hiervon zum Krankheitsbild der sog. Pellagra führen kann, das sich als Dermatitis mit Hyperpig-

mentierung im Bereich sonnenexponierter Haut manifestiert. Die Verabreichung von Nicotinsäureamid wird deshalb zur Behandlung von Pellagra vorgeschlagen.

Verschiedene Autoren schlagen die Verabreichung von Nicotinsäureamid zur Verlängerung der Lebensdauer bzw. zur Verzögerung von Altersprozessen vor; vgl. Crane und Low: Plasma membrane redox and control of sirtuin. *Age* 2005; 27:147-152, Bitterman et al.: Inhibition of silencing and accelerated aging by nicotinamide, a putative negative regulator of yeast sir2 and human SIRT1. *J. Biol. Chem.* 2002; 277:45099-45107 (in Hefe), und Kang et al.: Nicotinamide extends replicative lifespan of human cells. *Aging Cell* 2006; 5:423-436 (in humanen Zellen).

In der nicht veröffentlichten DE 10 2007 003 524 wird außerdem die Verwendung von Nicotinsäureamid zur Behandlung von Arteriosklerose vorgeschlagen.

Die Verwendung von Nicotinsäureamid zur Behandlung und/oder Prävention von Proteinurie ist im Stand der Technik bislang nicht beschrieben.

Die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe wird somit durch die Bereitstellung von Nicotinsäureamid vollkommen gelöst.

Die Aufgabe wird ferner gelöst durch ein Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prävention von Proteinurie, das die folgenden Schritte aufweist: (1) Bereitstellung von Nicotinsäureamid, und (2) Formulierung des Nicotinsäureamids in einem pharmazeutisch akzeptablen Träger.

Pharmazeutisch akzeptable Träger sind im Stand der Technik umfassend beschrieben. Beispielhaft wird verwiesen auf Bauer et al.: Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie, 6. Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1999; Rowe et al.: Handbook of pharmaceutical excipients 5. Aufl., Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association 2006. Der Inhalt der vorstehend genannten Publikationen ist durch Inbezugnahme Bestandteil der Anmeldung.

Bei der erfindungsgemäßen Verwendung bzw. dem erfindungsgemäßen Verfahren ist es bevorzugt, wenn die Behandlung und/oder Prävention von Proteinurie bei einem Patienten erfolgt, der unter einer Krankheit/Störung leidet oder einer Veranlagung für eine Krankheit/Störung aufweist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: chronisches Nierenversagen, Nierenentzündung, Harnleiterentzündung, Blasenentzündungen, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Medikamentenabhängigkeit, EPH-Gestose, erhöhte/erniedrigte Körpertemperatur, erhöhte Harnsäurewerte (Gicht), multiples Myelom, Störungen der Harnblasenentleerung mit Rückstau in der Niere, Hypokaliämie, Hypercalcämie, Hämolyse, Myoglobinämie, Tumoren, Plasmocytom mit der Entstehung von Bence-Jones-Proteinen, Harnleitersteine, Blasensteine.

Die vorstehend identifizierten Erkrankungen bzw. Komplikationen können sich in einer Proteinurie manifestieren. Die Verabreichung von Nicotinsäureamid an einen betroffenen Patienten hat deshalb den Vorteil, dass die nachteiligen Auswirkungen einer Proteinurie auf den Organismus eingeschränkt werden können.

Bei der erfindungsgemäßen Verwendung bzw. dem erfindungsgemäßen Verfahren ist es bevorzugt, wenn das Arzneimittel für eine Applikation ausgebildet ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: oral, rektal, parenteral, lokal, transdermal.

Diese Maßnahme hat den Vorteil, dass das Arzneimittel je nach gewünschter Applikationsform bereits auf geeignete Weise ausgestaltet ist. Dem behandelnden Arzt steht dadurch eine Auswahl verschiedenster Ausgestaltungsformen des Arzneimittels zur Verfügung, wobei sich die konkrete Form an dem Zustand des Patienten, dem jeweiligen Behandlungsprogramm und weiteren Faktoren orientieren kann.

Vor diesem Hintergrund ist es auch bevorzugt, wenn das Arzneimittel in einer Form ausgebildet ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Pulver, Tablette, Saft, Tropfen, Kapsel, Zäpfchen, Lösung, Injektionslösung, Aerosol, Salbe, Spülung, Pflaster, Pellet, Dragee, modifiziert freisetzende Darreichungsform.

Mit dieser Maßnahme wird auf vorteilhafte Art und Weise bereits eine Formulierungsvariante bereitgestellt, die den unmittelbaren Einsatz von Nicotinsäureamid zur Behandlung bzw. Prävention von Proteinurie ermöglicht. Eine modifiziert freisetzen- de Darreichungsform, wie bspw. eine Retardform, ist besonders vorteilhaft, um eine gleichmäßige Freisetzung des Nicotinsäureamids im Organismus zu gewährleisten. Dies gilt umso mehr, da es Hinweise darauf gibt, dass Nicotinsäureamid vorwiegend im Duodenum resorbiert wird. Durch die Formulierung als modifiziert freisetzen- de Darreichungsform erreicht der Wirkstoff hingegen auch die hinteren Darmbereiche.

Bei der erfindungsgemäßen Verwendung bzw. dem erfindungsgemäßen Verfahren ist es außerdem bevorzugt, wenn das Arzneimittel Nicotinsäureamid in einer Konzentra- tion aufweist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus (jeweils angegeben in Gewicht des Wirkstoffs Nicotinsäureamid bezogen auf das Gesamtgewicht des Arz- neimittels): 1 µg/g, 10 µg/g, 100 µg/g, 1 mg/g, 10 mg/g, 100 mg/g, 1 g/g.

Diese Maßnahme hat den Vorteil, dass das Arzneimittel den Wirkstoff Nicotinsäu- reamid bereits in einer Konzentration aufweist, die sich zur Behandlung bzw. Präven- tion von Proteinurie besonders eignet.

Ferner ist es bevorzugt, wenn die Absolutmenge des Wirkstoffs Nicotinsäureamid in einer Dosierungseinheit des Arzneimittel zwischen ca. 1 und ca. 3000 mg, vorzugs- weise zwischen ca. 10 und ca. 1500 mg, weiter bevorzugt zwischen ca. 100 und ca. 750 mg, und höchst bevorzugt bei ca. 500 mg liegt.

Mit dieser Maßnahme wird Nicotinsäureamid bereits in einer solchen Menge bereit- gestellt, dass in dem Patient ohne weiteres die gewünschten Nicotinsäureamidspiegel erzielt werden können. Unter einer Dosierungseinheit wird erfindungsgemäß eine oben genannte Formulierungsvariante bezeichnet, bspw. eine Tablette, ein Dragee, eine Kapsel etc.

Weiter ist es bei der erfindungsgemäßen Verwendung bzw. dem erfindungsgemäßen Verfahren bevorzugt, wenn das Arzneimittel zusätzlich eine weitere gegen Proteinurie wirksame Substanz aufweist.

Diese Maßnahme hat den Vorteil, dass durch den Zusatz die Wirkungen des erfindungsgemäßen Arzneimittels gegen Proteinurie noch verbessert werden können. So ist es möglich, durch die Kombination mit einer weiteren Substanz einen Eingriff in die Proteinurie an einer anderen Stelle zu bewirken, um das Krankheitsbild durch synergistische Effekte noch wirksamer zu bekämpfen.

Bei der weiteren Substanz handelt es sich erfindungsgemäß vorzugsweise um Steroide oder nichtsteroidale Antiphlogistica.

Diese Maßnahme hat den Vorteil, dass das Arzneimittel eine solche weitere Substanz beinhaltet, die nachweislich eine Wirkung gegen Proteinurie zeigt und routinemäßig eingesetzt wird. Erfindungsgemäß können durch das Zusammenwirken von Nicotinsäureamid und der weiteren Substanz ggf. synergistische Effekte erzielt werden.

Vor diesem Hintergrund betrifft ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur therapeutischen und/oder prophylaktischen Behandlung eines Lebewesens, das von Proteinurie betroffen ist oder/und bei dem die Gefahr von Proteinurie besteht, das folgende Schritte aufweist: (1) Bereitstellung von Nicotinsäureamid, (2) Einbringung des Nicotinsäureamids in das Lebewesen, und (3) ggf. mehrfaches Wiederholen der Schritte (1) und (2).

Das Nicotinsäureamid kann bei diesem Verfahren in Form des erfindungsgemäßen Arzneimittels bereitgestellt und in das Lebewesen eingebracht werden. Die vorstehend beschriebenen Eigenschaften, Merkmale und Vorteile gelten insofern für dieses Verfahren entsprechend.

Es versteht sich, dass die vorstehend genannten und die nachstehend noch zu erläuternden Merkmale nicht nur in der jeweils angegebenen Kombination, sondern auch in anderen Kombinationen oder in Alleinstellung verwendbar sind, ohne den Rahmen der vorliegenden Erfindung zu verlassen.

Die Erfindung wird nun anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert, aus denen sich weitere Eigenschaften, Merkmale und Vorteile ergeben. Dabei wird Bezug genommen auf die beigelegten Figuren, in denen Folgendes dargestellt ist:

Fig. 1 zeigt die Glucosekonzentration im Plasma und die Glucoseausscheidung über den Harn vor und nach der Verabreichung von Nicotinsäureamid; arithmetische Mittel \pm SEM ($n = 9$) der (A) Glucosekonzentration im Plasma (mg/dl) und (B) der Glucoseausscheidung über den Harn (mg/24 h) vor (unausgefüllte Balken) und nach (ausgefüllte Balken) der Verabreichung von Nicotinsäureamid (0,5 mg/g, das dem Trinkwasser hinzugegeben wurde);

Fig. 2 zeigt die Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme als auch das Körpergewicht vor und nach der Verabreichung von Nicotinsäureamid; arithmetische Mittel \pm SEM ($n = 9$) der (A) Nahrungs- (g/24 h) und (B) Flüssigkeitsaufnahmen (ml/24 h) sowie (C) das Körpergewicht (g) vor (unausgefüllte Balken) und nach (ausgefüllte Balken) der Verabreichung von Nicotinsäureamid (0,5 mg/g), das dem Trinkwasser hinzugegeben wurde. * zeigt einen statistisch signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied im gepaarten Vergleich mit dem jeweiligen Wert vor der Verabreichung von Nicotinsäureamid an;

Fig. 3 zeigt die Plasmaphosphatkonzentration vor und nach der Verabreichung von Nicotinsäureamid; arithmetische Mittel \pm SEM ($n = 9$) der Phosphatkonzentration im Plasma (mg/dl) vor (unausgefüllte Balken) und nach (ausgefüllte Balken) der Verabreichung von Nicotinsäureamid (0,5 mg/g), das dem Trinkwasser hinzugegeben wurde. * zeigt einen statistisch signifikanten

ten ($p < 0,05$) Unterschied im gepaarten Vergleich mit dem jeweiligen Wert vor der Verabreichung von Nicotinsäureamid an;

Fig. 4 zeigt die Harnflussrate vor und nach der Verabreichung von Nicotinsäureamid; arithmetische Mittel \pm SEM ($n = 9$) der Harnflussrate ($\mu\text{l}/24 \text{ h}$) vor (unausgefüllte Balken) und nach (ausgefüllte Balken) der Verabreichung von Nicotinsäureamid ($0,5 \text{ mg/g}$), das dem Trinkwasser hinzugegeben wurde;

Fig. 5 zeigt die Phosphatausscheidung über den Harn vor und nach der Verabreichung von Nicotinsäureamid; arithmetische Mittel \pm SEM ($n = 9$) der Exkretion über den Harn von (A) Phosphat (μg pro 24 h/g Körpergewicht) vor (unausgefüllte Balken) und nach (ausgefüllte Balken) der Verabreichung von Nicotinsäureamid ($0,5 \text{ mg/g}$), das dem Trinkwasser zugesetzt wurde. * zeigt einen statistisch signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied im gepaarten Vergleich zu dem jeweiligen Wert vor der Verabreichung von Nicotinsäureamid an;

Fig. 6 zeigt die Ausscheidung von Albumin über den Harn vor und nach der Verabreichung von Nicotinsäureamid; arithmetische Mittel \pm SEM ($n = 9$) der Ausscheidung von Albumin über den Harn (A. μg pro 24 h oder B. mg/mg Creatinin oder C. $\text{Mikromol}/24 \text{ h/g}$ Körpergewicht) vor (unausgefüllte Balken) und nach (ausgefüllte Balken) der Verabreichung von Nicotinsäureamid ($0,5 \text{ mg/g}$), das dem Trinkwasser zugegeben wurde. * zeigt einen statistisch signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied im gepaarten Vergleich zu dem jeweiligen Wert vor der Verabreichung von Nicotinsäureamid an.

Ausführungsbeispiele

1. Material und Methoden

1.1 Tierversuche

Sämtliche Tierversuche wurden gemäß der Richtlinien der Amerikanischen Physiologischen Gesellschaft und in Übereinstimmung mit dem deutschen Tierschutzgesetz durchgeführt und von den lokalen Behörden genehmigt.

Die Experimente wurden an 6 bis 10 Monate alten Akita-Mäusen durchgeführt, die spontan Diabetes vom Typ I entwickeln; Dreyer et al.: Diabetic nephropathy: leveraging mouse genetics. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2006; 15: 227-232. Die Tiere wurden bei einer Kontrolldiät gehalten (C1314 – 0,2 % Na⁺, 1 % K⁺, 0,9 % Ca⁺⁺, Altromin, Heidenau, Deutschland) und hatten während der Experimente freien Zugang zu Trinkwasser. Sofern angegeben, wurde dem Trinkwasser Nicotinsäureamid (0,5 mg/g) zugegeben. Zur Bewertung der renalen Ausscheidung und Sammlung von Harn über 24 Stunden wurden die Mäuse individuell in Stoffwechselkäfigen (Tecniplast, Hohenpeißenberg, Deutschland) platziert, wobei der freie Zugang zu Trinkwasser gegeben war. Die innere Wand der Stoffwechselkäfige war silikonisiert und der Harn wurde unter wassergesättigtem Öl gesammelt.

Um Blutproben zu erhalten, wurden die Tiere mit Isofluran (Abbott, Wiesbaden, Deutschland) leicht anästhetisiert und durch Punktieren des retro-orbitalen Plexus wurden etwa 200 µl Blut in heparinisierte Kapillaren entnommen.

Gesammelter Kot wurde bei etwa 80°C für etwa 3 Stunden getrocknet und anschließend wurde das Kot-Trockengewicht bestimmt. Zu dem Kot wurden 5 ml von 0,75 M HNO₃ hinzugegeben und die Probe wurde für 48 Stunden auf

einem elektrischen Schüttler geschüttelt. Die Proben wurden dann bei 3.500 rpm für 10 Minuten zentrifugiert und 1 ml des Überstandes wurde gesammelt. Der Überstand wurde erneut bei 14.000 rpm für 5 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde bei -20°C bis zur Analyse gelagert. Der Überstand wurde analysiert, wie unten beschrieben.

1.2 Konzentrationsmessungen im Plasma und im Harn

Die Konzentrationen von Na^+ und K^+ im Plasma und im Harn wurden mittels Flammenfotometrie (ELEX 6361, Eppendorf, Deutschland) gemessen. Die Konzentrationen von Phosphat und Ca^{++} wurden kolorimetrisch unter Verwendung eines kommerziellen Diagnostikkits (Rohrsteig Nostiscore Mannheim, Deutschland) bestimmt. Die Konzentrationen von Cl^- wurden mittels elektrometrischer Titration (Chloridometer 6610, Eppendorf, Deutschland) analysiert.

Die Konzentrationen von Glucose im Plasma und im Harn wurden unter Verwendung eines Glucometers (Accutrend, Bosch, Mannheim, Deutschland) bestimmt. Die Konzentrationen von Creatinin im Serum wurden unter Verwendung eines enzymatischen Kits (Demeditec, Kiel, Deutschland), und im Harn unter Verwendung der Jaffe-Reaktion (Sigma, St. Louis, USA) gemäß den Angaben der Hersteller gemessen.

1.3 Bestimmung der Albuminkonzentrationen im Harn

Die Albuminkonzentrationen im Harn wurden fluorometrisch unter Verwendung des albuminsensitiven Farbstoffs Albumin Blau 580 nach einer Anregung bei 600 nm und bei einer Emission bei 645 nm gemäß den Angaben des Herstellers (microfluoral, Progen, Heidelberg, Deutschland) gemessen. Es wurden Standardkurven mit Maus-Albumin (Sigma, Taufkirchen, Deutschland) gene-

riert, und die Messungen wurden innerhalb des linearen Bereichs von 0 bis 156 mg/l durchgeführt.

1.4 Herkunft der Substanzen

Sämtliche Substanzen stammten von Sigma (Taufkirchen, Deutschland) oder Roth (Karlsruhe, Deutschland)

1.5 Statistik

Die Daten werden als Mittelwerte \pm SEM dargestellt, n stellt die Anzahl von unabhängigen Experimenten dar. Sämtliche Daten wurden unter Verwendung des ungepaarten Student's t-Test mit Welch-Korrektur auf Signifikanz getestet, sofern erforderlich.

2. Ergebnisse

2.1 Glucosekonzentration im Plasma und Ausscheidung von Glucose über den Harn

Wie erwartet, entwickelten die Akita-Mäuse innerhalb weniger Wochen Diabetes mellitus. Die Glucosekonzentrationen im Blut lagen nahe bei 20 mmol pro Liter; vgl. Fig. 1. Die Hyperglycämie erhöhte die filtrierte Glucoseladung über die maximale Transportrate, was zu einer Glucosurie führte.

Die Verabreichung von Nicotinsäureamid (0,5 mg Körpergewicht) zeigte auf die Konzentration von Glucose im Plasma nur eine geringe Wirkung (Fig. 1a), wohingegen die Ausscheidung von Glucose über den Harn signifikant zunahm; vgl. Fig. 1b.

2.2 Flüssigkeits- und Nahrungsaufnahme, Körpergewicht

Die Verabreichung von Nicotinsäureamid führte zu einer geringen, jedoch signifikanten Zunahme der Nahrungs- (Fig. 2a) und Flüssigkeitsaufnahme (Fig. 2b), zeigte jedoch keine Auswirkung auf das Körpergewicht (Fig. 2c).

2.3 Konzentration von Phosphat im Plasma

Die Verabreichung von Nicotinsäureamid führte zu der erwarteten signifikanten Abnahme der Konzentration von Phosphat im Plasma; vgl. Fig. 3.

2.4 Harnausscheidung

Die Harnausscheidung tendierte nach der Behandlung mit Nicotinsäureamid zu einer leichten Zunahme (Fig. 4a), wobei diese Wirkung keine statistische Signifikanz erreichte.

2.5 Ausscheidung von Phosphat über den Harn

Die Behandlung mit Nicotinsäureamid führte trotz der Abnahme der Phosphatkonzentration im Plasma zu einer signifikanten Zunahme der renalen Phosphatausscheidung (Fig. 5).

2.6 Hemmung der Proteinurie

Die Proteinurie wurde durch die Behandlung mit Nicotinsäureamid signifikant abgeschwächt. Die Konzentration von Album im Harn wurde durch die Verabreichung von Nicotinsäureamid um über 50 % reduziert; vgl. Fig. 6A. Die Ausscheidung von Albumin über der Harn wurde um über 60 % reduziert; vgl. Fig. 6B (in Bezug auf die Creatininkonzentration, um die unterschiedliche Harn-

konzentrierung zu normieren) und 6C (pro 24 Stunden und pro Körpergewicht).

3. **Fazit**

Die Erfinder konnten anhand von Tierversuchen nachweisen, dass die bei einer Proteinurie beobachtete verstärkte Ausscheidung von Proteinen über den Harn durch die Verabreichung von Nicotinsäureamid reduziert wird. Bei Nicotinsäureamid handelt es sich deshalb um eine neue Substanz zur Behandlung und/oder Prävention von Proteinurie.

Patentansprüche

1. Verwendung von Nicotinsäureamid zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prävention von Proteinurie.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Behandlung und/oder Prävention von Proteinurie bei einem Patienten erfolgt, der unter einer Krankheit/Störung leidet oder eine Veranlagung für eine Krankheit/Störung aufweist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: chronisches Nierenversagen, Nierenentzündung, Harnleiterentzündung, Blasenentzündungen, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Medikamentenabhängigkeit, EPH-Gestose, erhöhte/erniedrigte Körpertemperatur, erhöhte Harnsäurewerte (Gicht), multiples Myelom, Störungen der Harnblasenentleerung mit Rückstau in der Niere, Hypokaliämie, Hypercalcämie, Hämolyse, Myoglobinnämie, Tumoren, Plasmocytom mit der Entstehung von Bence-Jones-Proteinen, Harnleitersteine, Blasensteine.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel für eine Applikation ausgebildet ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: oral, rektal, parenteral, lokal, transdermal.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel in einer Form ausgebildet ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Pulver, Tablette, Saft, Tropfen, Kapsel, Zäpfchen, Lösung, Injektionslösung, Aerosol, Salbe, Spülung, Pflaster, Pellet, Dragee, modifiziert freisetzende Darreichungsform.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel Nicotinsäureamid in einer Konzentration aufweist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus (jeweils angegeben in Gewicht des

Wirkstoffs Nicotinsäureamid bezogen auf das Gesamtgewicht des Arzneimittels): 1 µg/g, 10 µg/g, 100 µg/g, 1 mg/g, 10 mg/g, 100 mg/g, 1 g/g.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Absolutmenge des Wirkstoffs Nicotinsäureamid in einer Dosierungseinheit des Arzneimittels zwischen ca. 1 und ca. 3000 mg, vorzugsweise zwischen ca. 10 und ca. 1500 mg, weiter bevorzugt zwischen ca. 100 und ca. 750 mg, und höchst bevorzugt bei ca. 500 mg liegt.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel zusätzlich eine weitere gegen Proteinurie wirksame Substanz aufweist.
8. Verwendung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die weitere Substanz ein Steroid oder ein nicht-steroidales Antiphlogistikum ist.
9. Verwendung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die weitere Substanz ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Dexamethason und Glucocorticosteroid.
10. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prävention von Proteinurie, das die folgenden Schritte aufweist:
 - (1) Bereitstellung von Nicotinsäureamid, und
 - (2) Formulierung des Nicotinsäureamids in einen pharmazeutisch akzeptablen Träger.
11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Behandlung und/oder Prävention von Proteinurie bei einem Patienten erfolgt, der unter einer Krankheit/Störung leidet oder eine Veranlagung für eine Krank-

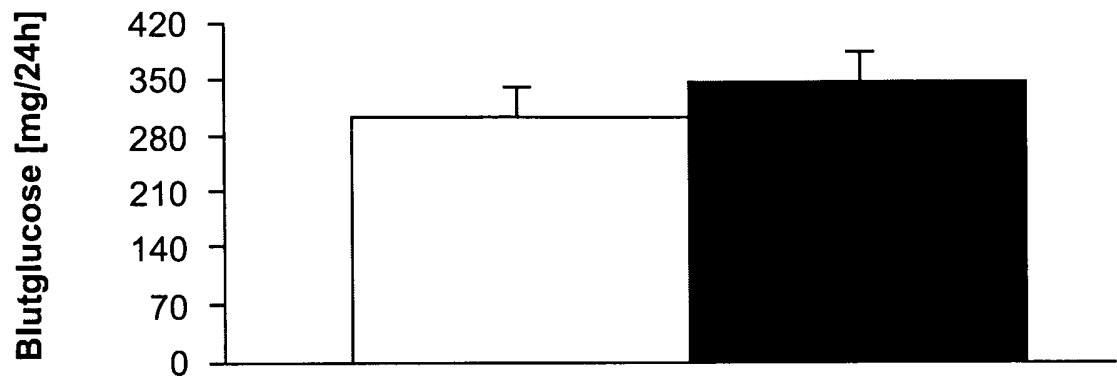
heit/Störung aufweist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: chronisches Nierenversagen, Nierenentzündung, Harnleiterentzündung, Blasenentzündungen, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Medikamentenabhängigkeit, EPH-Gestose, erhöhte/erniedrigte Körpertemperatur, erhöhte Harnsäurewerte (Gicht), multiples Myelom, Störungen der Harnblasenentleerung mit Rückstau in der Niere, Hypokaliämie, Hypercalcämie, Hämolyse, Myoglobinnämie, Tumoren, Plasmocytom mit der Entstehung von Bence-Jones-Proteinen, Harnleitersteine, Blasensteine.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel für eine Applikation ausgebildet ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: oral, rektal, parenteral, lokal, transdermal.
13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel in einer Form ausgebildet ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Pulver, Tablette, Saft, Tropfen, Kapsel, Zäpfchen, Lösung, Injektionslösung, Aerosol, Salbe, Spülung, Pflaster, Pellet, Dragee, modifiziert freisetzen-
de Darreichungsform.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel Nicotinsäureamid in einer Konzentration aufweist, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus (jeweils angegeben in Gewicht des Wirkstoffs Nicotinsäureamid bezogen auf das Gesamtgewicht des Arzneimittels): 1 µg/g, 10 µg/g, 100 µg/g, 1 mg/g, 10 mg/g, 100 mg/g, 1 g/g.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Absolutmenge des Wirkstoffs Nicotinsäureamid in einer Dosierungseinheit des Arzneimittels zwischen ca. 1 und ca. 3000 mg, vorzugsweise zwischen ca. 10 und ca. 1500 mg, weiter bevorzugt zwischen ca. 100 und ca. 750 mg, und höchst bevorzugt bei ca. 500 mg liegt.

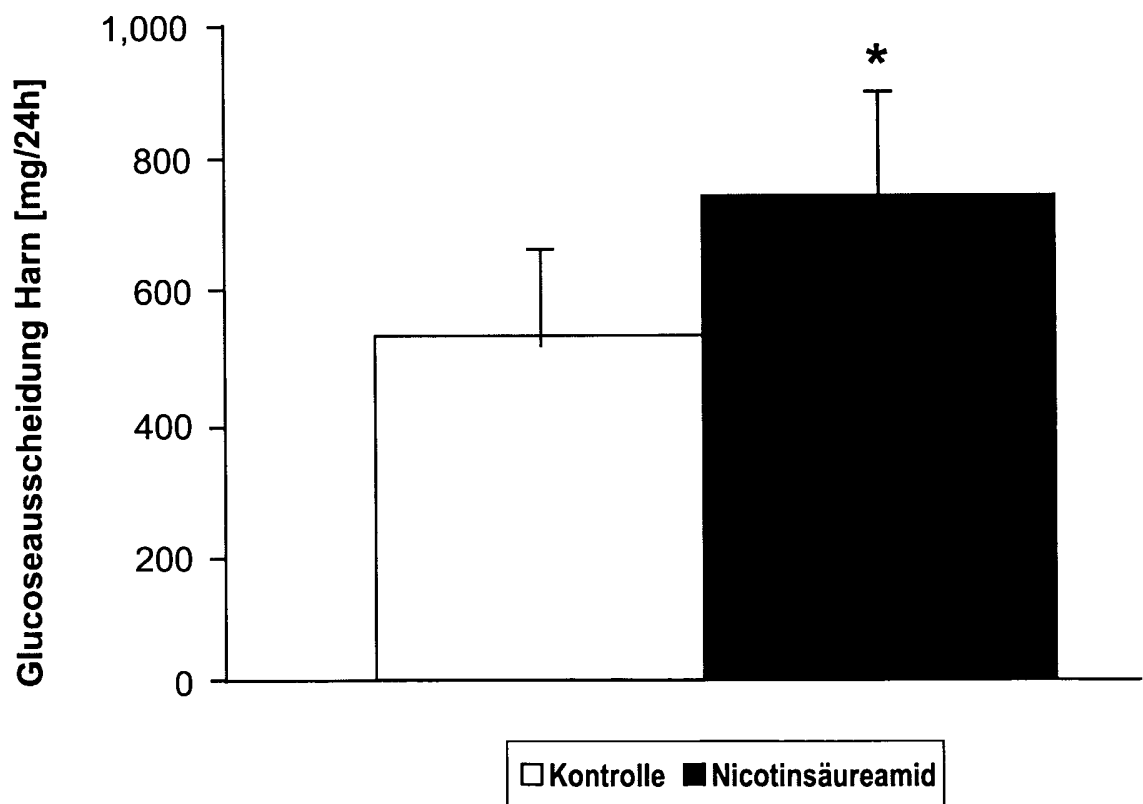
16. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel zusätzlich eine weitere gegen Proteinurie wirksame Substanz aufweist.
17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass die weitere Substanz ein Steroid oder ein nicht-steroidales Antiphlogistikum ist.
18. Verfahren nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass die weitere Substanz ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Dexamethason und Glucocorticosteroid..
19. Verfahren zur therapeutischen oder/und prophylaktischen Behandlung eines Lebewesens, das von Proteinurie betroffen ist oder/und bei dem die Gefahr von Proteinurie besteht, das folgende Schritte aufweist:
 - (1) Bereitstellung von Nicotinsäureamid,
 - (2) Einbringung des Nicotinsäureamids in das Lebewesen, und
 - (3) ggf. mehrfaches Wiederholen der Schritte (1) und (2).

1/6

A)

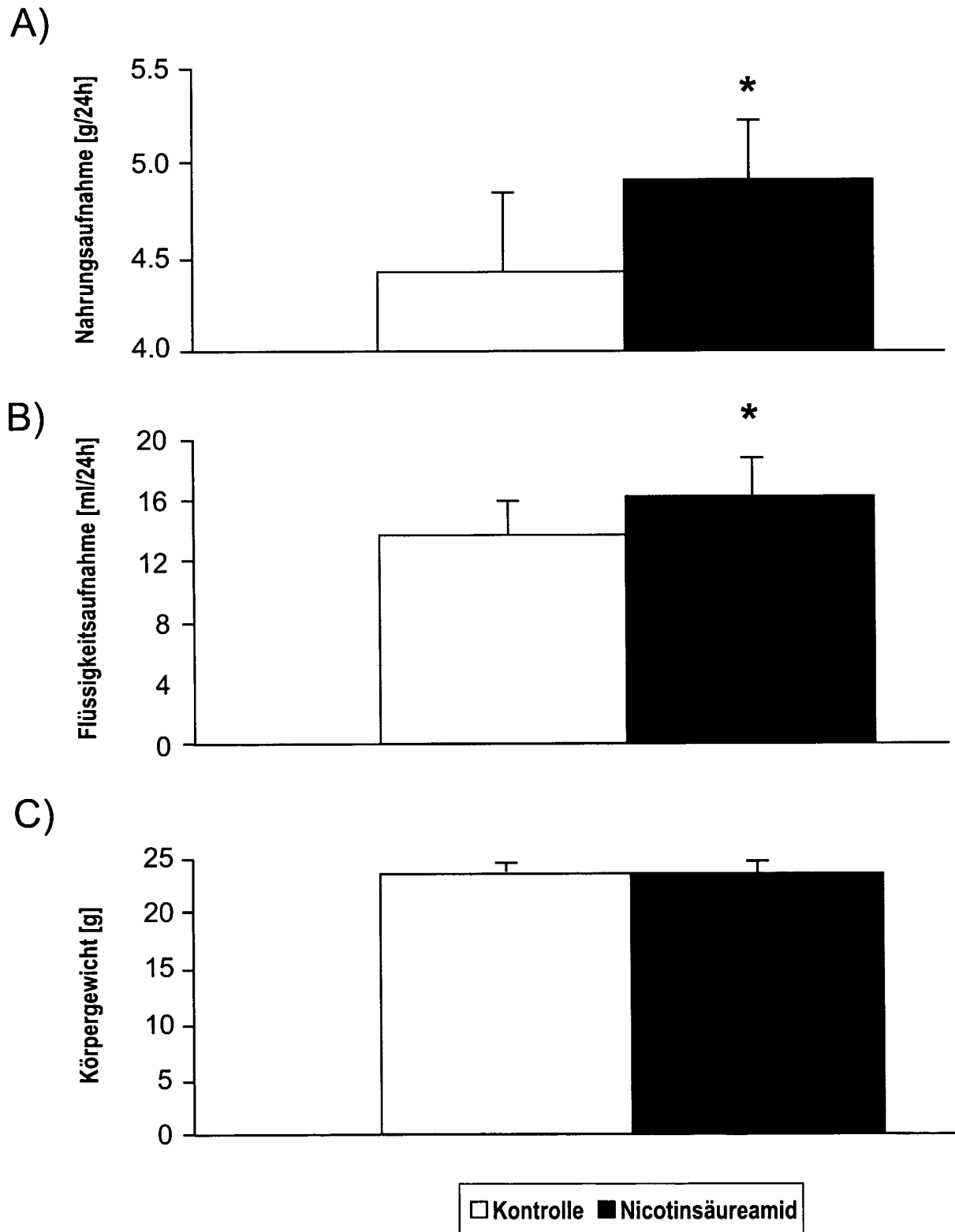


B)



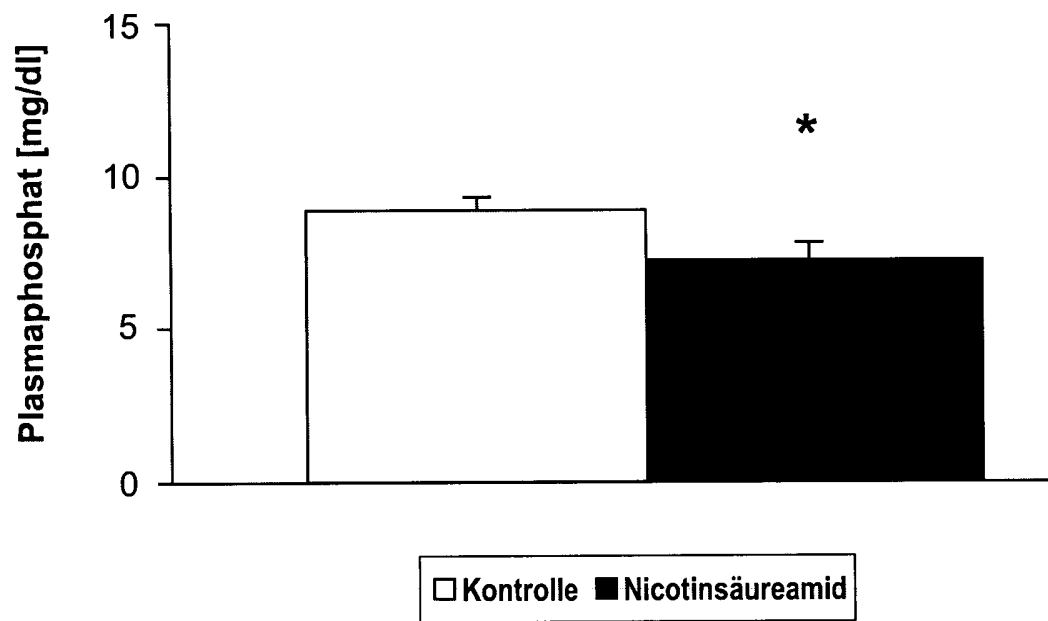
Figur 1

2/6



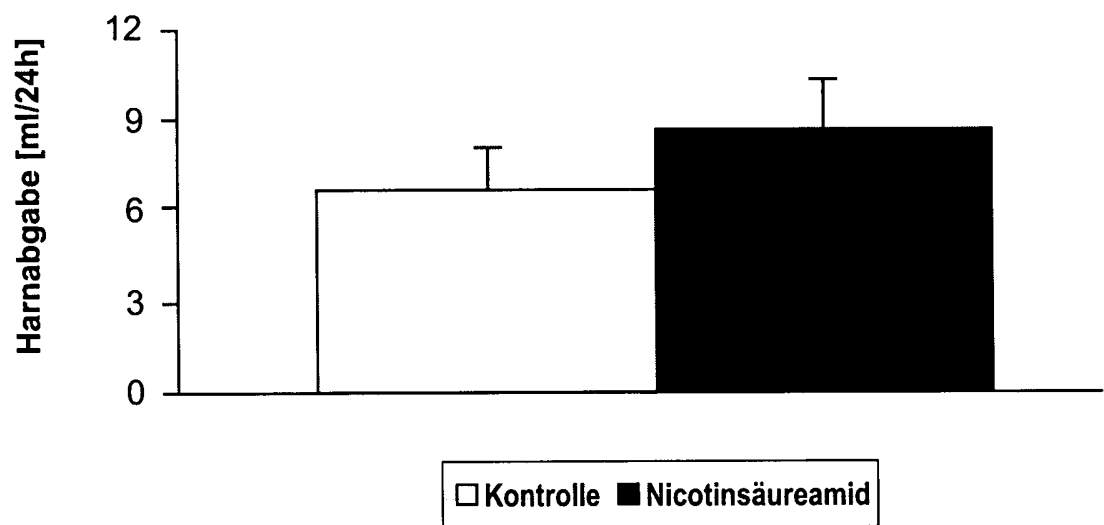
Figur 2

3/6



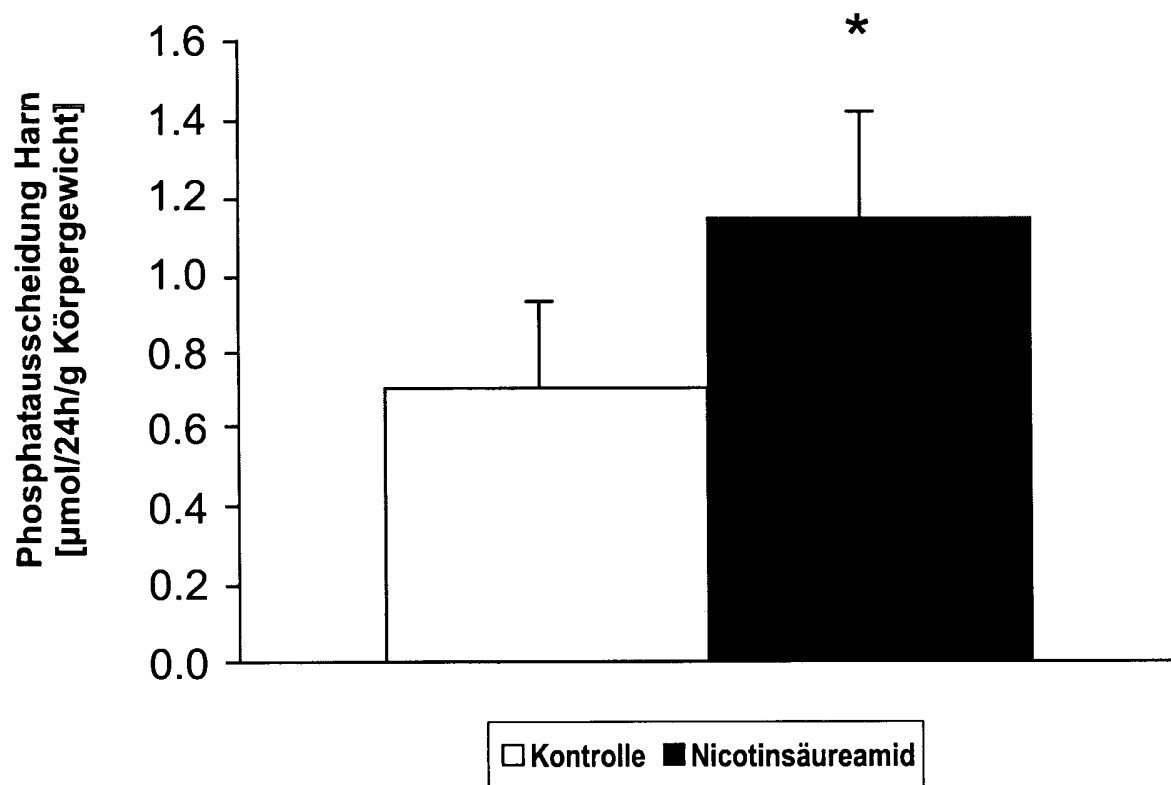
Figur 3

4/6

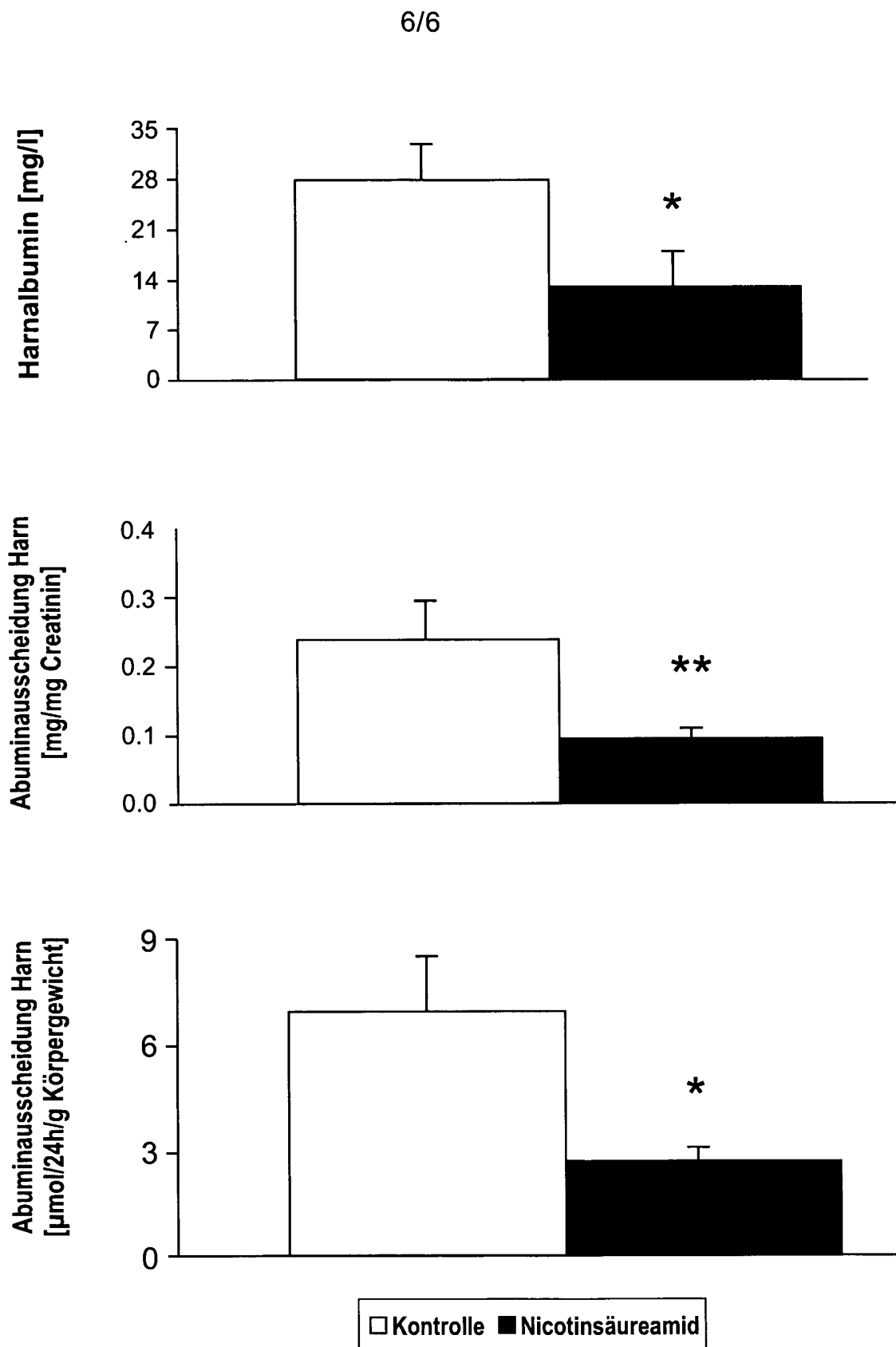


Figur 4

5/6



Figur 5



Figur 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2008/006753

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/455 A61P13/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 703 248 A (ENDO BIO [FR]) 7 October 1994 (1994-10-07) page 15, line 16; table I page 5, line 35 - line 36 -----	1-19
X	OWADA AKIRA ET AL: "Antiproteinuric effect of nickeritol, a nicotinic acid derivative, in chronic renal disease with hyperlipidemia: A randomized trial." AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE, vol. 114, no. 5, 1 April 2003 (2003-04-01), pages 347-353, XP002504074 ISSN: 0002-9343 page 349, right-hand column, paragraph 2; table 2 ----- -/--	1-19

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 November 2008

Date of mailing of the international search report

04/12/2008

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Loher, Florian

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2008/006753

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 820 703 A (VALPHARMA SA [SM]) 28 January 1998 (1998-01-28) examples 1,4,7 -----	10-18
X	EP 0 219 276 A (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD [JP]) 22 April 1987 (1987-04-22) claims 1-9; examples 4,5,12,13 -----	10-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2008/006753

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2703248	A	07-10-1994	NONE	
EP 0820703	A	28-01-1998	IT MI961525 A1	22-01-1998
EP 0219276	A	22-04-1987	AU 587863 B2	31-08-1989
			AU 6291986 A	09-04-1987
			CA 1308024 C	29-09-1992
			CN 86106839 A	20-04-1988
			DE 3685927 D1	13-08-1992
			DE 3685927 T2	24-12-1992
			DK 459486 A	08-04-1987
			ES 2041641 T3	01-12-1993
			JP 2028731 C	19-03-1996
			JP 7051504 B	05-06-1995
			JP 62174013 A	30-07-1987
			US 4868180 A	19-09-1989

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2008/006753

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. A61K31/455 A61P13/12

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
A61K A61P

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	FR 2 703 248 A (ENDOBIO [FR]) 7. Oktober 1994 (1994-10-07) Seite 15, Zeile 16; Tabelle I Seite 5, Zeile 35 - Zeile 36	1-19
X	OWADA AKIRA ET AL: "Antiproteinuric effect of niceritrol, a nicotinic acid derivative, in chronic renal disease with hyperlipidemia: A randomized trial." AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE, Bd. 114, Nr. 5, 1. April 2003 (2003-04-01), Seiten 347-353, XP002504074 ISSN: 0002-9343 Seite 349, rechte Spalte, Absatz 2; Tabelle 2	1-19



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

14. November 2008

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

04/12/2008

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Loher, Florian

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2008/006753

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 820 703 A (VALPHARMA SA [SM]) 28. Januar 1998 (1998-01-28) Beispiele 1,4,7 -----	10-18
X	EP 0 219 276 A (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD [JP]) 22. April 1987 (1987-04-22) Ansprüche 1-9; Beispiele 4,5,12,13 -----	10-18

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2008/006753

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
FR 2703248	A	07-10-1994	KEINE
EP 0820703	A	28-01-1998	IT MI961525 A1 22-01-1998
EP 0219276	A	22-04-1987	AU 587863 B2 31-08-1989
		AU 6291986 A	09-04-1987
		CA 1308024 C	29-09-1992
		CN 86106839 A	20-04-1988
		DE 3685927 D1	13-08-1992
		DE 3685927 T2	24-12-1992
		DK 459486 A	08-04-1987
		ES 2041641 T3	01-12-1993
		JP 2028731 C	19-03-1996
		JP 7051504 B	05-06-1995
		JP 62174013 A	30-07-1987
		US 4868180 A	19-09-1989