



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 23 138 T2** 2006.08.17

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 185 249 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 23 138.0**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US00/07304**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 916 536.6**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2000/057852**

(86) PCT-Anmeldetag: **20.03.2000**

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: **05.10.2000**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **13.03.2002**

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: **12.10.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **17.08.2006**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **A61K 9/16** (2006.01)

**A61K 47/34** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

(30) Unionspriorität:

**276866                      26.03.1999                      US**

(73) Patentinhaber:

**Guilford Pharmaceuticals Inc., Baltimore, Md., US**

(74) Vertreter:

**OFFICE ERNEST T. FREYLINGER S.A., Strassen,  
LU**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**DANG, Wenbin, Ellicott City, US; GARVER, I.,  
Robert, Hoover, US**

(54) Bezeichnung: **Verfahren und Zusammensetzung zur Behandlung von soliden Tumoren**

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

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

**Beschreibung****HINTERGRUND DER ERFINDUNG****1. Gebiet der Erfindung**

**[0001]** Diese Erfindung bezieht sich auf die Anwendung einer Polymerzusammensetzung zur Behandlung solider Tumore, insbesondere auf die verlängerte Freisetzung eines Antineoplastikums aus biologisch abbaubaren Zusammensetzungen.

**2. Beschreibung der damit verbundenen Technik**

**[0002]** Antineoplastika wie Paclitaxel werden zur Behandlung von soliden Tumoren verschiedener Typen verwendet. Zum Beispiel versuchten die Fachleute, eine Vielfalt von Antineoplastika in den Tumor selbst („intraläsionell“ oder auch „intratumoral“ genannt) in Form eines wässrigen Breis zu verabreichen. Siehe Luck et al., U.S. Patent Nr. 4 978 332. Jedoch erfordern solche auf Wasser basierenden Zusammensetzungen auch die Anwesenheit eines gefäßverengenden Arzneimittels, um die Wirkung des Wirkstoffs zu lokalisieren.

**[0003]** Eine entgegengesetzte Herangehensweise wurde auch versucht durch Zubereitung einer mit Wasser nicht mischbaren Fettsäureestermatrix zur intratumoralen Injektion z. B. von Paclitaxel. Siehe WO 95/17901, veröffentlicht am 6. Juli 1995, und Brown et al., U.S. Patent Nr. 5 573 781. Jedoch ist die kontrollierte intratumorale Freisetzung des Antineoplastikums in einem flüssigen Träger über einen verlängerten Zeitraum, zum Beispiel während mindestens drei bis vier Wochen, bisher nicht offen gelegt.

**[0004]** Es besteht also der Bedarf an einem Verfahren zur Durchführung in vivo der kontrollierten Freisetzung einer Vielfalt verschiedener Antineoplastika in das Innere eines soliden Tumors, ungeachtet der Tatsache, ob sie kleine hydrophobe Arzneimittel, wie Paclitaxel, oder große und massige Biomakromoleküle, wie therapeutisch brauchbare Proteine, sind. Die wirksame Freisetzung des Antineoplastikums erfolgt vorzugsweise, ohne dass signifikante Mengen eines physiologisch akzeptablen flüssigen Vehikels wie der normalen Kochsalzlösung oder eines mit Wasser unmischarbaren organischen Lösungsmittels vorhanden sein müssen.

**[0005]** Biologisch verträgliche, polymere Materialien werden zu vielfältigen therapeutischen Arzneimittelverabreichungs- und medizinischen Implantatanwendungen eingesetzt. Ist ein medizinisches Implantat zur Verwendung als Arzneimittelverabreichungs- oder sonstiges System der kontrollierten Freisetzung vorgesehen, stellt die Verwendung eines biologisch abbaubaren polymeren Trägers ein effizientes Mittel dar, um den therapeutischen Wirkstoff lokal und auf kontrollierte Weise zu verabreichen; siehe Langer et al. „Chemical and Physical Structures of Polymers as Carriers for Controlled Release of Bioactive Agents“ [Chemische und Physikalische Strukturen der Polymere als Träger für die kontrollierte Freisetzung biologisch aktiver Wirkstoffe], J. Macro. Science, Rev. Macro. Chem. Phys., C23 (1), 61–126 (1983). Auf diese Weise wird insgesamt weniger Arzneistoff benötigt und toxische Nebenwirkungen können minimiert werden.

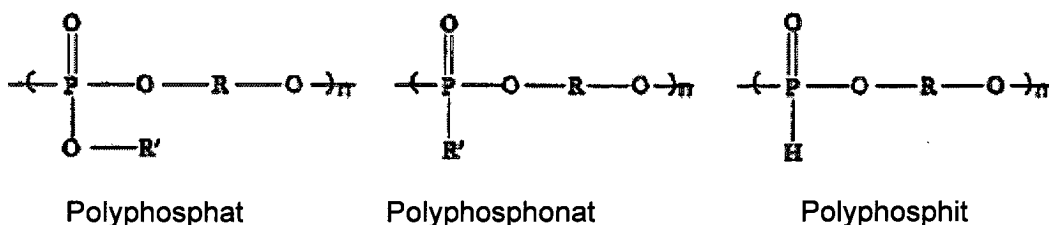
**[0006]** Polymere werden seit geraumer Zeit als Träger therapeutischer Wirkstoffe benutzt, um eine lokalisierte und anhaltende Freisetzung zu bewirken. Siehe Leong et al., „Polymeric Controlled Drug Delivery“ [Kontrollierte Arzneimittelverabreichung], Advanced Drug Delivery Rev., 1: 199–233 (1987); Langer, „New Methods of Drug Delivery“ [Neue Verfahren der Arzneimittelverabreichung], Science, 249: 1527–33 (1990) und Chien et al., „Novel Drug Delivery Systems“ [Neuartige Arzneimittelverabreichungssysteme], (1982). Solche Verabreichungssysteme bieten das Potential einer gesteigerten therapeutischen Effizienz und verminderten Gesamtoxizität. Beispiele von Klassen synthetischer Polymere, die als mögliche feste, biologisch abbaubare Stoffe untersucht worden sind, umfassen Polyester (Pitt et al., „Biodegradable Drug Delivery Systems Based on Aliphatic Polyesters: Applications to Contraceptives and Narcotic Antagonists“ [Biologisch abbaubare Arzneimittelverabreichungssysteme, die auf aliphatischen Polyestern beruhen: Anwendungen bei Kontrazeptiva und Narkoseantagonisten], Controlled Release of Bioactive Materials, 19–44 (Richard Baker, Ed. 1980); Polyaminosäuren und Pseudo-Polyaminosäuren (Pulapura et al., „Trends in the Development of Bioresorbable Polymers for Medical Applications“ [Trends in der Entwicklung der biologisch resorbierbaren Polymere für medizinische Anwendungen], J. Biomaterials Appl., 6: 1, 216–50 (1992)); Polyurethane (Bruin et al., „Biodegradable Lysine Diisocyanate-based Poly(Glycolide-co-ε Caprolactone)-Urethane Network in Artificial Skin“ [Biologisch abbaubares, auf Lysin-Diisocyanat basierendes Poly(Glykolid-Co-ε Caprolacton)-Urethannetzwerk in künstlicher Haut], Biomaterials, 11: 4, 291–95 (1990); Polyorthoester (Heller et al., „Release of Norethindrone from Poly(Ortho Esters)“ [Freisetzung von Norethisteron aus Polyorthoestern], Polymer Engineering Sci., 21: 11, 727–31 (1981); und Polyanhydride (Leong et al., „Polyanhydrides for Controlled Release of Bioactive Agents“

[Polyanhydride zur kontrollierten Freisetzung biologisch aktiver Substanzen], *Biomaterials* 7: 5, 364–71 (1986).

**[0007]** Auf spezifischere Weise legen Walter et al., *Neurosurgery*, 37: 6, 1129–45 (1995) die Anwendung des Polyanhydrids PCPP-SA als einen festen Träger für die intratumorale Verabreichung offen. Andere verwenden Poly-Milchsäuren als feste intratumorale Träger, zum Beispiel als Nadeln zur direkten Injektion in die Läsion. Siehe Kaetsu et al., *J. Controlled Release*, 6: 249–63 (1987) und Yamada et al., U.S. Patent Nr. 5 304 377.

**[0008]** Andere jedoch begegneten Problemen mit diesen Materialien. Paclitaxel wurde in Poly(Epsilon-Caprolacton) eingekapselt, aber nur etwa 25% des Arzneimittels wurden bei in vitro Auswertungen über den Zeitraum von 6 Wochen freigesetzt. Dordunoo et al., „Taxol Encapsulation in Poly(epsiloncaprolactone) Microspheres“ [Einkapselung von Taxol in Mikrokugeln aus Poly(Epsilon-Caprolacton)] *Cancer Chemotherapy & Pharmacology*, 36: 279–82 (1995). Mikrokugeln aus Poly-Milch-Coglykolsäure wurden verwendet zur Einkapselung von Paclitaxel und erwiesen in vitro eine relativ konstante Freisetzungsrates über drei Wochen, aber diese Zubereitungen wurden in vivo nicht ausgewertet. Wang et al., „Preparation and Characterization of Poly(lactico-glycolic acid) Microspheres for Targeted Delivery of a Novel Anticancer Agent, Taxol“ [Zubereitung und Charakterisierung von Mikrokugeln aus Poly-Milch-Coglykolsäure zur gezielten Freisetzung des neuartigen Antikarzinommittels Taxol], *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 44: 1935–40 (1996). Paclitaxel wurde auch in Polyanhydridscheiben eingekapselt, aber die resultierende Freisetzungsrates wurde als für klinische Zwecke zu langsam beschrieben. Park et al., „Biodegradable polyanhydride Devices of Cefaxolin Sodium, Bupivacaine, and Taxol for Local Drug Delivery: Preparation and Kinetics and Mechanism of in vitro Release“ [Biologisch abbaubare Polyanhydridartikel aus Cefaxolinnatrium, Bupivacain und Taxol zur lokalen Arzneimittel-freisetzung: Zubereitung und Kinetik und Mechanismus in der in vitro Freisetzung], *J. of Controlled Release*, 52: 179–89 (1998).

**[0009]** Polymere, die Phosphatbindungen besitzen, die so genannten Polyphosphate, Polyphosphonate und Polyphosphite, sind bekannt. Siehe Penczek et al., *Handbook of Polymer Synthesis*, Chapter 17: „Phosphorus-Containing Polymers“ [Handbuch der Polymersynthese, Kapitel 17: Phosphorhaltige Polymere], (Hans R. Kricheldorf ed., 1992). Diese drei Verbindungsklassen, von denen eine jede eine unterschiedliche, mit dem Phosphoratom verbundene Seitenkette aufweist, haben folgende Strukturen:



**[0010]** Die Vielseitigkeit dieser Polymere rührt von der Vielseitigkeit des Phosphoratoms her, das für eine Vielfalt von Reaktionen bekannt ist. Seine Bindung kann 3p Orbitale oder verschiedene 3s-3p Hybride involvieren; spd Hybride sind auch möglich wegen der zugänglichen d Orbitale. So können die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Poly(Phosphorester) leicht verändert werden durch Veränderung entweder der R- oder der R'- Gruppe. Die biologische Abbaubarkeit des Polymers beruht in erster Linie auf der physiologisch labilen Phosphoresterbindung in der Hauptkette des Polymers. Durch Manipulation der Hauptkette oder Seitenkette kann eine große Bandbreite biologischer Abbaubarkeitsraten erreicht werden.

**[0011]** Ein weiteres Merkmal der Polyphosphorester ist die Verfügbarkeit funktioneller Seitengruppen. Da Phosphor fünfwertig sein kann, können Arzneistoffmoleküle oder andere biologisch wirksame Substanzen chemisch an das Polymer gebunden werden. Zum Beispiel können Arzneistoffe mit -O-Carboxygruppen an das Phosphor über eine Phosphoresterbindung, die hydrolysisierbar ist, gekoppelt werden. Siehe Leong, U.S. Patente Nr. 5 194 581 und 5 256 765. Die P-O-C-Gruppe in der Hauptkette senkt auch die Vitrifizierungstemperatur des Polymers und, was wichtig ist, bewirkt die Löslichkeit in den üblichen organischen Lösungsmitteln, was für die leichte Bestimmbarkeit und Bearbeitung wünschenswert ist.

**[0012]** Die gleichzeitig anhängige U.S. Patentanmeldung mit der am 2. April 1998 eingereichten Seriennr. 09/053 648, die PCT/US98/0681 (veröffentlicht am 8. Oktober 1998 als WO 98/44021) entspricht, legt biologisch abbaubare Terephthalatpolyester-Polyphosphat-Zusammensetzungen offen. Die gleichzeitig anhängige U.S. Patentanmeldung mit der am 2. April 1998 eingereichten Seriennr. 09/053 649, die PCT/US98/06380 (veröffentlicht am 8. Oktober 1998 als WO 98/44020) entspricht, legt biologisch abbaubare Zusammensetzungen offen, die durch Phosphoresterketten erweiterte Polymere enthalten. Des Weiteren legt die gleichzeitig anhängige

gige Anmeldung mit der am 30. April 1998 eingereichten Seriennr. 09/070 204, die PCT/US98/09185 entspricht, biologisch abbaubare Zusammensetzungen offen, die polyzykloaliphatische Phosphorester-Zusammensetzungen umfassen. Jedoch schlägt keine dieser Offenlegungen die spezifische Anwendung von biologisch abbaubaren Polyphosphorester-Zusammensetzungen zur intratumoralen Behandlung von soliden Tumoren vor.

**[0013]** So bleibt der Bedarf neuer Verfahren und Materialien für die Lösung des schwierigen Problems einer erfolgreichen Behandlung von Tumoren mit einem Minimum an Toxizität und unter Vermeidung verlängerter Abläufe mit periodischer Neudosierung bestehen.

#### ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

**[0014]** Jetzt wurde herausgefunden, dass die Verwendung von biologisch abbaubaren Polymerzusammensetzungen, wie sie in den Ansprüchen definiert sind, für die intratumorale Verabreichung zur Behandlung eines soliden Tumors geeignet ist.

**[0015]** Die Zusammensetzungen können verwendet werden, um eine große Vielfalt an Antineoplastika zu verabreichen, zum Beispiel von hydrophoben Arzneimitteln wie Paclitaxel bis hin zu großen wasserlöslichen Makromolekülen wie Proteinen oder DNAs, über einen ausgedehnten Zeitraum, ohne dass signifikante Volumina einer Verabreichungsflüssigkeit oder regelmäßige Neudosierung erforderlich wären. Die Verfahren können somit dazu angewandt werden, um die Zeitspanne, während der eine wirksame Dosis des Antineoplastikums freigesetzt wird, signifikant zu verlängern. Weiter wird das Tumorwachstum um einen unerwarteten Grad verlangsamt. Der Tumor, an dem der Patient leidet, kann weiter mit einem Minimum an Nebenwirkungen und ohne die Unannehmlichkeit und das Unbehagen einer periodischen Serie parenteraler Behandlungen zum Zweck der kontinuierlichen Aufrechterhaltung einer signifikanten Konzentration eines Antineoplastikums innerhalb des Tumors therapeutisch behandelt werden.

#### KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

**[0016]** [Abb. 1](#) stellt die kontrollierte Freisetzung von hydrophoben kleinen Molekülen, wie Paclitaxel, aus einem Film aus Poly(Bis-Hydroxyethyl Terephthalat-Co-Ethylphosphat/Terephthalatchlorid) (80:20) [„Poly(BHET-EOP/TC, 80/20)“] dar.

**[0017]** Die [Abb. 2A](#) bis [Abb. 2C](#) zeigen alle die Abbaudaten der Poly(D, L-Laktid-Co-Ethylphosphat) [„Poly(DAPG-EOP)“] Polymere.

**[0018]** [Abb. 3](#) zeigt die zeitabhängige Veränderung von A549 Tumorknoten, die mit 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP) intratumoral und nur mit dem Poly(DAPG-EOP) Träger behandelt wurden.

**[0019]** [Abb. 4](#) zeigt die zeitabhängige Veränderung von A549 Tumorknoten, die intratumoral mit drei verschiedenen Dosierungen von Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP) (4 mg/kg, 12,5 mg/kg oder 24 mg/kg) behandelt wurden.

**[0020]** [Abb. 5](#) zeigt die zeitabhängige Veränderung von A549 Tumorknoten, die mit Paclitaxel in seiner herkömmlichen flüssigen Formulierung (24 mg/kg) über intraperitoneale Verabreichung, mit Paclitaxel in seiner herkömmlichen flüssigen Formulierung (24 mg/kg) intratumoral verabreicht und mit Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP) (24 mg/kg) intratumoral verabreicht behandelt wurden.

**[0021]** [Abb. 6](#) zeigt die zeitabhängige Veränderung von H1299 Tumorknoten, die mit 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP) intratumoral und mit dem Polymerträger des Poly(DAPG-EOP) allein behandelt wurden.

**[0022]** [Abb. 7](#) zeigt die zeitabhängige Veränderung von H1299 Tumorknoten, die mit drei verschiedenen Dosierungen von Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP) (4 mg/kg, 12,5 mg/kg oder 24 mg/kg) behandelt wurden.

**[0023]** [Abb. 8](#) zeigt die zeitabhängige Veränderung von H1299 Tumorknoten, die mit Paclitaxel in seiner herkömmlichen flüssigen Formulierung (24 mg/kg) über intraperitoneale Verabreichung, mit Paclitaxel in seiner herkömmlichen flüssigen Formulierung (24 mg/kg) intratumoral verabreicht und mit Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP) (24 mg/kg) intratumoral verabreicht behandelt wurden.

**[0024]** [Abb. 9](#) zeigt die Gewichtsveränderungen bei Mäusen, die Träger eines A549 Tumors sind, nach Be-

handlung mit entweder einer Vehikelkontrolle oder mit 24 mg/kg Paclitaxel in seiner herkömmlichen flüssigen Formulierung oder in Poly(DAPG-EOP).

**[0025]** [Abb. 10](#) zeigt die Gewichtsveränderungen bei Mäusen, die Träger eines H1299 Tumors sind, nach Behandlung mit entweder einer Vehikelkontrolle oder mit 24 mg/kg Paclitaxel in seiner herkömmlichen flüssigen Formulierung oder in Poly(DAPG-EOP).

**[0026]** [Abb. 11](#) zeigt die geschätzten Tumorumfangverdoppelungszeiten auf der Grundlage von Daten, die aus in den [Abb. 4](#) bis [Abb. 6](#) bezüglich A549 Tumorzellen dargestellten Daten abgeleitet sind. Die dargestellten P-Werte entsprechen den Unterschieden zwischen der entsprechenden Gruppe und der Gruppe, die mit 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP) behandelt wurde.

**[0027]** [Abb. 12](#) zeigt die geschätzten Tumorumfangverdoppelungszeiten auf der Grundlage von Daten, die aus in den [Abb. 7](#) bis [Abb. 9](#) bezüglich H1299 Tumorzellen dargestellten Daten abgeleitet sind. Die dargestellten P-Werte entsprechen den Unterschieden zwischen der entsprechenden Gruppe und der Gruppe, die mit 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP) behandelt wurde.

## DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

### Polymerzusammensetzungen

**[0028]** Wie in dieser Beschreibung verwendet bedeutet der Ausdruck „Säuger“ jede Art von Säugern wie Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Katzen, Hunde, Menschen, Kühe, Pferde, Schafe oder sonstiges Vieh.

**[0029]** „Karzinom“ umfasst Gewebe, das entweder durch gesteigerte Zellwucherung und/oder verminderte Apoptosis wächst.

**[0030]** Der Ausdruck „Säuger, der Träger eines Karzinoms ist“ schließt Lebewesen ein, die an den üblichen Symptomen dieser Erkrankung leiden, sowie Lebewesen, die sich von anderen Behandlungsverfahren wie einer Operation, Chemotherapie oder sonstigen Behandlung erholen, ohne dass diese Aufzählung erschöpfend wäre.

**[0031]** Der Ausdruck „Behandlung“ umfasst, wie er hier verwendet wird,  
 (i) Hemmung der Krankheit, Störung oder des Zustands, d.h. Beendigung derer Entwicklung und  
 (ii) Linderung der Krankheit, Störung und/oder des Zustands, d.h. Bewirkung deren Rückgangs.

**[0032]** „Tumorumfang“ bedeutet den dreidimensionalen Raum, der von einem Tumor in einem Tier vorherrschend eingenommen ist, gemessen in Kubikeinheiten.

**[0033]** „Intratumorale“ Verabreichung bedeutet das Implantieren eines Behälters mit (einem) therapeutischen Wirkstoff(en) in das Innere des Tumors. Intratumorale Verabreichungen sind vorteilhaft für die Tumorbehandlung, weil die äußeren Zellschichten von Tumoren häufig zu einem hohen Prozentsatz aus nekrotischen Zellen und/oder Bindegewebe- und Trägerschichten bestehen, welche die extratumorale vaskuläre und parenterale Verabreichung von therapeutischen Wirkstoffen zu den aktiv wachsenden Krebszellen im Zentrum des soliden Tumors hin verlangsamen und/oder behindern.

**[0034]** „Verdoppelungszeit“ bedeutet die Zeit, die eine Population von Krebszellen benötigt, um ihre Anzahl von Zellen zu verdoppeln, oder die Zeit, die ein Tumor benötigt, um sein Volumen zu verdoppeln.

**[0035]** „Biologisch abbaubar“ bedeutet, die Fähigkeit, biologisch zersetzt zu werden. Ein „biologisch abbaubares“ Polymer kann in Einheiten biologisch zersetzt werden, die entweder aus dem biologischen System entfernt und/oder in das biologische System chemisch eingebaut werden können. Vorzugsweise wird die Hemmung des Wachstums des soliden Tumors erfindungsgerecht als eine Verzögerung der Tumorumfangverdoppelungszeit gemessen. Die Anwendung der Erfindung verlängert üblicherweise die Verdoppelungszeit auf signifikante Weise, vorzugsweise um einen Faktor von mindestens zwei, bevorzugter um einen Faktor von mindestens vier und am meisten bevorzugt um einen Faktor von 8 bis 10.

**[0036]** Eine andere Art, die Hemmung des Wachstums des soliden Tumors erfindungsgerecht zu messen, ist die Bestimmung der Reduzierung des Tumorumfanges. Die Anwendung der Erfindung vermindert üblicherweise das Tumorumfangvolumen auf signifikante Weise, vorzugsweise um mindestens etwa 10%, bevorzugter um min-

destens etwa 30%, noch bevorzugter um mindestens etwa 50% und am meisten bevorzugt um mindestens etwa 70%.

**[0037]** „Solider Tumor“ bedeutet ein Locus von Tumorzellen, wobei die Mehrheit der Zellen aus Tumorzellen oder tumorähnliche Zellen besteht.

**[0038]** Biologisch abbaubare Polymere unterscheiden sich von den biologisch nicht abbaubaren Polymeren darin, dass sie während der in vivo Therapie abgebaut werden können. Dies involviert im Allgemeinen die Aufspaltung des Polymers in seine monomeren Untereinheiten. Grundsätzlich sind die letzten hydrolytischen Aufspaltungsprodukte des erfindungsgerecht verwendeten Polymers ein Diol, ein aliphatischer Alkohol und Phosphat. Alle diese Abbauprodukte sind potentiell nicht toxisch. Die oligomeren Zwischenprodukte der Hydrolyse können unterschiedliche Eigenschaften besitzen. So wird die Toxikologie eines biologisch abbaubaren Polymers, das für die Implantation in den Körper bestimmt ist, auch wenn es aus offensichtlich unschädlichen monomeren Strukturen synthetisch hergestellt ist, typischerweise nach einer oder mehreren Toxizitätsanalysen bestimmt.

**[0039]** Der Ausdruck „verlängerte Freisetzung“ umfasst, wie er hier verwendet wird, ohne dass die folgende Aufzählung erschöpfend wäre, verschiedene Formen der Freisetzung, wie die kontrollierte Freisetzung, zeitlich begrenzte Freisetzung, anhaltende Freisetzung, verzögerte Freisetzung, Langzeitwirkung, pulsierende Verabreichung, direkte Freisetzung, die mit verschiedenen Raten erfolgt. Die Fähigkeit, eine verlängerte, kontrollierte, zeitlich begrenzte, anhaltende, verzögerte Freisetzung, Langzeitwirkung, pulsierende Verabreichung oder direkte Freisetzung zu erzielen, wird unter Anwendung wohlbekannter Verfahren und Techniken, die dem ordentlich ausgebildeten Fachmann zur Verfügung stehen, erreicht. Keine dieser spezifischen Techniken oder Verfahren stellen einen erfinderischen Aspekt dieser Erfindung dar.

**[0040]** Jeder der großen Vielfalt solider Tumore kann auf die Behandlung der Erfindung reagieren, einschließlich, jedoch nicht ausschließlich Kehlkopftumore, Gehirntumore und andere Tumore des Kopfes und Nackens, Tumore des Dickdarms, Mastdarms oder der Prostata, solide Brust- oder Thorax Tumore, Eierstock- und Gebärmuttertumore, Tumore der Speiseröhre, des Magens, der Bauchspeicheldrüse und Leber, Blasen- und Gallenblasentumore, Hauttumore wie Melanome und Ähnliches. Des Weiteren kann ein erfindungsgerecht behandelter Tumor entweder ein primärer oder sekundärer Tumor sein, der sich aus Metastasen von Krebszellen an anderer Körperstelle in der Brust bildet.

**[0041]** Vorzugsweise ist der Tumor ein Kehlkopf-, Dickdarm-, Mastdarm-, Prostata-, Brust-, Thorax-, Blasen- oder Hauttumor. Bevorzugter ist der Tumor ein Thorax Tumor, wie zum Beispiel bronchogene Tumoren, primäre und/oder metastatische Lungenkarzinome (sowohl nicht-kleinzellige Lungenkarzinome (NSCLC) als auch kleinzellige Lungenkarzinome (SCLC), maligne Pleuraergüsse oder Karzinome des Lungenparenchyms, der Luftwege, Brustwand und Pleuraräume. Am meisten bevorzugt ist der Tumor jedoch ein solider Tumor der Lunge.

**[0042]** Der Begriff „aliphatisch“ bezieht sich auf ein lineares, verzweigtes oder zyklisches Alkan, Alkylen oder Alkyn. Bevorzugte lineare oder verzweigte aliphatische Gruppen der erfindungsgerechten Poly(zykloaliphatischen Phosphorester)-Zusammensetzung besitzen 1 bis 20 Kohlenstoffe. Bevorzugte zykloaliphatische Gruppen können eine oder mehrere ungesättigte Bindungsstellen aufweisen, d.h. doppelte oder dreifache Bindungen, sind aber nicht aromatischer Natur.

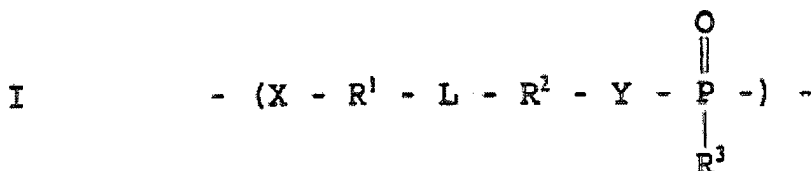
**[0043]** Wie er hier verwendet wird, bezieht sich der Begriff „Aryl“ auf eine ungesättigte zyklische Kohlenstoffverbindung mit  $4n + 2 \pi$  Elektronen. Wie er hier verwendet wird, bezieht sich der Begriff „Heterozyklyl“ auf eine gesättigte oder ungesättigte Ringverbindung, die ein oder mehrere Atome in dem Ring besitzt, die keine Kohlenstoffatome sind, zum Beispiel Stickstoff, Sauerstoff oder Schwefel. „Heteroaryl“ bezieht sich auf eine Heterozyklyl-Verbindung mit  $4n + 2$  Elektronen.

**[0044]** Wie er hier verwendet wird, bezieht sich der Begriff „nicht eingreifender Substituent“ auf einen Substituenten, der mit den Monomeren nicht reagiert, die Polymerisationsreaktion nicht katalysiert, beendet oder auf sonstige Weise in diese eingreift und mit der resultierenden Polymerkette nicht durch intra- oder intermolekulare Reaktion reagiert.

**[0045]** Die biologisch abbaubare und injizierbare Polymerzusammensetzung umfasst ein biologisch abbaubares Poly(Phosphorester)Polymer. Das genaue bei der Erfindung angewandte Poly(Phosphorester)Polymer kann stark variieren, je nach der Hydrophilie oder Hydrophobie des in der Zusammensetzung verwandten An-

tineoplastikums, den gewünschten physikalischen Eigenschaften und dem gewünschten Freisetzungsprofil. Beispiele brauchbarer Poly(Phosphorester) sind z. B. Poly(Phosphate), Poly(Phosphite) oder Poly(Phosphonate), mit Poly(Carboxylsäuren) modifizierte Poly(Phosphorester), Poly(Phenyl-Neocarboxylatphosphite) und Poly(Pentaerythrityl-Neocarboxylatphosphite), wie sie Friedman in dem U.S. Patent Nr. 3 422 982 beschreibt, zyklische Zykoalkylenphosphate und zyklische Arylenphosphate, wie sie Vandenburg in dem U.S. Patent Nr. 3 655 586 beschreibt, substituierte Ethandiphosphonate, wie sie Kerst in dem U.S. Patent Nr. 3 664 975 beschreibt, Polyhydroxychlorpropyl-Phosphatphosphate wie sie Cohen et al. in dem U.S. Patent Nr. 3 664 974 beschreiben, Diphosphinsäureester, wie sie Herwig et al. in dem U.S. Patent Nr. 3 875 263 beschreiben, Poly(Phenylphosphonate), wie sie Desitter et al. in dem U.S. Patent Nr. 3 927 231 beschreiben, Poly(Terephthal-Phosphonate), wie sie Reader in dem U.S. Patent Nr. 3 932 566 beschreibt, Polyamid-Carboxylsäuren (auch Polyamidsäuren genannt), wie sie Meyer et al. in dem U.S. Patent Nr. 3 981 847 beschreiben, Dimethyl-Pentaerythritol-Diphosphite, Alkylalkylenphosphite, 1,3,2-Dioxaphosphorinane, Arylalkylenphosphonite und 1,3,2-Oxa-Aza-Phospholane, wie sie Hechenbleikner in dem U.S. Patent Nr. 4 082 897 beschreibt, lineare gesättigte Polyester der Phosphorsäure und Halogendiole, wie sie Login et al. in den U.S. Patenten Nr. 4 259 222, 4 315 847 und 4 315 969 beschreiben, Polyesterphosphonate basierend auf aromatischen Dicarboxylsäuren und aromatischen Dihydroxyverbindungen, wie sie Schmidt et al. in den U.S. Patenten Nr. 4 328 174 und 4 374 971 beschreiben, phosphorhaltige Polyarylenester, wie sie Besecke et al. in den U.S. Patenten Nr. 4 463 159 und 4 472 570 beschreiben, aus Indan-5-Olen und Triphenylphosphat hergestellte Polyphosphate, wie sie Serini et al. in den U.S. Patenten Nr. 4 482 693 und 4 491 656 beschreiben, Poly(Phosphorester-Urethane), wie sie Leong in dem U.S. Patent Nr. 5 176 907 beschreibt, aus Verbindungen wie Bis-Phenol-A hergestellte Poly(Phosphorester), wie sie Leong in den U.S. Patenten Nr. 5 194 581 und 5 256 765 beschreibt und Ähnliches, deren Offenlegungen hiermit durch Bezugnahme einbezogen sind. Besonders bevorzugte Poly(Phosphorester) umfassen jedoch diejenigen, die in den gleichzeitig anhängigen Patentanmeldungen mit der am 2. April 1998 eingereichten Seriennummer 09/053 648, am 2. April 1998 eingereichten Seriennummer 09/053 649 und am 30. April 1998 eingereichten Seriennummer 09/070 204 beschrieben sind, die jeweils den folgenden Veröffentlichungen entsprechen: PCT/US98/0681 (veröffentlicht am 8. Oktober 1998 als WO 98/44021), PCT/US98/06380 (veröffentlicht am 8. Oktober 1998 als WO 98/44020) und PCT/US98/09185, deren Offenlegungen sämtlich hiermit durch Bezugnahme einbezogen sind.

**[0046]** Vorzugsweise hat jedoch das Poly(Phosphorester) die wiederkehrenden monomeren Einheiten der Formel I:



wobei X -O- oder -NR<sup>4</sup>- ist, wobei R<sup>4</sup> H oder Alkyl, wie Methyl, Ethyl, 1,2-Dimethylethyl, N-Propyl, Isopropyl, 2-Methylpropyl, 2,2-Dimethylpropyl oder Tert-Butyl, N-Pentyl, Tert-Pentyl, N-Hexyl, N-Heptyl und Ähnliches ist.

**[0047]** Die Y-Gruppe in der Formel I ist -O- oder -NR<sup>4</sup>-, wobei R<sup>4</sup> wie oben definiert ist.

**[0048]** R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> können jeweils irgendeine bivalente organische Hälfte sein, die entweder nicht substituiert oder substituiert ist durch einen nicht eingreifenden oder mehrere nicht eingreifende Substituenten, solange die Hälfte und ihre Substituenten nicht auf unerwünschte Weise in die Reaktionen der Polymerisation, Copolymerisation oder des biologischen Abbaus des Polymers eingreifen. Im Besonderen können R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> jeweils eine verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe sein, die vorzugsweise etwa 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt. Zum Beispiel können R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> Alkylen sein wie Methylen, Ethylen, 1-Methylethylen, 1,2-Dimethylethylen, N-Propylen, Isopropylen, 2-Methylpropylen, 2,2'-Dimethylpropylen oder Tert-Butylen, N-Pentylen, Tert-Pentylen, N-Hexylen, N-Heptylen, N-Octen, N-Nonylen, N-Decylen, N-Undecylen, N-Dodecylen und Ähnliches.

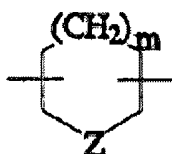
**[0049]** R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> können auch Alkenylen sein wie Ethenylen, Propenylen, 2-Vinylpropenylen, N-Butenylen, 3-Ethenylbutylen, N-Pentylen, 4-(3-Propenyl)Hexylen, N-Oktenylen, 1-(4-Butenyl)-3-Methyldecylen, Dodecenylen, 2-(3-Propenyl)Dodecylen, Hexadecenylen und Ähnliches. R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> können auch Alkynylen sein wie Ethynylen, Propynylen, 3-(2-Ethynyl)Pentylen, N-Hexynylen, Octadecenylen, 2-(2-Propynyl)Decylen und Ähnliches.

**[0050]** R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> können auch eine aliphatische Gruppe sein wie eine Alkylen-, Alkenylen- oder Alkynylen-

gruppe, die substituiert ist durch einen nicht eingreifenden Substituenten, zum Beispiel eine Hydroxy-, Halogen- oder Stickstoffgruppe. Beispiele solcher Gruppen umfassen zum Beispiel 2-Chlor-N-Decylen, 1-Hydroxy-3-Ethenylbutylen, 2-Propyl-6-Nitro-10-Dodecynylen und Ähnliches.

**[0051]** Weiter können  $R^1$  und  $R^2$  eine zyклоaliphatische Gruppe sein wie Zyklopentyl, 2-Methylzyklopentyl, Zyklohexyl, Zyklohexenyl und Ähnliches.  $R^1$  und  $R^2$  können auch jeweils eine bivalente aromatische Gruppe sein wie Phenyl, Benzyl, Naphthalen, Phenanthrenyl und Ähnliches, oder eine bivalente aromatische Gruppe, substituiert durch einen nicht eingreifenden Substituenten. Weiter können  $R^1$  und  $R^2$  jeweils eine bivalente Heterozyklyl-Gruppe sein wie Pyrrolyl, Furanyl, Thiophenyl, Alkyl-Pyrrolyl-Alkyl, Pyridyl, Pyridinyl, Pyrimidinyl und Ähnliches, oder irgendeine von diesen, substituiert durch einen nicht eingreifenden Substituenten.

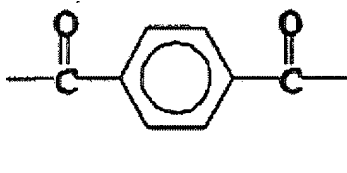
**[0052]** Vorzugsweise besitzen  $R^1$  und  $R^2$  etwa 1 bis 20 Kohlenstoffatome und sind eine Alkylengruppe, zyκλοaliphatische Gruppe, Phenylengruppe oder eine bivalente Gruppe mit der Formel:



wobei Z Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel und m 1 bis 3 ist. Bevorzugter sind  $R^1$  und  $R^2$  jeweils eine verzweigte oder geradkettige Alkylengruppe, die 1 bis 7 Kohlenstoffatome besitzt. Am meisten bevorzugt sind  $R^1$  und  $R^2$  jeweils eine Methyl-, Ethylengruppe, N-Propyl-, 2-Methylpropyl- oder eine 2,2'-Dimethylpropylengruppe.

**[0053]** Bei einer Ausführung der Erfindung können entweder  $R^1$  oder  $R^2$  oder beide  $R^1$  und  $R^2$  ein antineoplastischer Wirkstoff in einer Form sein, die fähig ist, in eine physiologische Umgebung freigesetzt zu werden. Ist dabei der antineoplastische Wirkstoff Teil der Poly(Phosphorester) Hauptkette, wird er freigesetzt, da sich die durch die erfindungsgerechte Zusammensetzung gebildete Polymermatrix abbaut.

**[0054]** L der erfindungsgerechten Polymerzusammensetzung kann irgendeine bivalente, verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, eine zyκλοaliphatische Gruppe oder eine Gruppe sein, die folgende Formel aufweist:



**[0055]** Wenn L eine verzweigte oder geradkettige Alkylengruppe ist, ist dies vorzugsweise eine Alkylengruppe, die 1 bis 7 Kohlenstoffatome besitzt, wie 2-Methylmethyl- oder Ethyl. Wenn L eine zyκλοaliphatische Gruppe ist, kann sie irgendeine bivalente zyκλοaliphatische Gruppe sein, solange sie nicht in die Reaktionen der Polymerisation oder des biologischen Abbaus des Polymers der Zusammensetzung eingreift. Besondere Beispiele brauchbarer nicht substituierter und substituierter zyκλοaliphatischer L-Gruppen umfassen zum Beispiel Zykloalkylengruppen wie Zyklopentyl, 2-Methylzyklopentyl, Zyklohexyl, 2-Chlorzyklohexyl und Ähnliches, Zykloalkenylengruppen wie Zyklohexenyl und Zykloalkylengruppen, die kondensierte oder verbrückte zusätzliche Ringstrukturen an einer oder mehreren Seiten aufweisen, wie Tetralinyl, Decalinyl und Norpinanyl oder Ähnliches.

**[0056]**  $R^3$  der erfindungsgerechten Polymerzusammensetzung ist aus der Gruppe ausgewählt, die aus H, Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy, Heterozyklyl- und Heterozykloxy- Resten besteht.

**[0057]** Wenn  $R^3$  Alkyl oder Alkoxy ist, enthält es vorzugsweise etwa 1 bis etwa 20 Kohlenstoffatome, bevorzugter etwa 1 bis etwa 15 Kohlenstoffatome und am meisten bevorzugt etwa 1 bis etwa 7 Kohlenstoffatome. Beispiele solcher Gruppen umfassen Methyl, Methoxy, Ethyl, Ethoxy, N-Propyl, Isopropoxy, N-Butoxy, T-Butyl,  $-C_8H_{17}$ , Alkyl substituiert mit einem nicht eingreifenden Substituenten, wie Halogen, Alkoxy oder Nitro, Alkyl konjugiert mit einer biologisch aktiven Substanz, um ein anhängendes Arzneimittelfreisetzungssystem zu bilden und Ähnliches.



**[0058]** Wenn  $R^3$  Aryl oder die entsprechende Aryloxy-Gruppe ist, enthält es typischerweise etwa 5 bis etwa 14 Kohlenstoffatome, vorzugsweise etwa 5 bis 12 Kohlenstoffatome und kann optional einen oder mehrere Ringe aufweisen, die miteinander kondensiert sind. Beispiele besonders geeigneter aromatischer Gruppen umfassen Phenyl, Phenoxy, Naphthyl, Anthracenyl, Phenanthrenyl und Ähnliches.

**[0059]** Ist  $R^3$  Heterozyklyl oder Heterozykloxy, enthält es typischerweise etwa 5 bis 14, vorzugsweise etwa 5 bis 12 Ringatome und ein Heteroatom oder mehrere Heteroatome. Beispiele geeigneter Heterozyklyl-Gruppen umfassen Furan, Thiophen, Pyrrol, Isopyrrol, 3-Isopyrrol, Pyrazol, 2-Isoimidazol, 1,2,3-Triazol, 1,2,4-Triazol, Oxazol, Thiazol, Isothiazol, 1,2,3-Oxadiazol, 1,2,4-Oxadiazol, 1,2,5-Oxadiazol, 1,3,4-Oxadiazol, 1,2,3,4-Oxatriazol, 1,2,3,5-Oxatriazol, 1,2,3-Dioxazol, 1,2,4-Dioxazol, 1,3,2-Dioxazol, 1,3,4-Dioxazol, 1,2,5-Oxatriazol, 1,3-Oxathiol, 1,2-Pyran, 1,4-Pyran, 1,2-Pyron, 1,4-Pyron, 1,2-Dioxin, 1,3-Dioxin, Pyridin, N-Alkylpyridinium, Pyridazin, Pyrimidin, Pyrazin, 1,3,5-Triazin, 1,2,4-Triazin, 1,2,3-Triazin, 1,2,4-Oxazin, 1,3,2-Oxazin, 1,3,5-Oxazin, 1,4-Oxazin, o-Isoxazin, p-Isoxazin, 1,2,5-Oxathiazin, 1,2,6-Oxathiazin, 1,4,2-Oxadiazin, 1,3,5,2-Oxadiazin, Azepin, Oxepin, Thiopin, 1,2,4-Diazepin, Inden, Isoinden, Benzofuran, Isobenzofuran, Thionaphthen, Isothionaphthen, Indol, Indolenin, 2-Isobenzazol, 1,4-Pyridin, Pyrando[3,4-b]-Pyrrol, Isoindazol, Indoxazin, Benzoxazol, Anthranil, 1,2-Benzopyran, 1,2-Benzopyron, 1,4-Benzopyron, 2,1-Benzopyron, 2,3-Benzopyron, Chinolin, Isochinolin, 12-Benzodiazin, 1,3-Benzodiazin, Naphthpyridin, Pyrido[3,4-b]-Pyridin, Pyrido[3,2-b]-Pyridin, Pyrido[4,3-b]Pyridin, 1,3,2-Benzoxazin, 1,4,2-Benzoxazin, 2,3,1-Benzoxazin, 3,1,4-Benzoxazin, 1,2-Benzisoxazin, 1,4-Benzisoxazin, Carbazol, Xanthren, Acridin, Purin und Ähnliches. Vorzugsweise wird  $R^3$ , wenn es Heterozyklyl oder Heterozykloxy ist, aus der Gruppe ausgewählt, die aus Furan, Pyridin, N-Alkylpyridin, 1,2,3- und 1,2,4-Triazolen, Inden, Anthrazen und Purin Ringen besteht.

**[0060]** In einer besonders bevorzugten Ausführung ist  $R^3$  eine Alkyl-, Alkoxy-, Phenyl-, Phenoxy- oder eine Heterozykloxygruppe und, noch bevorzugter, eine Alkoxygruppe, die 1 bis 10 Kohlenstoffatome besitzt. Am meisten bevorzugt ist  $R^3$  eine Ethoxy- oder Hexyloxygruppe.

**[0061]** Alternativ kann die Seitenkette  $R^3$  der antineoplastische Wirkstoff oder eine andere biologisch aktive Substanz sein, die hängend an die Polymerhauptkette angeheftet ist, zum Beispiel durch ionische oder kovalente Bindung. In diesem anhängenden System wird der antineoplastische Wirkstoff oder eine andere biologisch aktive Substanz freigesetzt, da die Bindung, die  $R^3$  an das Phosphoratom bindet, unter physiologischen Bedingungen aufgespalten wird.

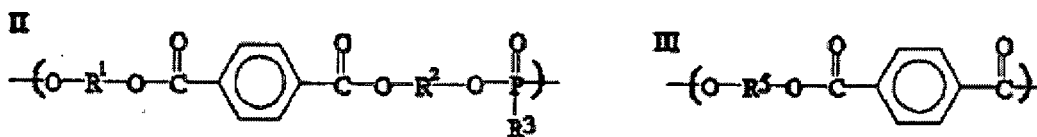
**[0062]** Die Anzahl der wiederkehrenden monomeren Einheiten kann erheblich variieren, je nach der in dem Polymer gewünschten biologischen Abbaubarkeit und den Freisetzungseigenschaften, aber typischerweise schwankt sie zwischen etwa 5 und 1.000. Vorzugsweise beträgt die Anzahl der wiederkehrenden Einheiten etwa 5 bis etwa 500 und am meisten bevorzugt etwa 5 bis etwa 400.

**[0063]** Erfindungsgemäß angewandt bietet die Polymerzusammensetzung eine verlängerte Freisetzung des antineoplastischen Wirkstoffs in das Innere des soliden Tumors eines Lebewesens, das Träger eines oder mehrerer solcher Tumore ist, vorzugsweise während eines Zeitraums von mehr als einen Tag. Auf noch bevorzugtere Weise dehnt sich das Freisetzungsprofil über einen Zeitraum von mindestens 15 Tagen aus, noch mehr bevorzugt von mindestens etwa 30 Tagen, zum Beispiel von mindestens etwa vier Wochen bis zu einem Jahr.

**[0064]** Am meisten bevorzugt jedoch ist das erfindungsgerechte Poly(Phosphorester)Polymer ein Phosphorcoester.

**[0065]** Bei einer Ausführung hat das erfindungsgerechte biologisch abbaubare.

**[0066]** Poly(Phosphorester) ein Molekulargewicht von zwischen etwa 2 und 500 KDalton und umfasst monomere Einheiten, die in den folgenden Formeln II und III dargestellt sind:

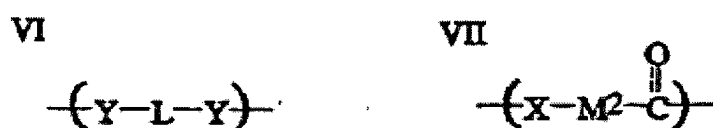
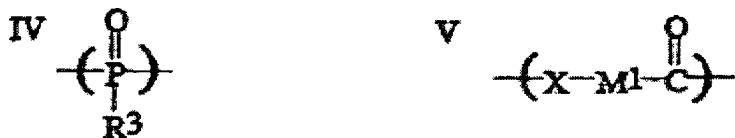


wobei  $R^1$ ,  $R^2$  und  $R^5$  jeweils eine bivalente organische Hälfte sind und  $R^3$  aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Alkoxy, Aryloxy und Heterozykloxy besteht.

**[0067]** Noch bevorzugter sind  $R^1$ ,  $R^2$  und  $R^5$  jeweils unabhängig eine Alkylengruppe, die 1 bis 7 Kohlenstoff-

atome besitzt, und  $R^3$  ist eine Alkoxy-Gruppe, die 1 bis 7 Kohlenstoffatome besitzt. Am meisten bevorzugt sind  $R^1$ ,  $R^2$  und  $R^5$  jeweils unabhängig aus der Gruppe ausgewählt, die aus Ethylen, N-Propylen, 2-Methylpropylen und 2,2-Dimethylpropylen besteht, und  $R^3$  ist Ethoxy.

**[0068]** Bei einer anderen Ausführung umfasst die Polymerzusammensetzung einen biologisch abbaubaren Poly(Phosphorester), der ein Molekulargewicht zwischen etwa 2 und 500 KDalton aufweist und monomere Einheiten umfasst, die in den Formeln IV, V, VI und VII dargestellt sind:



wobei X -O- oder -NR<sup>4</sup>- ist,

Y -O-, -S- oder -NR<sup>4</sup>- ist,

R<sup>4</sup> H oder ein Alkyl ist,

M<sup>1</sup> und M<sup>2</sup> jeweils unabhängig (1) eine verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe sind, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, oder (2) eine verzweigte oder geradkettige oxy-, carboxy- oder aminoaliphatische Gruppe sind, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt;

L eine bivalente, verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe ist, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, und

R<sup>3</sup> aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus H, Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy Heterozyklyl oder Heterozykloxy besteht.

**[0069]** Bei den Formeln IV–VII können die Molarverhältnisse der verschiedenen Monomere zueinander stark variieren, je nach der gewünschten biologischen Abbaubarkeit und den Freisetzungseigenschaften in dem Polymer, sie betragen aber typischerweise jeweils etwa 1:10:1:10.

**[0070]** Bei den Formeln V und VII sind M<sup>1</sup> und M<sup>2</sup> jeweils vorzugsweise eine verzweigte oder geradkettige Alkyl- oder Alkoxy-Gruppe, die noch bevorzugter 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt. Noch bevorzugter ist mindestens eines von M<sup>1</sup> und M<sup>2</sup> eine Alkyl- oder Alkoxy-Gruppe, die eine Formel aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O- und -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>- besteht, wobei a und b jeweils 1 bis 7 sind.

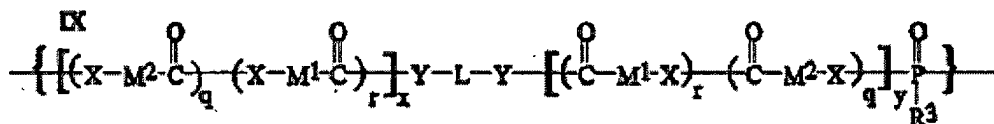
**[0071]** Wenn entweder M<sup>1</sup> oder M<sup>2</sup> eine verzweigte oder geradkettige carboxyaliphatische Gruppe ist, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, kann es auch zum Beispiel ein bivalenter Carboxylsäureester sein wie das bivalente Radikal, das Methylformat, Methylazetat, Ethylazetat, N-Propylazetat, Isopropylazetat, N-Butylazetat, Ethylpropionat, Allylpropionat, T-Butylacrylat, N-Butylbutyrat, Vinylchlorazetat, 2-Methoxycarbonyl-Zyklohexanon, 2-Azetoxzyklohexanon und Ähnliches entspricht. Wenn M<sup>1</sup> oder M<sup>2</sup> eine verzweigte oder geradkettige carboxy-aliphatische Gruppe ist, hat es vorzugsweise die Formel -CHR'-CO-O-CHR"-, wobei R' und R" jeweils unabhängig H, Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy, Heterozyklyl oder Heterozykloxy sind.

**[0072]** Wenn entweder M<sup>1</sup> oder M<sup>2</sup> eine verzweigte oder geradkettige aminoaliphatische Gruppe ist, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, kann es ein bivalentes Amin sein wie -CH<sub>2</sub>NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N-, -CH<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)N-, -n-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>-NH-, -t-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>-NH-, -CH<sub>2</sub>(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>)N-, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>)N-, -CH<sub>2</sub>(C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>)N- und Ähnliches. Wenn M<sup>1</sup> oder M<sup>2</sup> eine verzweigte oder geradkettige amino-aliphatische Gruppe ist, hat es vorzugsweise die Formel -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-NR', wobei R' H oder ein niedriges Alkyl und "a" von 1 bis 7 ist.

**[0073]** Vorzugsweise ist M<sup>1</sup> und/oder M<sup>2</sup> eine Alkylengruppe, die die Formel -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>- hat, wobei a 1 bis 7 und am meisten bevorzugt eine bivalente Ethylengruppe ist. Bei einer anderen besonders bevorzugten Ausführung sind M<sup>1</sup> und M<sup>2</sup> N-Pentylen und das bivalente Radikal, das jeweils Methylazetat entspricht.

**[0074]** Vorzugsweise ist  $R^3$  in den Formeln IV–VII eine Alkoxy-Gruppe, X und Y sind jeweils Sauerstoff,  $M^1$ ,  $M^2$  und L unabhängig jeweils eine verzweigte oder geradkettige Alkylengruppe, die 1 bis 7 Kohlenstoffatome besitzt. Noch bevorzugter ist  $R^3$  eine Alkoxy-Gruppe, die 1 bis 7 Kohlenstoffatome besitzt, L Alkylen und  $M^1$  und  $M^2$  sind unabhängig jeweils eine Alkylengruppe, die 1 bis 3 Kohlenstoffatome besitzt.

**[0075]** In bevorzugten Polymeren der Formel VIII und IX



Wobei X, Y und  $R^3$  wie oben definiert sind,

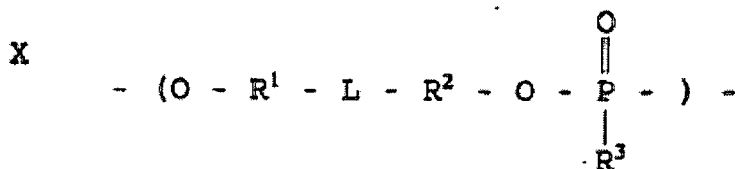
sind  $M^1$  und  $M^2$  jeweils unabhängig (1) eine verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe, die etwa 1 bis 20 Kohlenstoffatome, bevorzugter etwa 1 bis 7 Kohlenstoffatome besitzt, oder (2) eine verzweigte oder geradkettige oxy-, carboxy- oder aminoaliphatische Gruppe, die etwa 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, wie Ethoxylen, 2-Methylethoxylen, Propoxylen, Butoxylen, Pentoxylen, Dodecyloxylen, Hexadecyloxylen und Ähnliches;

ist L eine bivalente, verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, sind X und Y jeweils etwa 1 bis 1.000,

kann das Molarverhältnis x:y stark variieren je nach der biologischen Abbaubarkeit und den Freisetzungseigenschaften, die in dem Polymer gewünscht sind, ist aber typischerweise etwa 1 und

kann das Molarverhältnis q:r ebenfalls stark variieren je nach der biologischen Abbaubarkeit und den Freisetzungseigenschaften, die in dem Polymer gewünscht sind, variiert aber typischerweise zwischen etwa 1:200 und 200:1, vorzugsweise zwischen etwa 1:150 und etwa 150:1 und am meisten bevorzugt zwischen etwa 1:99 und 99:1.

**[0076]** Bei noch einer weiteren bevorzugten Ausführung umfasst die Polymerzusammensetzung einen biologisch abbaubaren Poly(Phosphorester), der ein Molekulargewicht zwischen etwa 2 und 500 KDalton aufweist und monomere Einheiten umfasst, die in der Formel X dargestellt sind:



wobei  $R^1$  und  $R^2$  jeweils unabhängig geradkettig oder verzweigt aliphatisch sind, entweder nicht substituiert oder substituiert durch einen nicht eingreifenden oder mehrere nicht eingreifende Substituenten, und L eine bivalente zykoaliphatische Gruppe ist und

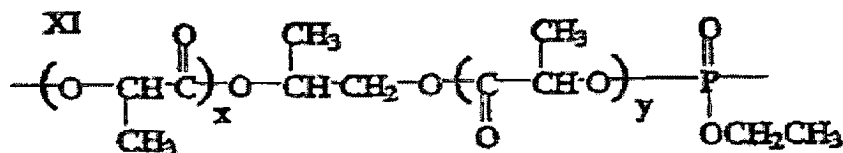
$R^3$  aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus H, Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy, Heterozyklyl oder Heterozykloxy besteht.

**[0077]** Vorzugsweise sind  $R^1$  und  $R^2$  jeweils eine Methylengruppe,  $R^3$  eine Alkoxy-Gruppe, die 1 bis 6 Kohlenstoffatome besitzt und L Zyklohexylen.

**[0078]** Am meisten bevorzugt ist die biologisch abbaubare Zusammensetzung für die intratumorale Verabreichung geeignet, um einen Säuger, der Träger eines soliden Thoraxtumors ist, zu behandeln, und umfasst

a) Paclitaxel und

b) ein biologisch abbaubares Polymer, das ein Molekulargewicht zwischen etwa 2 und 500 KDalton aufweist und monomere Einheiten umfasst, die in der Formel XI dargestellt sind:



wobei die Verzögerung der Tumorverdoppelungszeit um einen Faktor von mindestens zwei verlängert wird. Typischerweise beträgt das Molarverhältnis von x:y der Formel XI etwa 1:1.

**[0079]** Das Molekulargewicht des in der erfindungsgerechten Zusammensetzung verwandten Polymers kann erheblich variieren, je nach der Frage, ob ein starrer solider Zustand (höhere Molekulargewichte) oder ob ein fließbarer oder flexibler Zustand (niedrige Molekulargewichte) wünschenswert ist. Molekulargewichte werden mittels dem ordentlich ausgebildeten Fachmann wohl bekannter Standardtechniken bestimmt, wie der GPC und der Lichtstreuung. Im Allgemeinen jedoch variieren durchschnittliche Molekulargewichte ( $M_w$ ) typischerweise zwischen etwa 2.000 und etwa 500.000 Dalton, vorzugsweise zwischen etwa 5.000 bis etwa 200.000 Dalton und noch bevorzugter zwischen etwa 5.000 und 100.000 Dalton.

**[0080]** Eine Methode der Bestimmung des Molekulargewichts ist die Kombination von Gelpermeations-Chromatographie („GPC“) und Lichtstreuung, d.h. Säulen mit gemischten Schichten,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Lösungsmittel, Lichtbrechungsindexdetektor und Lichtstreuungsdetektor. Typischerweise werden unabhängige  $dn/dc$  Messungen durchgeführt.

**[0081]** Das erfindungsgerecht angewandte biologisch abbaubare Polymer ist vorzugsweise genügend rein, um selbst biologisch verträglich zu sein, und bleibt auch nach dem biologischen Abbau biologisch verträglich. Mit dem Begriff „biologisch verträglich“ ist gemeint, dass die biologischen Abbauprodukte oder das Polymer selbst nicht toxisch sind und nur eine geringfügige Gewebereizung hervorrufen, wenn sie injiziert oder mit Gefäßgewebe in engen Kontakt gebracht werden. Das Erfordernis der biologischen Verträglichkeit ist leichter erfüllt, weil die Anwesenheit eines organischen Lösungsmittels in der Polymerzusammensetzung nicht erforderlich ist.

**[0082]** Jedoch ist das erfindungsgerecht angewandte Polymer vorzugsweise in einem oder mehreren der üblichen organischen Lösungsmittel löslich zur leichten Synthese, Reinigung und Handhabung. Übliche organische Lösungsmittel umfassen Lösungsmittel wie Ethanol, Chloroform, Dichlormethan (Dimethylenchlorid), Azeton, Ethylazetat, DMAC, N-Methylpyrrolidon, Dimethylformamid und Dimethylsulfoxid. Das Polymer ist vorzugsweise in mindestens einem der vorgenannten Lösungsmittel löslich. Das erfindungsgerechte biologisch abbaubare Polymer kann auch zusätzliche biologisch verträgliche monomere Einheiten umfassen, solange sie nicht in die biologisch abbaubaren Eigenschaften und die wünschenswerten Fließeigenschaften der Erfindung eingreifen. Solche zusätzlichen monomeren Einheiten können eine noch größere Flexibilität bei der Konzeption des genauen, für gezielte Arzneimittelfreisetzung erwünschten Freisetzungsprofils oder der genauen, für andere Anwendungen erwünschten biologischen Rate der Abbaubarkeit bieten. Wenn solche zusätzlichen monomeren Einheiten verwendet werden, sollten sie jedoch in genügend geringen Mengen verwendet werden, um die Herstellung eines biologisch abbaubaren Copolymers sicher zu stellen, das die gewünschten physikalischen Eigenschaften wie Starrheit, Viskosität, Fließbarkeit, Flexibilität oder eine besondere Morphologie aufweist.

**[0083]** Beispiele solcher zusätzlicher biologisch verträglicher Monomere umfassen die wiederkehrenden Einheiten, die sich finden in anderen Poly(Phosphoestern), Poly(Estern), Poly(Laktiden), Poly(Glykoliden), Poly(Caprolactonen), Poly(Anhydriden), Poly(Amiden), Poly(Urethanen), Poly(Esteramiden), Poly(Orthoestern), Poly(Dioxanonen), Poly(Azetalen), Poly(Ketalen), Poly(Carbonaten), Poly(Iminocarbonaten), Poly(Orthocarbonaten), Poly(Phosphazenen), Poly(Hydroxybutyraten), Poly(Hydroxyvaleraten), Poly(Alkylenoxalaten), Poly(Alkylensukzinate), Poly(Apfelsäuren), Poly(Aminosäuren), Poly(Vinylpyrrolidon), Poly(Ethylenglykol), Poly(Hydroxycellulose), Chitin, Chitosan und Copolymeren, Terpolymeren oder Kombinationen oder Mixturen dieser genannten Materialien. Vorzugsweise ist jedoch ein Poly(Phosphoester) die Hauptkomponente der erfindungsgerecht verwandten Zusammensetzung.

**[0084]** Werden zusätzliche monomere Einheiten verwendet, werden diejenigen vorgezogen, die einen niedrigeren Grad an Kristallisation aufweisen und hydrophober sind. Besonders vorgezogene wiederkehrende Einheiten mit den gewünschten physikalischen Eigenschaften sind diejenigen, die von Poly(Laktiden), Poly(Caprolactonen) abgeleitet sind, und Copolymere von diesen mit Glykolid.

#### Synthese der Poly(Phosphoester) Polymere

**[0085]** Die üblichste allgemeine Reaktion bei der Zubereitung der Polyphosphate ist eine Dehydrochlorierung zwischen einem Phosphordihalidat wie dem Phosphordichloridat und einem Diol nach folgender Gleichung:



**[0086]** Die meisten Polyphosphonate werden ebenfalls durch Kondensation zwischen zweckmäßigerweise substituierten Dichloriden und Diolen gewonnen.

**[0087]** Polyphosphite werden aus Glykolen in einer Zweiphasenkondensationsreaktion zubereitet. Ein 20%iger Molarüberschuss eines Dimethylphosphits wird benutzt, um mit dem Glykol zu reagieren, gefolgt von der Entfernung der Methoxyphosphonyl-Endgruppen in den Oligomeren durch hohe Temperatur und unter Vakuum.

**[0088]** Ein Vorteil der Schmelzpolykondensation liegt darin, dass mit ihr die Verwendung von Lösungsmitteln und hohen Mengen anderer Zusätze vermieden und dadurch die Reinigung vereinfachter ist. Sie kann auch Polymere mit sinnvoll hohem Molekulargewicht erzeugen. Jedoch sind häufig etwas strenge Bedingungen erforderlich und können zur Kettensäurehydrolyse (oder zur Hydrolyse, wenn Wasser anwesend ist) führen. Unerwünschte, Wärme induzierte Nebenreaktionen, wie Vernetzungsreaktionen, können auch auftreten, wenn die Polymerhauptkette für eine Wasserstoffatomabsonderung oder Oxidation mit nachfolgender makroradikaler Rekombination anfällig ist.

**[0089]** Um diese Nebenreaktionen zu minimieren, kann die Polymerisation auch in Lösung durchgeführt werden. Lösungspolykondensation erfordert, dass sowohl das Vorpolymerisat als auch die Phosphorkomponente in einem üblichen Lösungsmittel löslich sind. Typischerweise wird ein chloriniertes organisches Lösungsmittel benutzt, wie das Chloroform, Dichlormethan oder Dichlorethan.

**[0090]** Eine Lösungspolymerisation wird vorzugsweise in Gegenwart von äquimolaren Anteilen von Reaktanden und einem stöchiometrischen Anteil eines Säureakzeptors, normalerweise eines Tertiäramins wie das Pyridin oder Triethylamin, durchgeführt. Da insgesamt gelindere Reaktionsbedingungen vorliegen können, sind Nebenreaktionen minimiert und sensiblere funktionale Gruppen können in das Polymer eingebaut werden.

**[0091]** Grenzflächenpolykondensation kann angewandt werden, wenn hohe Reaktionsraten erwünscht sind. Die milderen Bedingungen minimieren die Nebenreaktionen und es besteht kein Bedarf an stöchiometrischer Äquivalenz zwischen den Diol- und Dichloridat-Ausgangsmaterialien wie beim Lösungsverfahren. Ertrag und Molekulargewicht des resultierenden Polymers nach der Grenzflächenpolykondensation werden beeinflusst durch die Reaktionszeit, das Molarverhältnis der Monomere, das Volumenverhältnis der unmischbaren Lösungsmittel, den Typ des Säureakzeptors und den Typ und die Konzentration des Phasenübertragungskatalysatoren.

**[0092]** Der Zweck der Polymerisationsreaktion besteht darin, ein Polymer zu bilden das (i) bivalente organische wiederkehrende Einheiten und (ii) wiederkehrende Phosphorestereinheiten umfasst. Das Ergebnis kann ein Homopolymer, ein relativ homogenes Copolymer oder ein Block-Copolymer sein. Jede dieser drei Ausführungen ist gut geeignet für die Verwendung als Medium zur kontrollierten Freisetzung.

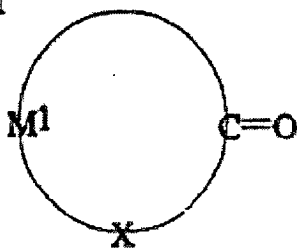
**[0093]** Während der Prozess in Masse, in Lösung, durch Grenzflächenpolykondensation oder irgendein anderes geeignetes Polymerisationsverfahren erfolgen kann, findet er vorzugsweise unter Lösungsbedingungen statt. Besonders brauchbare Lösungsmittel umfassen Methylenchlorid, Chloroform, Tetrahydrofuran, Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid, Toluol oder irgendeines der großen Vielfalt anderer inerter organischer Lösungsmittel.

**[0094]** Insbesondere wenn die Lösungspolymerisationsreaktion durchgeführt wird, ist es vorteilhaft, dass während der Polymerisationsreaktion ein Säureakzeptor anwesend ist. Eine besonders geeignete Klasse von Säureakzeptoren umfasst Tertiäramine wie Pyridin, Trimethylamin, Triethylamin, substituierte Aniline und substituierte Aminopyridine. Der am meisten bevorzugte Säureakzeptor ist das substituierte Aminopyridin 4-Dimethylaminopyridin („DMAP“).

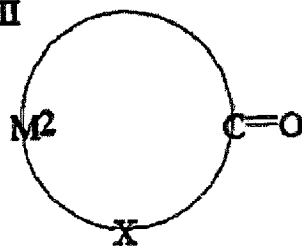
**[0095]** In einer besonders bevorzugten Ausführung wird das biologisch abbaubare Polymer der Formel VIII oder IX durch ein Verfahren zubereitet, das folgende Schritte umfasst.

(a) Reaktion mindestens einer Heterozyklyl-Ringverbindung mit der Formel XII, XIII oder XIV:

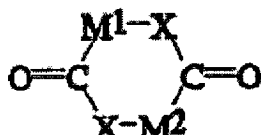
XII



XIII



XIV

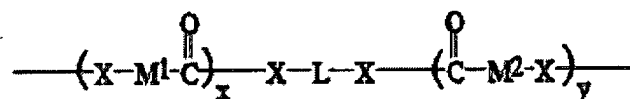


Wobei  $M^1$ ,  $M^2$  und  $X$  wie oben definiert sind,  
mit einem Initiator mit der Formel

$H-Y-L-Y-H$ ,

wobei  $Y$  und  $L$  wie oben definiert sind, um ein Vorpolymerisat mit der nachfolgend dargestellten Formel XV oder XVI zu bilden:

XV



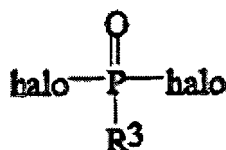
XVI



Wobei  $X$ ,  $M^1$ ,  $M^2$ ,  $Y$ ,  $L$ ,  $R$ ,  $x$ ,  $y$ ,  $q$  und  $r$  wie oben definiert sind, und

(b) eine weitere Reaktion dieses Vorpolymerisats mit einem Phosphordihalidat der Formel XVII:

XVII



wobei „halo“ aus  $Br$ ,  $Cl$  oder  $I$  besteht und  $R^3$  wie oben definiert ist, um das Polymer der Formel VIII oder IX zu bilden.

**[0096]** Die Funktion des ersten Reaktionsschritts (a) besteht darin, den Initiator dazu zu benutzen, dass der Ring der Heterozyklyl-Ringverbindung der Formel XII, XIII oder XIV geöffnet wird. Beispiele nützlicher Heterozyklyl-Verbindungen der Formel XII, XIII oder XIV umfassen Lactone, Lactame, Aminosäureanhydride wie das Glycinanhydrid, Zykloalkylencarbonate, Dioxanone, Glykolide, Lactide und Ähnliches. Hat die Verbindung die Formel VIII, kann nur eine Heterozyklyl-Ringverbindung der Formel XII, die  $M^1$  enthält, zur Herstellung des Vorpolymerisats beim Schritt (a) benutzt werden. Hat die Verbindung die Formel IX, kann eine Kombination einer Heterozyklyl-Verbindung der Formel XII, die  $M^1$  enthält, und einer Heterozyklyl-Verbindung der Formel XIII, die  $M^2$  enthält, beim Schritt (a) benutzt werden. Alternativ kann, wenn die Verbindung die Formel IX hat, eine einzige Heterozyklyl-Verbindung der Formel XIV, die  $M^1$  und  $M^2$  enthält, beim Schritt (a) benutzt werden.

**[0097]** Beispiele geeigneter Initiatoren schließen eine große Vielfalt an Verbindungen ein, die mindestens zwei aktive Wasserstoffe aufweisen ( $H-Y-L-Y-H$ ), wobei  $H$  Wasserstoff,  $L$  eine Bindungsgruppe und oben defi-

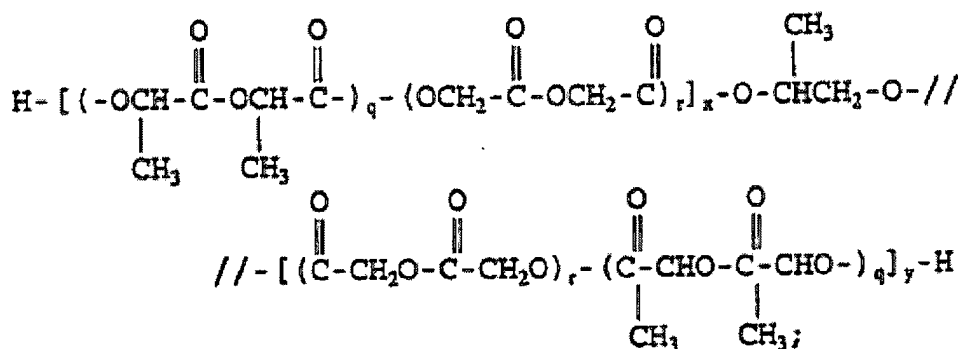
niert ist, und Y -O-, -S- oder NR<sup>4</sup> sein kann, wobei R<sup>4</sup> wie oben definiert ist. Die Bindungsgruppe L kann eine geradkettige Gruppe, z. B. Alkylen, aber auch durch eine oder mehrere zusätzliche, aktiven Wasserstoff enthaltende Gruppen substituiert sein. Z. B. kann L eine durch eine oder mehrere zusätzliche Alkylgruppen substituierte, geradkettige Alkylengruppe sein, wobei eine jede eine aktivierte Wasserstoffhälfte, wie -OH, -SH oder NH<sub>2</sub> aufweist. Auf diese Weise können verschiedene verzweigte Polymere zubereitet werden, indem die verzweigten aktiven Wasserstoffinitiatoren benutzt werden, um das resultierende Polymer so zuzubereiten, dass es die gewünschten Eigenschaften aufweist. Wenn jedoch verzweigte Polymere mit Säurechloriden reagieren, resultieren vernetzte Polymere daraus.

**[0098]** Der Reaktionsschritt (a) kann bei stark variierenden Temperaturen stattfinden, je nach gewünschtem Molekulargewicht, der Neigung der Reaktanden zu Nebenreaktionen und dem Vorhandensein eines Katalysators. Vorzugsweise findet der Reaktionsschritt (a) jedoch bei einer Temperatur von etwa 110° bis etwa +235°C für Schmelzbedingungen statt. Etwas niedrigere Temperaturen können möglich sein bei Verwendung entweder eines Kationen- oder eines Anionenkatalysators.

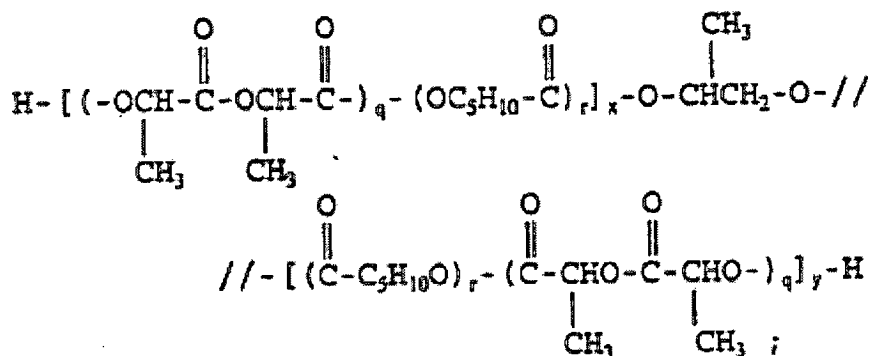
**[0099]** Während der Reaktionsschritt (a) in Masse, in Lösung, durch Grenzflächenpolykondensation oder durch irgendeine andere geeignete Polymerisationsmethode stattfinden kann, findet der Reaktionsschritt (a) vorzugsweise unter Schmelzbedingungen statt.

**[0100]** Beispiele besonders brauchbarer Vorpolymerisate der Formel XVI umfassen:

(i) Copolymer mit einer OH-Endung, abgeleitet von Lactid und Glykolid:

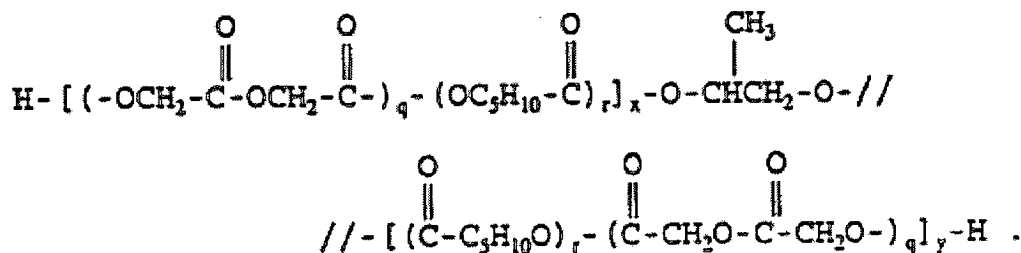


(ii) Copolymer mit einer OH-Endung, abgeleitet von Lactid und Caprolacton:



und

(iii) Copolymer mit einer OH-Endung, abgeleitet von Glykolid und Caprolacton:



**[0101]** Zweck der Polymerisation des Schritts (b) ist es, ein Polymer zuzubereiten, das (i) das als Resultat des Schritts (a) zubereitete Vorpolymerisat und (ii) miteinander verbundene phosphorylierte Einheiten umfasst.

Das Ergebnis kann ein Block- oder Random-Copolymer sein, das besonders gut geeignet ist, um als kontrolliertes Freisetzungsmittel eingesetzt zu werden.

**[0102]** Der Polymerisationsschritt (b) findet üblicherweise bei einer niedrigeren Temperatur als derjenigen des Schritts (a) statt, kann aber auch stark variieren, je nach dem Typ der angewandten Polymerisationsreaktion, dem Vorhandensein eines oder mehrerer Katalysatoren, dem gewünschten Molekulargewicht und der Neigung der Reaktanten zu unerwünschten Nebenreaktionen. Werden Schmelzbedingungen angewandt, kann die Temperatur zwischen etwa 0 und 150°C schwanken. Wird der Polymerisationsschritt (b) jedoch in einer Lösungspolymerisationsreaktion durchgeführt, findet er typischerweise bei einer Temperatur zwischen etwa -40° und 100°C statt.

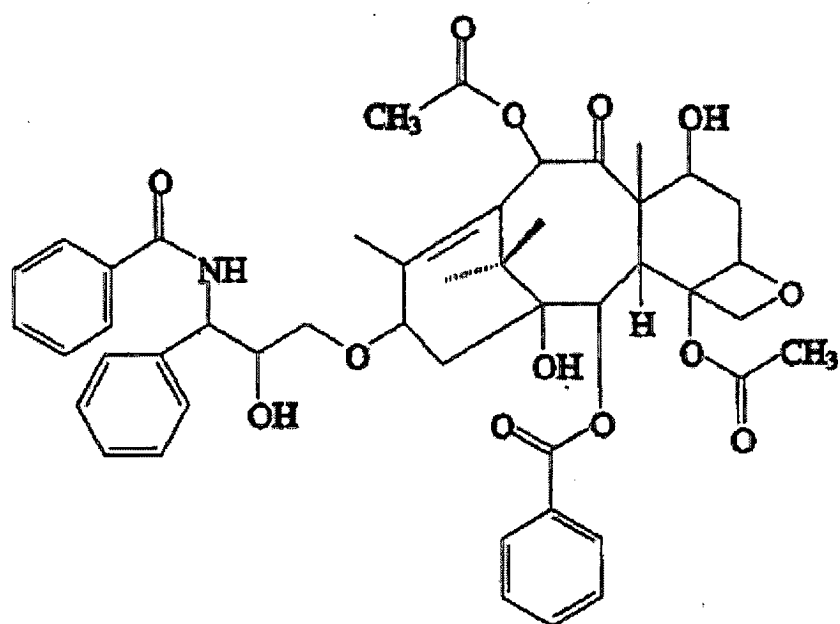
#### Antineoplastischer Wirkstoff

**[0103]** Allgemein gesprochen können die erfindungsgerechten antineoplastischen Wirkstoffe erheblich variieren, je nach der pharmakologischen Strategie, die ausgewählt wird, um das Wachstum des soliden Tumors zu hemmen oder seine Größe effektiv zu reduzieren. Der antineoplastische Wirkstoff kann als eine einzelne Einheit oder eine Kombination von Einheiten beschrieben werden. Die Zusammensetzungen, Artikel und Verfahren werden konzipiert, um mit antineoplastischen Wirkstoffen verwendet zu werden, die eine hohe Wasserlöslichkeit aufweisen, sowie mit solchen, die eine niedrige Wasserlöslichkeit aufweisen, um ein Freisetzungssystem herzustellen, das kontrollierte Freisetzungsraten ermöglicht.

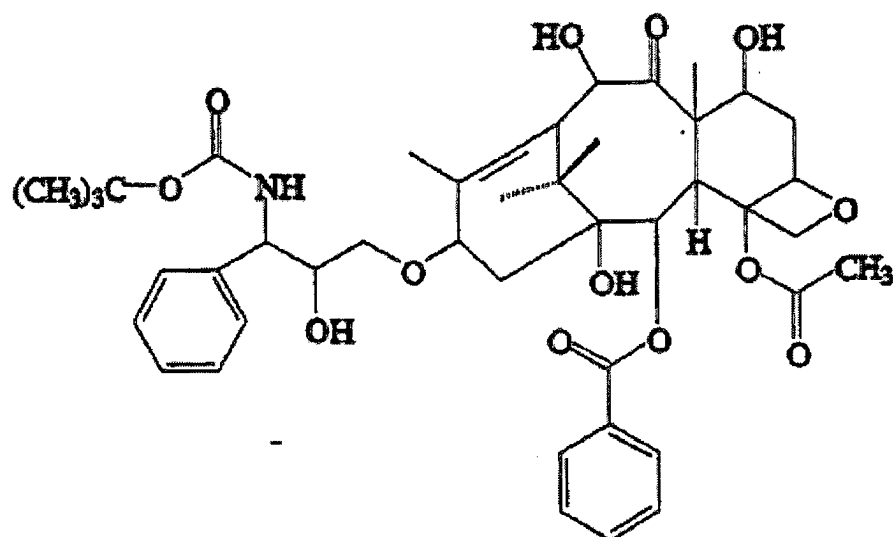
**[0104]** Der Begriff antineoplastischer Wirkstoff umfasst zum Beispiel auf Platinum basierende Wirkstoffe wie das Carboplatin und Cisplatin, Stickstoffsengas alkylierende Wirkstoffe, Nitroso-Urea alkylierende Wirkstoffe, wie Carmustin (BCNU) und andere alkylierende Wirkstoffe, Antimetabolite wie Methotrexat, purinanalogue Antimetabolite, pyrimidinanalogue Antimetabolite wie Fluorouracil (5-FU) und Gemcitabin, hormonale Antineoplastika wie Goserelin, Leuprolid und Tamoxifen, natürliche Antineoplastika wie Taxane (z. B. Docetaxel und Paclitaxel), Aldesleukin, Interleukin-2, Etoposide (VP-16), Interferon alfa und Tretinoin (ATRA), antibiotische natürliche Antineoplastika wie Bleomycin, Dactinomycin, Daunorubicin, Doxorubicin und Mitomycin und Vinca-alkaloide natürliche Antineoplastika wie Vinblastin und Vincristin.

**[0105]** Vorzugsweise wird der antineoplastische Wirkstoff aus der Gruppe ausgewählt, die aus Taxanen und anderen Antitubullinen besteht und zum Beispiel Paclitaxel, Docetaxel und andere synthetische Taxane einschließt. Die Taxane sind komplexe Ester, die aus einem 15-Glieder-Taxanringsystem bestehen, das an einen vier-Glieder-Oxetanring gebunden ist. In Paclitaxel und Docetaxel zum Beispiel ist der Taxanring an eine Esterseitenkette gebunden, die an der Position c-13 des Rings angeheftet ist, was für die Antitumortätigkeit als wichtig angesehen wird. Die Strukturen von Paclitaxel und Docetaxel unterscheiden sich in Substitutionen an der Taxanringposition C-10 und an der an C-13 angehefteten Esterseitenkette. Der am meisten bevorzugte antineoplastische Wirkstoff ist Paclitaxel, dessen Struktur unten mit Docetaxel und dem Vorläufer Taxan 10-Deacetyl-Baccatin III dargestellt ist.

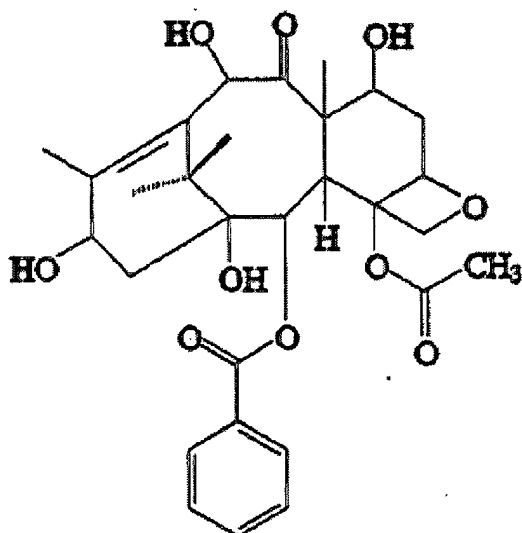




Paclitaxel



Docetaxel



10-Deacetyl-baccatin

**[0106]** Die Verbindung 10-Deacetyl-Baccatin III kann verwendet werden, um eine große Vielfalt von verwandten Verbindungen herzustellen, die ebenfalls antineoplastische Wirkungen haben.

**[0107]** Weiter können auch folgende zusätzliche Arzneimittel in Kombination mit dem antineoplastischen Wirkstoff verwendet werden, wenn sie auch selbst nicht als Antineoplastika angesehen werden: Dactinomycin, Daunorubicin HCl, Docetaxel, Doxorubicin HCl, Epoetin alfa, Etoposid (VP-16), Ganciclovir Natrium, Gentamicin Sulfat, Interferon alfa, Leuprolidazetat, Meperidin HCl, Methadon HCl, Ranitidin HCl, Vinblastinsulfat und Zidovudin (AZT). Zum Beispiel wurde Fluorouracil vor kurzem in Konjunktion mit Epinephrin und Rinderkollagen zubereitet, um eine besonders effektive Kombination herzustellen.

**[0108]** Weiter kann auch die folgende Auflistung von Aminosäuren, Peptiden, Polypeptiden, Proteinen, Polysacchariden und anderen großen Molekülen verwendet werden: Interleukine 1 bis 18, einschließlich Mutanten und Analoge, Interferone oder Zytokine, wie die Interferone  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ , Hormone wie luteinisierendes Hormon freisetzendes Hormon (LHRH) und Analoge und Gonadotropin freisetzendes Hormon (GnRH), Wachstumsfaktoren wie Umwandlungswachstumsfaktor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), Fibroblast Wachstumsfaktor (FGF), Nervenwachstumsfaktor (NGF), Wachstumshormon freisetzender Faktor (GHRF), Epidermiswachstumsfaktor (EGF), Fibroblast Wachstumsfaktor homologer Faktor (FGFHF), Hepatozytwachstumsfaktor (HGF) und Insulinwachstumsfaktor (IGF), Tumornekrosefaktor- $\alpha$  &  $\beta$  (TNF- $\alpha$  &  $\beta$ ), Invasionshemmfaktor-2 (IIF-2), knochenmorphogene Proteine 1-7 (BMP 1-7), Somatostatin, Thymosin- $\alpha$ -1,  $\gamma$ -Globulin, Superoxiddismutase (SOD), Komplementärfaktoren, Antiangiogenesefaktoren, antigene Materialien und Arzneimittelvorstufen.

**[0109]** Bei einer besonders bevorzugten Ausführung kann die erfindungsgerechte Zusammensetzung andere biologisch aktive Substanzen umfassen, vorzugsweise ein therapeutisches Arzneimittel oder eine Arzneimittelvorstufe, zum Beispiel andere chemotherapeutische Wirkstoffe, Antibiotika, Virusstatika, Fungistatika, Antiphlogistika, Vasokonstriktoren und Antikoagulanzen, Antigene, die sich für Karzinomimpfanwendungen oder entsprechende Arzneimittelvorstufen eignen.

**[0110]** Verschiedene Formen von Antineoplastika und/oder anderen biologisch aktiven Substanzen können verwendet werden. Diese schließen zum Beispiel Formen ein wie unbefrachtete Moleküle, molekulare Komplexe, Salze, Ether, Ester, Amide und Ähnliches, die biologisch aktiviert sind, wenn sie in den Tumor implantiert, injiziert oder auf andere Weise eingeführt werden.

#### Polymerzusammensetzungen

**[0111]** Die Antineoplastika werden in Mengen verwendet, die therapeutisch wirksam sind und sich stark unterscheiden, da sie erheblich von dem besonderen verwendeten Antineoplastikum abhängen. Die Menge des in die Zusammensetzung eingefügten antineoplastischen Wirkstoffs hängt von dem gewünschten Freisetzungsprofil, der Konzentration des für den biologischen Effekt erforderlichen Wirkstoffs und die Zeitspanne, während derer der antineoplastische Wirkstoff zur Behandlung freigesetzt werden soll.

**[0112]** Es gibt keine kritische Obergrenze für die Menge des eingefügten antineoplastischen Wirkstoffs, außer der einer akzeptablen Lösungs- oder Dispersionsviskosität, um die für die Zusammensetzung gewünschten physikalischen Eigenschaften aufrecht zu halten. Die untere Grenze des dem Freisetzungssystem beigemengten antineoplastischen Wirkstoffs ist von der Aktivität des Arzneimittels und der für die Behandlung benötigten Zeit abhängig. Die Menge des antineoplastischen Wirkstoffs sollte daher weder so klein sein, dass der gewünschte physiologische Effekt nicht produziert wird, noch so groß sein, dass der antineoplastische Wirkstoff auf unkontrollierbare Weise freigesetzt wird.

**[0113]** Typischerweise können innerhalb dieser Grenzen Mengen des antineoplastischen Wirkstoffs von etwa 1% bis etwa 65% und vorzugsweise von etwa 1% bis etwa 30% des Gewichts dem vorhandenen Freisetzungssystem zugesetzt werden. Geringere Mengen können indessen verwendet werden, um wirksame Behandlungsspiegel zu erzielen bei antineoplastischen Wirkstoffen, die besonders potent sind.

**[0114]** Zusätzlich kann die biologisch abbaubare Zusammensetzung auch Mischungen des Polymers mit anderen biologisch verträglichen Polymeren oder Copolymeren umfassen, solange die zusätzlichen Polymere oder Copolymere nicht auf unerwünschte Weise in die biologisch abbaubaren oder mechanischen Eigenschaften der Zusammensetzung eingreifen. Vorzugsweise umfassen biologisch abbaubare Polymere mehr als etwa 50% der Mischung. Mischungen des Polymers mit solchen anderen Polymeren können eine größere Flexibilität bei der Konzeption des genauen, für die gezielte Arzneimittelabgabe erwünschten Freisetzungsprofils oder der genauen erwünschten biologischen Abbaubarkeitsrate bieten. Beispiele solcher zusätzlicher biologisch verträglicher Polymer umfassen andere Poly(Phosphorester), Poly(Ester), Poly(Lactide), Poly(Glykolide), Poly(Caprolactone), Poly(Anhydride), Poly(Amide), Poly(Urethane), Poly(Esteramide), Poly(Orthoester), Poly(Dioxanone), Poly(Azetale), Poly(Ketale), Poly(Carbonate), Poly(Iminocarbonate), Poly(Orthocarbonate), Poly(Phosphazene), Poly(Hydroxybutyrate), Poly(Hydroxyvalerate), Poly(Alkylloxalate), Poly(Alkylensukzinate), Poly(Apfelsäuren), Poly(Aminosäuren), Poly(Vinylpyrrolidon), Poly(Ethylenglykol), Poly(Hydroxyzellulose), Chitin, Chitosan und Copolymere, Terpolymere oder Kombinationen oder Mixturen von diesen genannten Materialien.

**[0115]** Pharmazeutisch akzeptable polymere Träger können auch eine große Reihe zusätzlicher Materialien umfassen. Ohne darauf beschränkt zu sein, können solche Materialien wohlbekannte Lösungs-, Binde- und Adhäsionsmittel, Gleitmittel, Aufschlussmittel, Färbemittel, Beschwerungsmittel, Aroma-, Süßstoffe und verschiedene Stoffe wie Puffer und Adsorber umfassen, um eine besondere arzneilich wirksame Zusammensetzung herzustellen. Die Beimengung solcher Materialien beschränkt sich auf solche zusätzliche Materialien, die nicht in die gewünschte biologische Verträglichkeit, biologische Abbaubarkeit und den physikalischen Zustand der Polymerzusammensetzung eingreifen.

**[0116]** Zur Freisetzung eines antineoplastischen Wirkstoffs oder irgendeiner anderen biologisch wirksamen Substanz wird der Wirkstoff oder die Substanz zur Polymerzusammensetzung hinzugefügt. Wirkstoff oder Substanz werden entweder gelöst, um eine homogene Lösung einer sinnvoll konstanten Konzentration der Polymerzusammensetzung zu ergeben, oder dispergiert, um eine Suspension oder Dispersion innerhalb der Polymerzusammensetzung mit einer gewünschten „Fracht“ menge zu erhalten (Gramm der biologisch aktiven Substanz pro Gramm der gesamten Zusammensetzung, einschließlich der biologisch wirksamen Substanz, üblicherweise in Prozent angegeben).

**[0117]** Während es möglich ist, dass das biologisch abbaubare Polymer oder der biologisch aktive Wirkstoff in einer kleinen Menge Lösungsmittel, die nicht toxisch ist, zu lösen, um eine amorphe, monolithische Verteilung oder eine feine Dispersion des biologisch aktiven Wirkstoffs in der flexiblen oder fließbaren Zusammensetzung effizienter herzustellen, besteht ein Vorteil der Erfindung darin, dass bei einer bevorzugten Ausführung kein Lösungsmittel benötigt wird, um die gewünschte Zusammensetzung herzustellen.

**[0118]** Die Polymerzusammensetzung kann ein starrer fester Artikel, ein flexibler fester Artikel oder ein flexibles festes Material oder ein fließbares Material sein. Mit „fließbar“ ist die Fähigkeit gemeint, mit der Zeit die Form des Raums, in dem es enthalten ist, bei Körpertemperatur einzunehmen. Dies schließt zum Beispiel flüssige Zusammensetzungen ein, die in einen Ort hineingesprüht, mit einer manuell betätigten, zum Beispiel mit einer 23-Gauge-Nadel ausgerüsteten Spritze injiziert oder durch einen Katheter verabreicht werden können.

**[0119]** Der Begriff „fließbar“ impliziert jedoch auch hochviskose „gelartige“ Materialien bei Raumtemperatur, die an den gewünschten Ort durch Ausgießen, Pressen aus einem Röhrchen verabreicht oder mit irgendeiner der im Handel erhältlichen elektrischen Injektionsvorrichtungen injiziert werden, die größere als durch manuelle Mittel allein mögliche Injektionsdrücke für hochviskose, aber noch fließbare Materialien erzeugen. Solche

fließbaren Polymerzusammensetzungen haben den Vorteil, eine kontrollierbare und effektive Freisetzung des antineoplastischen Wirkstoffs über einen gewissen Zeitraum, auch in Form von Formulierungen, die große Biomakromoleküle enthalten, zu ermöglichen.

**[0120]** Wenn das verwendete Polymer selbst fließbar ist, ist es nicht erforderlich, dass die Polymerzusammensetzung, auch wenn sie viskos ist, ein biologisch verträgliches Lösungsmittel enthält, um fließbar zu sein, obwohl noch Spuren- oder Restmengen des biologisch verträglichen Lösungsmittels vorhanden sein können. Der Viskositätsgrad des Polymers kann durch das Molekulargewicht des Polymers sowie durch Mischen irgendwelcher cis- und trans-Isomere des Diols in der Hauptkette des Polymers geregelt werden.

**[0121]** Die Polymerzusammensetzung kann auf verschiedenartigen Routen verabreicht werden. Zum Beispiel kann sie, wenn sie fließbar ist, direkt in den zu behandelnden soliden Tumor mit einer Nadel, wie einer Turner Biopsie-Nadel oder einer Chiba Biopsie-Nadel injiziert werden. Wird ein solider Tumor in der Lunge behandelt, kann die Zusammensetzung zum Beispiel innerhalb des Thorax verabreicht werden, unter Verwendung eines Bronchoskops oder eines anderen Mittels, das als Kanüle in den Bronchialbaum eingeführt werden kann (z. B. von der Cook Catheter Company). Über den Bronchialbaum direkt zugängliche Massen können direkt injiziert werden unter Verwendung einer großen Auswahl erhältlicher transbronchialer Aspirationsnadeln (z. B. von Milrose oder Boston Scientific). Die Zusammensetzung kann auch innerhalb des Pleuraraums verabreicht werden, durch Einführung eines Thorakozentesekatheters oder einer Thorakozentesenadel zwischen den Rippen in den Pleuraraum hinein, unter Anwendung der Thorakozentese-Standardtechniken.

**[0122]** Die Polymerzusammensetzung kann auch verwendet werden, um Überzüge für feste, in den Tumor implantierbare Artikel wie Nadeln, Stäbe, Mikropartikel oder Stents herzustellen.

#### Implantate und Freisetzungssysteme

**[0123]** In seiner einfachsten Form besteht ein biologisch abbaubares, Polymerfreisetzungssystem in einer Lösung oder Dispersion des antineoplastischen Wirkstoffs in einer Polymermatrix, die eine instabile (biologisch abbaubare) Bindung aufweist, die in die Polymerhauptkette eingebaut ist. In einer besonders bevorzugten Ausführung wird ein fester Artikel, der die Zusammensetzung enthält, in den soliden Tumor des zu behandelnden Subjekts, der durch Implantation, Injektion oder sonstige Platzierung innerhalb des Tumors behandelt werden soll, eingepflanzt, zum Beispiel während oder nach der chirurgischen Entfernung eines Teils des sichtbar kanzerösen Gewebes.

**[0124]** Der antineoplastische Wirkstoff der Zusammensetzung und das Polymer können eine homogene Matrix bilden, zum Beispiel in Form von Mikrokugeln, oder der antineoplastische Wirkstoff kann auf andere Weise innerhalb des Polymers eingekapselt sein. Zum Beispiel kann der antineoplastische Wirkstoff zunächst in eine Mikrokugel eingekapselt und dann mit dem Polymer derart kombiniert werden, dass mindestens ein Teil der Mikrokugelstruktur erhalten bleibt. Alternativ kann der antineoplastische Wirkstoff in dem Polymer genügend unvermischbar sein, dass er als kleine Tröpfchen verteilt ist, anstatt sich im Polymer aufzulösen.

**[0125]** Als struktureller medizinischer Artikel bieten die Polymerzusammensetzungen eine große Vielfalt an physischen Formen, die spezifische chemische, physikalische und mechanische Eigenschaften aufweisen und für die Einführung in den zu behandelnden Tumor geeignet sind, zusätzlich zur Eigenschaft, dass die Zusammensetzung in vivo in nicht-toxische Reste zerfällt. Insbesondere kann die Zusammensetzung selbst in Form einer Nadel oder eines Stifts hergestellt werden, die manuell in die Tumormasse eingeführt werden können.

**[0126]** Biologisch abbaubare Arzneimittelfreisetzungssysteme können auf verschiedene Weise hergestellt werden. Das Polymer kann durch Schmelzverfahren zubereitet werden, wobei herkömmliche Extrusions- oder Injektionsformtechniken angewandt werden, oder diese Produkte können durch Auflösung in einem geeigneten Lösungsmittel, gefolgt von der Formung des Artikels und nachfolgender Entfernung des Lösungsmittels durch Evaporation oder Extraktion, z. B. durch Sprühtrocknung hergestellt werden. Durch diese Methoden können die Polymere in Artikel nahezu jeder gewünschten Größe oder Form umgewandelt werden, z. B. als implantierbare oder injizierbare Nadeln, Stäbe, Mikrokugeln oder sonstige Mikropartikel. Typische medizinische Artikel umfassen auch Überzüge, die auf andere Implantationsartikel aufgetragen werden.

**[0127]** Ist die Polymerzusammensetzung eingepflanzt, sollte sie zumindest teilweise mit Tumorzellen und den im Tumor befindlichen biologischen Flüssigkeiten wie Blut und verschiedene Hormone und Enzyme, die mit der Angiogenese verbunden sind, und Ähnliches, in Berührung kommen. Die implantierte oder injizierte Zusammensetzung setzt den innerhalb ihrer Matrix enthaltenen antineoplastischen Wirkstoff mit einer kontrollier-

ten Rate im Inneren des Tumors frei, bis die Substanz erschöpft ist, gemäß den allgemeinen Regeln der Diffusion oder Auflösung aus einer starren, flexiblen oder fließbaren biologisch abbaubaren Polymermatrix.

**[0128]** Das erfindungsgerechte Verfahren kann zur Behandlung eines soliden Tumors in einem Säuger angewandt werden durch intratumorale Verabreichung der Zusammensetzung, die umfasst

- a) ein biologisch abbaubares Polymer und
- b) mindestens einen antineoplastischen Wirkstoff in wirksamer Menge,

um das Wachstum des Tumors bei Verabreichung durch intratumorale Injektion zu hemmen.

**[0129]** Das erfindungsgerechte Verfahren steht zwar zur Verfügung, um eine große Vielfalt von soliden Tumoren wie oben beschrieben zu behandeln, besonders anwendbar ist es aber für Thoraxkarzinome, wie zum Beispiel bronchogene Tumoren wie primäre und/oder metastatische Lungenkarzinome (sowohl NSCLC als auch SCLC), maligne Pleuraergüsse oder Karzinome, die keine Thoraxkarzinome sind, aber an irgendeiner Stelle innerhalb des Thorax Metastasen bilden.

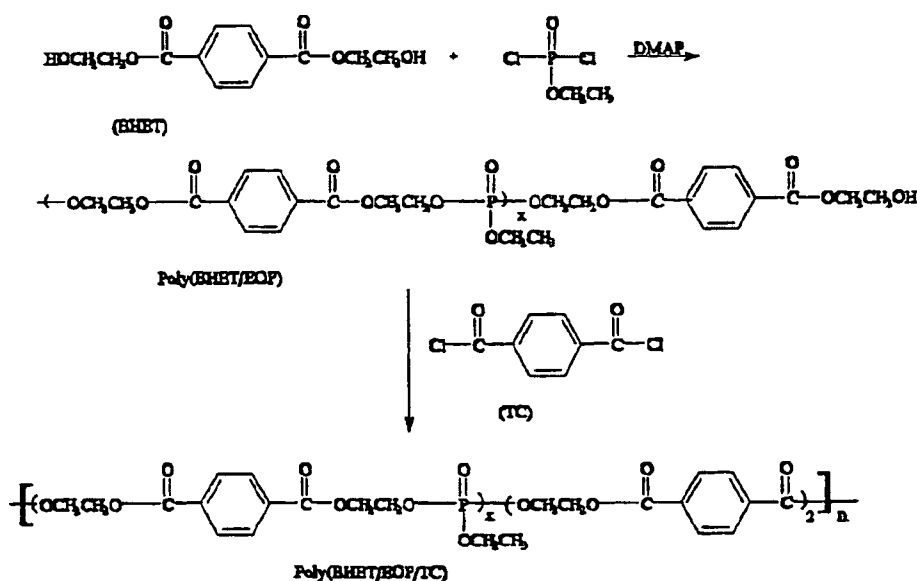
**[0130]** Das biologisch abbaubare Polymer, das in der Zusammensetzung zur Behandlung eines Thoraxtumors verwendet wird, kann irgendein biologisch abbaubares Polymer enthalten, und ist nicht auf die Poly(Phosphorester)Polymere beschränkt. Ohne dass die folgende Aufzählung erschöpfend wäre, sind beispielhafte biologisch abbaubare Polymere, die für die Ausführung der Erfindung geeignet sind, Polyanhydride, Polyester, Poly(Phosphorester), Polyorthoester, Polyphosphazene, Polyesteramide, Polydioxanone, Polyhydroxybutyrate, Polyhydroxyvalerate, Polyalkylen Oxalate, Polyalkylen Sukzinate, Poly(Apfelsäuren), Poly(Aminosäuren), und Copolymere, Terpolymere und Kombinationen oder Mixturen von diesen genannten Materialien und Ähnliches. Vorzugsweise ist der biologisch abbaubare Wirkstoff jedoch ein Poly(Phosphorester).

**[0131]** Die folgenden Beispiele veranschaulichen bevorzugte erfindungsgerechte Ausführungen und sollen nicht als Einschränkung der Erfindung auf diese ausgelegt werden. Alle Polymermolekulargewichte sind durchschnittliche Molekulargewichte, es sei denn, sie werden anders angegeben. Alle Prozentsätze basieren auf dem Prozent des Gewichts des fertigen Freisetzungssystems oder der herzustellenden Formulierung, wenn nichts Anderes angegeben ist, und alle Gesamtzahlen sind gleich 100% des Gewichts.

## BEISPIELE

### Beispiel 1: Synthese des Copolymers

#### Poly(BHET-EOP/TC, 80/20)



**[0132]** Unter einem Argonstrom wurden 10 g 1,4-bis(Hydroxyethyl) Terephthalat (BHET), 9,61 g 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) und 70 ml Methylenchlorid in einen mit einem Trichter ausgerüsteten 250 ml Glaskolben gegeben. Die Lösung in dem Glaskolben wurde unter Rühren auf  $-40^{\circ}\text{C}$  abgekühlt und eine Lösung von 5,13 g (vor der Verwendung destilliertem) Ethylphosphordichloridat (EOP) in 20 ml Methylenchlorid tropfweise durch

den Trichter hinzugefügt. Nachdem die Beimengung beendet war, wurde die Mixtur bei Raumtemperatur vier Stunden lang gerührt, um das Homopolymer BHET-EOP herzustellen.

**[0133]** Eine Lösung von 1,60 g Terephthaloylchlorid (TC) (erhältlich bei Aldrich Chemical Company und vor der Verwendung mit Hexan rekristallisiert) in 20 ml Methylenchlorid wurde dann Tropfen für Tropfen hinzu gegeben. Die Temperatur wurde nach und nach auf etwa 45–50°C erhöht und die Reaktionsmischung über Nacht unter Reflux stehen gelassen, um die Copolymerisation des Homopolymers Poly(BHET-EOP) mit dem zusätzlichen Monomer TC abzuschließen, um das Copolymer Poly(BHET-EOP/TC) herzustellen.

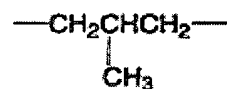
**[0134]** Das Lösungsmittel wurde dann evaporiert und der Rest erneut in etwa 100–200 ml Chloroform gelöst. Die Chloroformlösung wurde mit einer gesättigten NaCl-Lösung dreimal gewaschen, über wasserfreiem  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und in Ether gelöst. Das resultierende Präzipitat wurde erneut in Chloroform gelöst und erneut in Ether gelöst. Das resultierende harte, gebrochene weiße, feste Präzipitat wurde herausgefiltert und unter Vakuum getrocknet. Ertrag 82%.

**[0135]** Die Struktur des Poly(BHET-EOP/TC, 80/20) wurde durch  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{31}\text{P}$ -NMR und FT-IR-Spektren ermittelt. Die Struktur wurde auch durch die Elementaranalyse bestätigt, die mit den theoretischen Verhältnissen eng korrelierte. Beispielfähige Strukturen finden sich in der veröffentlichten PCT Anmeldung WO 98/44021.

**[0136]** Das Molekulargewicht des Poly(BHET-EOP/TC, 80/20) wurde zuerst durch Gelpermeations-Chromatographie (GPC) mit Polystyren als Kalibrierungsstandard gemessen. Die resultierende Graphik ergab ein gewichtetes Mittel des Molekulargewichts ( $M_w$ ) von etwa 6100 und ein Zahlenmittel des Molekulargewichts ( $M_n$ ) von etwa 2200. Dampfdruckosmometrie („VPO“) ergab für dieses Copolymer einen  $M_n$ -Wert von etwa 7900.

#### Beispiel 2: Andere Diolvariationen

**[0137]** Diolterephthalate, die durch ihre Struktur mit derjenigen von BHET verwandt sind, wurden durch Reaktion von TC mit entweder n-Propylendiol oder 2-Methylpropylendiol, deren Strukturen nachstehend dargestellt sind, synthetisiert, um das entsprechende Diolterephthalat zu bilden.



**[0138]** Diese Diolterephthalate wurden dann mit EOP reagiert, um die entsprechenden Homopolymere zu bilden. Die so gebildeten Homopolymere wurden dann benutzt, um die erfindungsgerechten Copolymere in einer zweiten Reaktion mit TC zu produzieren.

#### Beispiel 3: In vitro Freisetzung von Paclitaxel aus dem Poly(BHET-EOP/TC) Copolymer

**[0139]** Das Polymer Poly(Bis-Hydroxyethyl Terephthalat-Co-Ethyl Phosphat/Terephthalatchlorid (80:20) [„Poly(BHET-EOP/TC“ 80/20)] wurde wie oben in Beispiel 1 zubereitet. Sowohl das Polymer als auch das Paclitaxel wurden in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst. Die Lösung wurde in eine kalte Teflon® Form gegossen, dann unter Vakuum bei Raumtemperatur 48 Stunden lang getrocknet. Danach wurde der Film aus der Form entnommen. [Abb. 1](#) zeigt die Paclitaxelfreisetzung aus dem Poly(BHET-EOP/TC 80/20) Film in Phosphatpufferkochsalzlösung bei 37°C.

#### Beispiel 4: Zubereitung von Lidocain enthaltenden Mikrokugeln aus Poly(BHET-EOP/TC“ 50/50)

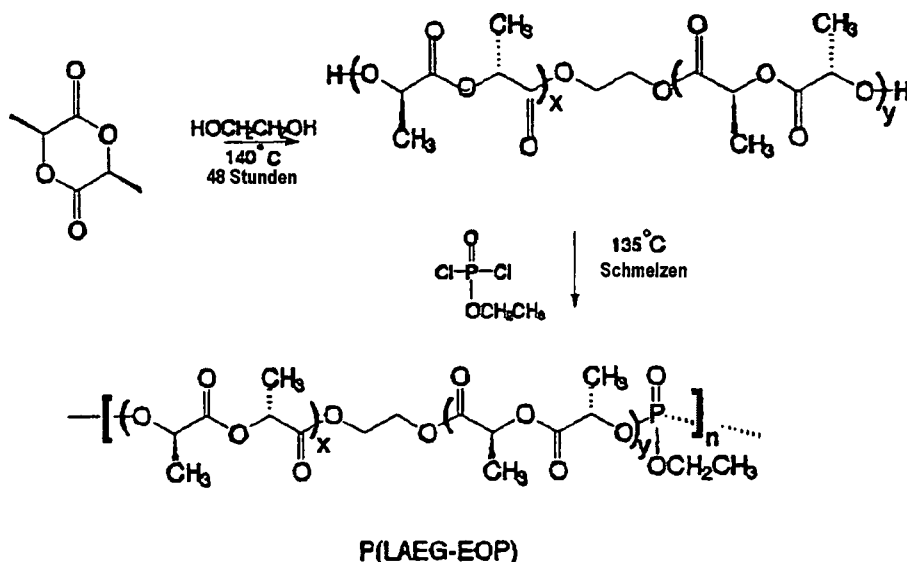
**[0140]** Eine wässrige Lösung von 0,5% w/v Polyvinylalkohol (PVA) wurde in einem 600 ml Kelchglas zubereitet durch Kombination von 1,35 g PVA mit 270 ml deionisierten Wassers. Die Lösung wurde während einer Stunde gerührt und gefiltert. Eine Copolymer-/Arzneimittellösung wurde zubereitet durch Kombination von 900 mg des Copolymers Poly(BHDPT-EOP/TC, 50/50) und 100 mg Lidocain in 9 ml Methylenchlorid und Wirbelmischung.

**[0141]** Während die PVA-Lösung bei 800 Umdrehungen pro Minute mit einem Overheadmixer gerührt wurde, wurde die Polymer-/Arzneimittelmischung tropfenweise hinzugefügt. Die Kombination wurde eineinhalb Stunden lang gerührt. Die so gebildeten Mikrokugeln wurden dann gefiltert, mit deionisiertem Wasser gewaschen und

über Nacht gefriergetrocknet. Das Experiment ergab 625 mg Mikrokugeln, die mit 3,7% w/w Lidocain befrachtet waren.

**[0142]** Lidocain enthaltende Mikrokugeln wurden auch aus dem Poly(BHDPT-HOP/TC, 50/50) nach demselben Verfahren zubereitet. Dieses Experiment ergab 676 mg Mikrokugeln, die mit 5,3% w/w Lidocain befrachtet waren.

Beispiel 5: Synthese von Poly(L-Lactid-Co-Ethylphosphat) [Poly(LAEG-EOP)]



**[0143]** 20 g (0,139 mol von (3S)-cis-3,6-Dimethyl-1,4-Dioxan-2,5-Dion (L-Lactid) (erhältlich bei Aldrich Chemical Company, rekristallisiert mit Ethylazetat, sublimiert und nochmals mit Ethylazetat rekristallisiert) und 0,432 g (6,94 mmol) Ethylenglykol (99,8%, wasserfrei, von Aldrich) wurden in einen 250 ml, mit getrocknetem Argon ausgespülten Rundkolben gegeben. Der Kolben wurde unter Vakuum verschlossen und in einen auf 140°C erhitzten Ofen gestellt. Der Kolben wurde bei dieser Temperatur etwa 48 Stunden lang gehalten und ab und zu geschüttelt.

**[0144]** Der Kolben wurde sodann mit getrocknetem Argon gefüllt und in ein auf 135°C erhitztes Ölbad gestellt. Unter einem Argonstrom wurden 1,13 g Ethylphosphordichloridat unter Rühren hinzu gegeben. Nach einstündigem Rühren wurde das System unter ein leichtes Vakuum (etwa 20 mmHg) gesetzt und über Nacht ruhen gelassen. Eine Stunde vor der Entwicklung wurde ein hohes Vakuum angewandt. Nach der Abkühlung wurde das Polymer in 200 ml Chloroform gelöst und in einem Liter Ether zweimal gelöscht, bis sich ein gebrochen weißes Präzipitat bildete, das unter Vakuum getrocknet wurde.

**[0145]** Mittels NMR-Spektroskopie wurde bestätigt, dass das gewonnene Polymer das gewünschte Produkt, nämlich Poly(L-Lactid-Co-Ethylphosphat) [P(LAEG-EOP)] war.

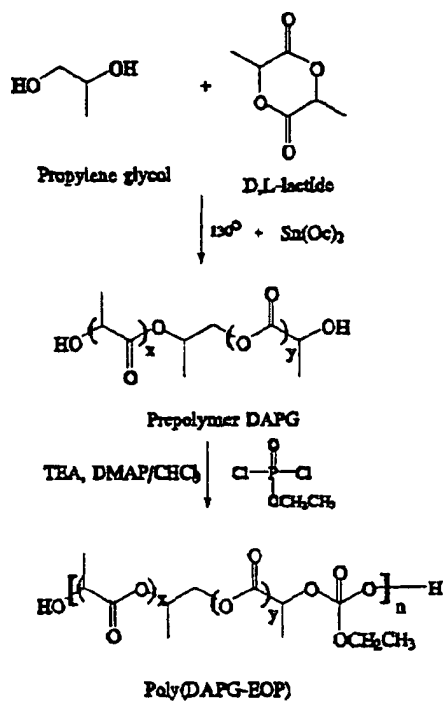
Beispiel 6: Zubereitung von Lidocain enthaltenden Mikrokugeln aus Poly(LAEG-EOP), unter Verwendung von Polyvinylalkohol als Lösungsmittelfreie Phase

**[0146]** Eine Lösung von 0,5% w/v Polyvinylalkohol (PVA) wurde in einem 600 ml Kelchglas zubereitet durch Kombination von 1,05 g PVA mit 210 ml deionisierten Wassers. Die Lösung wurde während einer Stunde gerührt und gefiltert. Eine Polymer-/Arzneimittellösung wurde zubereitet durch Kombination von 630 mg des Polymers und 70 mg Lidocain in 7 ml Methylenchlorid und Wirbelmischung. Die PVA-Lösung wurde bei 500 Umdrehungen pro Minute mit einem Overheadmixer gerührt und die Polymer-/Arzneimittelmixtur tropfweise hinzugefügt. Nach 30 Minuten Mischen wurden 200 ml kalten deionisierten Wassers der gerührten PVA-Lösung hinzugegeben. Die resultierende Mixtur wurde insgesamt dreieinhalb Stunden lang gerührt. Die gebildeten Mikrokugeln wurden gefiltert, mit deionisiertem Wasser gewaschen und über Nacht gefriergetrocknet. Mikrokugeln, die mit 4,2% w/w Lidocain befrachtet waren, wurden so erhalten.

Beispiel 7: Synthese von Poly(DAPG-EOP)

**[0147]** Die d, l racemische Mischung von Poly(L-Lactid-Co-Propylphosphat) [„P(DAPG-EOP)“] wurde auf fol-

gende Weise zubereitet:



**[0148]** Das erhaltene Produkt war ein weißer, fester, in organischen Lösungsmitteln löslicher Stoff. Je nach den Reaktionsbedingungen wurden unterschiedliche spezifische Viskositäten und unterschiedliche Molekulargewichte erreicht, wie sie in nachstehender Tabelle zusammengefasst sind:



Basis	Reaktionszeit / -temperatur	Äq. EOPCL <sub>2</sub>	Mw	Spezifische Viskosität
2,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	15 min./ Raum- temperatur	1,05	--	0,42
2,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	18 Std. Reflux	1,05	--	0,27
2,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	Etwa 2.5 Tg. Reflux	1,05	--	0,39
2,5 äq TEA; 0,1 äq DMAP	1 Std./4°C 2 Std./Raumt.	1,01	--	0,06
2,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	1 Std./4°C 2 Std./Raumt.	1,01	91.100	0,47
2,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	1 Std./4°C 2 Std./Raumt.	1,01	95.900 (Mn 44.200 Mw/Mn 2,2)	0,42
1,1 äq DMAP	1 Std./4°C 2 Std./Raumt.	1,01	--	0,08
1,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	1 Std./4°C 2 Std./Raumt.	1,01	--	0,23
2,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	1 Std./4°C 17 Std./Raumt.	1,00	28.400	0,25
2,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	1 Std./4°C 2 Std./Raumt.	1,00	26.800 Mn 12.9000 Mw/Mn 2,1)	0,23
2,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	1 Std./4°C 2 Std./Raumt.	1,01	14,700	0,16
2,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	1 Std./4°C 2 Std./Raumt.	1,01	32.200 (Mn 13.000 Mw/Mn 2,5)	0,32
3,0 äq DMAP	1 Std./4°C 2 Std./Raumt.	1,00	--	0,20
2,5 äq TEA; 0,5 äq DMAP	1 Std./4°C 2 Std./Raumt.	1,00	--	0,22

Beispiel 8: Zubereitung von Mikrokugeln aus Poly(DAEG-EOP) mit Lidocain unter Verwendung von Silikonöl als Nichtlösungsphase

**[0149]** Zwei Prozent Sorbitan-Trioleat, das unter dem Handelsnamen Span-85 bei Aldrich kommerziell erhältlich ist, in Silikonöl wurden in einem 400 ml Becherglas durch Kombinieren von 3 ml Span-85 mit 150 ml Silikonöl und Mischen mit einem Overheadmixer bei 500 Umdrehungen pro Minute zubereitet. Eine d, l racemische Mixtur von Poly(L-Lactid-Coethylphosphat) Poly DAEG-EOP) Polymer/Arzneistofflösung wurde zubereitet durch Auflösung von 400 mg des Polymers, das mittels des im Beispiel 5 oben beschriebenen Verfahrens zubereitet wurde, und 100 mg Lidocain in 4,5 ml Methylenchlorid. Die resultierende Polymer/Arzneistofflösung wurde tropfweise zu der Silikonöl/Spanmischung unter Rühren hinzugefügt. Die Mischung wurde eine Stunde und 15 Minuten lang gerührt. Die so gebildeten Mikrokugeln wurden herausgefiltert und mit Petroleumether gewa-

schen, um dieses Silikonöl/Spangemisch zu entfernen, und über Nacht lyophilisiert.

**[0150]** Auf diese Weise wurden 450 mg Mikrokugeln, die mit 7,6% w/w Lidocain befrachtet waren, gewonnen. Etwa 10 mg der Mikrokugeln wurden in eine Phosphatpufferkochsalzlösung (0,1 M, pH 7,4) bei 37°C auf einen Rüttler gegeben und regelmäßig Proben entnommen. Die Resultate wurden als freigesetztes Lidocain in % im Verhältnis zur Zeit in Tagen graphisch dargestellt.

**[0151]** Ähnliche Daten bezüglich Poly(DAPG-EOP) Mikrokugeln, die Lidocain enthalten, wurden erhalten, wie die [Abb. 2A](#), [Abb. 2B](#) und [Abb. 2C](#) zeigen.

Beispiel 9: Biologische Verträglichkeit der Poly(DAPG-EOP) Mikrokugeln in der Peritonealhöhle einer Maus

**[0152]** Die biologische Verträglichkeit der erfindungsgerechten biologisch abbaubaren Poly(Phosphorester) Mikrokugeln wurde wie folgt getestet:

Drei 30 mg/ml Proben von lyophilisierten Poly(L-Lactid-Co-Ethylphosphat) Mikrokugeln wurden zubereitet mittels des in Beispiel 10 beschriebenen Verfahrens; die erste mit Durchmessern größer als 75 Mikron, die zweite mit Durchmessern im Bereich zwischen 75 und 125 Mikron und die dritte mit Durchmessern im Bereich von 125 bis 250 Mikron. Jede Probe wurde einer Gruppe von 18 weiblichen CD-1 Mäusen, die ein Startkörpergewicht von 25 g aufwiesen, intraperitoneal injiziert. Tiere aus jeder Gruppe wurden gewogen, getötet und nekroskopiert nach 2, 7 und 14 Tagen und nach 1, 2 und 3 Monaten. Jede bei der Nekroskopie entdeckte Läsion wurde auf einer Skala von 0 bis 4 eingestuft, wobei 0 keinerlei Reaktion auf die Behandlung und 4 eine starke Reaktion auf die Behandlung anzeigte.

**[0153]** Es wurde beobachtet, dass entzündliche Läsionen auf eine Assoziation der Mikrokugeln auf peritonealen Oberflächen oder innerhalb von Fettgewebe beschränkt und mit Fremdkörperisolierung und -einkapselung vereinbar waren. Eine hinzukommende fokale bis multifokale peritoneale Fettgewebsentzündung mit Mesothelhyperplasie wurde nach 2–7 Tagen beobachtet, löste sich aber nach und nach wieder auf durch Makrophageninfiltration, Bildung von entzündlichen Riesenzellen und fibröse Einkapselung der Mikrokugeln bei später getöteten Tieren. Gelegentliche Adhäsion von Mikrokugeln mit Leber und Diaphragma mit assoziierter entzündlicher Reaktion wurde ebenfalls beobachtet. Es wurden keine mit den Mikrokugeln zusammen hängende Läsionen innerhalb der Organe des Bauchraums und Brustkorbs vorgefunden. Die während der gesamten Dauer der Studie entdeckten Mikrokugeln erschienen bei früh getöteten Tieren transparent, entwickelten bei später getöteten Tieren inwendig kristallines Material. Es wurde keine Auswirkung auf das Körperwachstum beobachtet. Es wurde beobachtet, dass die peritoneale Reaktion auf Bereiche beschränkt war, die an die Mikrokugeln direkt angrenzten, ohne augenscheinliche schädliche Auswirkungen auf die größeren Brustkorb- oder Bauchorgane.

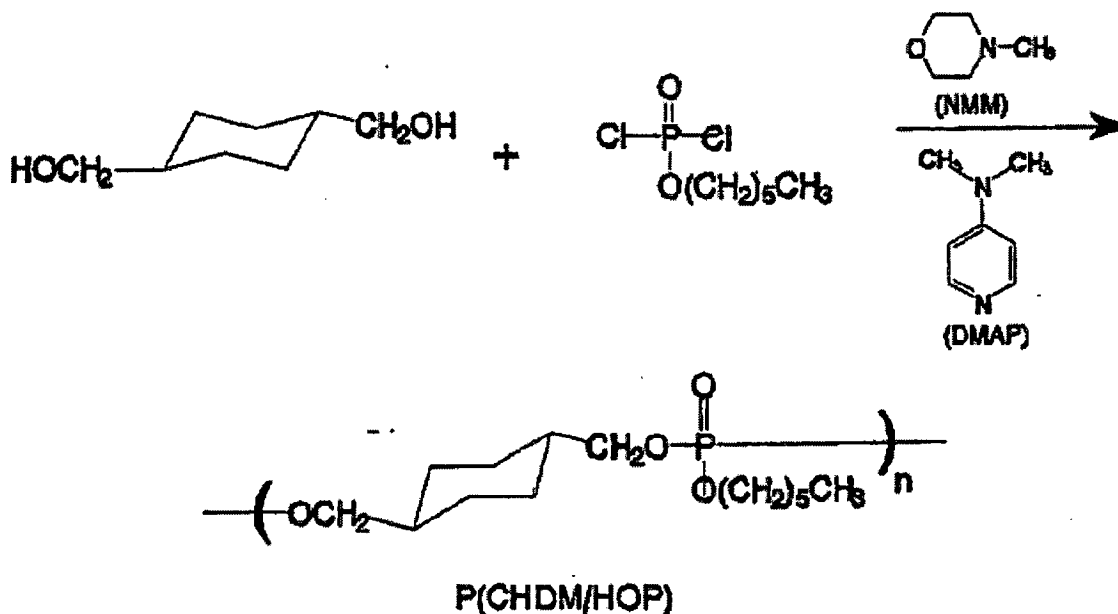
**[0154]** Auf ähnliche Weise ergab die intraperitoneale Injektion von DAPG-EOP in männliche und weibliche S-D Ratten die folgenden Resultate:

Dosis- spiegel	Testmaterial	Anfängliche Anzahl beim Test		Ansteigende Sterblichkeit*	
		M	W	M	W
O	10 % Dextran 40 in 0,9 % Kochsalzlösung	25	25	0	0
30	DAPG-EOP	25	25	1	0
100	DAPG-EOP	25	25	0	0
300	DAPG-EOP	25	25	0	0

\* Repräsentiert Tiere, die während der Studie tot aufgefunden oder sterbend getötet wurden.

M = Männliche,  
W = weibliche Tiere

## Beispiel 10: Synthese des Poly(Phosphorester) Poly(trans-CHDM-HOP)



**[0155]** Unter einem Argonstrom wurden 10 g von trans-1,4-Zyklohexan-Dimethanol (CHDM, 1,794 g von 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 15,25 ml (14,03 g) N-Methylmorpholin (NMM) und 50 ml Methylenchlorid in einen mit einem Trichter ausgerüsteten 250 ml Glaskolben gegeben. Die Lösung in dem Glaskolben wurde unter Rühren auf  $-15^{\circ}\text{C}$  abgekühlt und eine Lösung von 15,19 g Hexylphosphordichloridat (HOP) in 30 ml Methylenchlorid durch den Trichter hinzugefügt. Die Temperatur der Reaktionsmischung wurde bis zum Siedepunkt nach und nach erhöht und bei Refluxtemperatur über Nacht beibehalten.

**[0156]** Die Reaktionsmischung wurde gefiltert und das Filtrat bis zur Trockenheit evaporiert. Der Rest wurde in 100 ml Chloroform erneut gelöst. Diese Lösung wurde mit 0,1 M Lösung einer Mischung von HCl und NaCl gewaschen, über wasserfreiem  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und in 500 ml Ether gelöst. Das resultierende fließbare Präzipitat wurde gesammelt und unter Vakuum getrocknet, um ein klares, hellgelbes, gelatineartiges Polymer mit den Fließeigenschaften eines viskosen Sirups zu bilden. Der Ertrag dieses Polymers betrug 70–80%. Die Struktur des Poly(trans-CHDM-HOP) wurde durch  $^{31}\text{P}$ -NMR,  $^1\text{H}$ -NMR- und FT-IR-Spektren ermittelt. Die Molekulargewichte ( $M_w = 8584$ ;  $M_n = 3076$ ) wurden durch Gelpermeations-Chromatographie (GPC) unter Verwendung von Polystyren als Kalibrierungsstandard bestimmt.

## Beispiel 11: Einbau des Paclitaxel in Poly(CHDM-HOP) oder Poly(CHDM-EOP)

**[0157]** 100 mg von jedem der Polymere Poly(CHDM-HOP) und Poly(CHDM-EOP) wurden in Ethanol mit einer Konzentration von etwa 50% aufgelöst. Nachdem das Polymer vollständig gelöst war, wurden 5 mg Paclitaxel-Pulver (eines chemotherapeutischen Arzneistoffs) zur Lösung hinzu gegeben und gerührt, bis das Pulver vollständig gelöst war. Diese Lösung wurde dann in Eiswasser gegossen, um die Polymerzusammensetzung auszufällen. Die resultierende Suspension wurde zentrifugiert, dekantiert und über Nacht lyophilisiert, um ein viskoses gelatineartiges Produkt zu erhalten.

## Beispiel 12: In vitro Freisetzung von Paclitaxel aus Poly(CHDM-HOP) oder Poly(CHDM-EOP)

**[0158]** Die folgenden zwei Polymere wurden zubereitet:

Poly(CHDM-EOP)

und

Poly(CHDM-HOP).

**[0159]** Paclitaxel wurde mit jedem Polymer mit einer Lademenge von 10% bei Raumtemperatur gemischt, um eine homogene Paste zu bilden. In einem 1,7 ml Kunststoffmikrozentrifugenrohr wurden 5 mg beider zu testender Paclitaxel-Polymerformulierungen mit 1 ml einer Puffermischung von 80% PBS und 20% PEG 400 bei  $37^{\circ}\text{C}$

inkubiert. Von jeder zu testenden Formulierung wurden vier Proben zubereitet. Zu spezifischen Zeitpunkten, etwa jeden Tag, wurde der PBS:PEG-Puffer für die Paclitaxel-Analyse durch HPLC ausgegossen und ein frischer Puffer dem Mikrozentrifugenrohr hinzugefügt. Die Freisetzungsstudie wurde am 26. Tag beendet. An diesem Tag wurde das verbleibende Paclitaxel in dem Polymer mit einem Lösungsmittel extrahiert, um mit dem Paclitaxel einen Massenvergleich anzustellen.

**[0160]** Als die Freisetzungsstudien bezüglich der Freisetzung von Paclitaxel aus beiden Polymeren abgeschlossen waren, betrug die gesamte Paclitaxel-Wiedergewinnung 65%, was die Poly(CHDM-HOP)-Formulierung anbetraf, und 75%, was die Poly(CHDM-EOP)-Formulierung anbetraf.

Beispiel 13: Zubereitung von p(DAPG-EOP) Mikrokugeln, die Paclitaxel enthalten, durch das Lösungsmittelverdünnungsverfahren

**[0161]** Ein Lösungsmittelverdünnungs-(Evaporations-)verfahren wurde bei der Zubereitung von p(DAPG-EOP) Mikrokugeln, die Paclitaxel enthalten, angewandt. Etwa 10 g Paclitaxel und 90 g des Polymers wurden gewogen und in 250 ml Ethylazetat gelöst. Um die lösungsmittelfreie Phase zuzubereiten, wurde Ethylazetat (90 ml) zu 1 l von 0,5%igem PVA hinzugefügt und 1 Minute lang homogenisiert. Die Arzneistoff-Polymerlösung und die PVA-Ethylazetatlösung wurden durch einen in-line Homogenisierapparat in einen Glaskolben geleitet. Die Lösung wurde mit einem Overheadmixer gerührt. Etwa 900 ml Wasser wurden dann dem Glaskolben hinzu gegeben. Die Lösung wurde dann 30 Minuten lang gerührt. Die Mikrokugelsuspension wurde zu einer Filter-/Trocknereinheit geleitet, die 150 µm und 25 µm Siebe enthielt. Die Mikrokugeln wurden mit einem Liter deionisierten Wassers gespült und über Nacht getrocknet. Die getrockneten Mikrokugeln auf dem 25 µm Sieb wurden in einem Behälter aufgefangen.

Beispiel 14: Zubereitung von p(DAPG-EOP) Mikrokugeln, die Paclitaxel enthalten, durch das Lösungsmittelverdunstungsverfahren

**[0162]** Paclitaxel (10,08 g) und das Polymer (90,1 g) wurden gewogen und in ausreichend Ethylazetat gelöst, um ein Gesamtvolumen von 250 ml zu erreichen. Ethylazetat (90 ml) wurde zu 1 l 0,5%igem PVA hinzugefügt und 1 Minute lang homogenisiert. Die Arzneistoff-Polymerlösung und die PVA-Ethylazetatlösung wurden durch einen in-line Homogenisierapparat in einen 12 l, 3-halsigen Glaskolben geleitet. Die Lösungen wurden mit einem Overheadmixer gerührt. Vakuum und Luft wurden eingesetzt, um das Ethylazetat zu evaporieren. Vakuum und Luft wurden nach 40 Minuten wegen exzessiven Schäumens abgestellt. Das Rühren wurde noch weitere 20 Minuten fortgesetzt. Die Mikrokugelsuspension wurde zu einer Filter-/Trocknereinheit geleitet, die 250 µm und 25 µm Siebe enthielt und mit einem Liter deionisierten Wassers gespült. Das auf dem 25 µm Sieb übrig gebliebene Material wurde mit deionisiertem Wasser in zwei Einliterzentrifugenflaschen gewaschen und dann ruhen gelassen, um sich niederzuschlagen. Nach dem Niederschlagen wurde das Obenschwimmende weggeschüttet und die Mikrokugeln bei -40°C eine Stunde lang gefroren und dann 72 Stunden lang lyophilisiert.

Beispiel 15: Zubereitung von p(DAPG-EOP) Mikrokugeln, die Paclitaxel enthalten, durch das Sprühtrocknungsverfahren

**[0163]** P(DAPG-EOP) wird in Methylenchlorid mit einer Konzentration von 5 bis 20% (w/v) gelöst. Paclitaxel wird zu der Polymerlösung hinzugefügt, um einen Paclitaxel-Anteil von 10% (w/w) zum Schluss zu erreichen. Nachdem der Arzneistoff vollständig gelöst ist, wird die Lösung unter Benutzung eines Büchi Sprühtrockners sprühtrocknet. Die resultierenden Mikrokugeln werden aufgefangen.

Beispiel 16: Zubereitung von p(DAPG-EOP) Mikrokugeln, die Lidocain enthalten, durch das Sprühtrocknungsverfahren

**[0164]** P(DAPG-EOP) wurde in Methylenchlorid mit einer Konzentration von 5 bis 20% (w/v) gelöst. Lidocain wurde zu der Polymerlösung hinzugefügt, um einen Lidocain-Anteil von 10% (w/w) zum Schluss zu erreichen. Nachdem der Arzneistoff vollständig gelöst war, wurde die Lösung unter Benutzung eines Büchi Sprühtrockners sprühtrocknet. Das Produkt wurde aufgefangen.

Beispiel 17: In Vitro Freisetzung von Paclitaxel aus Poly(DAPG-EOP)

**[0165]** Die in vitro Freisetzung von Paclitaxel aus Mikrokugeln wurde in Phosphatpufferkochsalzlösung (pH 7,4) bei 37°C durchgeführt. Um einen Sinkzustand aufrecht zu erhalten, wurde eine Oktanolschicht oben auf die PBS aufgebracht, um das freigesetzte Paclitaxel aus der wässrigen Phase kontinuierlich zu extrahieren.

Das freigesetzte Paclitaxel wurde mittels eines HPLC Verfahrens quantifiziert und der in vitro Massenverlust des Polymers durch ein gravimetrisches Verfahren bestimmt. Die Resultate sind in [Abb. 2A](#) dargestellt.

Beispiel 18: Vergleichende Studien der anhaltenden Freisetzung von Paclitaxel auf A549 Tumoren an einem In Vivo Model

**[0166]** Ein Maustumorknotenmodell, das ein häufig verwendetes und akzeptiertes Modell zur Untersuchung der Wirksamkeit von Therapien für solide Tumoren ist, wurde verwendet, um die Nützlichkeit der anhaltenden Freisetzung für solide Tumore nachzuweisen. In athymische, nackte Balb/c Mäuse wurden humane nicht-kleinzellige Lungenkarzinomzell-Linien (A549 und A1299, beide von der American Type Culture Collection bezogen) implantiert.

**[0167]** Die Zellen ließ man in dem DMEM/F12 Medium (Mediatech, Herndon, VA) bis zum Zusammenfluss wachsen, ergänzt mit 10%igem fetalem Rinderserum („Wachstumsmedium“) unter antibiotikafreien Bedingungen bei 37°C in einer 5%igen CO<sub>2</sub> Atmosphäre. Nach dem Wachsen unter diesen Gewebekultur-Standardbedingungen wurden die Zellen enzymatisch abgelöst, nummeriert und die Konzentration wie erforderlich angepasst.

**[0168]** Die Zellen wurden im Verhältnis 1:1 mit Matrigel™ zur Unterstützung der Implantation gemischt und 2 × 10<sup>6</sup> Zellen wurden subkutan in die Flanken injiziert. Die Tumoren ließ man wachsen, bis ein Volumen von etwa 200 bis 400 mm<sup>3</sup> erreicht war, das nach folgender Formel bestimmt wurde:

Tumolvolumen = (Länge) × (Breite) × (Höhe). Die Ausmaße des Tumors wurden bei jedem Testtier direkt mit dem Greifzirkel gemessen.

**[0169]** Verschiedene Formulierungen von Paclitaxel wurden den mit Tumoren behafteten Testtieren verabreicht, entweder systemisch oder intratumoral. Jedes Tier wurde zum Zeitpunkt der Behandlung gewogen, so dass die Dosierungen angepasst werden konnten, um die berichteten Mengen in mg/kg zu erreichen. Die systemische Verabreichung erfolgte durch Injektion der Testzusammensetzung in die intraperitoneale Höhle des Testtiers. Durch intraperitoneale („IP“) Injektionen erhielten die Tiere ein Injektionsgesamtvolumen von etwa 1 ml.

**[0170]** Die intratumorale Verabreichung („IT“) andererseits wurde auf folgende Weise ausgeführt:

- (1) Injektion eines einzigen Volumens von etwa 100 µl (0,1 ml) der Testzusammensetzung in das Zentrum des Tumorknotens mit einer 21 bis 25 Gauge Nadel während eines Zeitraums von etwa 10 bis 20 Sekunden,
- (2) Infusion des Volumens während eines Zeitraums von 10 bis 15 Sekunden und Zurücklassen der Nadel an Ort und Stelle während eines zusätzlichen Zeitraums von 10 bis 20 Sekunden und
- (3) Herausziehen der Nadel.

**[0171]** Nach den Behandlungen wurden alle Mäuse etikettiert und die Tumoren dreimal wöchentlich mit Greifzirkel gemessen. Die Testtiere wurden auch einmal wöchentlich gewogen.

**[0172]** Folgende verschiedene Formulierungen wurden getestet:

- (1) Paclitaxel („PTX“), gelöst im Verhältnis von 1:1 in 12,5%igem Cremophor/12,5%igem Ethanol und dann verdünnt bis zur geeigneten Konzentration mit 0,9%igem NaCl (so dass das Injektionsvolumen für alle Gruppen vergleichbar war), was eine 115 MM-Lösung von NaCl ergab („herkömmliche“ Formulierung von Paclitaxel) und
- (2) Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln, die 0,1 mg Paclitaxel/1 mg Poly(DAPG-EOP) suspendiert in 10%igem Dextran 40 Verdünnungsmittel („PTX/Poly“) enthalten.

**[0173]** Die Resultate wurden in den [Abb. 3–Abb. 5](#) graphisch dargestellt als Mittel von zwei Experimenten ±S.E.M. [Abb. 3](#) vergleicht die Resultate der folgenden Behandlungen:

IP flüssige s Vehikel = intraperitoneale Verabreichung des herkömmlichen Cremophor/Ethanol-Vehikels ohne Paclitaxel (Kontrolle),

IT flüssiges Vehikel = intratumorale Verabreichung des Cremophor/Ethanol-Vehikels ohne Paclitaxel (Kontrolle),

IT Poly Vehikel = intratumorale Verabreichung von Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln ohne Paclitaxel (Kontrolle),

IP PTX 24/Poly = intratumorale Verabreichung von 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln.

**[0174]** [Abb. 4](#) vergleicht die Resultate der folgenden Behandlungen:

IP PTX 4/Poly = 4 mg/kg Paclitaxel in intratumoral injizierten Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln,  
 IP PTX 12,5/Poly = 12,5 mg/kg Paclitaxel in in den Tumor injizierten Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln und  
 IT PTX 24/Poly = 24 mg/kg Paclitaxel in in den Tumor injizierten Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln.

**[0175]** [Abb. 5](#) vergleicht die Resultate der folgenden Behandlungen:

IP PTX 24 = intraperitoneale Injektion von 24 mg/kg Paclitaxel in herkömmlicher flüssiger Formulierung,  
 IT PTX 24 = intratumorale Injektion von 24 mg/kg Paclitaxel in herkömmlicher flüssiger Formulierung und  
 IT PTX 24/Poly = intratumorale Injektion von 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln.

Beispiel 19: Vergleichende Studien der anhaltenden Freisetzung von Paclitaxel auf H1299 Tumoren an einem  
 In Vivo Model

**[0176]** Zeitabhängige Veränderungen beim Wachstum und/oder bei den Größen des H1299 Tumorknotens wurden nach verschiedenen Behandlungen bestimmt. Die Resultate sind in den [Abb. 6](#) bis [Abb. 8](#) graphisch dargestellt als Mittel von zwei Experimenten  $\pm$ S.E.M.

**[0177]** [Abb. 6](#) vergleicht die Resultate folgender Behandlungen:

IP flüssiges Vehikel = intraperitoneale Verabreichung des herkömmlichen Cremophor/Ethanol-Vehikels ohne Paclitaxel (Kontrolle),  
 IT flüssiges Vehikel = intratumorale Verabreichung des Cremophor/Ethanol-Vehikels ohne Paclitaxel (Kontrolle),  
 IT Poly Vehikel = intratumorale Verabreichung von Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln ohne Paclitaxel (Kontrolle) und  
 IT PTX 24/Poly = intratumorale Verabreichung von 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln.

**[0178]** [Abb. 7](#) vergleicht die Resultate folgender Behandlungen, die sämtlich intratumoral verabreicht wurden:

IT PTX 4/Poly = 4 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln,  
 IT PTX 12,5/Poly = 12,5 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln und  
 IT PTX 24/Poly = 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln.

**[0179]** [Abb. 8](#) vergleicht die Resultate der folgenden Behandlungen:

IP PTX 24 = intraperitoneale Injektion von 24 mg/kg Paclitaxel in herkömmlichem flüssigem Vehikel,  
 IT PTX 24 = intratumorale Injektion von 24 mg/kg Paclitaxel in herkömmlichem flüssigem Vehikel und  
 IT PTX 24/Poly = intratumorale Injektion von 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln.

Beispiel 20: Gewichtsveränderungen der Mäuse nach der Behandlung

**[0180]** Die nach den oben in den Beispielen 18 und 19 beschriebenen Verfahren behandelten Tiere wurden am Tag 0, Tag 7, Tag 14, Tag 21 und Tag 28 gewogen nach folgenden Behandlungen:

IP flüssiges Vehikel = intraperitoneale Verabreichung des herkömmlichen Cremophor/Ethanol-Vehikels ohne Paclitaxel (Kontrolle),  
 IP PTX 24 = intraperitoneale Injektion von 24 mg/kg Paclitaxel in herkömmlichem Cremophor/Ethanol-Vehikel,  
 IT flüssiges Vehikel = intratumorale Verabreichung des Cremophor/Ethanol-Vehikels ohne Paclitaxel (Kontrolle),  
 IT PTX 24 = intratumorale Injektion von 24 mg/kg Paclitaxel in herkömmlichem flüssigem Vehikel,  
 IT Poly Vehikel = intratumorale Verabreichung von Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln ohne Paclitaxel (Kontrolle) und  
 IT PTX 24/Poly = intratumorale Verabreichung von 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln.

**[0181]** Die Resultate eines einzelnen Experiments sind in [Abb. 9](#) bezüglich der A549 Zell-Linie graphisch dargestellt. Das Mittel von zwei Experimenten  $\pm$ S.E.M bezüglich der A1299 Zell-Linie ist in [Abb. 10](#) dargestellt. Die Gewichte der Tiere stiegen in allen Gruppen mit der Zeit an, ohne signifikante Unterschiede unter den Gruppen, und keine der behandelten Gruppen wurden mit irgendeiner offenkundigen Toxizität in Zusammenhang gebracht.

Beispiel 21: Tumorverdoppelungszeit

**[0182]** Geschätzte Tumervolumenverdoppelungszeiten wurden von den in den oben beschriebenen [Abb. 3](#) bis [Abb. 8](#) dargestellten Daten abgeleitet. Die P Werte stellen die Unterschiede zwischen der Bezugsgruppe

und der Gruppe dar, welcher durch intratumorale Injektion 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln verabreicht wurden. Auf folgende Behandlungen wurde Bezug genommen:

IP flüssiges Vehikel = intraperitoneale Verabreichung des herkömmlichen Cremophor/Ethanol-Vehikels ohne Paclitaxel (Kontrolle),

IP PTX 24 = intraperitoneale Injektion von 24 mg/kg Paclitaxel in herkömmlichem Cremophor/Ethanol-Vehikel, IT flüssiges Vehikel = intratumorale Verabreichung des Cremophor/Ethanol-Vehikels ohne Paclitaxel (Kontrolle),

IT PTX 4 = intratumorale Injektion von 4 mg/kg Paclitaxel in Cremophor/Ethanol-Vehikel,

IT PTX 12 = intratumorale Injektion von 12 mg/kg Paclitaxel in Cremophor/Ethanol-Vehikel,

IT PTX 24 = intratumorale Injektion von 24 mg/kg Paclitaxel in Cremophor/Ethanol-Vehikel,

IT Poly Vehikel = intratumorale Verabreichung von Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln ohne Paclitaxel (Kontrolle),

IT PTX 4/Poly = intratumorale Verabreichung von 4 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln,

IT PTX 12/Poly = intratumorale Verabreichung von 12 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln,

IT PTX 24/Poly = intraperitoneale Verabreichung von 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln.

**[0183]** Die Tumorummenverdoppelungszeit wurde bestimmt aus den Tumorabmessungen in allen Behandlungsgruppen. Die Resultate sind in [Abb. 11](#) bezüglich der Behandlung von A549 Zell-Linientumoren und in [Abb. 12](#) bezüglich der Behandlung von A1299 Zell-Linientumoren graphisch dargestellt.

**[0184]** Bei den A549 Zellen wurde die Verdoppelungszeit der mit Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP), 24 mg/kg, behandelten Gruppe auf  $60 \pm 9,4$  Tage geschätzt, verglichen mit  $11,5 \pm 2,3$  Tagen und  $10,2 \pm 4,7$  Tagen bei der mit herkömmlich formuliertem Paclitaxel, 24 mg/kg, behandelten Gruppe, jeweils intraperitoneal und intratumoral verabreicht. Die A1299 Zellverdoppelungszeit der mit Paclitaxel/Poly(DAPG-EOP), 24 mg/kg, behandelten Gruppe wurde auf  $35 \pm 8$  Tagen geschätzt, verglichen mit  $12 \pm 1,9$  Tagen und  $11,2 \pm 1,9$  Tagen bei der mit herkömmlich formuliertem Paclitaxel, 24 mg/kg, behandelten Gruppe, jeweils intraperitoneal und intratumoral verabreicht.

**[0185]** Zusammenfassend betrugen die Tumorummenverdoppelungszeiten etwa 60 Tage bei den A549 Knoten und etwa 35 Tage bei den H1299 Knoten bei Behandlung mit 24 mg/kg Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln verglichen mit 10 und 11 Tagen jeweils bei den mit derselben Dosierung mit herkömmlichem Paclitaxel durch intratumorale Verabreichung behandelten Knoten.

#### Beispiel 22: Wirksamkeit gegenüber anderen soliden Tumoren

**[0186]** Zell-Linien, die die folgenden Karzinomtypen darstellen, werden von der American Type Culture Collection bezogen, in Kultur vermehrt und in immunsupprimierte Mäuse wie oben beschrieben implantiert:

Zell-Linie	Karzinomtyp
SCC-15	Kopf und Nacken
FaDu	Kopf und Nacken
HEp2	Kehlkopf
WiDr	Dickdarm
HT-29	Dickdarm
SW 837	Mastdarm
SW 1463	Mastdarm
PC-3	Prostata

<b>Zell-Linie</b>	<b>Karzinomtyp</b>
DU145	Prostata
SK-Br-3	Brust
MCF7	Brust
5637	Blase
T24	Blase
SK-MEL1	Melanoma
SK-MEL2	Melanoma

**[0187]** Eine Reihe von Dosen der für die anhaltende Freisetzung bestimmten Formulierung von Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln mit unterschiedlichen Dosierspiegeln, einschließlich einiger Dosierungen höher als 24 mg/kg, werden wie oben spezifiziert verabreicht. Die Tumervolumina werden mit der Zeit verfolgt. Beim Vergleich mit Testtieren, die Paclitaxel in herkömmlicher Cremophor/Ethanol-Lösung erhielten, beweist das Maustumorknotenmodell signifikante Verbesserungen bei der Kontrolle des Wachstums multipler Typen solider Tumore, indem die Wachstumsrate reduziert und in einigen Fällen sogar die tatsächliche Tumorgroße reduziert wird.

#### Beispiel 23: Verabreichung auf intrathorakale Massen

**[0188]** Für die erweiterte Freisetzung bestimmtes Paclitaxel in Poly(DAPG-EOP)-Mikrokugeln wird auf Tumormassen des Lungenkarzinoms verabreicht, die ein primäres bronchogenes Karzinom sowie ein Karzinom umfassen, das in den Thorax metastasiert hat. Die Paclitaxel-Poly(DAPG-EOP)-Formulierung wird in oder Mehrfachdosen in die Tumormassen des Lungenkarzinoms mit einer Turner Biopsie-Nadel appliziert. Ein Fluoroskop oder Computertomograph wird für die Führung eingesetzt. Dosierungen von 2 bis 96 mg/kg können angewandt werden. Die Dosierungen können auf der Körpermasse oder auf dem Tumervolumen basieren. Ein Vergleich mit der intratumoralen Verabreichung derselben Dosierung von Paclitaxel in einem herkömmlichen Cremophor/Ethanol-Lösungsmittel veranschaulicht die unverhofften Vorteile der biologisch abbaubaren Poly(Phosphorester)-Zusammensetzungen und Verfahren der Erfindung.

**[0189]** Nachdem die Erfindung auf diese Weise beschrieben wurde, ist es offensichtlich, dass sie auf vielfältige Weise abgewandelt werden kann.

#### Patentansprüche

1. Anwendung einer biologisch abbaubaren Polymerzusammensetzung zur Zubereitung eines Medikaments zur Behandlung durch intratumorale Verabreichung eines Säugers, der einen soliden Tumor aufweist, wobei diese Zusammensetzung umfasst:

- a) ein biologisch abbaubares Poly(Phosphorester)Polymer,
- b) mindestens ein Antineoplastikum in wirksamer Menge, um das Wachstum des Tumors bei Verabreichung durch intratumorale Injektion zu hemmen.

2. Anwendung nach Anspruch 1, wobei der solide Tumor ein Thoraxtumor ist.

3. Anwendung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, wobei die Hemmung des Wachstums des soliden Tumors als Verzögerung der Tumorverdoppelungszeit gemessen wird und die Tumorverdoppelungszeit durch einen Faktor von mindestens zwei, vorzugsweise mindestens vier erweitert wird.

4. Anwendung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, wobei die Hemmung des Wachstums des soliden Tumors durch die Reduzierung des Volumens des Tumors gemessen wird und das Tumervolumen um mindestens etwa 10%, vorzugsweise um mindestens etwa 30%, noch bevorzugter um mindestens etwa 50%, und am meisten bevorzugt um mindestens etwa 70% vermindert ist.

5. Anwendung nach irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, wobei eine einzelne Dosis der Zusammensetzung eine verlängerte Freisetzung des Antineoplastikums über einen Zeitraum von mindestens einem Tag,

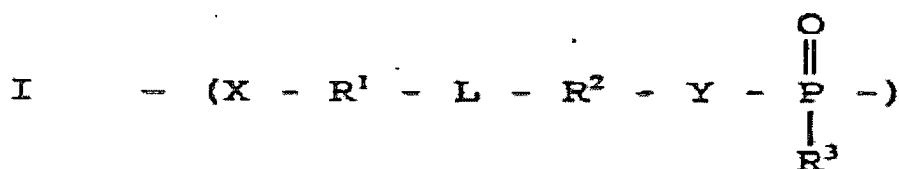


vorzugsweise über einen Zeitraum von mindestens 15 Tagen, noch bevorzugter über einen Zeitraum von mindestens 30 Tagen ermöglicht.

6. Anwendung nach irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, wobei das Antineoplastikum ein Taxan umfasst.

7. Anwendung nach irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, wobei das Antineoplastikum Paclitaxel umfasst.

8. Anwendung nach irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, wobei das Polymer die in der Formel I dargestellten wiederkehrenden monomeren Einheiten umfasst:



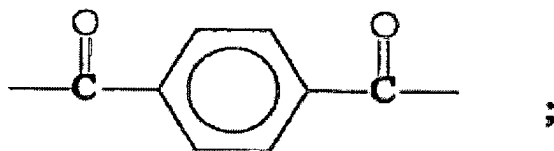
wobei X -O- oder -NR<sup>4</sup>- ist,

Y -O- oder -NR<sup>4</sup>- ist,

R<sup>4</sup> H oder ein Alkyl ist,

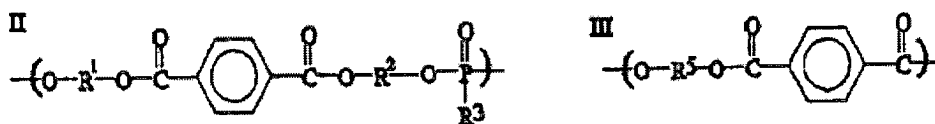
R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> jeweils eine bivalente organische Hälfte sind,

L eine bivalente, verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, eine zyklialiphatische Gruppe oder eine Gruppe mit folgender Formel ist:



und R<sup>3</sup> aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus H, Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy Heterozyklyl oder Heterozykloxy besteht.

9. Anwendung nach Anspruch 8, wobei das Polymer ein Molekulargewicht von zwischen etwa 2 und 500 KDalton aufweist und monomere Einheiten umfasst, die in den folgenden Formeln II und III dargestellt sind:

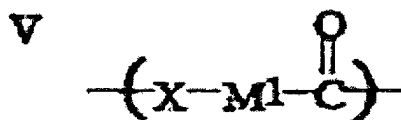
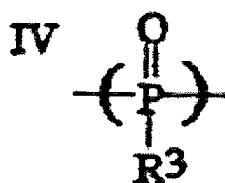


wobei R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> und R<sup>5</sup> jeweils eine bivalente organische Hälfte sind und R<sup>3</sup> aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus H, Alkyl, Alkoxy, Aryloxy und Heterozykloxy besteht.

10. Anwendung nach Anspruch 9, wobei R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> und R<sup>5</sup> jeweils unabhängig eine Alkylengruppe sind, die 1 bis 7 Kohlenstoffatome besitzt und R<sup>3</sup> eine Alkoxy-Gruppe ist, die 1 bis 7 Kohlenstoffatome besitzt.

11. Anwendung nach Anspruch 9, wobei R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> und R<sup>5</sup> jeweils unabhängig aus der Gruppe ausgewählt sind, die aus Ethylen, N-Propylen, 2-Methylpropylen und 2,2-Dimethyl-Propylen besteht, und R<sup>3</sup> Ethoxy ist.

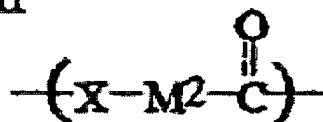
12. Anwendung nach Anspruch 8, wobei das Polymer ein Molekulargewicht von zwischen etwa 2 und 500 KDalton aufweist und monomere Einheiten umfasst, die in den Formeln IV, V, VI und VII dargestellt sind:



VI



VII



wobei X -O- oder -NR<sup>4</sup>- ist,

Y -O-, -S- oder -NR<sup>4</sup>- ist,

R<sup>4</sup> H oder ein Alkyl ist,

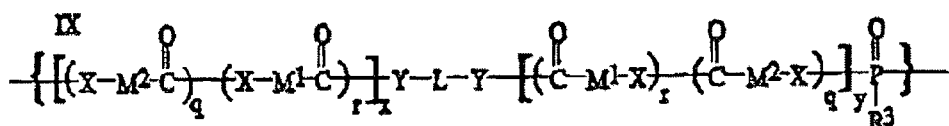
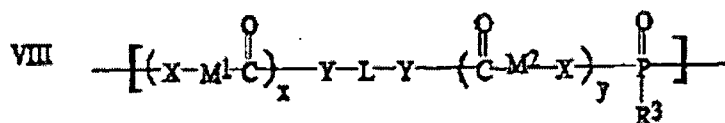
M<sup>1</sup> und M<sup>2</sup> jeweils unabhängig (1) eine verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe sind, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, oder

(2) eine verzweigte oder geradkettige oxy-, carboxy- oder aminoaliphatische Gruppe sind, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt;

L eine bivalente, verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe ist, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, und

R<sup>3</sup> aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus H, Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy, Heterozyklyl oder Heterozykloxy besteht.

13. Anwendung nach Anspruch 8, wobei das Polymer die Formel VIII oder IX aufweist:



wobei M<sup>1</sup> und M<sup>2</sup> jeweils unabhängig (1) eine verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe sind, die etwa 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, oder (2) eine verzweigte oder geradkettige oxy-, carboxy- oder aminoaliphatische Gruppe sind, die etwa 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt;

L eine bivalente, verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe ist, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt,

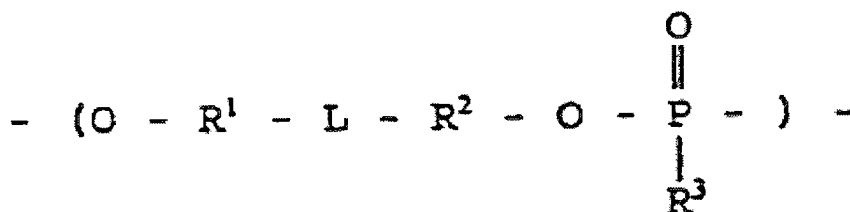
das Molarverhältnis x:y etwa eins beträgt und

das Molarverhältnis q:r zwischen 1:99 und 99:1 variiert.

14. Anwendung nach Anspruch 11, wobei R<sup>3</sup> eine Alkoxygruppe ist, X und Y jeweils Sauerstoff sind, M<sup>1</sup>, M<sup>2</sup> und L jeweils unabhängig eine verzweigte oder geradkettige Alkylengruppe sind, die 1 bis 7 Kohlenstoffatome besitzt.

15. Anwendung nach Anspruch 11, wobei R<sup>3</sup> eine Alkoxygruppe ist, die 1 bis 7 Kohlenstoffatome besitzt, L Alkylen ist und M<sup>1</sup> und M<sup>2</sup> jeweils unabhängig eine Alkylengruppe sind, die 1 bis 3 Kohlenstoffatome besitzt.

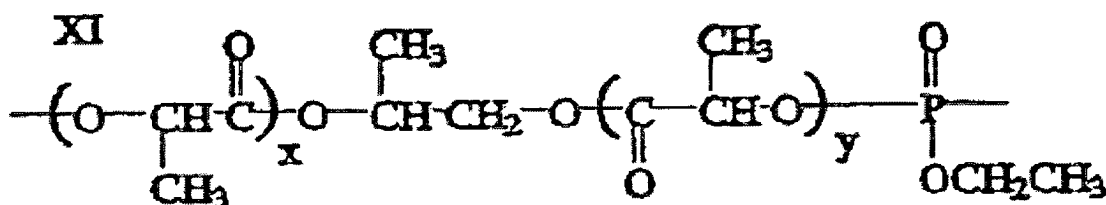
16. Anwendung nach Anspruch 8, wobei das Polymer ein Molekulargewicht zwischen etwa 2 und 500 KDa aufweist und monomere Einheiten umfasst, die in der Formel X dargestellt sind:

**X**

wobei  $R^1$  und  $R^2$  jeweils unabhängig geradkettig oder verzweigt aliphatisch sind, entweder nicht substituiert oder substituiert durch einen nicht eingreifenden oder mehrere nicht eingreifende Substituenten, und  $L$  eine bivalente zykoaliphatische Gruppe ist und  $R^3$  aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus H, Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy Heterozyklyl oder Heterozykloxy besteht.

17. Anwendung nach Anspruch 14, wobei  $R^1$  und  $R^2$  jeweils eine Methylgruppe sind,  $R^3$  eine Alkoxygruppe ist, die 1 bis 6 Kohlenstoffatome besitzt, und  $L$  Zyklohexylen ist.

18. Anwendung nach Anspruch 8, wobei das Polymer ein Molekulargewicht zwischen etwa 2 und 500 KDa aufweist und monomere Einheiten umfasst, die in der Formel XI dargestellt sind:



wobei das Molarverhältnis von  $x:y$  etwa 1 beträgt.

19. Anwendung nach Anspruch 8, wobei das Polymer durch ein Verfahren zubereitet wird, das die Schritte umfasst:

Reaktion mindestens einer heterozyklischen Ringzusammensetzung mit

H-Y-L-Y-H,

wobei H Wasserstoff ist,

Y -O-, -S- oder -NR<sup>4</sup>- ist, wobei R<sup>4</sup> H oder ein Alkyl ist, und

L eine bivalente, verzweigte oder geradkettige aliphatische Gruppe ist, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt,

um ein Vorpolymerisat zu bilden, und

weitere Reaktion des Vorpolymerisats mit einem Phosphordihalid, um einen Poly(Phosphorester) zu bilden.

20. Anwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 19, wobei die Zusammensetzung in Form einer viskosen Flüssigkeit, Emulsion oder Suspension vorliegt.

21. Anwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 19, wobei die Zusammensetzung in Form eines festen Artikels zur Implantation in einen Säuger vorliegt.

22. Anwendung nach Anspruch 21, wobei der Artikel in Form einer Nadel, eines Stabes, Stents oder von injizierbaren Mikropartikeln oder Mikrokugeln vorliegt.

Es folgen 12 Blatt Zeichnungen

## Anhängende Zeichnungen

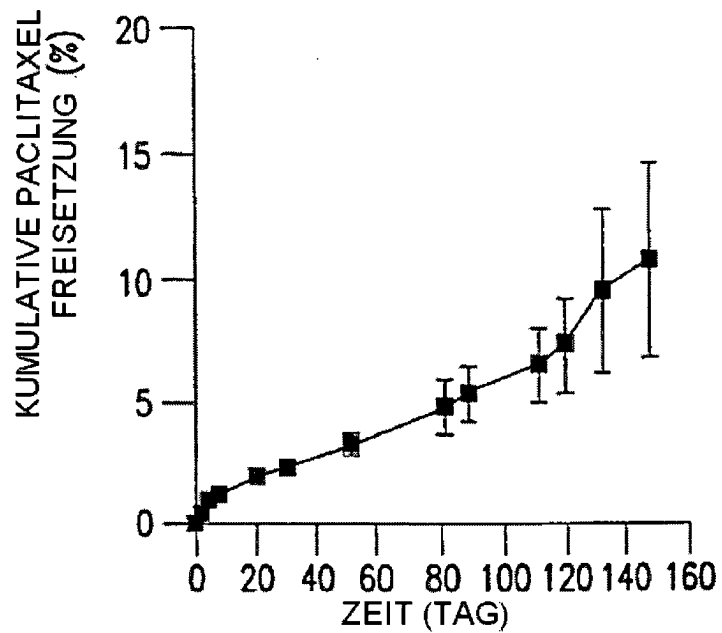


ABBILDUNG 1

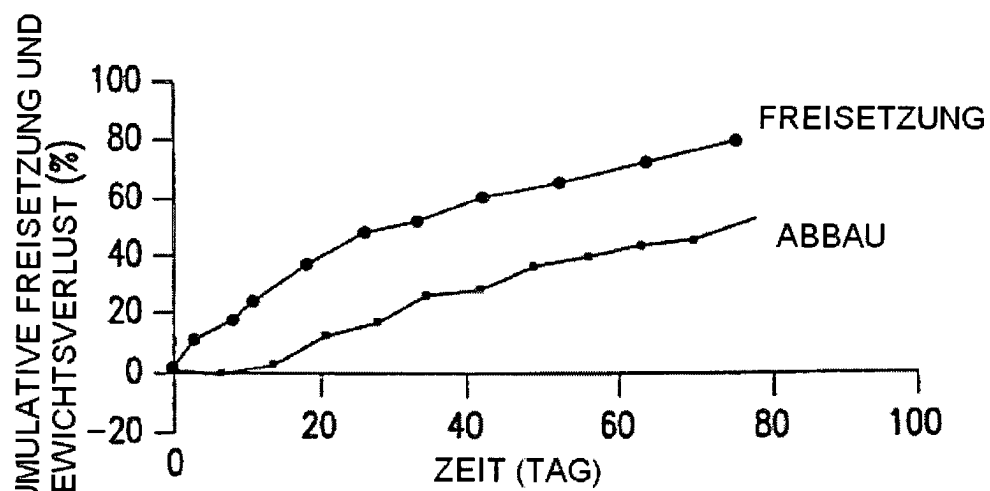


ABBILDUNG 2A

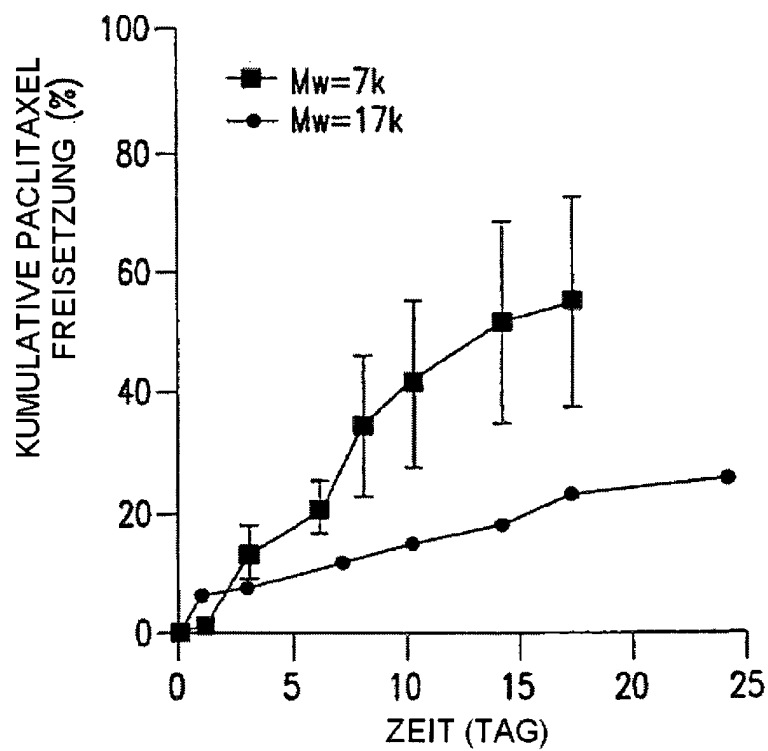


ABBILDUNG 2B

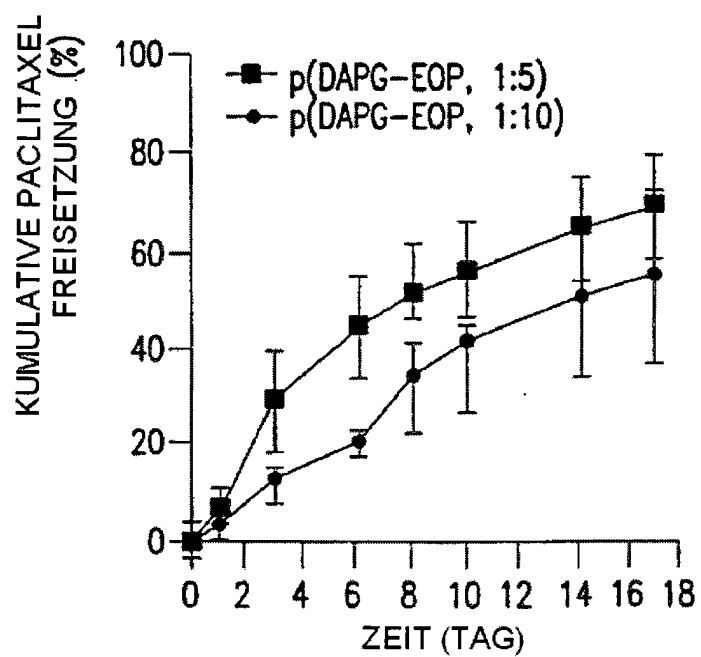


ABBILDUNG 2C

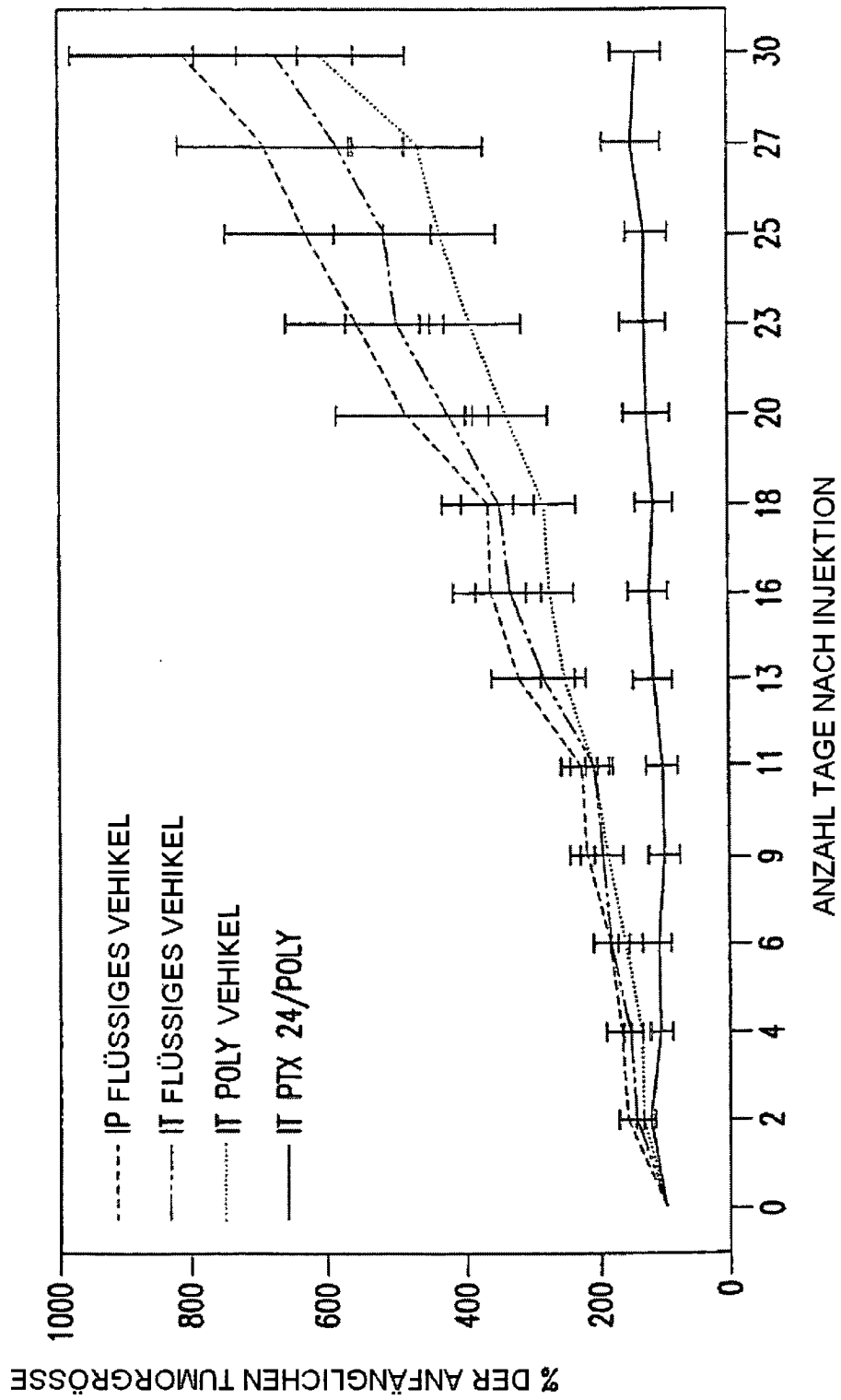


ABBILDUNG 3

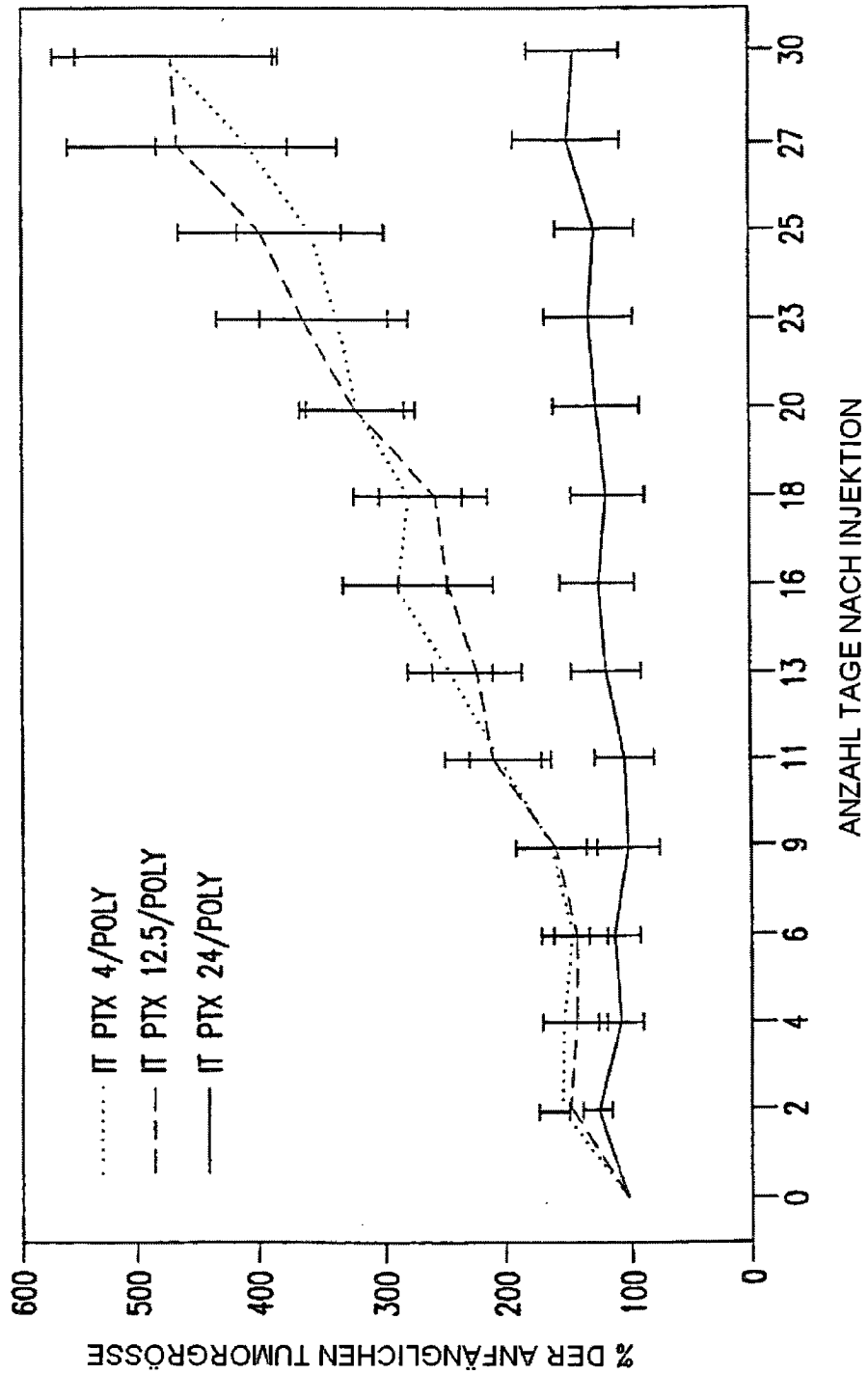


ABBILDUNG 4

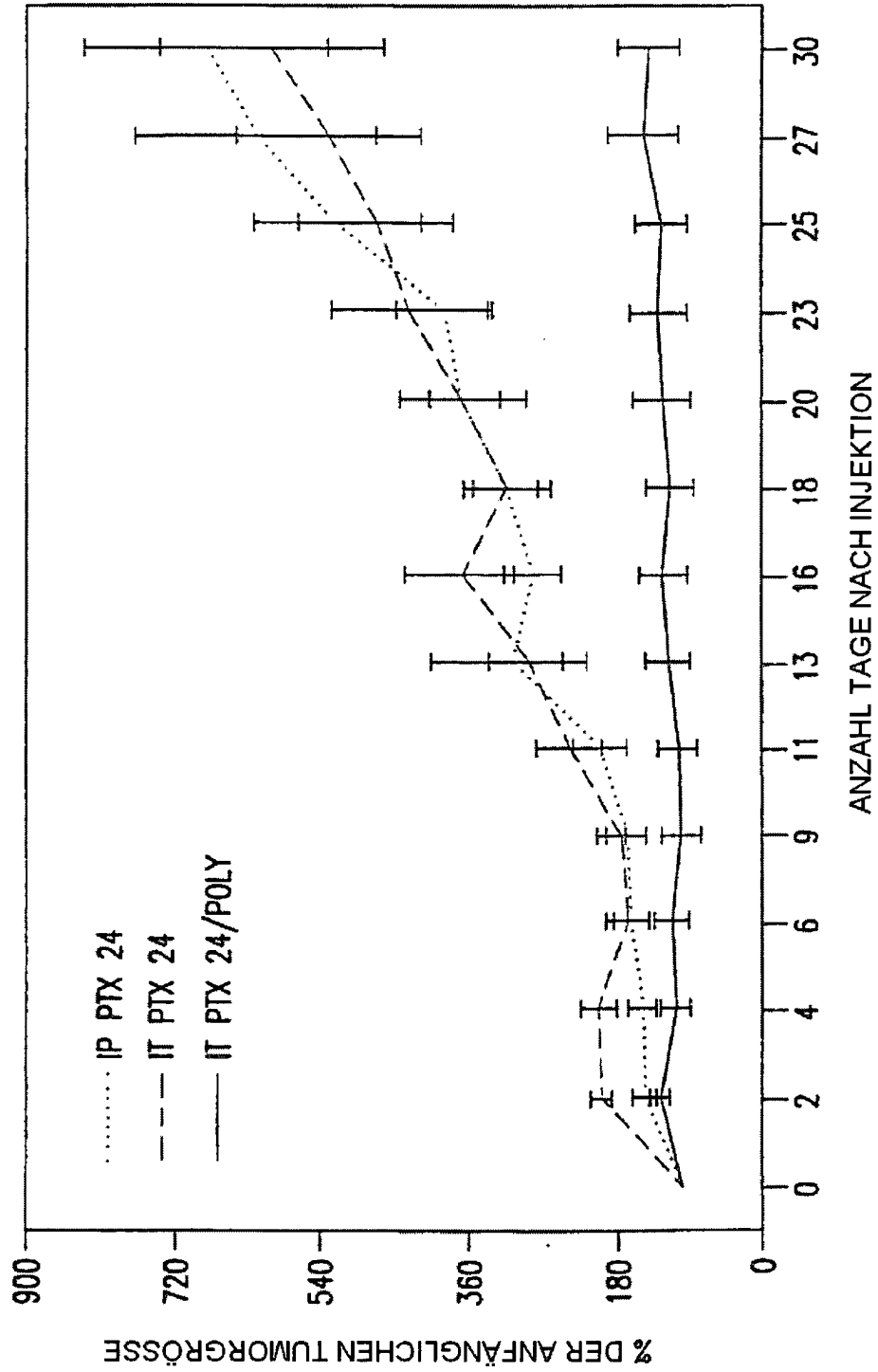


ABBILDUNG 5



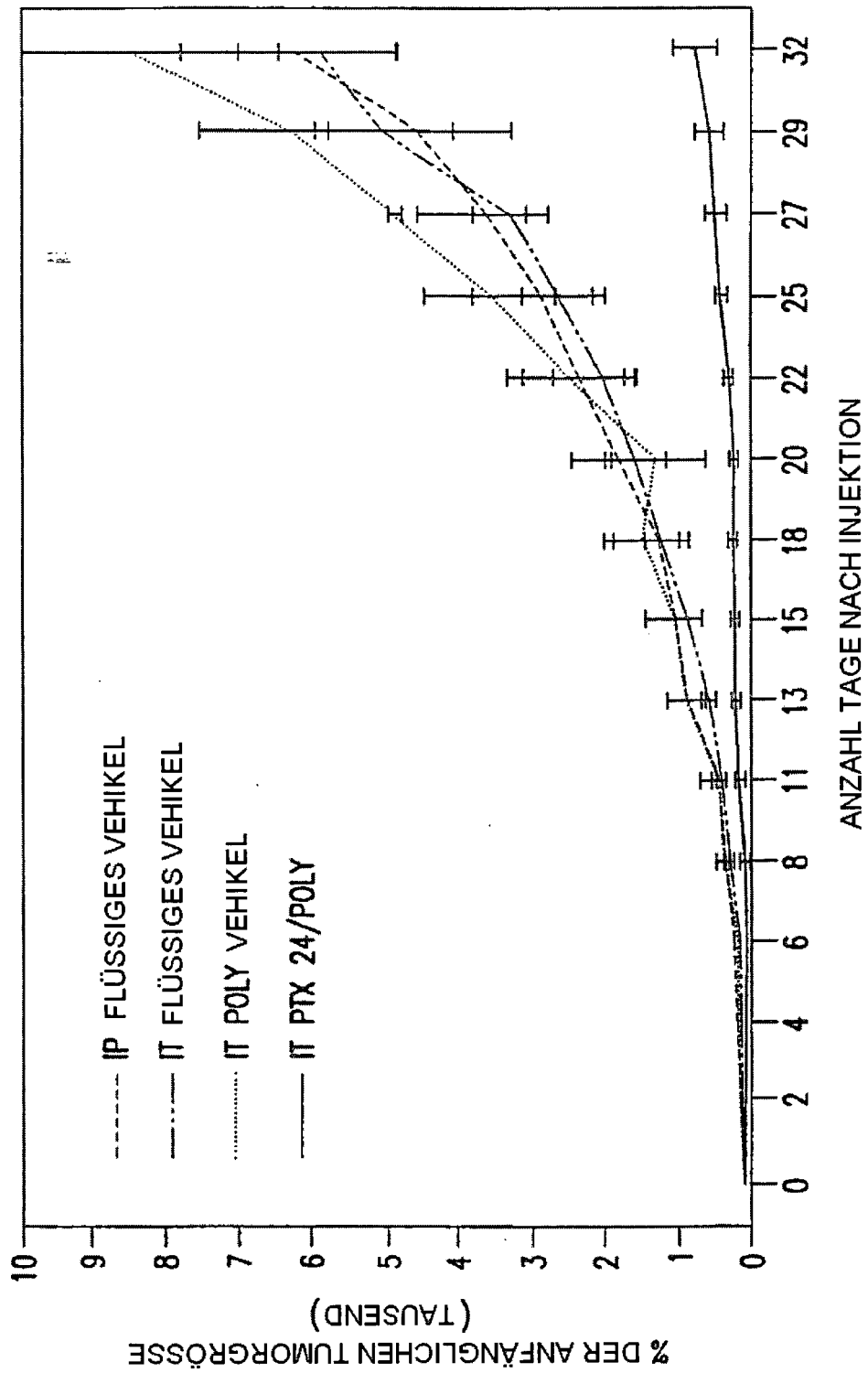


ABBILDUNG 6

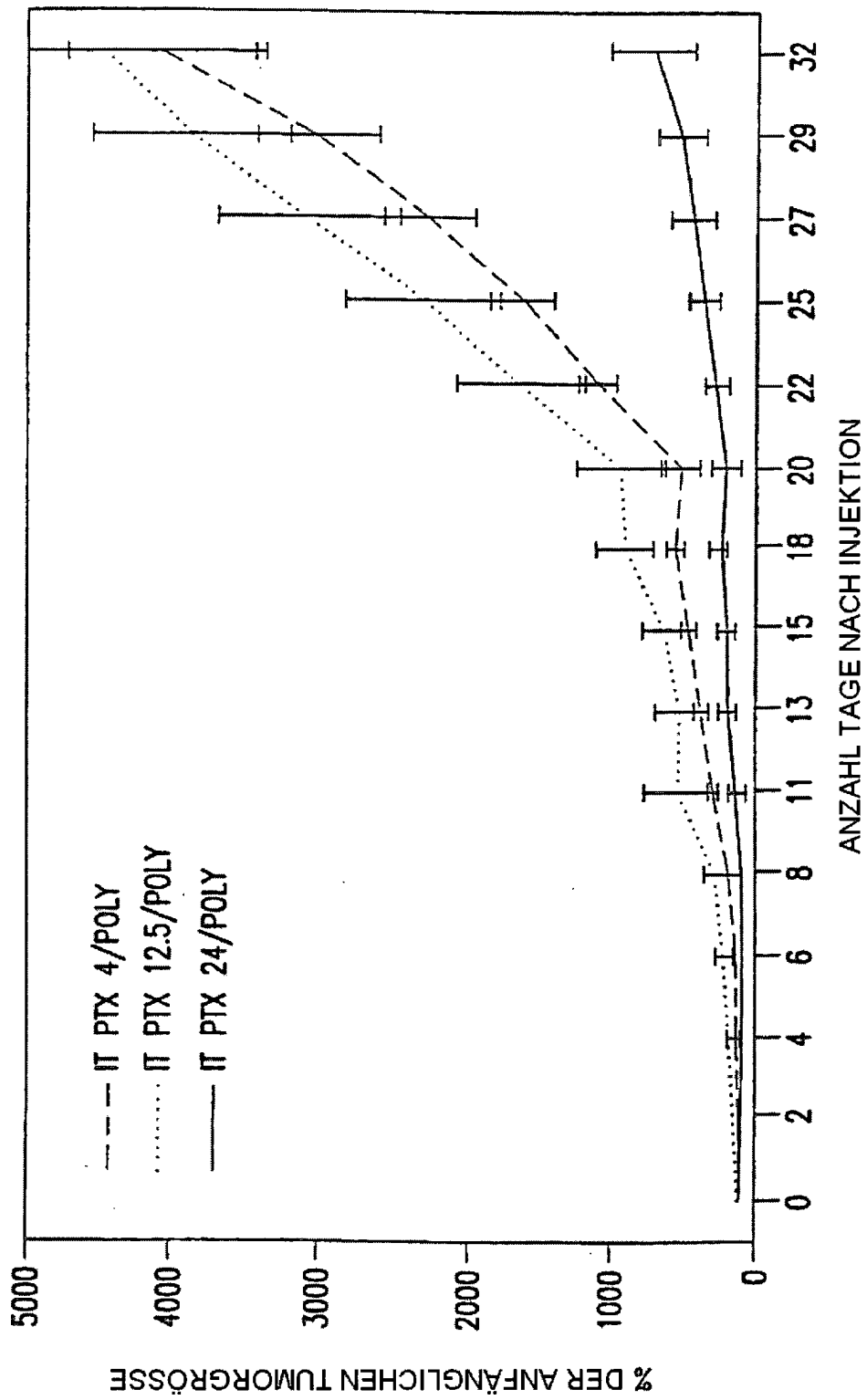


ABBILDUNG 7

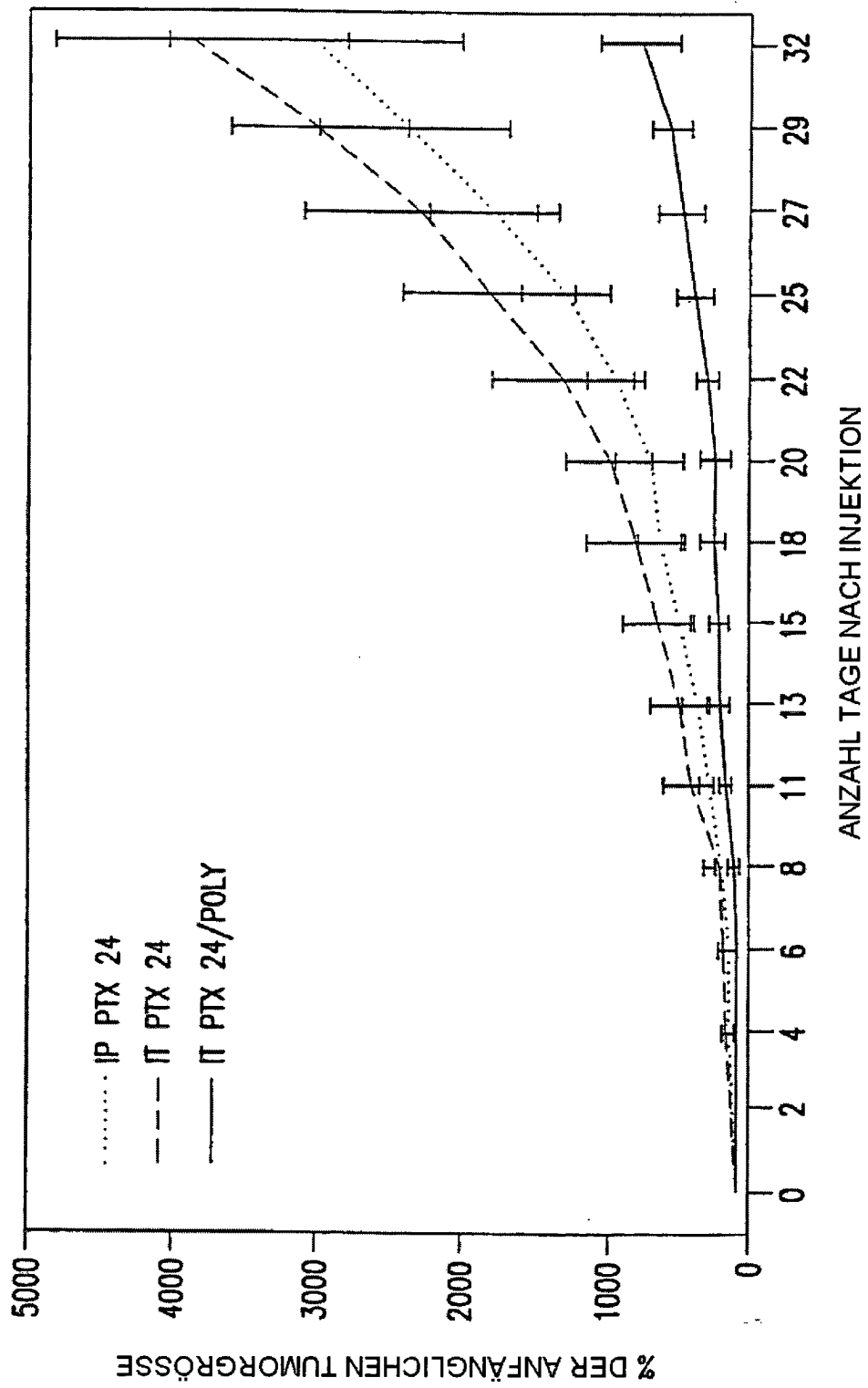
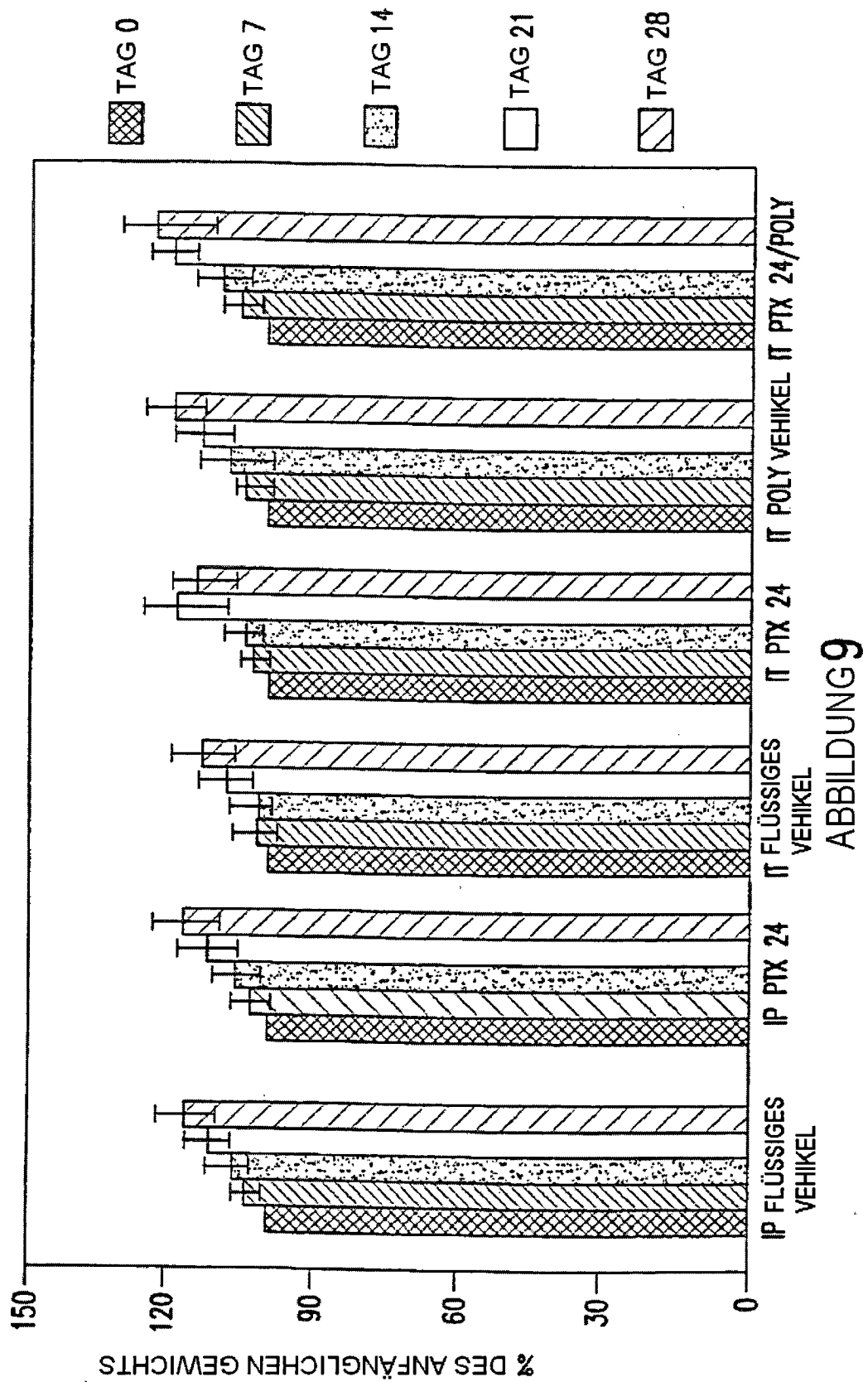


ABBILDUNG 8



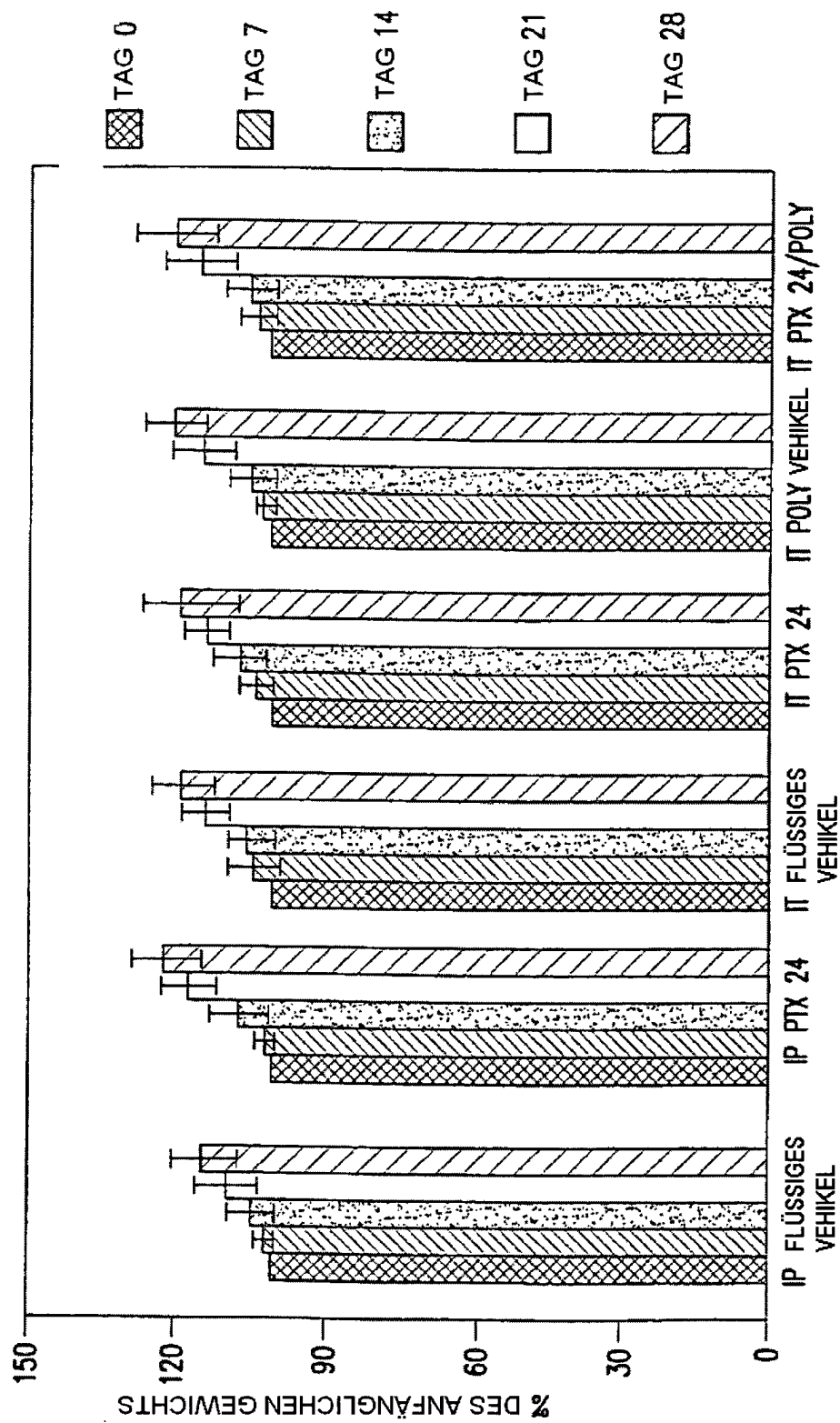


ABBILDUNG 10

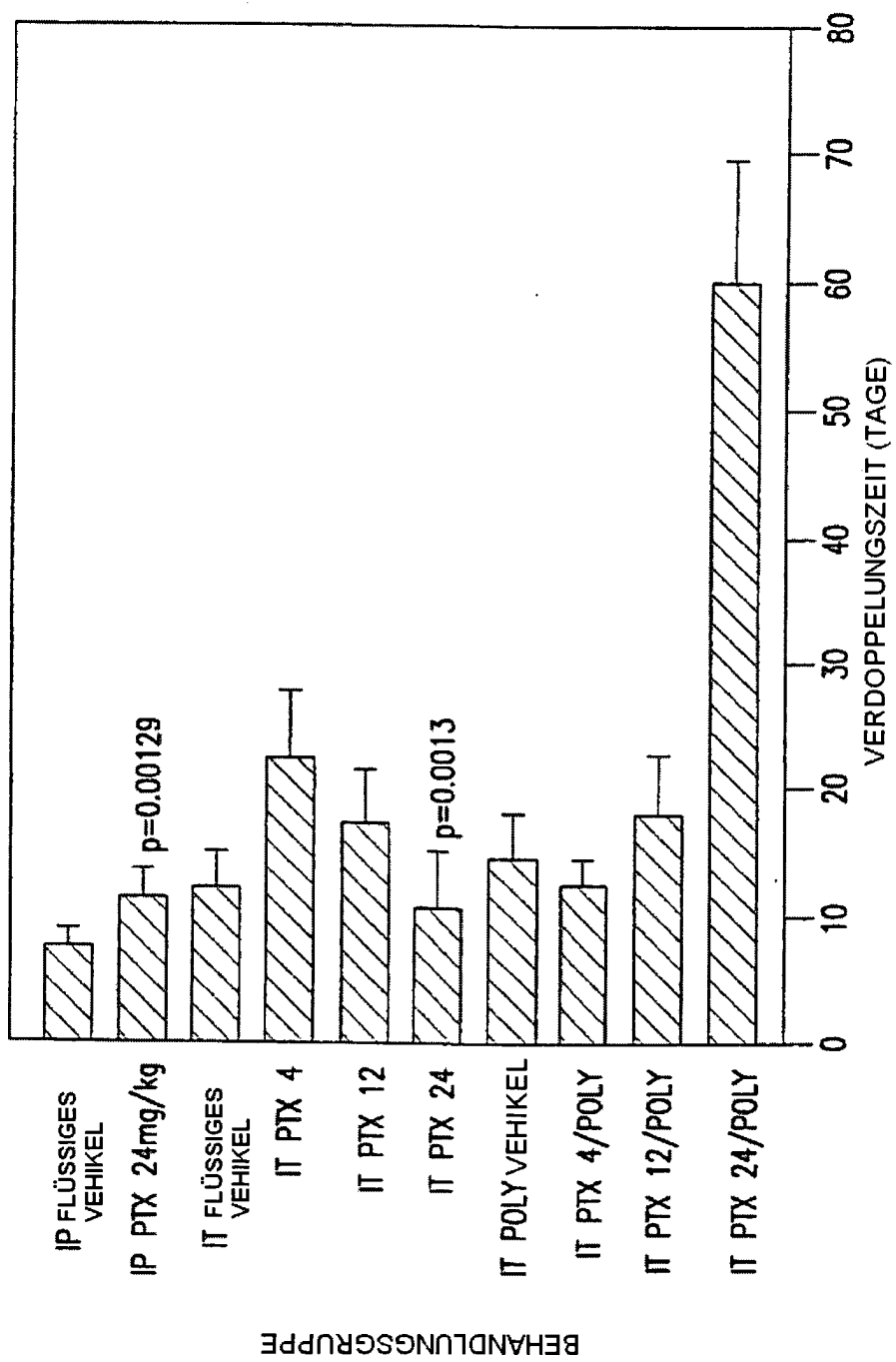


ABBILDUNG 11

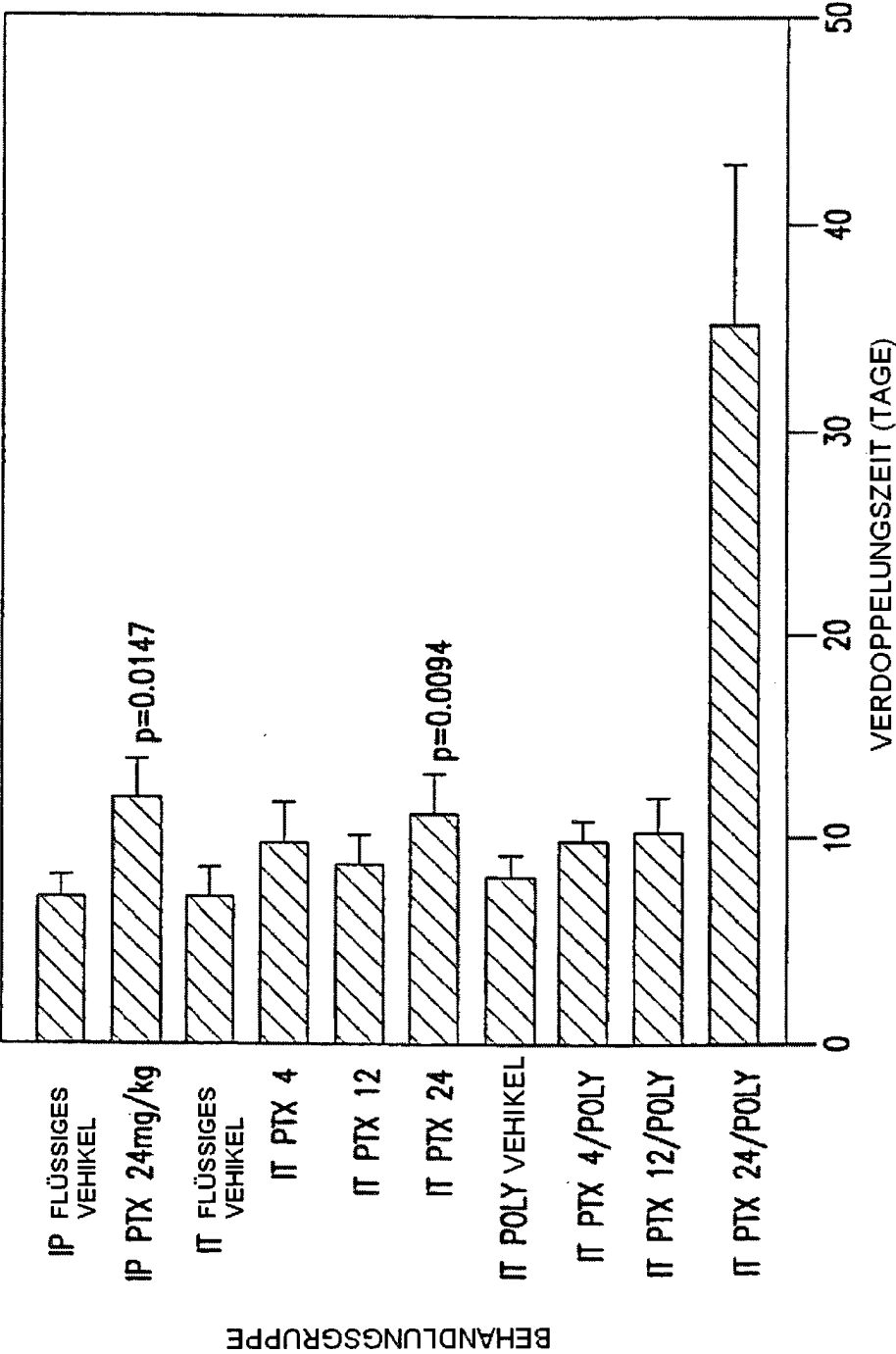


ABBILDUNG 12