

CH 681 152 A5



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 681 152 A5

⑤① Int. Cl.⁵: C 07 D 311/72
C 07 C 401/00
C 07 F 9/09
A 61 K 31/355

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑳ Gesuchsnummer:	1662/91	㉗ Inhaber:	Marigen S.A., Riehen
㉒ Anmeldungsdatum:	14.04.1992	㉘ Erfinder:	Eugster, Carl, Dr., Riehen Eugster, Conrad H., Prof. Dr., Wallisellen Haldemann, Walter, Dr., Binningen Rivara, Giorgio, Prof. Dr., Torino (IT)
㉔ Patent erteilt:	29.01.1993	㉙ Vertreter:	Dr. Walter Haldemann, Riehen
㉕ Patentschrift veröffentlicht:	29.01.1993		

⑤④ **Neue biotenside und antitumorale Ester und Phosphatide mit Vitamin-D- und Vitamin-E-Verbindungen, ihre Herstellung und Aufarbeitung zu spontan dispergierbaren Konzentraten.**

⑤⑦ Neue biotenside und antitumorale Ester und Phosphatide mit Vitamin-D- und Vitamin-E-Verbindungen; Verfahren zu ihrer Herstellung sowohl als zur Bildung von spontan dispergierbaren Konzentraten mit diesen Verbindungen; sowie Methoden zur Entwicklung von pharmazeutischen Systempräparaten mit diesen spontan dispergierbaren Konzentraten werden beschrieben.



CH 681 152 A5

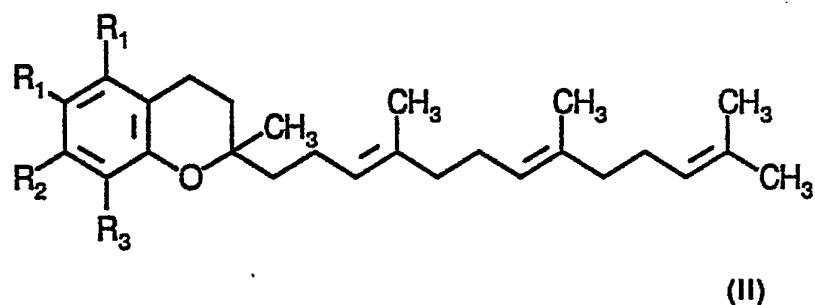
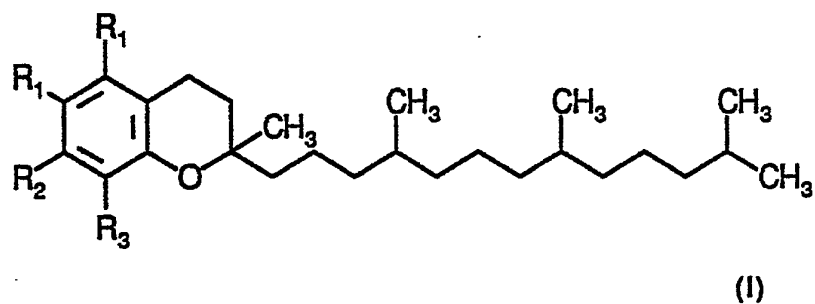
Beschreibung

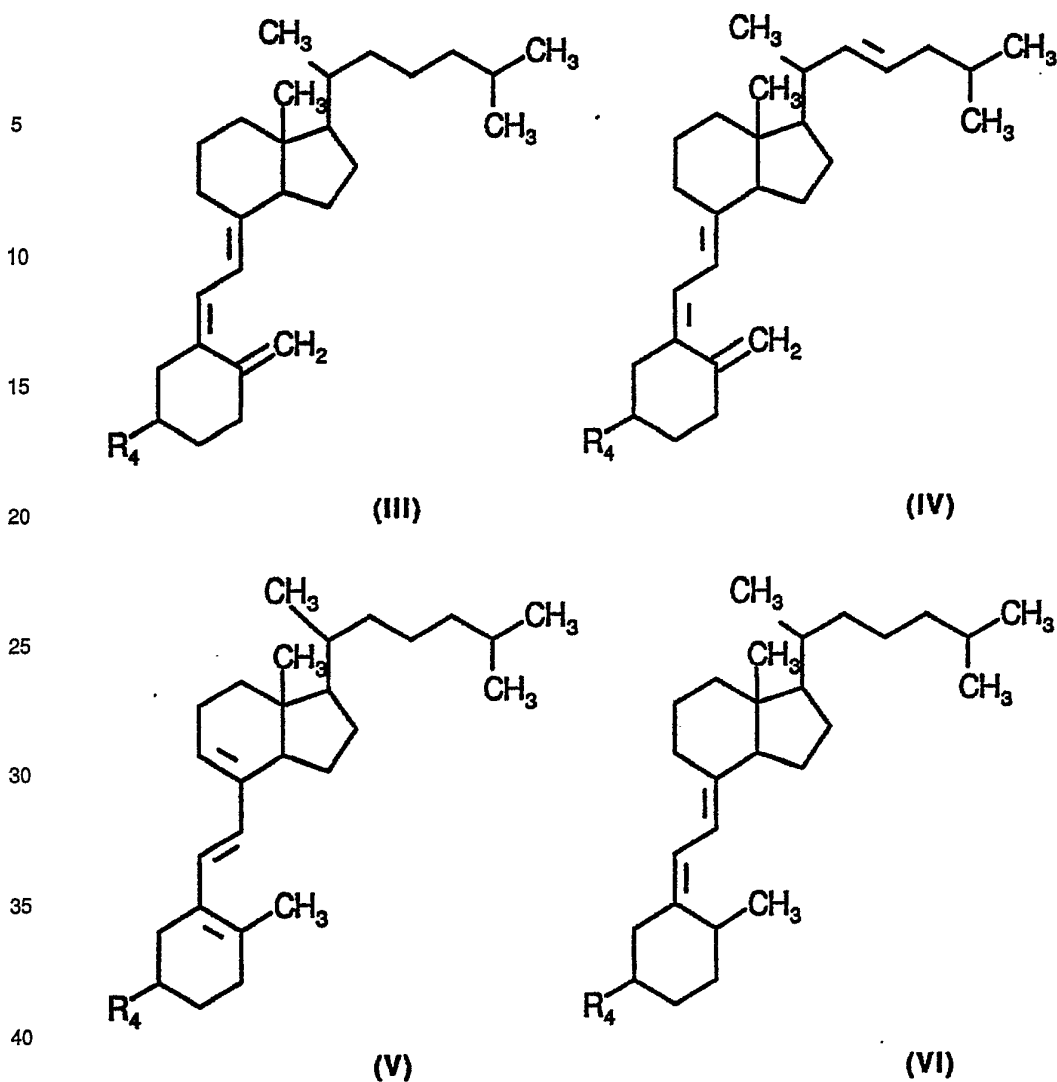
Die vorliegende Erfindung betrifft neue biotenside und antitumorale Ester und Phosphatide mit Vitamin-D- und Vitamin-E-Verbindungen, sowie Verfahren zu ihrer Herstellung wie auch zur Bildung von spontan dispergierbaren Konzentraten.

Die neu synthetisierten Ester und Phosphatide mit Vitamin-D- und Vitamin-E-Verbindungen weisen überraschenderweise eine sehr gute antitumorale Wirkung auf, insbesondere dann, wenn sie in spontan dispergierbare Konzentrate eingearbeitet worden sind.

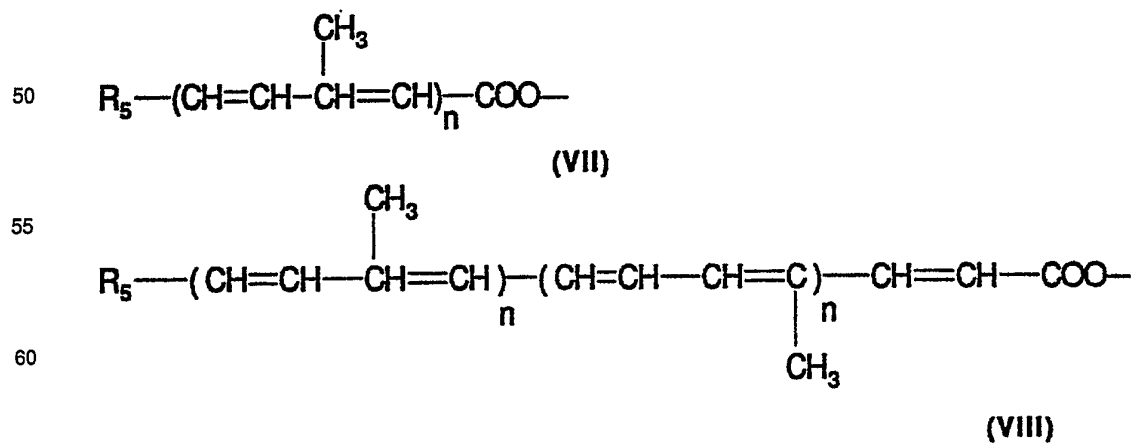
BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

Die neuen Ester und Phosphatide mit Vitamin-D- und Vitamin-E-Verbindungen entsprechen den allgemeinen Formeln (I) bis (VI):

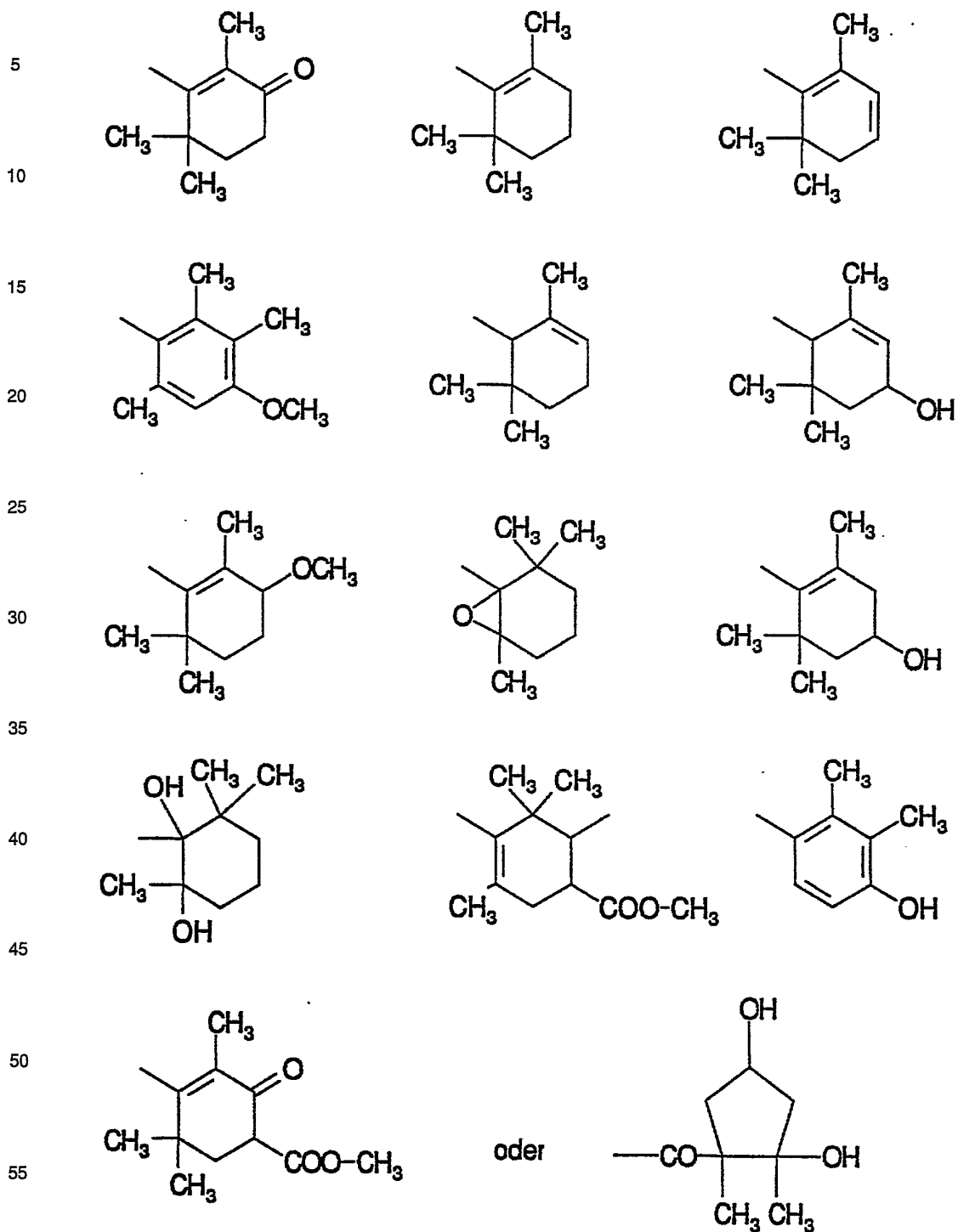


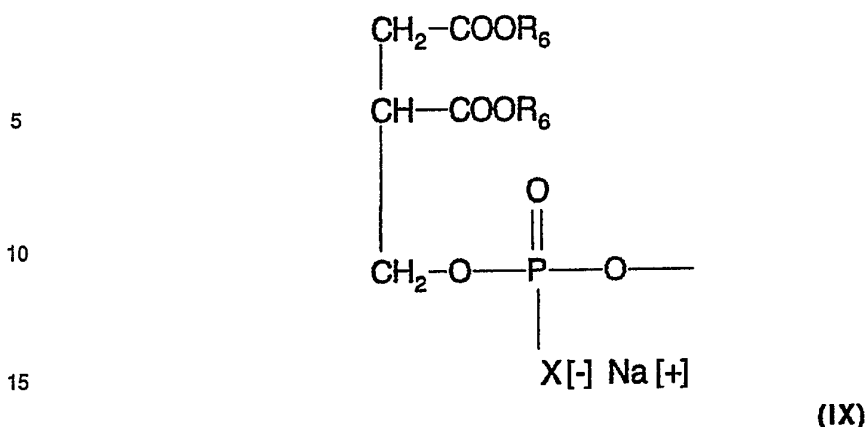


45 wobei in den Formeln (I) und (II) die Radikale R_1 , R_2 und R_3 Wasserstoff oder Methyl bedeuten und das Radikal R_4 in den Formeln (I) bis (VI) eine C_1 bis C_{32} -Alkylcarboxyl-, bzw. eine C_2 - bis C_{32} -Alkenylcarboxyl- oder Alkapolycarboxylgruppe oder eine Gruppe der Formeln (VII) oder (VIII):



darstellt, worin n die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und R_5 für ein Radikal der Formeln





in welcher R_6 eine C_1 - bis C_{32} -Alkyl- oder eine C_2 - bis C_{32} -Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bezeichnen.

Die Gruppen der Formeln (VII) und (VIII) können in verschiedenen stereoisomeren oder Drehformen vorliegen.

Unter Vitamin-D-Verbindungen sind folgende Verbindungen zu verstehen:

Cholecalciferol: (5Z, 7E)-(3S)-9,10-seco-5,7,10 (19)-cholestatrien-3-ol

25-Hydroxycholecalciferol [Calcidiol]:

(5Z, 7E)-(3S)-9,10-seco-5,7,10 (19)-cholestatrien-3,25-diol

1 α -Dihydroxy-cholecalciferol [Calcitriol]:

(5Z, 7E)-(1S, 3R)-9,10-seco-5,7,10 (19)-cholestatrien-1,3,25-triol

Ergocalciferol [Calcitol]:

(5Z, 7E, 22E)-(3S)-9,10-seco-5,7,10 (19),22-Ergostatetraen-3-ol

Tachysterol: (6E)-(3S)-9,10-seco-5, (10)-6,8-cholestatrien-3-ol

Dihydrotachysterol: (5E, 7E)-(3S, 10S)-9,10-seco-5,7-cholestatrien-3-ol

Unter Vitamin-E-Verbindungen sind alle Tocol- und Tocotrienolverbindungen, wie z.B.:

Tocol [2-Methyl-2(4,8,12-Trimethyltridecyl)chroman-6-ol]

α -Tocopherol [5,7,8-Trimethyltocol],

welches in folgenden Konfigurationen vorliegen kann:

12,12,12- α -Tocopherol

2-*epi*- α -Tocopherol

2-*ambo*- α -Tocopherol

all-*rac*- α -Tocopherol

4-*ambo*-8-*ambo*- α -Tocopherol

β -Tocopherol [5,8-Dimethyltocol]

γ -Tocopherol [7,8-Dimethyltocol]

δ -Tocopherol [8-Methyltocol]

Tocotrienol [2-Methyl-2-(4,8,12-Trimethyldeca-3,7,11-trienyl)chroman-6-ol]

ρ_1 - oder ρ_2 -Tocopherol [5,7,8-Trimethyltocotrienol] und

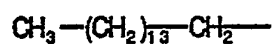
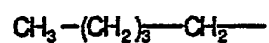
ϵ -Tocopherol [5,8-Dimethyltocotrienol oder ϵ -Tocotrienol] zu verstehen.

Die Alkylcarboxyl-, Alkenylcarboxyl- oder Alkapolyencarboxylgruppen bei R_4 , wie auch die Alkyl-, Alkenyl- oder Alkapolyengruppen bei R_6 können geradkettig oder verzweigt sein. Unter Alkapolyen sind die entsprechenden Alkadiene, Alkatriene, Alkatetraene, Alkapentaene, Alkahexaene und Alkaheptaene begriffen.

Beispiele solcher Gruppen sind u.a.:



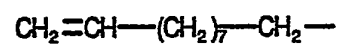
5



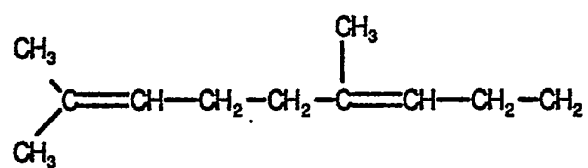
10



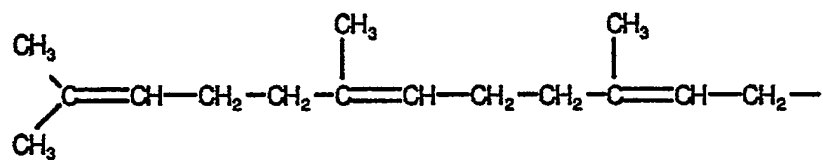
15



20



25



30

35

40

45

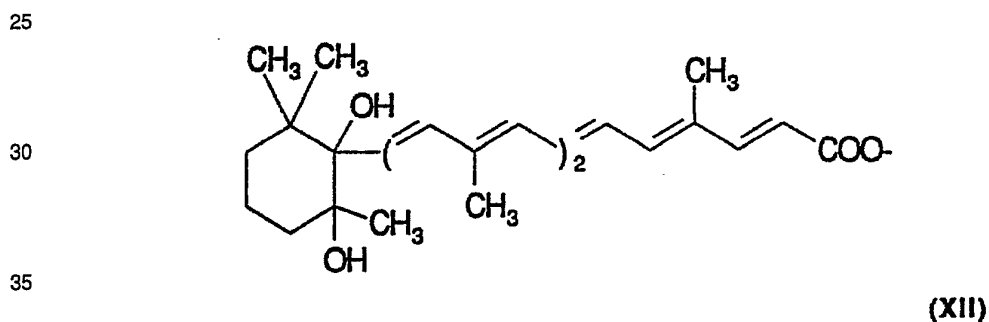
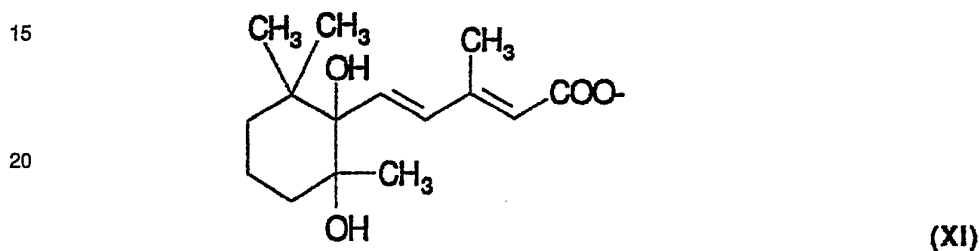
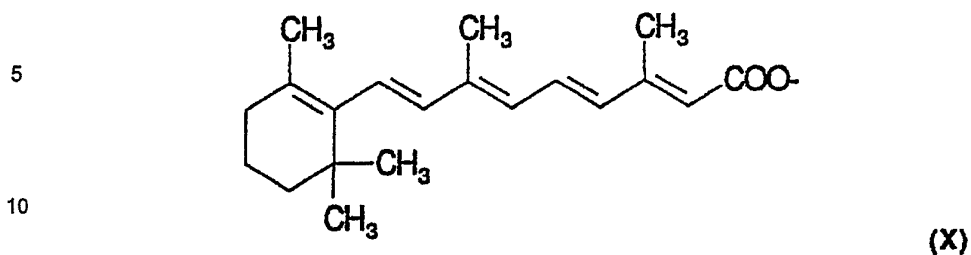
50

55

60

65

Wichtige Gruppen der Formel (VII) sind gekennzeichnet durch die Formeln (X), (XI), bzw. (XII):



Die Gruppe der Formel (X) liegt in verschiedenen stereoisomeren Formen, so z.B. als all-trans, als 9-cis oder als 13-cis Form vor.

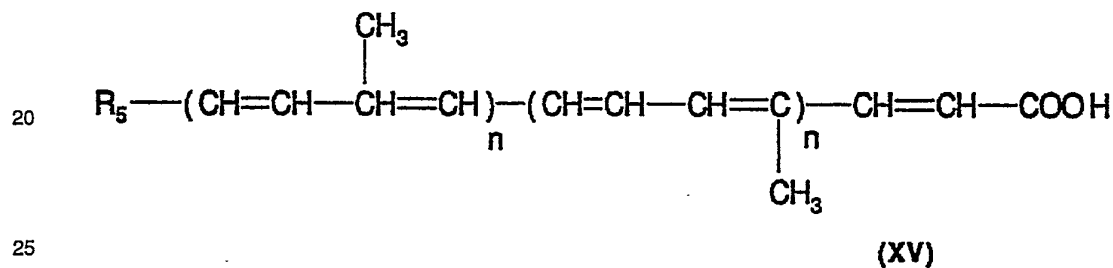
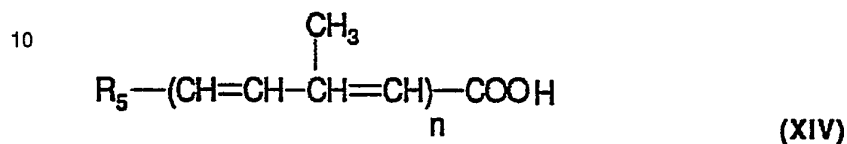
Beispiele von erfindungsgemässen neuen Estern und Phosphatiden mit Vitamin-D- und Vitamin-E-Verbindungen sind u.a.:

- Cholecalciferol-caproylat
- Ergocalciferol-caproylat
- 45 Cholecalciferol-10-undecenoylat
- Ergocalciferol-10-undecenoylat
- Cholecalciferol-laurat
- Ergocalciferol-laurat
- Cholecalciferol-palmitat
- 50 Ergocalciferol-palmitat
- Cholecalciferol-linoleat
- Ergocalciferol-linoleat
- Cholecalciferol-linolenat
- Ergocalciferol-linolenat
- 55 Cholecalciferol-all trans-retinat
- Ergocalciferol-all trans-retinat
- Cholecalciferol-3-ol-1,2,-dipalmitoylglycero-phosphatid
- Cholecalciferol-3-ol-1,2,-dipalmitoylglycero-thiophosphatid
- Cholecalciferol-geranyl-phosphatid
- 60 Cholecalciferol-farnesyl-phosphatid
- Ergocalciferol-3-ol-1,2,-dipalmitoyl-glycero-phosphatid
- Ergocalciferol-3-ol-1,2,-dipalmitoyl-glycero-thiophosphatid
- Ergocalciferol-geranyl-phosphatid
- Ergocalciferol-farnesyl-phosphatid
- 65 DL- α -Tocopherol-10-undecenoat

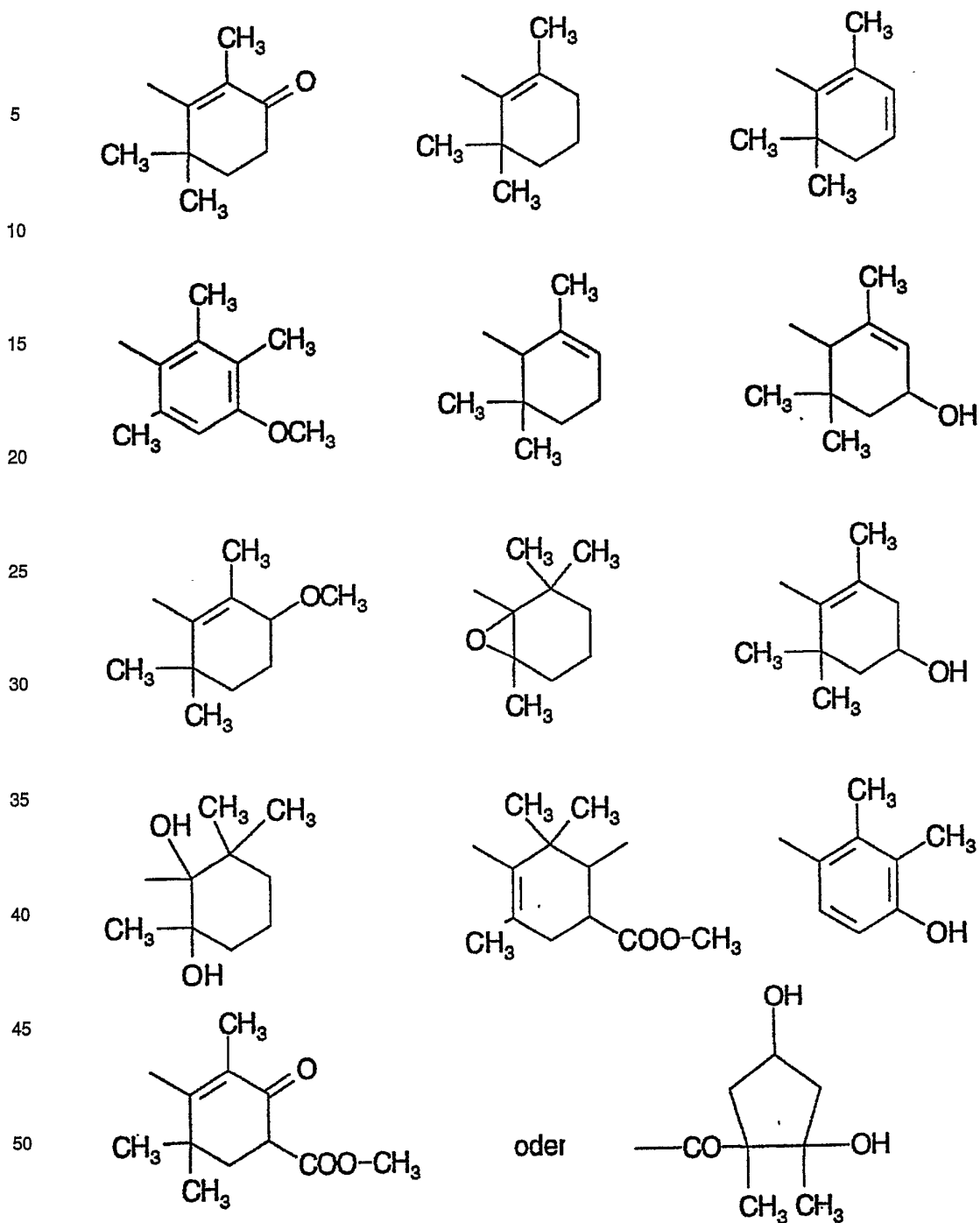
DL- α -Tocopherol-palmitat
 DL- α -Tocopherol-all trans-retinat
 DL- α -Tocopherol-13 cis-retinat

Die Ester, wie auch die Phosphatide mit Vitamin-D- und mit Vitamin-E-Verbindungen der Formeln (I) bis (VI) lassen sich allgemein nach folgenden, an sich bekannten Verfahren herstellen:

a) Umsetzung einer Verbindung der Formeln (XIV) und (XV):

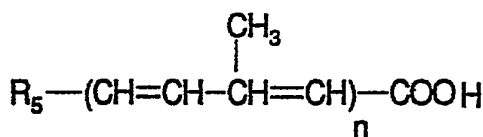


worin n in den Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 ist und R₅ für ein Radikal der Formeln:

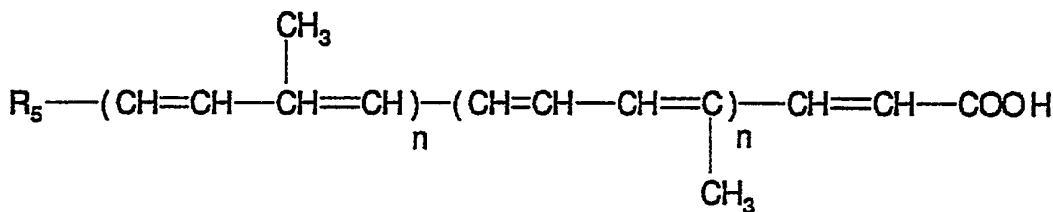


steht, mit N,N'-Carbonyl-diimidazol bei 25 bis 70°C in einem indifferenten Lösungsmittel, wie z.B. Tetrahydrofuran, Benzol, Toluol oder Chloroform und anschliessender Alkoholyse der gebildeten Imidazole unter Zusatz einer katalytischen Menge eines Alkoholates mit einer Vitamin-D- oder Vitamin-E-Verbindung.

b) Bildung des Chlorides, bzw. des Bromides von einer Verbindung der Formeln (XIV), (XV) oder (XVI):



(XIV)



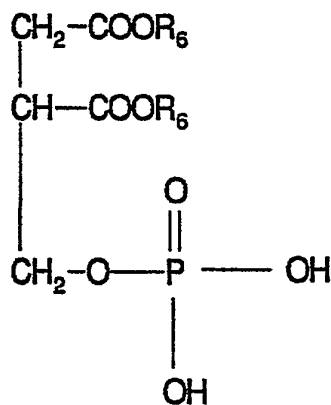
(XV)



(XVI)

worin R_6 eine C_1 - bis C_{32} -Alkyl- oder eine C_2 - bis C_{32} -Alkenyl-, bzw. C_2 - bis C_{32} -Alkapolyengruppe darstellt, mit einem Chlorierungsmittel, bzw. Bromierungsmittel wie z.B. Thionylchlorid, Oxalylchlorid oder Oxalylbromid und anschließender Reaktion der entstandenen Chloride, bzw. Bromide mit einer Vitamin-D- oder Vitamin-E-Verbindung bei einer Temperatur von 40 bis 120°C in einem indifferenten Lösungsmittel und in Gegenwart eines Katalysen.

c) Veresterung einer Verbindung der Formel (XVII):



(XVII)

worin R_6 eine C_1 - bis C_{32} -Alkyl- oder eine C_2 - bis C_{32} -Alkenyl-, bzw. C_2 - bis C_{32} -Alkapolyengruppe ist, in einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Pyridin, Tetrahydrofuran oder Chloroform bei einer Temperatur von 20°C mit Pivaloylchlorid und anschließender Umsetzung des Reaktionsproduktes in der gleichen Lösung mit einer Vitamin-D- oder einer Vitamin-E-Verbindung.

Die neuen Ester sowohl wie die Phosphatide von Vitamin-D- und Vitamin-E-Verbindungen haben überraschenderweise eine ausgezeichnete antitumorale Wirkung, vor allem dann, wenn sie in spontan dispergierbare Konzentrate eingearbeitet worden sind.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind deshalb auch spontan dispergierbare Konzentrate mit erfindungsgemässen Estern und Phosphatiden von Vitamin-D- und Vitamin-E-Verbindungen der Formeln (I) bis (VI). Solche Konzentrate ergeben, mit Wasser versetzt, Mikroemulsionen von hervorragender Phasenstabilität und von überaus deutlich erhöhtem Permeationsvermögen.

Die erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentrate enthalten:

0,001 bis 15 Gewichts-% einzelner Ester oder Phosphatide von Vitamin-D- oder Vitamin-E-Verbindungen der Formeln (I) bis (VI), bzw. Kombinationen solcher Komponenten, sowie

0,001 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches

5 0,001 bis 90 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches

0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins

0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und pharmaverträgliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel.

Die erfindungsgemäss einzusetzenden Tenside oder Tensidgemische können anionaktiv, kationaktiv, amphoter oder nicht-ionogen sein. Am besten sind sie nicht-ionogen und haben ein HLB-Verhältnis (d.h. eine «hydrophilic-lipophilic-balance») zwischen 2 und 18; bevorzugt liegt er zwischen 2 und 6 einerseits und 10 und 15 andererseits. HLB-Werte geben Auskunft über die hydrophilen und lipophilen Eigenschaften eines Emulgators. Vgl. dazu «Hydrophile – Lipophile Balance: History and recent Developments» von Paul Becher im Journal of Dispersion Science and Technology. 5 (1), 81–96 (1984).

15 Geeignete anionische Tenside können sowohl sog. wasserlösliche Seifen als auch wasserlösliche synthetische Verbindungen sein.

Als Seifen eignen sich die Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierten Ammoniumsalze von höheren Fettsäuren (C₁₀ bis C₂₂), wie z.B. die natürlichen Na- oder K-Salze der Öl- oder Stearinsäure, oder von natürlichen Fettsäuregemischen, welche sich u.a. aus Kokosnuss- oder Talgöl gewinnen lassen. Ferner sind als Tenside auch die Fettsäure-Methyltaurinsalze, sowie modifizierte und nicht-modifizierte Phospholipide zu erwähnen.

Häufiger werden jedoch sogenannte synthetische Tenside verwendet, insbesondere Fettsulfonate, Fettsulfate, sulfonierte Benzimidazol-Derivate oder Alkylarylsulfonate.

Die Fettsulfonate und -sulfate liegen in der Regel als Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierte Ammoniumsalze vor und weisen im allgemeinen einen Alkylrest mit 8 bis 22 C-Atomen auf, wobei Alkyl auch den Alkylteil von Acylresten einschliesst. Beispiele hierfür sind das Na- oder Ca-Salz der Ligninsulfonsäure, des Dodecylschwefelsäureesters und Sulfonsäuren von Fettalkohol-Äthylenoxyd-Addukten. Die sulfonierten Benzimidazol-Derivate enthalten vorzugsweise zwei Sulfonsäuregruppen und einen Fettsäurerest mit etwa 8 bis 22 C-Atomen. Alkylaryl-Sulfonate sind z.B. die Na-, Ca- oder Triäthanolaminsalze der Dodecylbenzolsulfonsäure, der Dibutyl-naphthalinsulfonsäure oder eines Naphthalinsulfonsäure-Formaldehyd-Kondensationsproduktes.

Als nicht-ionische Tenside stehen in erster Linie zur Wahl die Polyglykolätherderivate von aliphatischen oder cycloaliphatischen Alkoholen, gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren und Alkylphenolen, welche 3 bis 30 Glykoläthergruppen und 8 bis 20 C-Atome im (aliphatischen) Kohlenwasserstoffrest und 6 bis 18 C-Atome im Alkylrest enthalten können. Weiterhin kommen als nichtionische Tenside in Frage die wasserlöslichen, 20 bis 250 Äthylenglykoläthergruppen und 10 bis 100 Propylenäthergruppen enthaltenden Polyäthylenoxydaddukte an Polypropylenglykol und Alkylpolypropylenglykol mit 1 bis 10 C-Atomen in der Alkylkette. Die genannten Verbindungen enthalten üblicherweise pro Propylenglykoleinheit 1 bis 5 Äthylenglykoleinheiten.

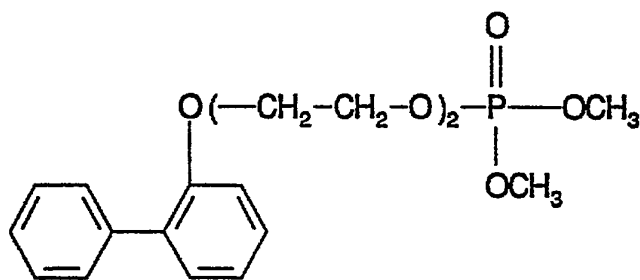
40 Als Beispiele nicht-ionischer Tenside seien erwähnt:

Nonylphenolpolyäthoxyäthanol, Ricinusölpolyglykoläther, Polypropylenpolyäthylenoxyd-Addukte, Tributylphenoxypolyäthoxyäthanol, Polyäthylenglykol und Octylphenoxypolyäthoxyäthanol. Überdies kommen auch Fettsäureester von Polyoxyäthylensorbitan, wie das Polyoxyäthylensorbitan-Triolet, in Betracht.

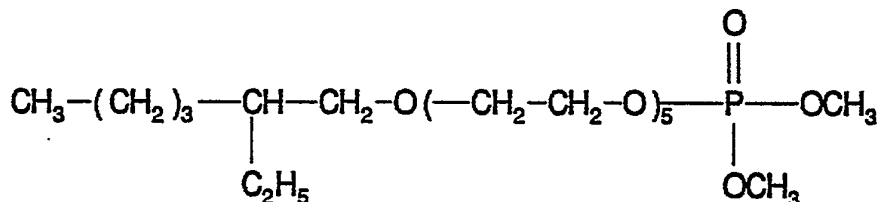
45 Bei den kationischen Tensiden handelt es sich vor allem um quaternäre Ammoniumsalze, welche als N-Substituenten mindestens einen Alkylrest mit 8 bis 22 C-Atomen enthalten und als weitere Substituenten niedrige, gegebenenfalls halogenierte Alkyl-, Benzyl- oder niedrige Hydroxyalkylreste aufweisen. Die Salze liegen vorab als Halogenide, Methylsulfate oder Äthylsulfate vor, z.B. das Stearyltrimethylammoniumchlorid oder das Benzyl-di(2-chloräthyl)-äthylammoniumbromid.

50 In hohem Masse bevorzugt zur Herstellung von erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentraten sind Phosphorsäureestertenside, wie z.B. Tristyrylphenolpolyoxyäthylen-18-mono/dimethylphosphorsäureester (Soprophor® FL, Rhône-Poulenc);

Nonylphenol-10-polyoxyäthylen-mono/dimethylphosphorsäureester (Diphasol® 3873, CIBA-GEIGY);

**(Tensid 508, CIBA-GEIGY);**

Tinovetin® JU (CIBA-GEIGY), ein Hydroxybiphenyl-10-Äthoxy-Phosphorsäureester;
Butyl-mono-4-Äthoxy-Phosphorsäureester (Zerostat® AT, CIBA-GEIGY), bzw.

**(Zerostat® AN, CIBA-GEIGY)**

Als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienende, pharmaverträgliche Lösungsmittel lassen sich einsetzen, z.B.:

Ester eines aliphatischen Alkohols (C_3 bis C_{18}) mit einer aliphatischen Carbonsäure (C_{10} bis C_{22}), wie etwa Isopropyllaurat, Hexyllaurat, Decyllaurat, Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat und Laurylmyristat; Kohlenwasserstoffe mit einer geraden Kohlenstoffkette (C_{12} bis C_{32}), welche mit 6 bis 16 Methylgruppen substituiert ist und 1 bis 6 Doppelbindungen aufweisen kann, wofür Terpene wie Polymethylbutane und Polymethylbutene als Beispiele dienen mögen.

Mono-Ester aus Äthylenglykol oder Propylenglykol mit einer aliphatischen Carbonsäure (C_6 bis C_{22}), wie etwa Propylenglykolmonolaurat und Propylenglykolmonomyristat.

Ester aus einem aliphatischen Alkohol (C_{12} bis C_{22}) mit Milchsäure, wie z.B. Myristyl- oder vorzugsweise Lauryl-Lactat; Mono-, Di- oder Triester des Glycerins mit einer aliphatischen Carbonsäure (C_6 bis C_{22}), wie z.B. Glyceryl-Caprylat, oder Miglyol® 812 Neutralöl (Oleum neutrale).

Ester aus einem Poly(2-7)äthylenglykolyzerinäther mit mindestens einer freien Hydroxylgruppe mit einer aliphatischen Carbonsäure (C_6 bis C_{22}), wie z.B. aliphatische Alkohole (C_{12} bis C_{22}), somit u.a. Dodecanol, Tetradecanol, Oleylalkohol, 2-Hexyldecanol und 2-Octyldecanol.

Ester mit mindestens einer freien Hydroxylgruppe, aus Poly-(2-10)glykol mit einer aliphatischen Carbonsäure (C_6 bis C_{22}), Monoäther aus einem Polyäthylenglykol mit einem aliphatischen Alkohol (C_{12} bis C_{18}), wie z.B. Polyoxyäthylen (C_{10})-octyläther.

Heterocyclische Verbindungen, wie z.B. 1-Methyl-2-Pyrrolidon.

Alle technischen Tenside wurden vor dem Eintrag in die spontan dispergierbaren Konzentrate mittels Filtration, bzw. Chromatographie über neutralem Aluminiumoxyd mit einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Tetrahydrofuran, Äthylalkohol oder Methylenchlorid gereinigt.

Als Zusätze in die erfindungsgemässen spontan dispergierbaren Konzentrate eignen sich Vitamine und Provitamine (wie z.B. Vitamin A, Retinol, Carotine, Tocopherole), sowie auch freie Fettsäuren wie etwa:

Valeriansäure, Isovaleriansäure, Sorbinsäure, Isocaprinsäure, Pelargonsäure, Laurinsäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, Arachidsäure, Behensäure, Hexacosansäure, Octacosansäure, Pentadecansäure, Decenylsäure, Undecenylsäure, Dodecenylsäure, Oleinsäure, Linolsäure, Linolensäure, Arachidonsäure, Erucasäure, etc.

Die zur pharmazeutischen Anwendung erforderliche Tagesdosis beträgt 0,001 bis 25 mg/kg Körpergewicht, wenn möglich verteilt auf 2 bis 3 Einzeldosen. Hiefür lassen sich die neuen Sterolester, bzw. Sterolphosphatide oder die spontan dispergierbaren Konzentrate mit diesen Verbindungen in die gängigen pharmazeutischen Zubereitungen und Darreichungsformen wie Dragées, Tabletten, Kapseln, Pulver,

Granulat, Pellets, Lösungen, Ampullen, Emulsionen, Crèmes oder Zäpfchen zusammen mit den üblichen Trägerstoffen und/oder Verdünnungs- und Stabilisierungsmitteln einarbeiten.

Die Gegenstand der Erfindung bildenden Wirkstoffe, sowie die spontan dispergierbaren Konzentrate, welche diese Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen enthalten, können dem Menschen oral, durch Injektion (intravenös, subkutan oder intramuskulär) oder in anderer Weise verabreicht werden. Wenn sie als feste Darreichungsformen für die orale Verwendung aufbereitet werden, kann dies in Form von Tabletten, Granulaten, Pellets, Pulvern oder Kapseln, usw. geschehen. Die Aufbereitungen können Zusatzstoffe enthalten, z.B. einen Arzneimittelträger wie eine Saccharid- oder Cellulose-Grundlage, ein Bindemittel wie Stärkepasta oder Methyl-Cellulose, ein Füllmittel oder ein Desintegriermittel, usw. – wobei Zusatzstoffe eingesetzt werden, wie sie üblicherweise bei der Herstellung medizinischer oder pharmazeutischer Formulierungen verwendet werden. Wenn die erfindungsgetreuen Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen als flüssige Darreichungsformen zu oraler Verabreichung gelangen, so können sie irgend eine aus wässrigen Zubereitungen für innere Verwendung, aus Suspensionen, Emulsionen und Sirups usw. ausgewählte Form haben, und sie können ausserdem in der Form getrockneter Präparate vorliegen, welche vor ihrer Verwendung in Lösung oder Emulsion gebracht werden.

Wenn die erfindungsgemässen Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen in der Form wässriger Lösungen, Suspensionen oder ölicher, bzw. wässriger Emulsionen, vorzugsweise als Mikroemulsionen aus den erfindungskonformen, spontan dispergierbaren Konzentraten aufbereitet sind, können sie auch injiziert werden. Die Injektionslösungen werden jedoch üblicherweise kurz vor der Anwendung hergestellt, indem man die Extrakte oder Konzentrate in wässrigen, flüssigen Medien wie sterilem Wasser, Glucoselösung oder physiologischer Kochsalzlösung auflöst oder suspendiert.

Falls erforderlich, können zu einem Injektionspräparat üblicherweise verwendete Lösungsmittel, Stabilisierungsmittel, Konservierungsmittel und Zusätze für die Herstellung isotonischer Lösungen hinzugegeben werden. Die auf diese Weise erhaltenen Injektions-Präparate werden intravenös, intramuskulär, subkutan oder in einer anderen geeigneten Weise verabreicht.

Die vorliegende Erfindung betrifft ebenfalls pharmazeutische Präparate, welche die Wirkstoffe, bzw. Wirkstoffgemische, und/oder die beschriebenen, spontan dispergierbaren Konzentrate zur Bekämpfung des Wachstums von Tumorzellen enthalten. Bei den der Erfindung entsprechenden pharmazeutischen Präparaten handelt es sich um solche zur enteralen (wie oralen oder rektalen), sowie zur parenteralen oder topischen Verabreichung an Warmblüter, welche das spontan dispergierbare Konzentrat allein oder zusammen mit einem pharmazeutisch anwendbaren Trägermaterial enthalten.

Die Dosierung der erfindungsgemässen Konzentrate hängt von der Warmblüterspezies, dem Alter und dem individuellen Zustand, sowie von der Verabreichungsart ab. So werden z.B. zur Erzielung eines Abtötungseffektes von Tumorzellen an Warmblütern mit geringem Körpergewicht, wie z.B. Mäusen, Ratten und Hamstern, bei subkutaner Verabreichung Dosen im Bereich von ca. 0,1 bis 50 mg/kg Körpergewicht, und bei intraperitonealer Verabreichung Dosen im Bereich von 0,05 bis 5 mg/kg Körpergewicht angewandt.

Die oralen und rektalen Formen der neuen pharmazeutischen Präparate enthalten zwischen 1 bis 95%, vorzugsweise zwischen 10 bis 95%, insbesondere zwischen 20 bis 95% des erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentrates. Sie können z.B. in Dosis-Einheitsform vorliegen, also als Dragées, Micropellets, Tabletten, Suppositorien oder Ampullen und vor allem als Kapseln.

Geeignete pharmazeutisch anwendbare Trägerstoffe für die oralen Formen sind hauptsächlich Füllstoffe, wie Zucker (z.B. Lactose, Saccharose, Mannit oder Sorbit), Cellulosepräparate und/oder Calciumphosphate (z.B. Tricalcium- oder Calciumhydrogenphosphat), ferner Bindemittel wie Stärkekleister unter Verwendung von u.a. Mais-, Weizen-, Reis- oder Kartoffelstärke, Gelatine, Tragant, Methylcellulose, Hydroxyl-Methylcellulose, Hydroxypropyl-Methylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und/oder Polyvinylpyrrolidon und/oder Sprengmittel (wenn erwünscht), wie die obgenannten Stärken, ferner Carboxymethylstärke, quervernetztes Polyvinylpyrrolidon, Agar, Alginsäure oder ein Salz davon, wie z.B. Natriumalginat.

Als Fließregulierungsmittel sind z.B. die Polyäthylenglykole Nr. 200 bis 600 und hoher geeignet.

Die beim Menschen als Darreichungsform bevorzugten Gelatinekapseln werden mit geeigneten Überzügen versehen, wobei man u.a. konzentrierte Zuckerlösungen – welche gegebenenfalls arabischen Gummi, Talk, Polyvinylpyrrolidon, Polyäthylenglykol und/oder Titandioxid enthalten – Lacklösungen (wässrige oder solche, die unter Verwendung organischer Lösungsmittel aufbereitet worden sind), oder magensaftresistente Überzüge aus Lösungen von geeigneten Cellulosepräparaten, wie mikro-kristalliner Cellulose (Avicel®), Acetylcellulosephthalat, Hydroxymethylcellulosephthalat (Metolose®), Hydroxymethylcelluloseacetatsuccinat (AQOAT™) oder einem Copolymerisat wie Eudragit® L 30 D verwendet.

Als erfindungsgemäss besonders geeignete, oral anwendbare pharmazeutische Darreichungsform eignen sich Steckkapseln aus Gelatine und einem Weichmacher, wie Glycerin oder Sorbitol. Die Weich- bzw. Hartgelatine-Kapseln, sowie solche aus AQOAT™ (Hydroxypropyl-Methylcellulose-Acetat-Succinat) können das der Erfindung entsprechende, spontan dispergierbare Konzentrat im Gemisch mit Füllstoffen, wie Laktose, Bindemitteln wie Stärke und/oder Gleitmitteln wie Talk oder Magnesium-Stearat und gegebenenfalls mit Stabilisatoren und Antioxydantien wie z.B. α -, β - oder γ -Tocopherol enthalten.

Der Einsatz von geeigneten Flüssigkeiten wie flüssigen Polyäthylenglykolen No. 200 bis 600 als Verdünnungsmittel kann sich empfehlen, wobei sich ebenfalls Stabilisatoren und Antioxydantien zufügen lassen.

Zur parenteralen Verabreichung werden die erfindungsgemässen Konzentrate mit destilliertem Wasser versetzt. Der entstehenden wässrigen Injektions-Mikroemulsion können viskositätserhöhende Stoffe, wie z.B. Na-Carboxymethylcellulose, Sorbit, Mannit und/oder Dextran, und gegebenenfalls auch Stabilisatoren und Antioxydantien zugefügt werden.

Die pharmazeutischen Präparate für die parenterale Anwendung enthalten vorzugsweise zwischen 0,1 bis 60%, und hauptsächlich zwischen 1 bis 40% des erfindungskonformen, spontan dispergierbaren Konzentrates.

Als topisch anwendbare Präparate, welche sich vornehmlich zur Prophylaxe und Therapie von Hautkrebsarten eignen, kommen z.B. Crèmen, Salben, Pasten, Pomaden, Schäume, Tinkturen und Lösungen in Betracht, welche zwischen 0,01 bis 70% des erfindungsgemässen Konzentrates enthalten.

Für Crèmen und Öl-in-Wasser-Emulsionen, welche mehr als 50% Wasser aufweisen, verwendet man als ölige Grundlage in erster Linie Fettalkohole, z.B. Lauryl-, Cetyl- oder Stearylalkohol, flüssige bis feste Wachse, z.B. Isopropylmyristat, Woll- oder Bienenwachs und/oder Kohlenwasserstoffe wie z.B. Vaseline (Petrolatum) oder Paraffinöl. Zur Emulgierung dieser öligen Grundlagen eignen sich in erster Linie oberflächenaktive, pharmaverträgliche Substanzen mit vorwiegend hydrophilen Eigenschaften, wie z.B. nicht-ionogene Emulgatoren, vorab Fettsäureester von Polyalkoholen oder Äthylendioxydaddukten (etwa Polyglycerinfettsäureester oder Polyäthylensorbitan-Fettsäureester) mit einem HLB-Wert von unter 8. Zusätze zur Wasserphase sind u.a. Mittel, welche die Austrocknung der Crèmen vermindern, z.B. Polyalkohole wie Glycerin, Sorbit, Propylenglykol und/oder Polyäthylenglykole No. 200 bis 600, ferner Konservierungsmittel, Riechstoffe, etc.

Salben sind Wasser-in-Öl-Emulsionen, die bis zu 70%, vorzugsweise jedoch zwischen 20 und 50% Wasser oder wässrige Phasen enthalten.

Als Fettphase kommen in erster Linie Kohlenwasserstoffe, z.B. Vaseline, Paraffinöl und/oder Hartparaffine in Frage, welche zur Verbesserung des Wasserbindungsvermögens geeignete Hydroxydverbindungen, wie z.B. Fettalkohole oder Ester, davon etwa Cetylalkohol oder Wollwachsalkohole, enthalten.

Fallweise werden noch Emulgatoren mit einem HLB-Wert von 8 bis 16, wie z.B. Sorbitan-Fettsäureester (etwa Sorbitanisostearol) zugesetzt. Zusätze zur Wasserphase sind u.a. Feuchthaltungsmittel, wie Polyalkohole (Glycerin, Propylenglykol, Sorbit und/oder Polyäthylenglykole No. 200, 400, 600); ferner Konservierungsmittel, Riechstoffe, etc.

Fettsalben sind wasserfrei und enthalten als Grundlage vornehmlich Kohlenwasserstoffe, z.B. Paraffin, Vaseline und/oder flüssige Paraffine; überdies natürliche oder partial synthetische Fette wie z.B. Kokosfettsäuretriglycerid, ferner: Fettsäurepartialester des Glycerins, wie z.B. die im Zusammenhang mit den Salben erwähnten, die Wasser-Aufnahmefähigkeit steigernden Fettalkohole, Emulgatoren und/oder Zusätze.

Pasten sind Crèmen und Salben mit sekretabsorbierenden Puderbestandteilen, wie beispielsweise Metalloxide (etwa Titanoxid oder Zinkoxid), ferner Talk und/oder Aluminiumsilikate, welche die Aufgabe haben, vorhandene Feuchtigkeit oder Sekrete zu binden.

Schäume werden aus Druckbehältern verabreicht und sind in Aerosolform vorliegende Öl-in-Wasser-Emulsionen der erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentrate, wobei halogenierte Kohlenwasserstoffe (wie z.B. Chlorfluorniederalkane: etwa Dichlordifluormethan und Dichlortetrafluoräthan) als Treibmittel verwendet werden. Dazu kommen gegebenenfalls die üblichen Zusätze wie Konservierungsmittel, usw.

Verfahrensbeispiele zur Herstellung der erfindungsgemässen Ester und Phosphatide mit Vitamin-D- und Vitamin-E-Verbindungen.

1. Herstellung von DL- α -Tocopherol-palmitat

Zu 450 mg DL- α -Tocopherol und 50 mg Dimethylformamid in 30 ml Toluol werden bei 20°C 350 mg Palmitoylchlorid (ca. 20% Überschuss) in 20 ml Toluol zugetropft.

Die Reaktionslösung wird am Rückfluss während drei Stunden auf 80°C erhitzt. Anschliessend wird das Lösungsmittel durch Vakuumdestillation entfernt und der Rückstand in Acetonitril umkristallisiert. Man erhält das reine DL- α -Tocopherolpalmitat mit einem Schmelzpunkt von 53° – 55°C.

Auf gleiche Weise werden auch folgende Verbindungen hergestellt:

CH 681 152 A5

5	DL- α -Tocopherolpivaloylat	BI	1.50102		
	DL- α -Tocopherolvalerat	BI	1.49528		
	DL- α -Tocopherolcaproylat	UV	296,8 233,6	BI	1.48018
	DL- α -Tocopherolcrotonat	BI	1.50378		
	DL- α -Tocopherol-10-undecenoat	UV	296,6 233,6	BI	1.49188
10	DL- α -Tocopherol-2-dodecenoat	UV	296,4 233,0	BI	1.49388
	DL- α -Tocopherololeat	BI	1,48158		
15	Ergocalciferolpivaloylat	BI	1.52148		
	Ergocalciferolvalerat	BI	1.53924		
	Ergocalciferolcaproylat	UV	302,4 290,4	BI	1.53010
	Ergocalciferollaurat	UV	301,6 289,0		
	Ergocalciferolpalmitat	BI	1.50316		
20	Ergocalciferolcrotonat	UV	300,4 288,6	BI	1.55342
	Ergocalciferol-10-undecenoat	UV	302,4 292,4	BI	1.50360
	Ergocalciferololeat	BI	1.52620		
25	Cholecalciferolpivaloylat	BI	1.51292		
	Cholecalciferolvalerat	BI	1.52714		
	Cholecalciferolcaproylat	BI	1.51756		
30		IR	2931 cm ⁻¹	v(CH)	
			2870 cm ⁻¹	v(CH)	
			1722 cm ⁻¹	v(C=O)	Ester
			1467 cm ⁻¹	δ (CH)	
			1370 cm ⁻¹	δ (CH ₃)	
35			1171 cm ⁻¹	v(C-O)	
			959 cm ⁻¹	δ (CH)	Vinyliden
40	Cholecalciferolpalmitat	BI	1.51418		
		IR	2928 cm ⁻¹	v(CH)	
			2855 cm ⁻¹	v(CH)	
			1723 cm ⁻¹	v(C=O)	Ester
			1467 cm ⁻¹	δ (CH)	
45			1370 cm ⁻¹	δ (CH ₃)	
			1184 cm ⁻¹	v(C-O)	
			959 cm ⁻¹	δ (CH)	Olefin. CH
50	Cholecalciferolcrotonat	BI	1.55444		
		IR	2955 cm ⁻¹	v(CH)	
			1717 cm ⁻¹	v(C=O)	
			1467 cm ⁻¹	δ (CH)	
			1369 cm ⁻¹	δ (CH ₃)	
55			1189 cm ⁻¹	v(C-O)	
			959 cm ⁻¹	δ (CH)	Olefin. CH
60					
65					

Fortsetzung

5	Cholecalciferol-10-undecenoat	BI	1.51796		
		IR	2931 cm ⁻¹	v(CH)	
			1725 cm ⁻¹	v(C=O)	
			1458 cm ⁻¹	δ(CH)	
			1371 cm ⁻¹	δ(CH ₃)	
10			1179 cm ⁻¹	v(C-O)	
		δ(CH)}	974 cm ⁻¹	{ δ(CH)	
		trans}	913 cm ⁻¹	{ δ(CH) of	CH=CH ₂
15	Cholecalciferololeat	BI	1.52092		
		IR	2931 cm ⁻¹	δ(CH)	
			1723 cm ⁻¹	v(C=O)	
			1458 cm ⁻¹	δ(CH)	
			1372 cm ⁻¹	δ(CH ₃)	
20			1187 cm ⁻¹	v(C-O)	
			973 cm ⁻¹	δ(CH)	trans
25	Cholecalciferol-all trans-retinat	NIR	1627 cm ⁻¹	(C=C)	[D ₃]
			1583 cm ⁻¹	(C=C)	[Retinat]
30	Cholecalciferolcrotonat	BI	1.55444		
	Cholecalciferol-10-undecenoat	BI	1.55796		
	Cholecalciferololeat	BI	1.52092		

35

2. Herstellung von Ergocalciferollinolenat

Zu 300 mg Linolensäure in 20 ml Toluol tropft man bei 10°C 200 mg Oxalylchlorid in 30 ml Toluol. Die Reaktionslösung wird bei 20°C 24 Stunden stehen gelassen.

40 Anschliessend werden unter Vakuum 10 ml Toluol abdestilliert und dann 400 mg Ergocalciferol sowie 50 mg Dimethylformamid zugesetzt. Nach 2stündiger Erhitzung bei 90°C wird das Lösungsmittel durch Vakuumdestillation entfernt. Der Rückstand wird auf einer Silicagelsäule mit Cyclohexan/Essigester (80:20) als Eluiermittel chromatographiert. Man erhält das Ergocalciferollinolenat, mit einem Brechungsindex n_D 20°C (BI, englisch RI) von 1,48452 *)

45

50	Ergocalciferol-Linolenat	IR	2931 cm ⁻¹	δ(CH)	
			1723 cm ⁻¹	v(C=O)	
			1458 cm ⁻¹	δ(CH)	
			1372 cm ⁻¹	δ(CH ₃)	
			1187 cm ⁻¹	v(C-O)	
55			973 cm ⁻¹	δ(CH)	trans

Auf entsprechende Weise werden auch folgende Verbindungen hergestellt:

60

65

	DL- α -Tocopherololeat	BI	1.49302		
	Cholecalciferollinoleat	BI	1.54030		
5					
	DL- α -Tocopherollinoleat	BI	1.48290		
	Ergocalciferollinoleat	BI	1.53274		
	Cholecalciferollinoleat	BI	1.52138		
10	DL- α -Tocopherollinoleat	BI	1.48888		
	Ergocalciferol-all trans-retinat	UV 292,8	BI	1.51670	
15		IR	2958 cm ⁻¹	v(CH)	
			2871 cm ⁻¹	v(CH)	
			1701 cm ⁻¹	v(C=O)	
			1608 cm ⁻¹	v(C=C)	
20			1583 cm ⁻¹	v(C=C)	
			1457 cm ⁻¹	δ (CH)	
			1239 cm ⁻¹	v(C=O)	
			1153 cm ⁻¹	v(C=O)	
25			1016 cm ⁻¹	v(C=O)	
			970 cm ⁻¹	trans C=C	δ (CH)
	Cholecalciferol-all trans-retinat	BI	1.48774		
30		IR	2958 cm ⁻¹	v(CH)	
			2871 cm ⁻¹	v(CH)	
			1701 cm ⁻¹	v(C=O)	
			1608 cm ⁻¹	v(C=C)	
35			1583 cm ⁻¹	v(C=C)	
			1457 cm ⁻¹	δ (CH)	
			1239 cm ⁻¹	v(C=O)	
			1153 cm ⁻¹	v(C=O)	
40			1016 cm ⁻¹	v(C=O)	
			970 cm ⁻¹	trans C=C	δ (CH)
		NIR	1627 cm ⁻¹	(C=C)	[D ₃]
45			1583 cm ⁻¹	(C=C)	[Retinat]
	DL- α -Tocopherol-all trans-retinat	BI	1.55350		
		NIR	1583 cm ⁻¹	(C=C)	[Retinat]
50	Ergocalciferol-13 cis-retinat	NIR	1627 cm ⁻¹	(C=C)	[D ₂]
			1585 cm ⁻¹	(C=C)	[Retinat]
	Cholecalciferol-13 cis-retinat	NIR	1627 cm ⁻¹	(C=C)	[D ₃]
			1583 cm ⁻¹	(C=C)	[Retinat]
55	DL- α -Tocopherol-13 cis-retinat	NIR	1583 cm ⁻¹	(C=C)	[Retinat]

*) N.B.: BI = Brechungsindex, Refraction Index, gemessen im DUR Refractometer Schmidt + Haensch, Berlin.

IR = Infrarot-Spektren gemessen am Spektrophotometer Perkin-Elmer 683G

NIR = Near Infrared (FT RAMAN) Spektren, gemessen am Spektrometer BRUKER IFS 88 mit RAMAN Modul FRA 106 und NIR Neodym-YAG Laser, Anregung bei 1064 nm

UV-Spektren gemessen am Spektrophotometer Shimadzu UV-160A

3. Herstellung von Ergocalciferol-Azafrinat

Zu 80 mg Azafrinsäure [Herstellung vgl. *Helv.Chim.Acta* **58** (1975) 1722–1727 oder *Helv.Chim.Acta* **65** (1982) 353–354] in 50 ml Chloroform werden bei 20°C 65 mg N,N'-Carbonyldiimidazol zugesetzt. Man lässt die Reaktionslösung während 12 Stunden bei 20°C stehen und setzt dann 40 mg Ergocalciferol zu. Nach weiteren 12 Stunden bei 30°C wird das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand in 30 ml Essigester aufgenommen. Diese Lösung schüttelt man einmal mit 1/10N Salzsäure und einmal mit 1/10N Natronlauge aus. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wird der Rückstand auf einer Silicagelsäule mit Hexan/Essigester (80:20) als Eluiermittel chromatographiert.

Man erhält das Ergocalciferolazafrinat mit einem Schmelzbereich von 171–173°C, UV-Absorption 429,5 nm.

4. Herstellung von Ergocalciferol-1,2-dipalmitoyl-glycero-phosphatid und Ergocalciferol-1,2-dipalmitoyl-glycero-thiophosphatid

1,2-Dipalmitoyl-glycero-3-H-phosphonat Triäthylammoniumsalz wird genau nach der Vorschrift von I. Linth und J.J. Stawinski in *J.Org.Chem.* **54**, 1338–1342 (1989): «Synthesis of Glycerophospholipids and their Analogues via H-Phosphonate Intermediates» hergestellt. Auf die chromatographische Zwischenreinigung des Reaktionsproduktes wird verzichtet; das Rohprodukt wird demnach unmittelbar in der nächsten Stufe eingesetzt.

600 mg Rohprodukt und 600 mg Ergocalciferol werden in 15 ml Pyridin gelöst und im Vakuum zur Trockene gebracht. Der Rückstand wird erneut in 15 ml Pyridin gelöst, und unter Rühren werden 0,2 ml Pivaloylchlorid zugegeben. Nach 30minütigem Rühren unter Feuchtigkeitsausschluss bei 20°C werden nochmals 0,1 ml Pivaloylchlorid zugefügt und nochmals 30 Min. bei 20°C gerührt.

Die Reaktionslösung wird in zwei Teile geteilt: zur einen Hälfte der Lösung werden unter Rühren 150 mg Jod in 2 ml Pyridin-Wasser 98:2 gegeben. Nach 30 Min. Rühren bei 20°C wird das Reaktionsgemisch in 50 ml Chloroform aufgenommen. Die Lösung wird einmal mit 20 ml 5%iger Na-Bisulfit-Lösung und zweimal mit je 20 ml Wasser gewaschen. Die wässrigen Phasen werden mit 50 ml Chloroform zurückgewaschen und die vereinigten Chloroformphasen im Vakuum zur Trockene eingedampft.

Zur anderen Hälfte der Lösung werden 150 mg Schwefel in 2 ml Pyridin-Toluol 1:1 gegeben. Die Lösung wird drei Stunden bei 20°C gerührt, in 50 ml Chloroform gelöst, zweimal mit je 20 ml Wasser gewaschen und im Vakuum zur Trockene eingedampft.

Die beiden Rohprodukte werden an Silicagel mit Chloroform/Hexan 2:1, bzw. 8:1 als Eluiermittel chromatographiert. Man erhält das Ergocalciferol-1,2-dipalmitoylglycerophosphatid mit einem Schmelzpunkt von 168 bis 170°C und das Ergocalciferol-dipalmitoylglycerothiophosphatid mit einem Schmelzbereich von ca. 145–150°C.

Auf vergleichbare Weise werden auch folgende Verbindungen hergestellt:

Ergocalciferol-geranyl-phosphatid
Ergocalciferol-farnesyl-phosphatid
Cholecalciferol-geranyl-phosphatid
Cholecalciferol-farnesyl-phosphatid
DL- α -Tocopherol-geranyl-phosphatid
DL- α -Tocopherol-farnesyl-phosphatid

CH 681 152 A5

Rf.-WERTE von erfindungsgemässen Verbindungen, welche nach den Verfahrenbeispielen 1 bis 4 hergestellt worden sind:

5 1%-Lösung in CH₂Cl₂, bandförmig aufgetragen cm/2 - l
LINOMAT III CAMAG 10 cm run
UV 366 nach 1:1 H₂SO₄/MeOH 2 min 120°C

System	1	2	3	4	5	6	7
Verbindung							
10 TOCO-C 8:0	0.04	0.02	0.09	0.28	0.59	0.36	0.18
TOCO-C 11:1	0.04	0.25	0.09	0.28	0.59	0.36	0.18
TOCO-C 16:0	0.14	0.08	0.33	0.78	0.96	0.83	0.59
15 TOCO-trans-RET.	0.08	0.04	0.26	0.76	0.93	0.85	0.54
TOCO-C 18:1	0.06	0.09	0.40	0.90	1.0	0.95	0.74
20 D ₂ -C 16:0	0.25	0.13	0.35	0.89	1.0	1.0	0.88
D ₂ -trans-RET.	0.21	0.1	0.33	0.85	0.97	1.0	0.83
D ₃ -C 11:1	0.22	0.13	0.42	0.87	0.88	0.92	0.75
25 D ₃ -trans-RET.	0.15	0.14	0.41	0.89	1.0	0.94	0.79

Erklärung:
System 1 Platte Merck Art. 5715 Petroläther/Diäthyläther 97:3
System 2 Platte Merck Art. 5715 Petroläther/Diäthyläther 98:2
System 3 Platte Merck Art. 5715 Cyclohexan/Äthylacetat 97:3
30 System 4 Platte Macherey Nagel RP 18w Art. 811 071 Petroläther/Diäthyläther 95:5
System 5 Platte Macherey Nagel RP n-Hexan/t-Butylmethyläther/Aceton 90:5:5
System 6 Platte Macherey Nagel RP Petroläther/Cyclohexan/Äthylacetat/H₂O 48:48:3:1
System 7 Platte Macherey Nagel RP Petroläther/Diäthyläther 97:3

35

Zusammensetzungsbeispiele von erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Mitteln, welche als antitumorale Wirkstoffe Sterolester und/oder Sterolphosphatide gemäss den Formeln (I) bis (XIII) enthalten

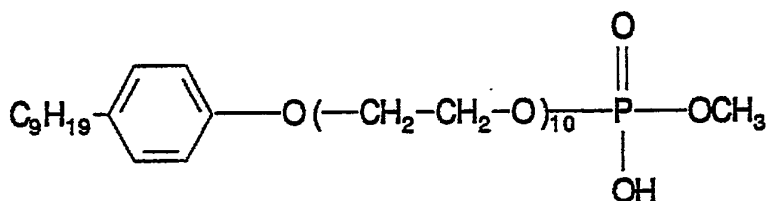
- 40 a) 7,5 bis 15 Gewichts-% eines oder mehrerer Ester und/oder Phosphatide mit Vitamin-D- oder Vitamin-E-Verbindungen der Formeln (I) bis (VI)
0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat oder Miglyol® 812 (Dynamit Nobel)
20 bis 45 Gewichts-% Diphazol® 3873 (CIBA-GEIGY)
45 20 bis 45 Gewichts-% Invadin® JFC 800% (CIBA-GEIGY)
b) 7,5 bis 15 Gewichts-% eines oder mehrerer Ester und/oder Phosphatide mit Vitamin-D- oder Vitamin-E-Verbindungen der Formeln (I) bis (VI)
0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat oder Miglyol® 812 (Dynamit Nobel)
20 bis 45 Gewichts-% Invadin® JFC 800% (CIBA-GEIGY)
50 20 bis 45 Gewichts-% Soprophor® FL (Rhône-Poulenc)

Miglyol® 812-Neutralöl ist ein Neutralöl (Oleum neutrale) der Firma Dynamit Nobel, das einem gemischtsäurigen Triglycerid der fraktionierten Kokosfettsäuren C₈ bis C₁₀ entspricht.

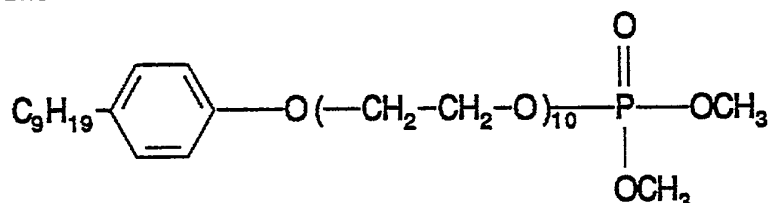
55 Diphazol® 3873 ist ein Mischemulgator, bestehend aus je 50% der beiden Verbindungen mit den Formeln:

60

65



und



Invidin® JFC 800% (CIBA-GEIGY) ist ein tert. Octylphenylpolyoxyäthylenäther mit 9 bis 10 Oxyäthylengruppen.

Soprophor® FL (Rhône-Poulenc) ist ein Tristyrylphenolpolyoxyäthylen-18-mono/dimethyl-Phosphorsäureester.

Experimenteller Nachweis des Spreitungs- und Wanderungsvermögens der erfindungsgemässen Konzentrate und Microemulsionen.

Methode:

DC-Platte 0,25 mm Kieselgel 60F254, Merck Art. No. 11 798 mit Konzentrationszone

Laufmittel: PBS Dulbecco's ohne Ca und Mg (= Ringerlösung, bzw. Kochsalzlösung, gepuffert)

Entwicklungszeit: 15 Minuten

Ergebnis: Rf.-Werte

	0,1% Substanz, gelöst in Methylenchlorid Rf.-Werte	Konzentrat 1000 ppm
Ergocalciferol-C 8:0	0	21,21
Ergocalciferol-all trans Retinat	0	48,39
Ergocalciferol-all trans Retinat: (mit DL- α -Tocopherol-Acetat als Co-Emulgator)	0	45,45
DL- α -Tocopherol-C 8:0	0	21,21
DL- α -Tocopherol-10-undecenoat	0	59,68
DL- α -Tocopherol-C 16:0	0	48,48
P.S. Microemulsion 1:1000 = 1000 ppm Wirksubstanz = 1 mg/ml.		

Die oben angeführten Rf.-Werte vermitteln wichtige Hinweise auf das Verhalten der erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentrate, welche mit den neuen Verbindungen der Formeln (I) bis (VI) gebildet und mit Wasser verdünnt werden, in den Zellverbänden und insbesondere an den Zellmembranen. Durch die geringe Oberflächenspannung für diese Konzentrate mit Werten von 30 bis 32 mN/m, den kleinen Teilchenradius der sich ausbildenden Mikromizellen, sowie die niedrige Viskosität der Emulsionen werden vorab das Diffusionsvermögen und die Spreitung der neuen, antitumoralen Verbindungen der Formeln (I) bis (VI) in ausnehmend günstiger Weise beeinflusst. Kontrollmessungen, ausgeführt am Institut für Polymere der ETH, Zürich, haben ergeben, dass die Radien für die Mizellen um 1 nm betragen (Prof. Dr. Pierluigi LUISI und PD Dr. Peter SCHURTENBERGER).

Beispiel für die pharmazeutische Herstellung eines Systempräparates mit erfindungsgemässen Konzentraten in der Form von «multiple units».

5	a) Granulierung	
	Metolose® 90 SH-4000 (Shin-Etsu Chemical)	90.0 g
	Avicel® PH-101	80.3 g
	Erfindungsgemässes KONZENTRAT	139.4 g
	Aerosil® 200	80.3 g
10	Σ	390.0 g

Granulieren/formen im Schnellmischer oder im Rotationsbett unter Zusatz von 110 g Ethanol, brechen, sieben 18 bis 42 mesh, trocknen 24 h bei 40°C.

b) MSR- und RETARD-Ausrüstung im Rotationsbett mit AQOAT® AS-HG (Shin-Etsu Chemical) und Talk

20	c) Zusammensetzung fertiges Granulat/bzw. Micropellets	
	Kernmaterial	44%
	Erfindungsgemässes KONZENTRAT	25%
	MSR-Beschichtung	31%
	Σ	100%

N.B.: MSR = Magensaft-Resistenz. Die Pellets/Granulate gemäss a) können auch ohne Befilmung unmittelbar in Kapseln abgefüllt werden, welche aus AQOAT™ (HPMC-AS-M oder HPMC-AS-N) hergestellt sind, mit Aceton/Ethanol 1:1 verschlossen werden und so die Funktionen der MSR und der verzögerten Abgabe (Retard) angemessen steuern.

Biologische Prüfungen

Die antitumorale Wirkung von spontan dispergierbaren Konzentraten mit Wirkstoffen gemäss den Aufarbeitungsbeispielen No. 1 bis 4 wird anhand folgender Prüfungsergebnisse bestätigt:

1. In vitro-Tests mit geeigneten Tumorzell-Linien

Es wurde ein biologisches Assay-System entwickelt, das mit Mikrotiterplatten und Verdünnungsreihen arbeitet. Angesetzt werden je 10⁴/ml Tumorzellen in Kulturmedium RPMI 1640 mit 10% fötalem Kalbserum inaktiviert (GIBCO); sie werden so undicht ausgesät, dass sie während des Assays wachsen können, in sog. nichtkonfluenten Monolayers. Die Probenzugabe erfolgt nach 6 bis 24 Stunden, mit 100 µl pro Reihe, die man im 1. Loch mit 100 µl Medium versetzt. Davon wird die Hälfte entnommen und in das folgende Loch eingebracht, wieder mit 100 µl Medium versetzt, usf. Es entsteht eine geometrische Verdünnungsreihe n1/2.

Die Proben werden im Plaque Assay während 3 bis 5 Tagen bei 37°C mit 3,5% CO₂ inkubiert. Anschliessend färben/fixieren mit 0,1% Kristallviolett (Fluka, Buchs) in einer Lösung von 70% Methanol, 1% Formaldehyd, 29% Wasser. Die Auswertung wird am Mikroskop vorgenommen, Vergrösserung 300fach. Man bestimmt die grösste cytotoxische Verdünnung. Die quantitative Auswertung lässt sich auch mittels Scanning und Absorptionsmessung am Spektrophotometer vornehmen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

a) TS/A-Assay: grösste zelltoxische Verdünnung

5	Tumorklinie	TS/A Murines Adenokarzinom	In Verdünnung wirksam bis 1:
	Präparat	24 h	72 h
	D ₂ -C 4:1	20 480 000	—
	D ₂ -C 8:0	2 000 000	4 000 000
10	D ₂ -C 11:1	40 960 000	163 840 000
	D ₂ -all trans-RET.	16 000 000	64 000 000
	DL- α -TOCO-C 8:0	4 000 000	32 000 000

15 TSA: murines Adenokarzinom (spontanes Mamakarzinom) Prof. Dott. Guido FORNI, Istituto di Microbiologia, Università degli Studi di TORINO, Scuola di Medicina

b) Py 6-Assay: grösste zelltoxische Verdünnung

20	Tumorklinie	Py 6 (Polyoma transformed 3T3 mouse cells)	In Verdünnung wirksam bis 1:
	Präparat	20 h	60 h
	D ₂ -C 4:1	10 240 000	—
	D ₂ -C 11:1	5 120 000	—
	D ₂ -all trans-RET.	16 000 000	32 000 000
25	D ₂ -C 18:3	6 025 000	96 375 000
	D ₃ -C 18:3	6 000 000	24 000 000
	DL- α -TOCO-C 8:0	8 000 000	16 000 000
	DL- α -TOCO-C 11:1	12 000 000	48 000 000
30	DL- α -TOCO-C 18:1	6 000 000	24 000 000
	DL- α -TOCO-C 18:3	6 025 000	48 200 000
	TOCO-a.t.-RETINAT	12 000 000	96 000 000

35 Py 6: Polyoma-Virus-transformierte 3T3 Zellen der Maus (Fibroblasten)

c) Andere Tumor-Zell-Linien

40	Tumorklinien	YT 43	P 815	L 929
	Präparat	In Verdünnung wirksam bis 1:	In Verdünnung wirksam bis 1:	In Verdünnung wirksam bis 1:
	Exposition	4 Tg	4 Tg	2 Tg
45	CALCIOL-C 4:1	48 000 000	16 000 000	64 000 000
	CALCIOL-C 8:0	32 000 000	32 000 000	64 000 000
	CALCIOL-C 11:1	32 000 000	16 000 000	32 000 000
	CALC.-all trans-RET.	128 000 000	64 000 000	128 000 000
50	DL- α -TOCO-C 8:0	32 000 000	32 000 000	64 000 000
	DL- α -TOCO-C 16:0	16 000 000	16 000 000	64 000 000

YT 43: ibridoma/anticorpi monoclonali (Hybridom)

55 P 815: mastocitoma

L 929: fibroblastoma

Prof. Guido Forni, Istituto di Microbiologia, Università degli Studi di Torino, Scuola di Medicina.

d) Zelltoxizität auf humanen Tumorzell-Linien
Überlebensquote in % (MTT-Methode mit Tetrazolblau)
Verdünnung 1:1 000 000

Zell-Linie Präparat	ST-4	RAJI	K 562	HL 60
CALCIOL-CROTONAT	—	8	3	9
CALCIOL-CAPROYLAT	1	7	8	7
CALCIOL 11:1				
CALCIOL-all tr.-RET.	—	9	3	8
	1	2	0	0
TOCO-CAPROYLAT	1	8	7	9
TOCO-10-UNDECEN.	—	1	1	0

Verdünnung 1:10 000 000

Zell-Linien Präparat	ST-4	RAJI	K 562	HL 60
CALCIOL-CROTONAT	57	83	63	93
CALCIOL-CAPROYLAT	39	88	71	35
CALCIOL-C 11:1				
CALCIOL-all tr.-RET.	56	91	56	88
	64	36	85	13
TOCO-CAPROYLAT	41	73	85	56
TOCO-10-UNDECEN.	67	10	85	100

ST-4 Lymphoma convoluto T
RAJI Leucemia linfocid B
K 562 Eritroleucemia
HL 60 Leucemia mieloide

e) Konzentrat-Mischung mit D₂- und D₃-Komponenten
Antitumorale Wirkung an humanen Zell-Linien
Abtötung in %

Zell-Linien Präparat	ST-4	HL 60	K 562
1:10 000 000	100	100	100
1:100 000 000	73	68	70
1:1 000 000 000	47	6	54

Humane Tumorzell-Linien:
ST-4 Lymphoma convoluto T
HL-60 Leucemia mieloide
K 562 Eritroleucemia
Konzentrationen:
bezogen auf den Gesamtgehalt an Calciol- und Cholecalciolesteren

Prüfungen ausgeführt am Ospedale maggiore San Giovanni Battista, LE MOLINETTE, Torino. Leitung: Prof. Dott. Giorgio RIVARA.

Weitere Prüfungen mit humanen Tumorzell-Linien

Das BATTELLE INSTITUT, Frankfurt, (Dr. Matthias GIESE) hat die zytotoxische Wirkung bei verschiedenen soliden, eher langsam wachsenden Tumorarten geprüft. Eingesetzt wurden 2%-Konzentrate (gewichtsmässig) von:

A CALCIOL-CHOLECALCIOL-ESTER-MISCHUNG
 B CALCIOL-all trans-RETINAT
 C DL- α -TOCOPHEROLESTER-MISCHUNG

5 mit folgenden humanen Tumorzell-Linien (DKFZ, Heidelberg, BRD):

1 EJ 28: Blasen-Carcinom
 2 LX-1: Lungencarcinom

10 Als Kontroll-Substanzen wurden biologische «response modifiers» (BRM) verwandt:

a rhu Interferon-Gamma (Biozol, BRD)
 b rhu Tumor-Nekrose Faktor Alpha (Biozol, BRD)

15 Ergebnis-Ausweis mittels Verdünnungsreihen und in der Kurzform der IC₅₀. (= Inhibitory Concentration; bzw. LC = Lethal Concentration) Inkubierung der Zellen über 24 h, bzw. 72 h bei 37°C; Vitalitäts-Färbetest nach 3, bzw. 14 Tagen. Testbereich 1:10⁵ bis 1:10⁹.

Es konnten kleinere Unterschiede zwischen den Zell-Linien, wie auch zwischen den drei Wirkstoff-Konzentraten festgestellt werden. Die LC₅₀ lag im Verdünnungsbereich 1:10⁶ bis 1:10⁷.

20 Der Hauptbefund der Tests lautet: es liegt eine zytotoxische und keine zytostatische Wirkung vor.

Der stärkste Zytotoxizitäts-Effekt liess sich für die CALCIOL/CHOLECALCIOLESTER-MISCHUNG ermitteln. Die Kontroll-Substanzen BRM zeigten keine messbaren Wirkungen auf die 2 geprüften Zell-Linien.

25 Die nachstehend als Beilage 1/13 Abbildung 1 und 2 wiedergegebenen graphischen Darstellungen fassen die Ergebnisse für die drei Konzentrate A, B und C zusammen.

Prüfungen beim National Cancer Institute, Bethesda

30 Im breit ausgebauten «in-vitro assay» des NCI werden gegenwärtig standardmässig 60 verschiedene humane Tumorarten als Zell-Linien eingesetzt, gruppiert in die 8 Panels (statistischen Klassen):

Leukämie
 Lungentumore, nicht-kleinzellig
 Lungentumore, kleinzellig
 Dickdarmtumore

35 ZNS-Tumore
 Ovarienkarzinome
 Nierenkarzinome

Als Messgrössen werden ausgewiesen

PG (Percentage Growth, Wachstumsraten in %)

40 Dose-Response-Curves (Dosis-Wirkungs-Beziehung)

Mean Graphs (Mittelwert-Graphen)

Percentage Growth (Prozent-Wachstum) ist eine optische Dichtemessung mit Hilfe des Sulforhodamin B Färbe- und Vitalitätstests; Exposition der Zellen 48 h, in 5 verschiedenen Konzentrationen.

45 Dose-Response-Curves: Konzentrations-Abhängigkeit der Antitumorwirkung, dargestellt in Kurvenform als Dosis-Wirkung-Beziehung.

Die PG-Werte werden gegen log₁₀ der entsprechenden Konzentration jeder einzelnen Zell-Linie aufgetragen. Ausgewiesen werden die PG-Werte für +50, 0, und -50. An den Schnittpunkten lassen sich die Werte für G¹⁵⁰, TG1 und LC₅₀ ablesen. Die ganze Matrix zeigt interpolierte Response Parameter für die Sensibilität der einzelnen Zell-Linie gegenüber der Prüfsubstanz, bzw. dem Prüfkonzentrat.

50 Mean Graphs: Mittelwert-Graphen, abgeleitet von den IC-Werten. Dargestellt werden das arithmetische Mittel des Logarithmus der IC-Werte für alle Zell-Linien-Messwerte für eine gegebene Prüfsubstanz, bzw. ein gegebenes Prüfsubstanzkonzentrat, sowie die Abweichungen davon als Mass der relativen Sensitivität der einzelnen Zell-Linien. Die Abweichungen zeigen, ob die Empfindlichkeit der einzelnen Zell-Linien grösser oder kleiner als der Durchschnitt ist. Es entsteht ein «Fingerprint Muster».

55 Die in den Beilagen 2/13 bis 13/13 gemachten Angaben enthalten anhand der Auswertungsprotokolle des National Cancer Institute, Bethesda, die zusammenfassenden Ergebnisse in graphischer Darstellung für:

CALCIOL-10-UNDECENOAT-KONZENTRAT

CALCIOL-all trans-RETINAT-KONZENTRAT und für

60 CALCIOL-LINOLENAT-KONZENTRAT

Als Hauptergebnis resultiert, wie bei den Prüfungen am Battelle Institut, dass nicht nur ein Antiproliferations-effekt, d.h. eine Wachstumshemmung vorliegt, sondern eine echte Zytotoxizität, insbesondere auch bei jenen Zell-Linien, welche keine kurzen Verdoppelungszeiten aufweisen und deshalb vergleichsweise gegenüber langsamer wachsenden Linien als überempfindlich erscheinen.

65

Vgl. im übrigen: Michael R. Boyd: «Status of the NCI Preclinical Antitumor Drug Discovery Screen», PPO updates, Vol. 3, Oct. 1989, Number 10.

Anne Monks et al.: «Feasibility of a high-flux Anticancer Drug Screen using a diverse Panel of cultured human Tumor Cell Lines». Journal of the National Cancer Institute, Vol. 83, No. 11, June 5, 1991.

5 Übersicht der graphischen Darstellungen:

Abbildungen 1 und 2: BATTELLE INSTITUT, FRANKFURT

Abbildungen 3.1 bis 3.6: NCI, Matrix Dosis-Wirkungs-Beziehungen

Fig. 4–11: Einzeltabellen pro Tumorklasse für Calciol-Undecenoat

Fig. 12–19: Einzeltabellen pro Tumorklasse für Calciol-all trans-Retinat

10 Fig. 20–27: Einzeltabellen pro Tumorklasse für Calciol-Linolenat

Nachweis der Membran-Penetration an der Tumorzelle

15 Am Lichtmikroskop wie auch mit Hilfe der «Laser scanning microscopy» lässt sich aufzeigen, dass wenige Stunden nach der Inkubation (Beispiel Py6-Zellen der 3T3-Maus; dünn ausgesät, mittlere Verdünnung der Wirkstoff-Konzentrate) sich ein Kranz von Vakuolen um den Zellkern herum ausbildet.

Der analytische Nachweis, dass diese Vakuolen die Sterolester-Wirksamstoffe enthalten, kann sehr deutlich dadurch erbracht werden, dass man den gereinigten inkubierten Tumorzellen das Zellplasma entnimmt, es zentrifugiert und mit einer 0,05%-Lösung von Uvitex® CF conc. (CIBA-GEIGY) in Aceton/Wasser (85:15) oder von Uvitex® EBF oder von Tinopal® GS versetzt.

20 Die eingesetzten erfindungsgetreuen Sterolester löschen die durch den Marker Uvitex® CF conc. hervorgerufene Fluoreszenz im langwelligen UV-Lichtbereich aus; auf der Dünnschicht-Platte entsteht eine blaue Färbung. UV-Scanning bei 366 nm. Microdialyse mit Hilfe von Kapillar-Zonen-Electrophorese und Laser induzierter Fluoreszenz-Detektion (EUROPHOR IRIS 2000).

25

Patentansprüche

1. Biotenside Ester und Phosphatide mit Vitamin-D- und Vitamin-E-Verbindungen der allgemeinen Formeln (I) bis (VI)

30

35

40

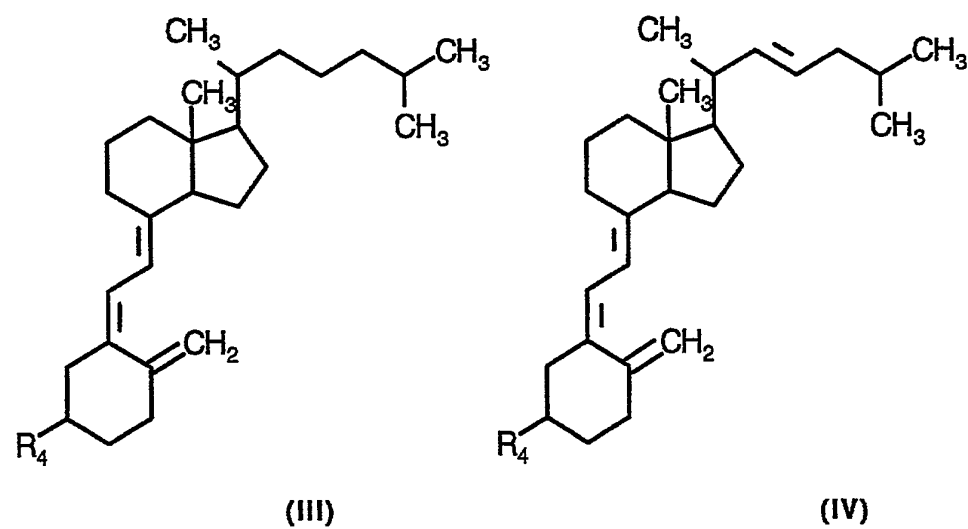
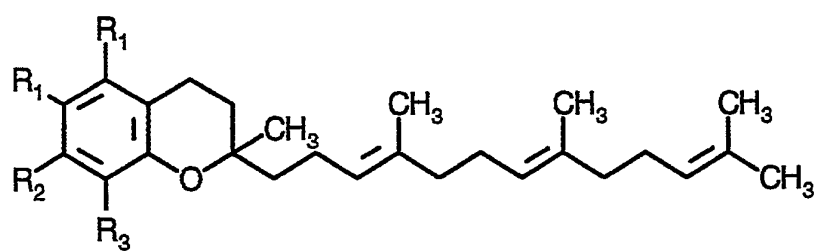
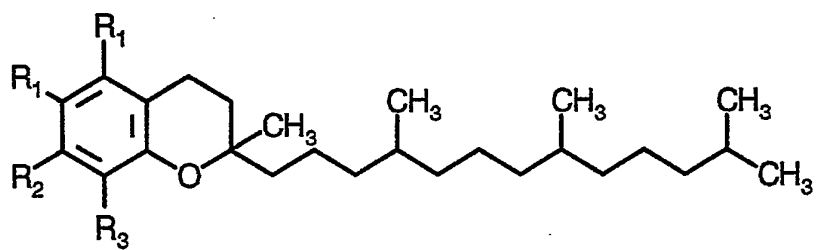
45

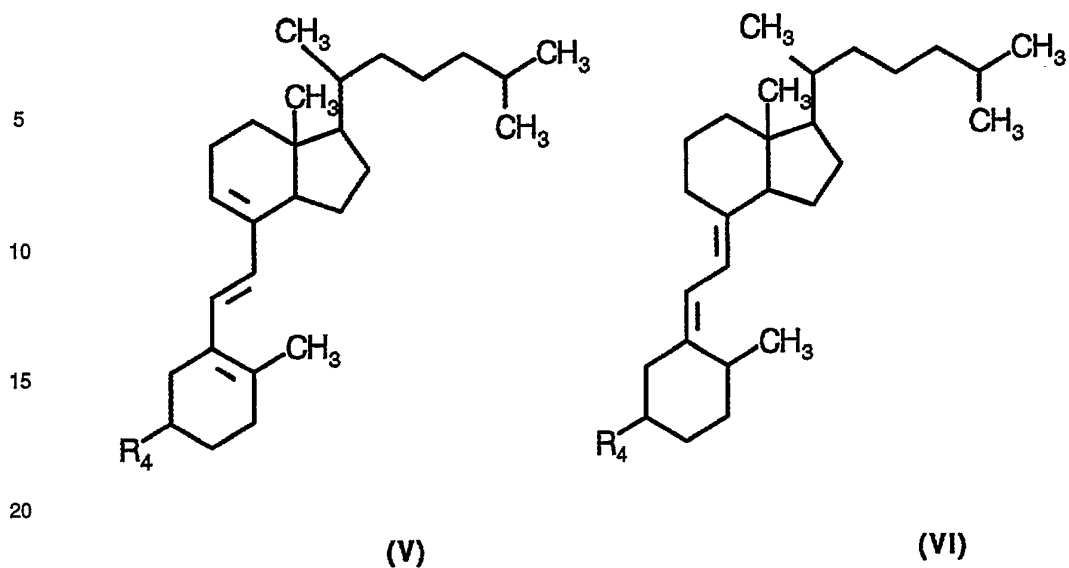
50

55

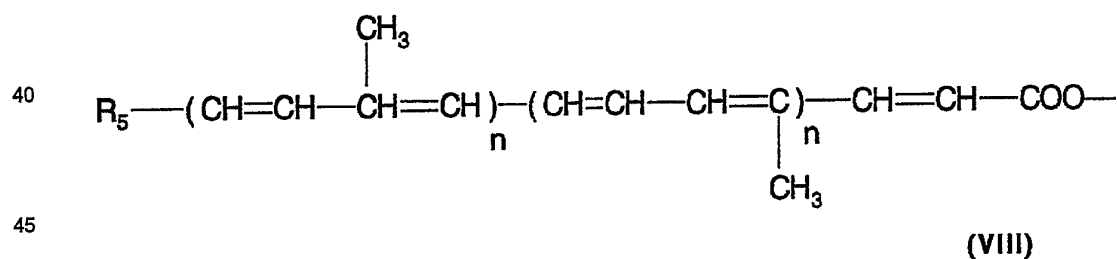
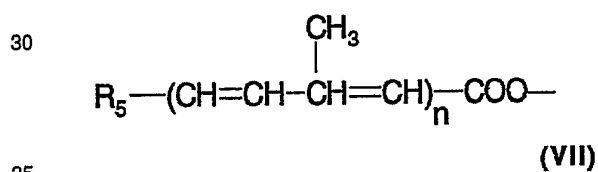
60

65

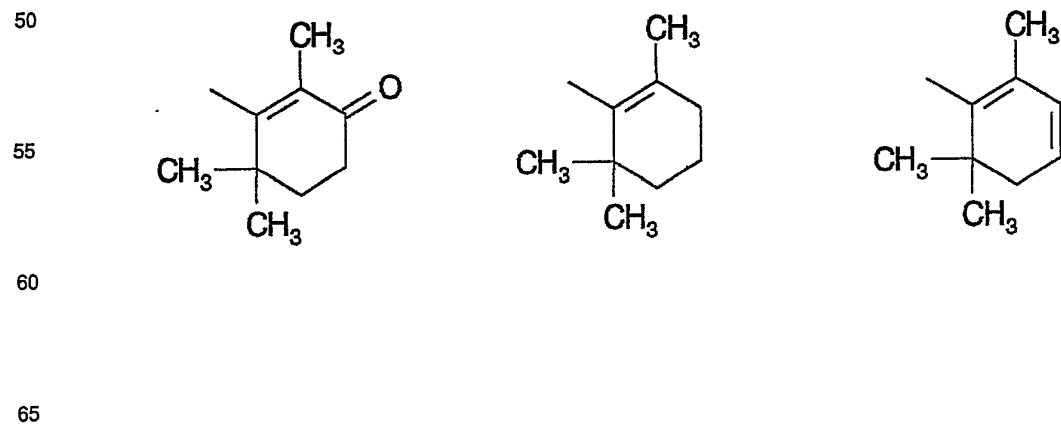


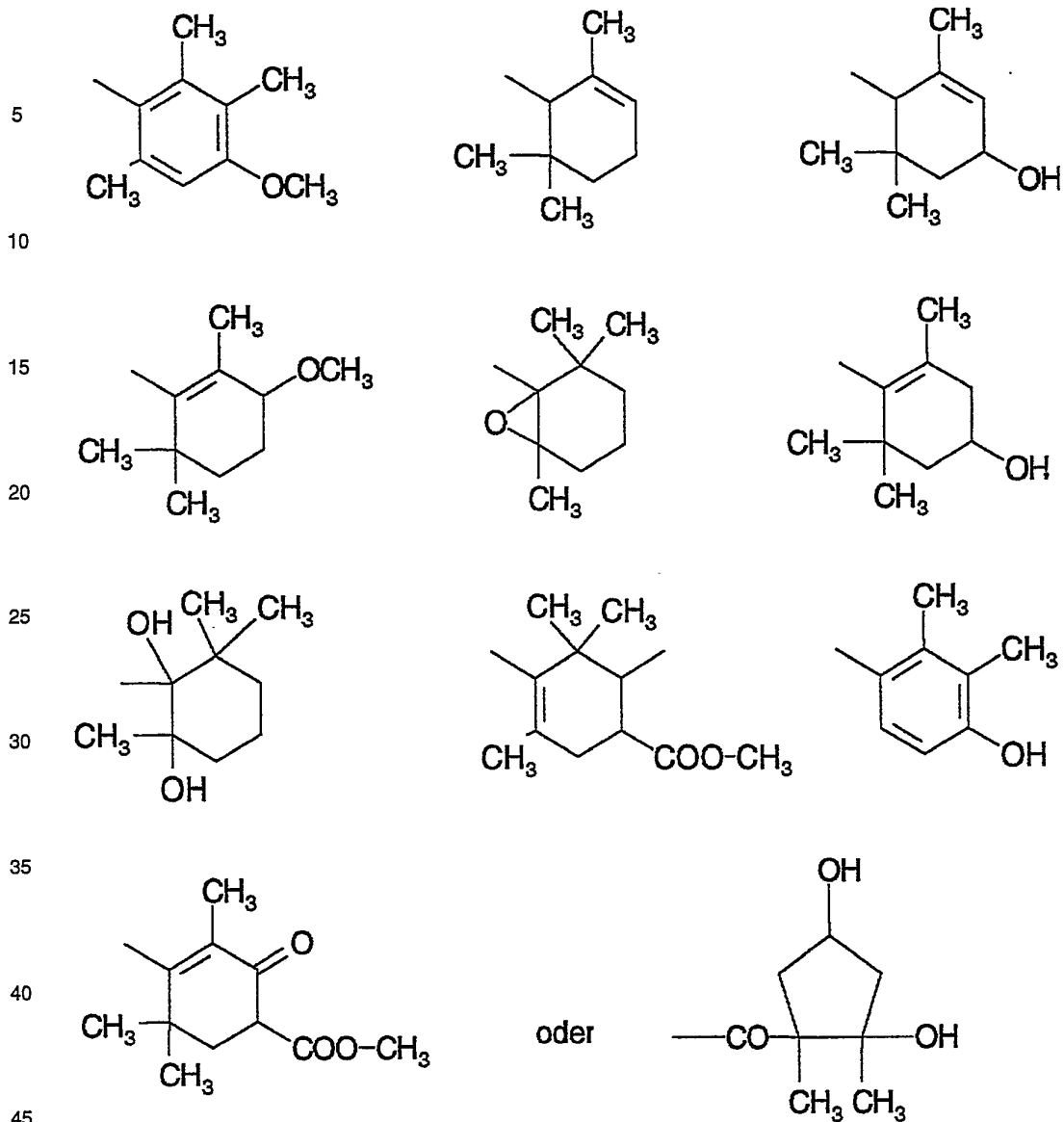


25 wobei in den Formeln (I) und (II) die Radikale R_1 , R_2 und R_3 Wasserstoff oder Methyl bedeuten und das Radikal R_4 in den Formeln (I) bis (VI) eine C_1 - bis C_{32} -Alkylcarboxyl-, bzw. eine C_2 - bis C_{32} -Alkenylcarboxyl- oder Alkapolycarboxylgruppe oder eine Gruppe der Formeln (VII) oder (VIII):

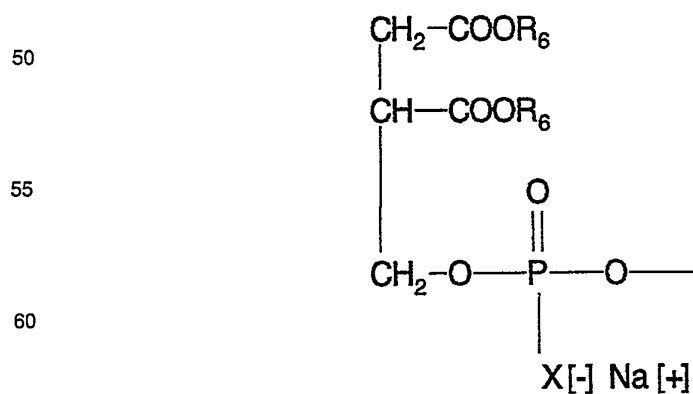


darstellt, worin n die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und R_5 für ein Radikal der Formeln





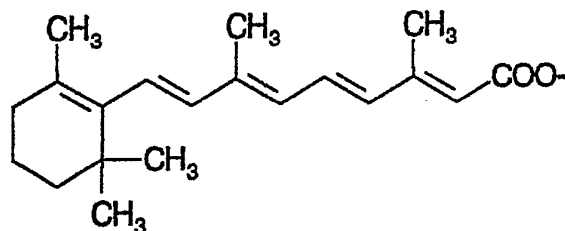
steht oder aber die Gruppe gemäss Formel (IX) meint:



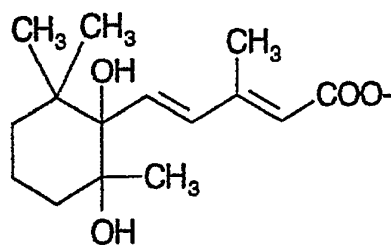
(IX)

in welcher R_6 eine C_1 - bis C_{32} -Alkyl- oder eine C_2 - bis C_{32} -Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bezeichnen.

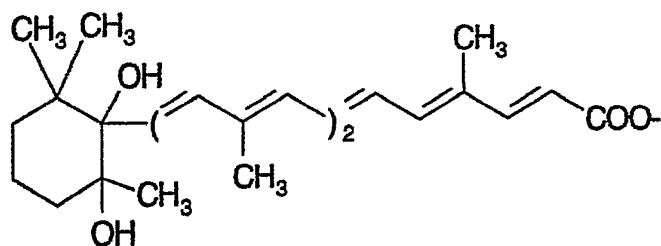
2. Eine Verbindung gemäss Anspruch 1, wobei in den Formeln (I) und (II) die Radikale R_1 und R_2 und R_3 Wasserstoff oder Methyl bedeuten und das Radikal R_4 in den Formeln (I) bis (VI) eine C_4 - bis C_{22} -Alkylcarboxyl-, bzw. eine C_4 - bis C_{22} -Alkenylcarboxyl- oder eine C_4 - bis C_{22} -Alkapolyencarboxylgruppe bezeichnet oder für ein Radikal der Formeln (X), (XI) oder (XII) steht oder die Gruppe der Formel (IX) ist:



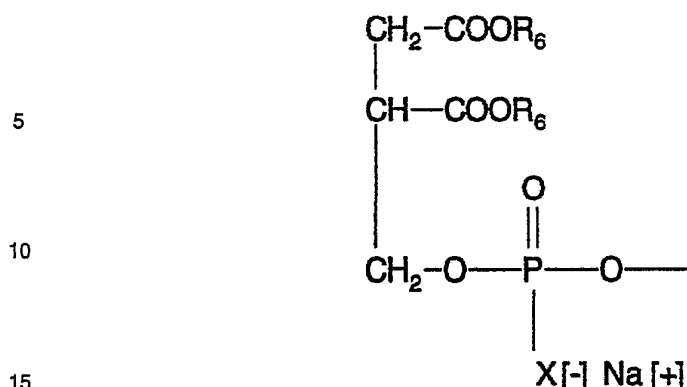
(X)



(XI)



(XII)



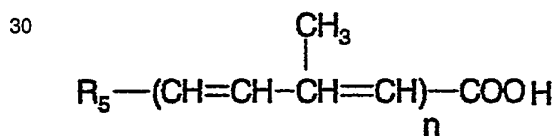
(IX)

worin R₆ eine C₄- bis C₂₂-Alkyl- oder eine C₄- bis C₂₂-Alkenyl-, bzw Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bedeuten.

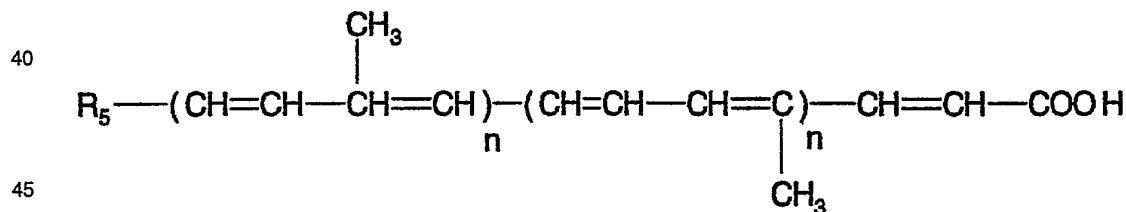
3. Eine Verbindung gemäss Anspruch 2, wobei in den Formeln (I) und (II) die Radikale R₁ und R₂ und R₃ Wasserstoff oder Methyl bedeuten und das Radikal R₄ in den Formeln (I) bis (VI) eine C₁₀- bis C₁₈-Alkylcarboxyl- bzw. eine C₁₀- bis C₁₈-Alkenylcarboxyl- oder eine C₁₀- bis C₁₈-Alkapolyencarboxylgruppe bedeutet oder für ein Radikal der Formel (X) steht.

4. Das DL- α -Tocopherol-all trans-Retinat oder das Cholecalciferol-all trans-Retinat oder das Ergocalciferol-all trans-Retinat gemäss Anspruch 3.

5. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formeln (I) bis (VI) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formeln (XIV) oder (XV)

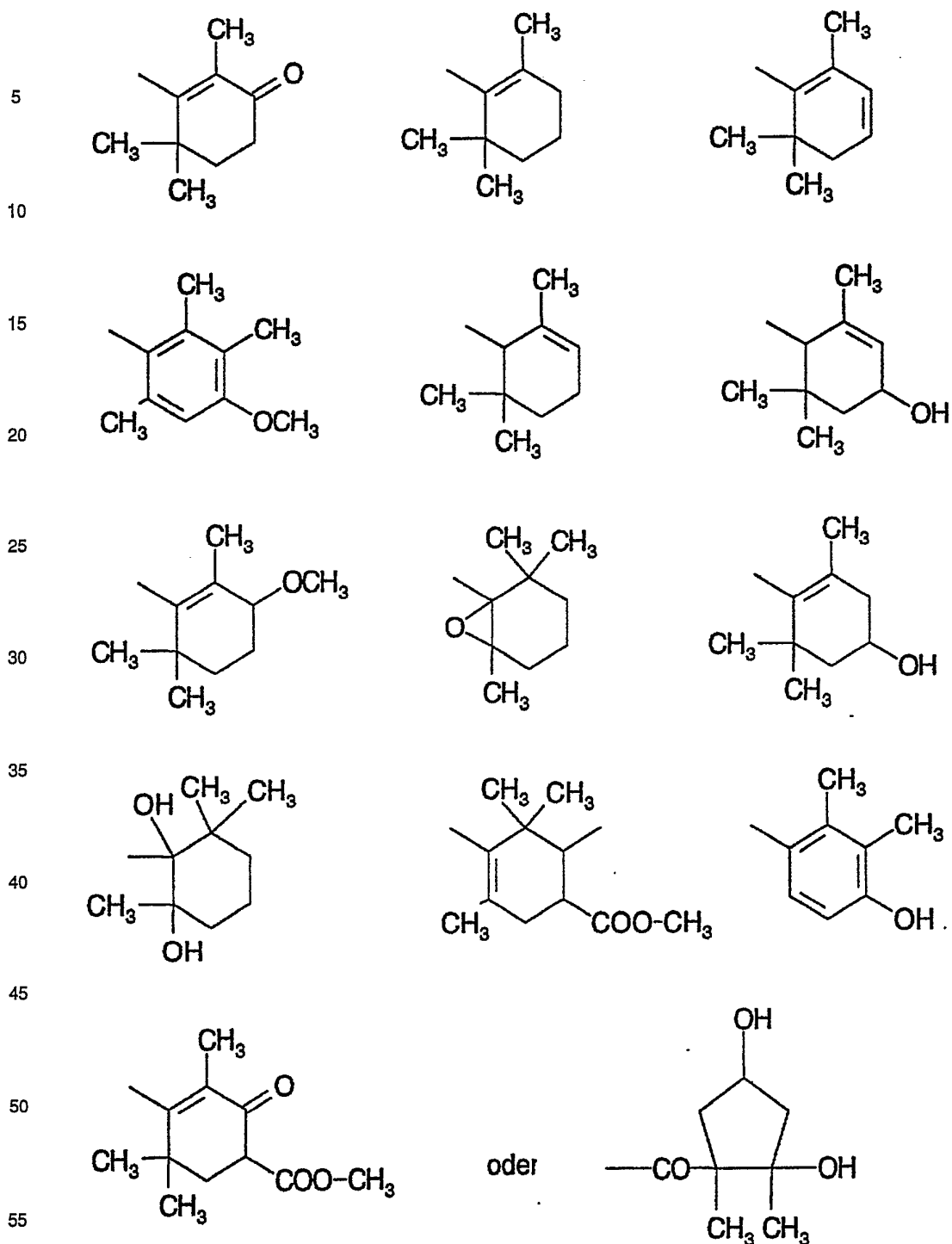


(XIV)



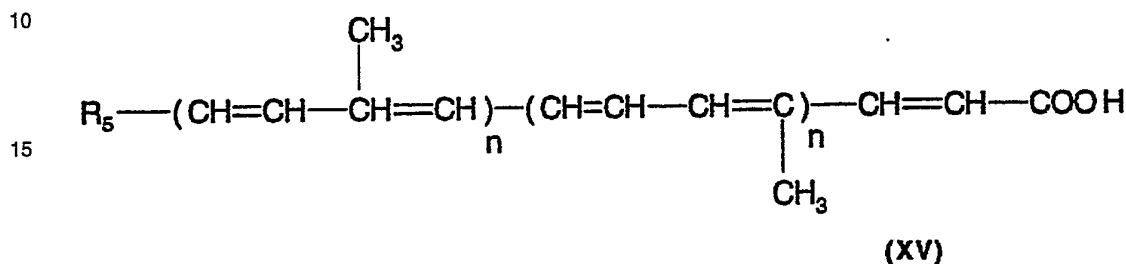
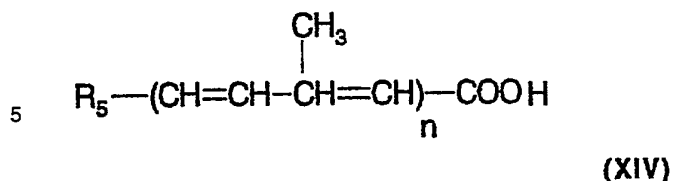
(XV)

in der n die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und R₅ für ein Radikal der Formeln



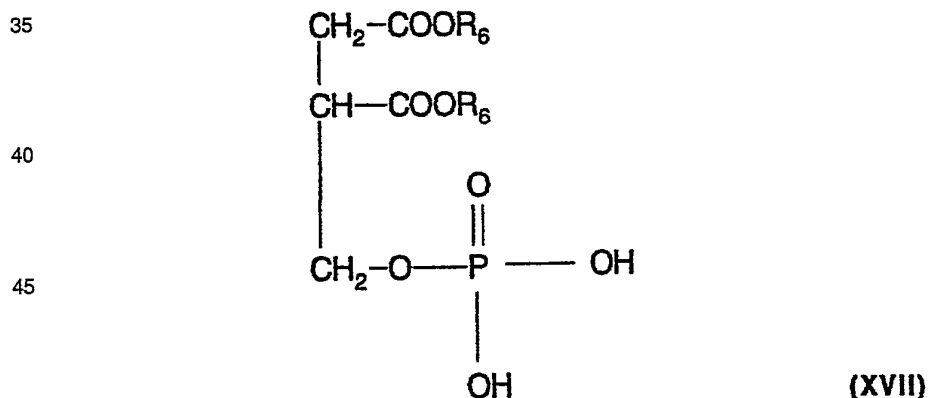
fungiert, mit N,N'-Carboxyl-diimidazol bei 25 bis 70°C unter Zusatz einer katalytischen Menge eines Alkoholates in einem indifferenten Lösungsmittel umgesetzt und anschliessend eine Alkoholyse der gebildeten Imidazole mit einer Vitamin-D- oder Vitamin-E-Verbindung durchführt.

6. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formeln (I) bis (VI) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formeln (XIV), (XV) oder (XVI)



worin R_6 eine C_1 - bis C_{32} -Alkyl- oder eine C_2 - bis C_{32} -Alkenyl-, bzw. C_2 - bis C_{32} -Alkapolyengruppe darstellt, mit einem Chlorierungsmittel, bzw. Bromierungsmittel wie z.B. Thionylchlorid, Oxalylchlorid oder Oxalylbromid und anschließender Reaktion der entstandenen Chloride, bzw. Bromide mit einer Vitamin-D- oder Vitamin-E-Verbindung bei einer Temperatur von 40 bis 120°C in einem indifferenten Lösungsmittel und in Gegenwart eines Katalysators umgesetzt.

7. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formeln (I) bis (VI), gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XVII)



worin R_6 eine C_1 - bis C_{32} -Alkyl- oder eine C_2 - bis C_{32} -Alkenyl-, bzw. eine C_2 - bis C_{32} -Alkapolyengruppe ist, in einem inerten Lösungsmittel bei einer Temperatur von 20°C mit Pivaloylchlorid umgesetzt und anschliessend das Reaktionsprodukt in der gleichen Lösung mit einer Vitamin-D- oder einer Vitamin-E-Verbindung reagieren lässt.

8. Spontan dispergierbares Konzentrat, dadurch gekennzeichnet, dass es als antitumorale und tenside Komponente

0,001 bis 15 Gewichts-% einer Verbindung der Formeln (I) bis (VI) gemäss Anspruch 1, bzw. einer Kombination solcher Wirkstoffe, sowie

0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches,

0,001 bis 90 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches,

0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamines oder Provitamines,

0 bis 10 Gewichts-% einer freien Säure und pharmaverträgliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.

9. Therapeutisches Systempräparat, welches 1 bis 95 Gewichts-% des spontan dispergierbaren Konzentrates gemäss Anspruch 8 enthält und überdies bis zu 10 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Zusatzstoffes, Lösemittels oder Stabilisators, oder eines Gemisches davon.

5 10. Therapeutisches Systempräparat gemäss Anspruch 9, welches in Dosis-Einheitsform als Micro-pellets, Granulat, Dragées, Suppositorien, Ampullen oder als Kapseln vorliegt.

11. Therapeutisches Systempräparat gemäss Anspruch 9, welches 44 Teile Kernmaterial für die Granulat-, bzw. Pellet-Bildung, 25 Teile eines erfindungsgemässen Konzentrates und 31 Teile magensaftresistente und retardierende Beschichtung mit Hydroxylpropyl-Methylcellulose-Acetat-Succinat enthält.

10 12. Therapeutisches Systempräparat gemäss Anspruch 10, welches 64 Teile Kernmaterial für die Granulat-, bzw. Pellet-Bildung und 36 Teile eines erfindungsgemässen Konzentrates enthält und in pharmazeutisch geeignete Kapseln aus Hydroxylpropyl-Methylcellulose-Acetat-Succinat abgefüllt ist.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

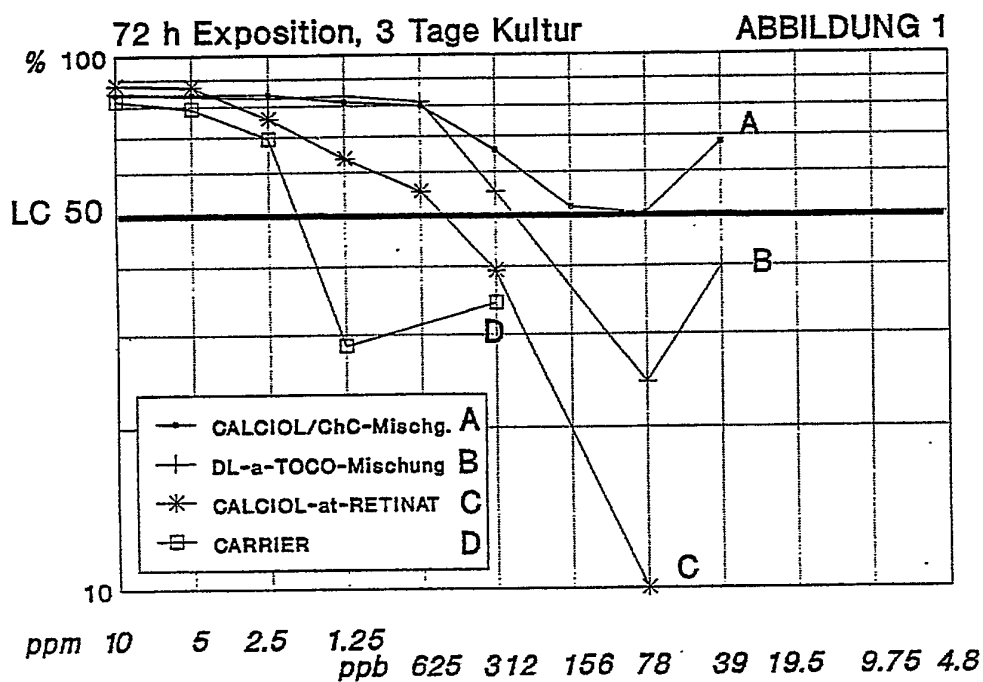
60

65

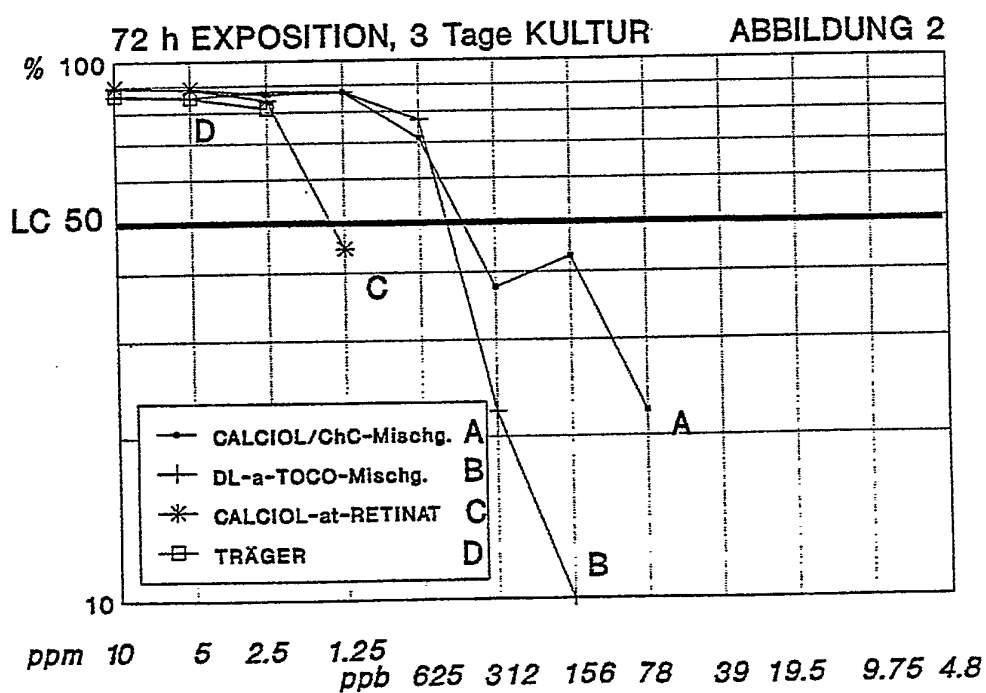
BATTELLE INSTITUT, FRANKFURT
IN VITRO TESTS MIT SOLIDEN HUMANTUMOREN

ZYTOTOXIZITÄT LC50 = 50% ABTÖTUNG

EJ 28 BLASEN-KARZINOM

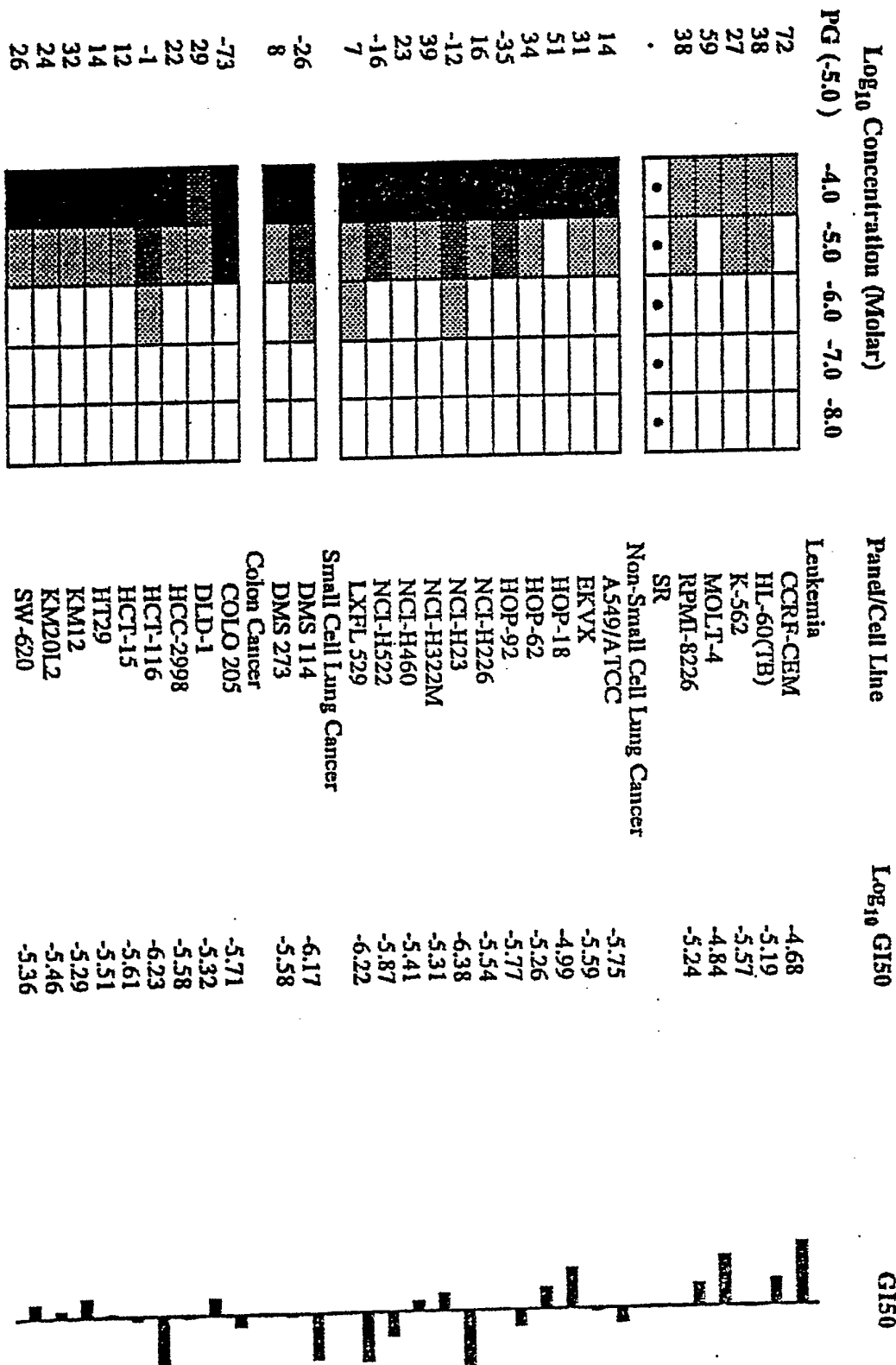


LX-1 LUNGEN-KARZINOM



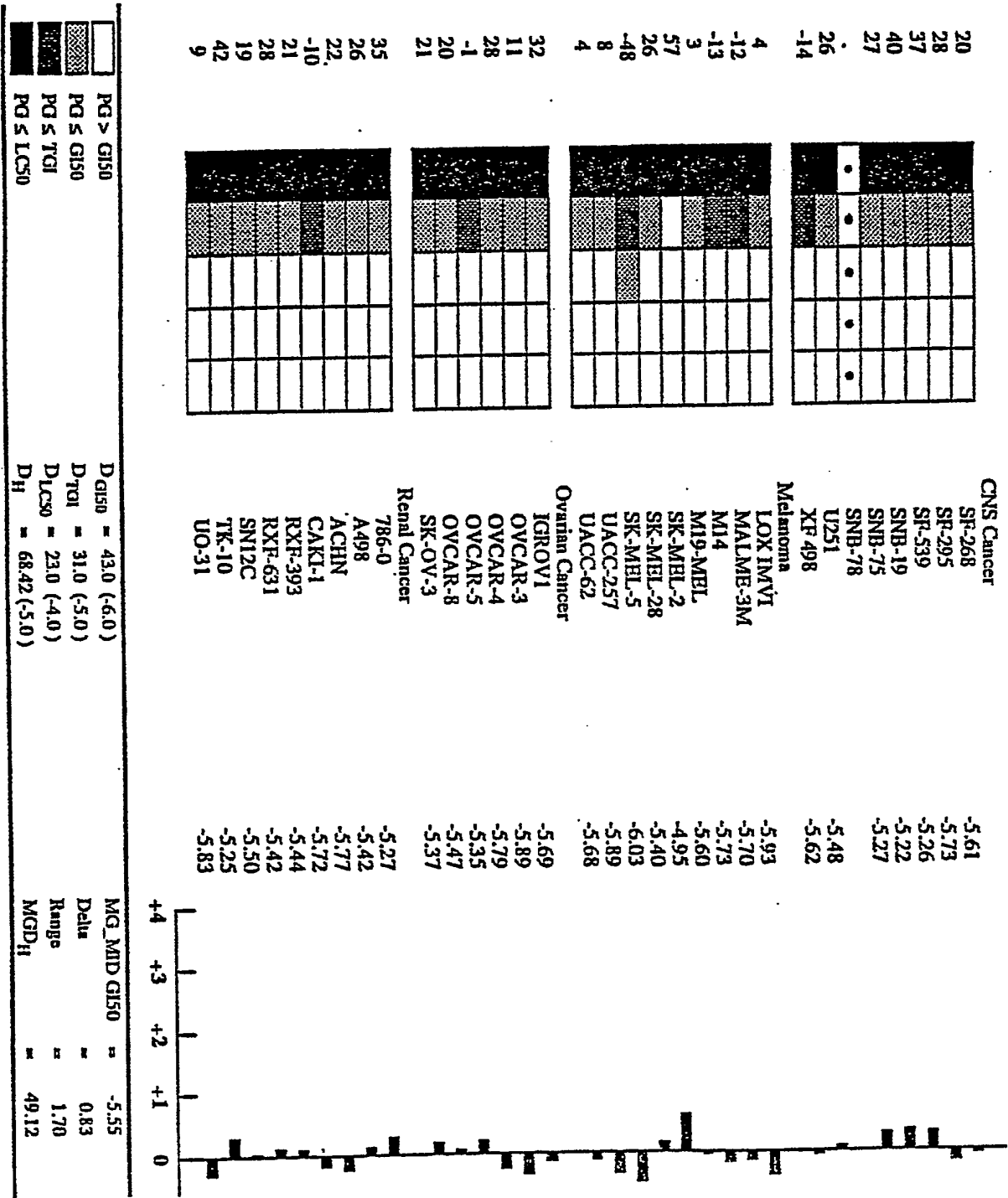
NATIONAL CANCER INSTITUTE, BETHESDA
ENTWICKLUNGSPROGRAMM FÜR THERAPEUTICA
CALCIOL-10-UNDECENOAT-KONZENTRAT
MATRIX DER DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNGEN I

Abb. 3.1



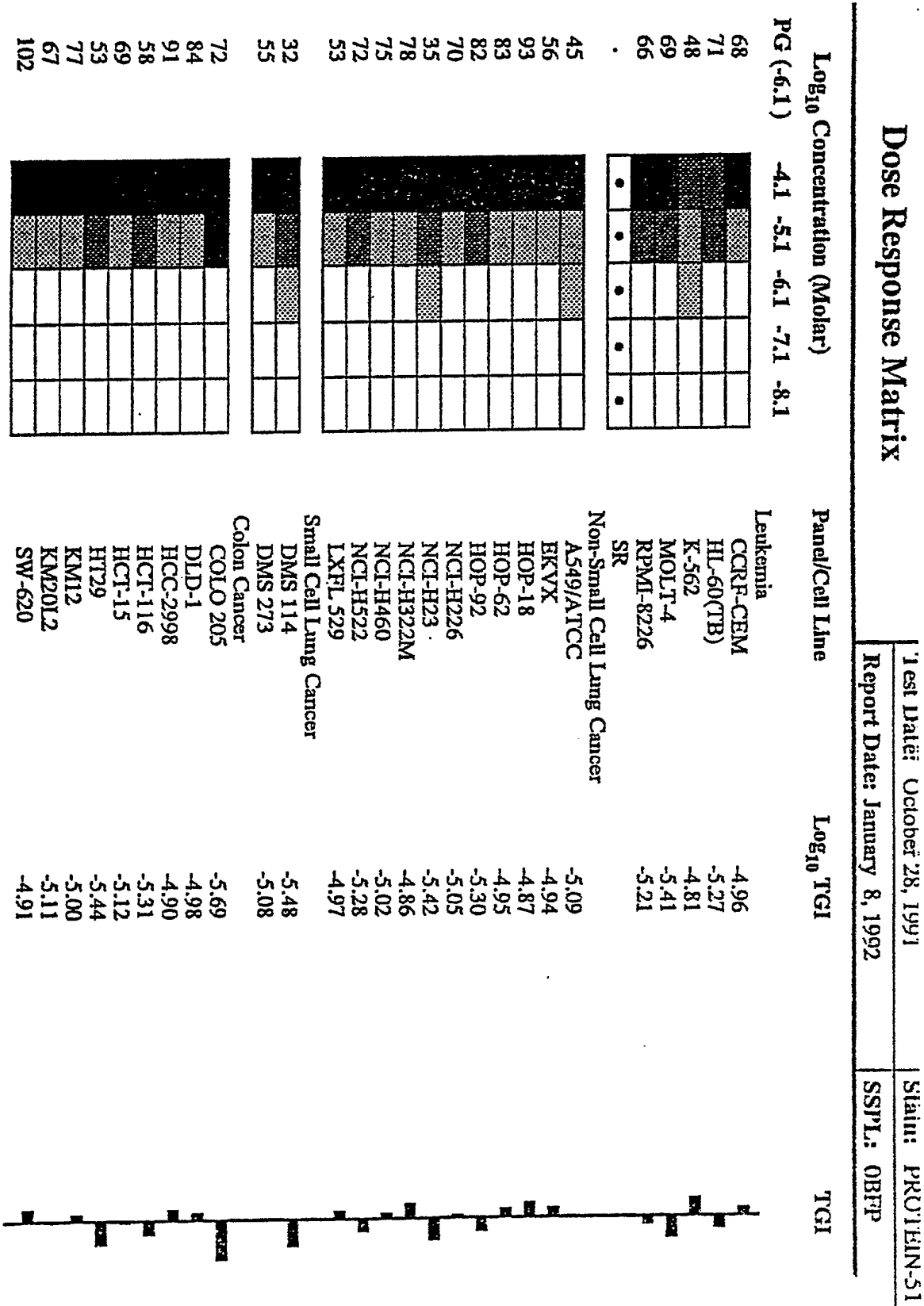
NCI ENTWICKLUNGSPROGRAMM FÜR THERAPEUTICA
CALCIOL-10-UNDECENOAT-KONZENTRAT
MATRIX DER DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNGEN II

Abb. 3.2



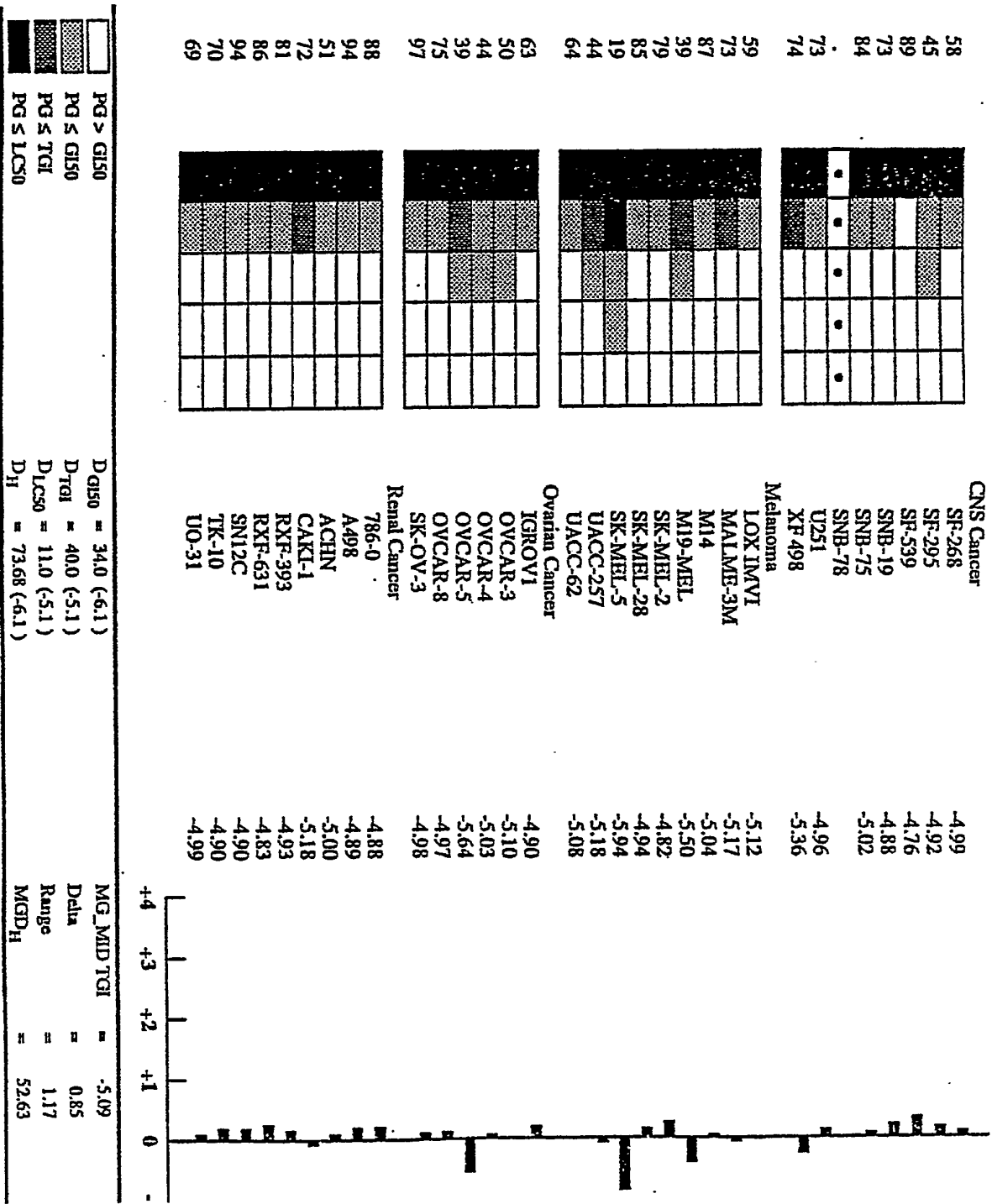
NCI ENTWICKLUNGSPROGRAMM FÜR THERAPEUTICA
CALCIOL-all trans-RETINAT-KONZENTRAT
MATRIX DER DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNGEN I

Abb. 3.3

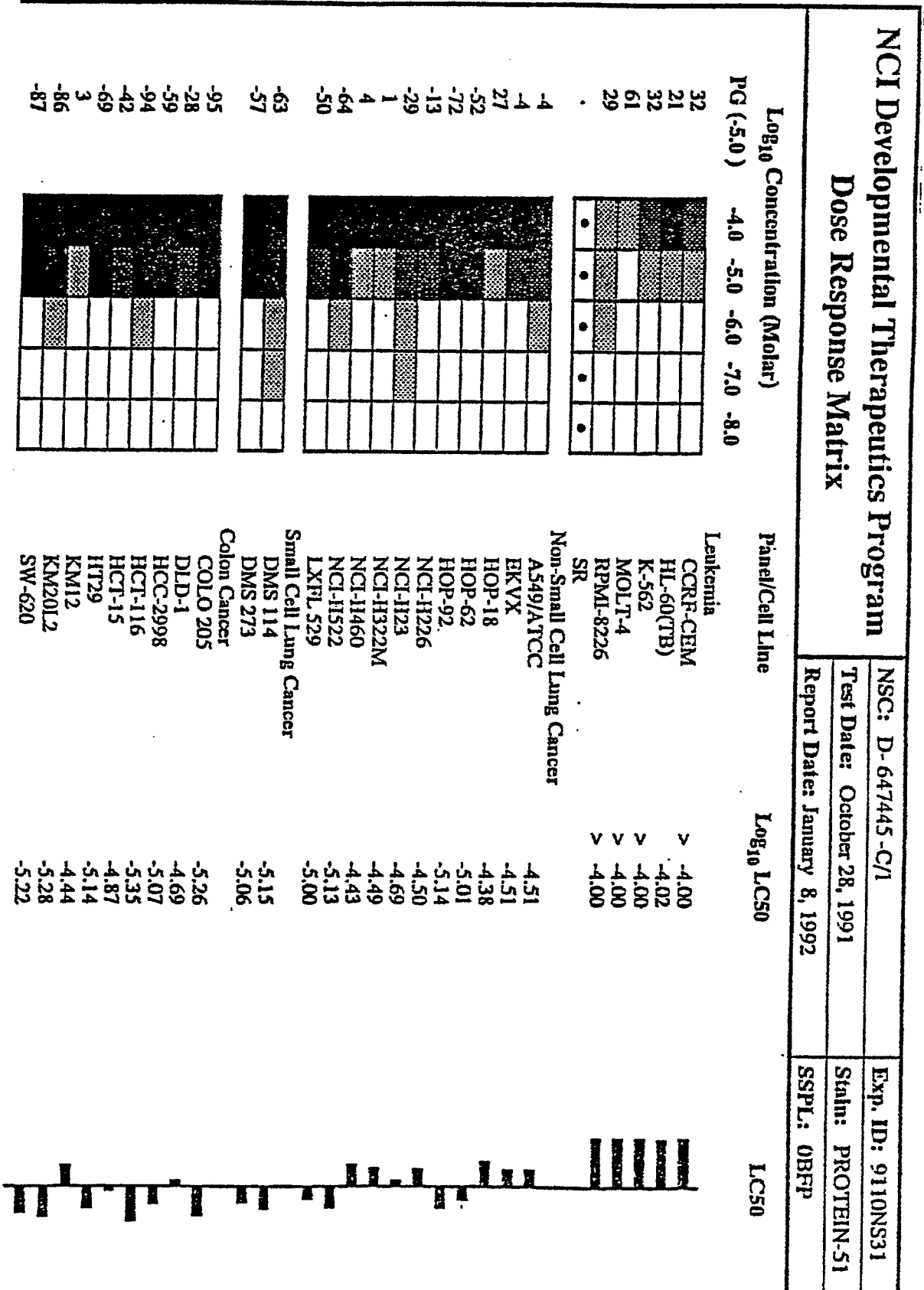


NCI ENTWICKLUNGSPROGRAMM FÜR THERAPEUTICA
CALCIOL-all trans-RETINAT-KONZENTRAT
MATRIX DER DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNGEN II

Abb. 3.4

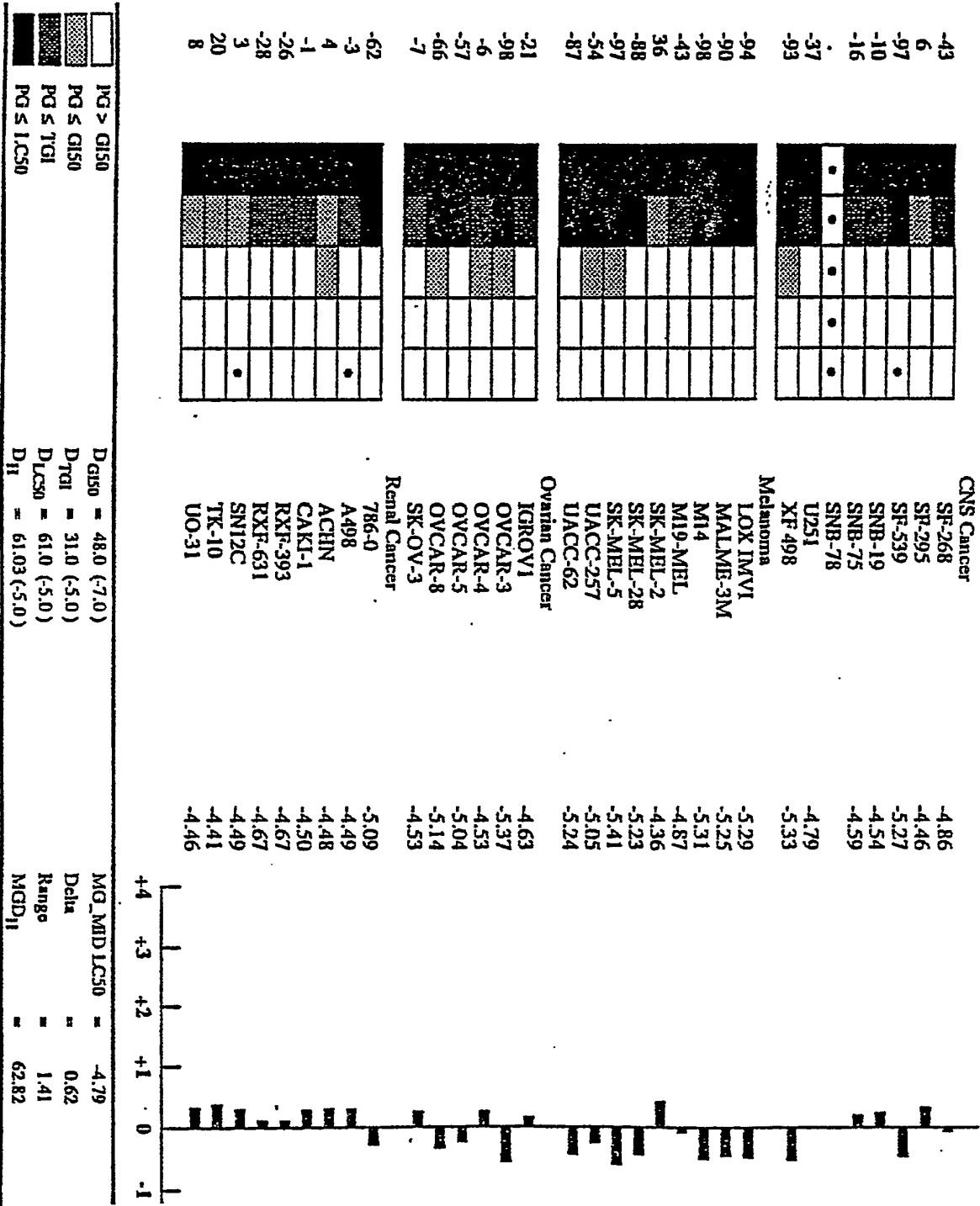


NCI ENTWICKLUNGSPROGRAMM FÜR THERAPEUTICA
Abb. 3.5 CALCIOL-LINOLENAT-KONZENTRAT
MATRIX DER DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNGEN I

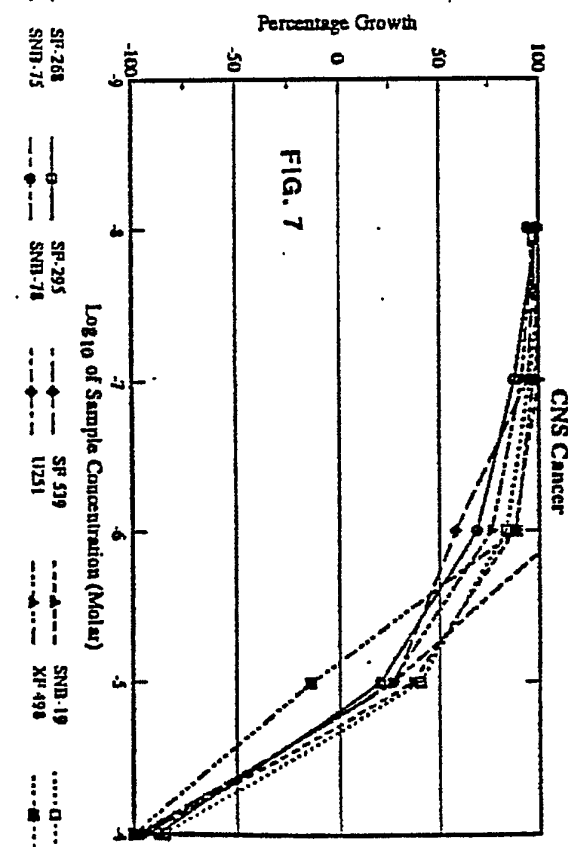
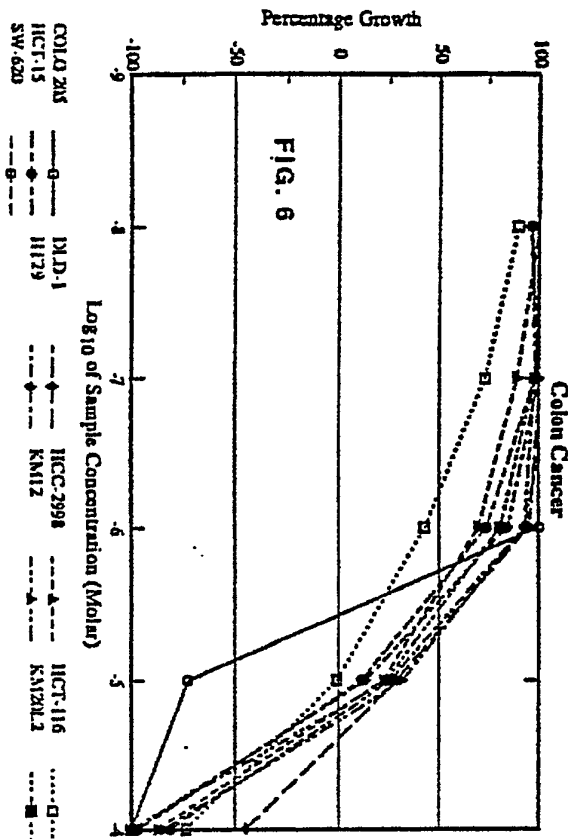
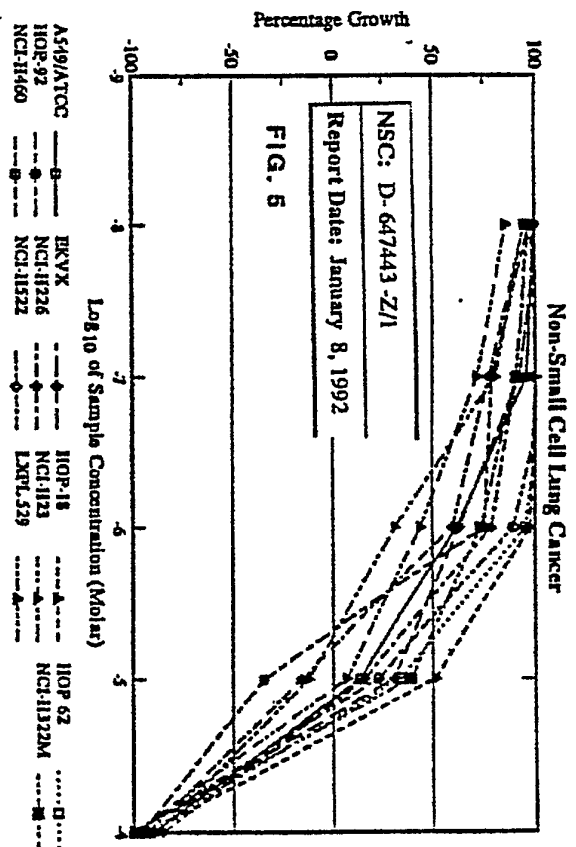
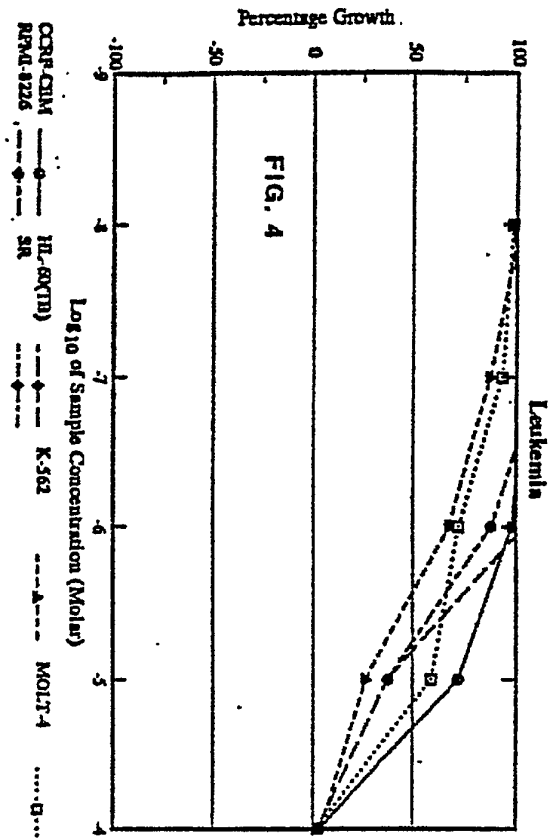


NCI ENTWICKLUNGSPROGRAMM FÜR THERAPEUTICA
CALCIOL-LINOLENAT-KONZENTRAT
MATRIX DER DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNGEN II

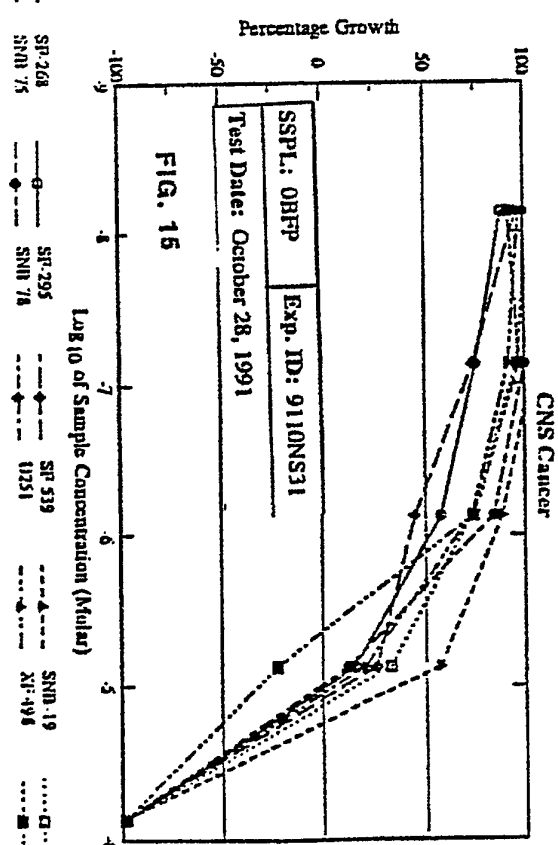
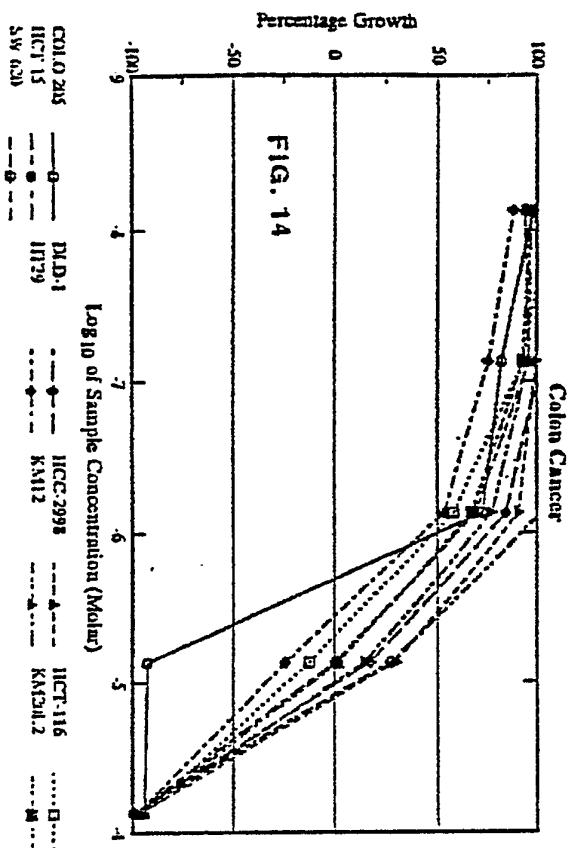
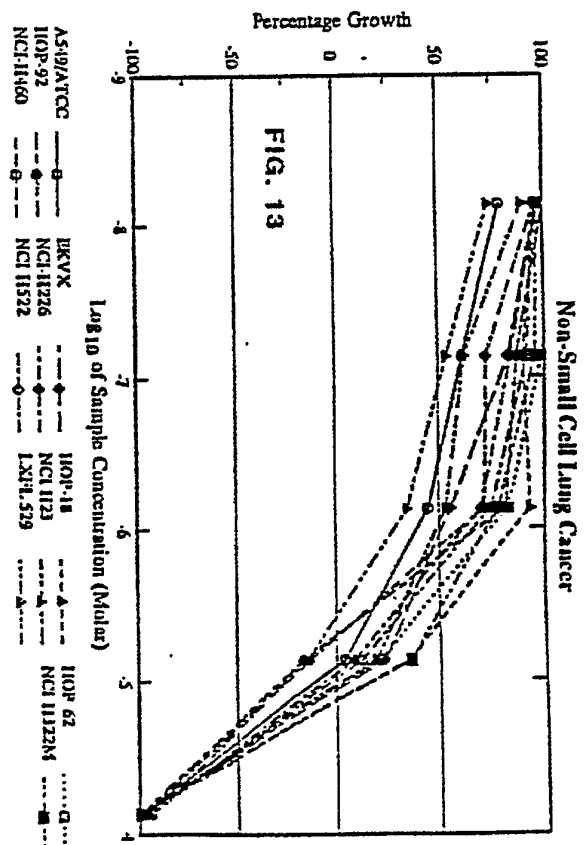
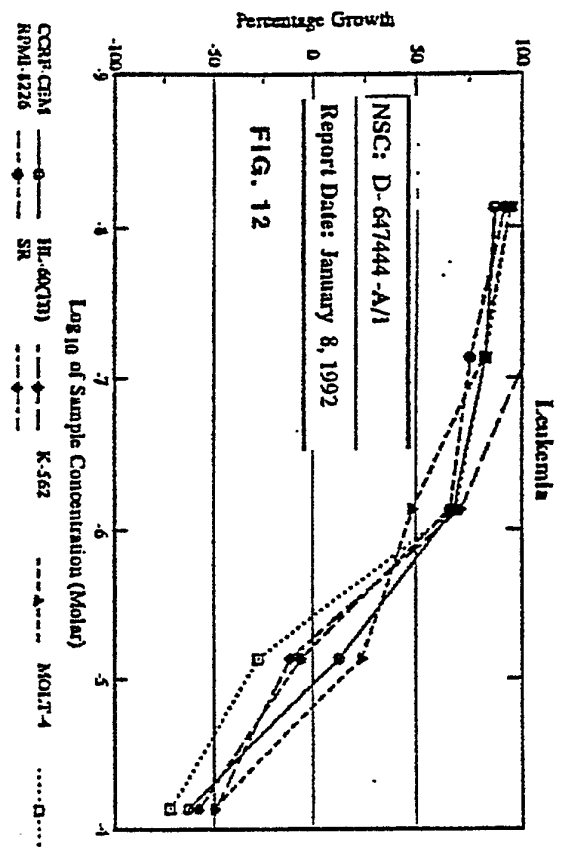
Abb.3.6



DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNG
CALCIOL-10-UNDECENOAT-KONZENTRAT FIG. 4 - 7

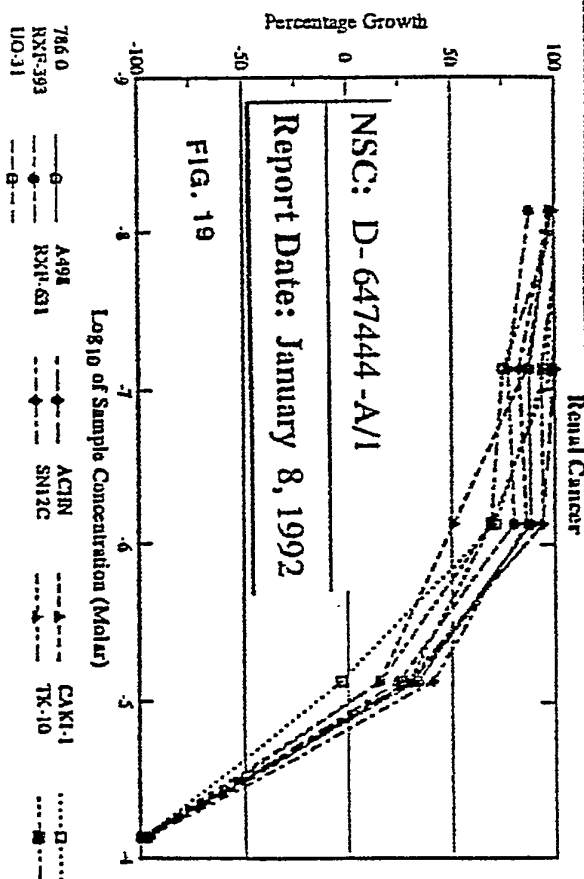
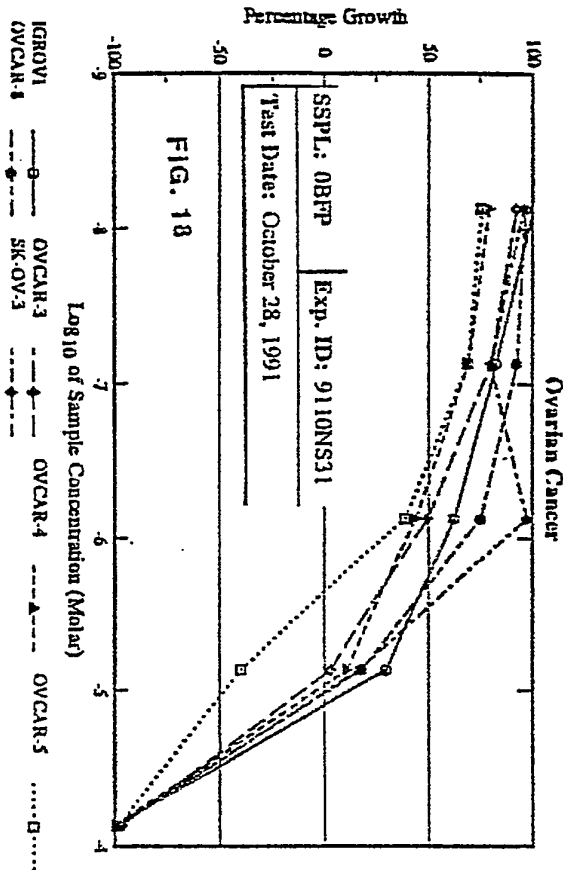
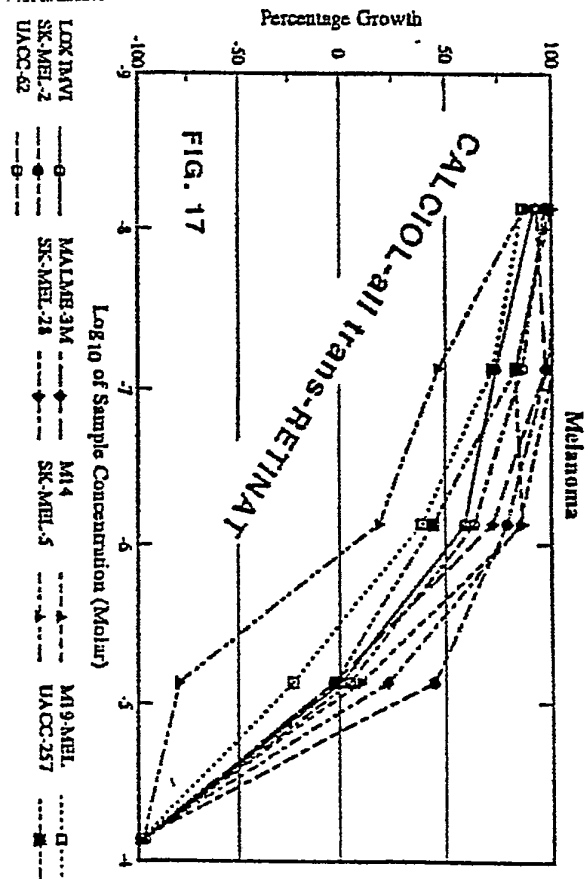
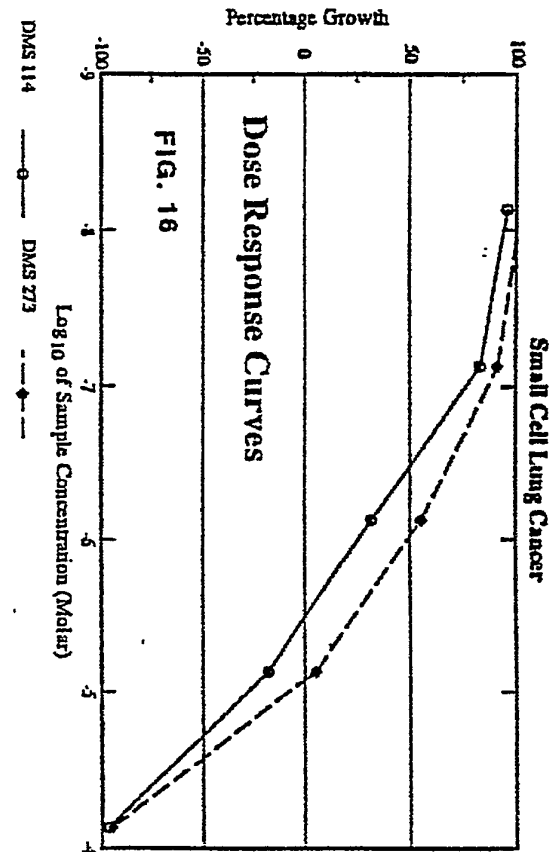


DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNG
CALCIOL-all trans-RETINAT-KONZENTRAT FIG. 12 - 15

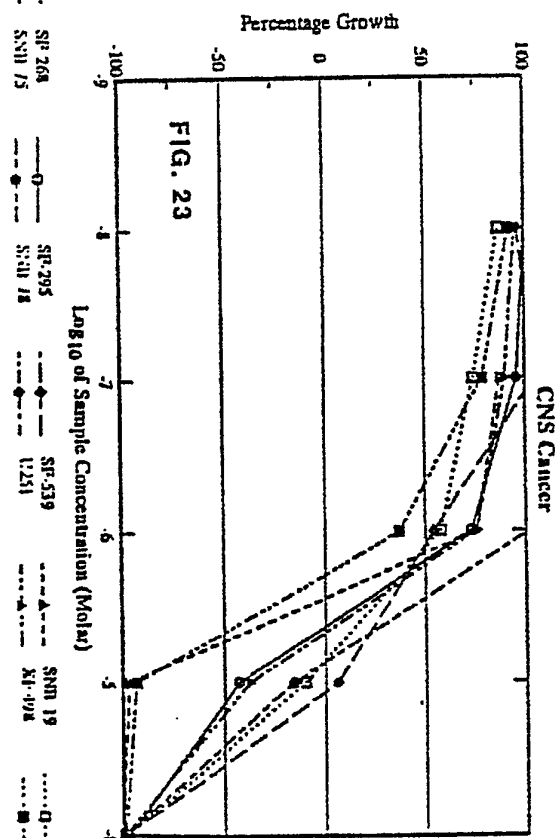
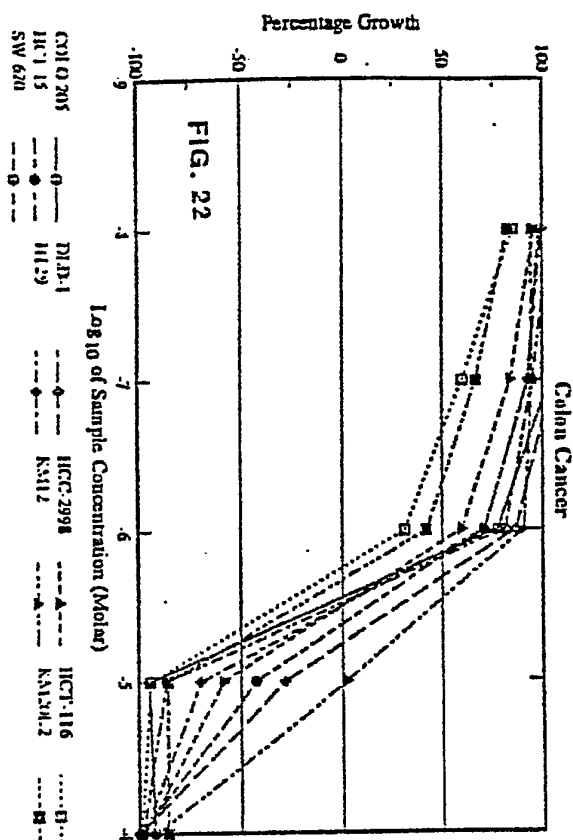
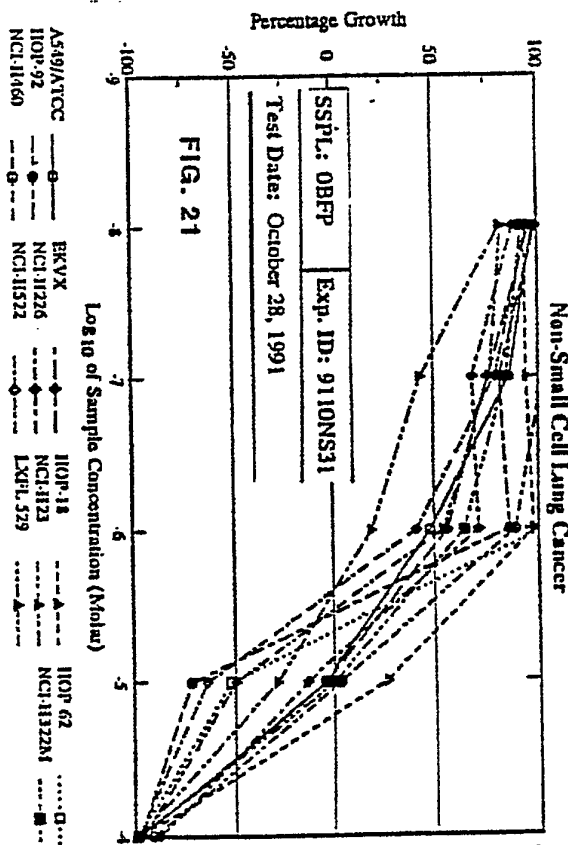
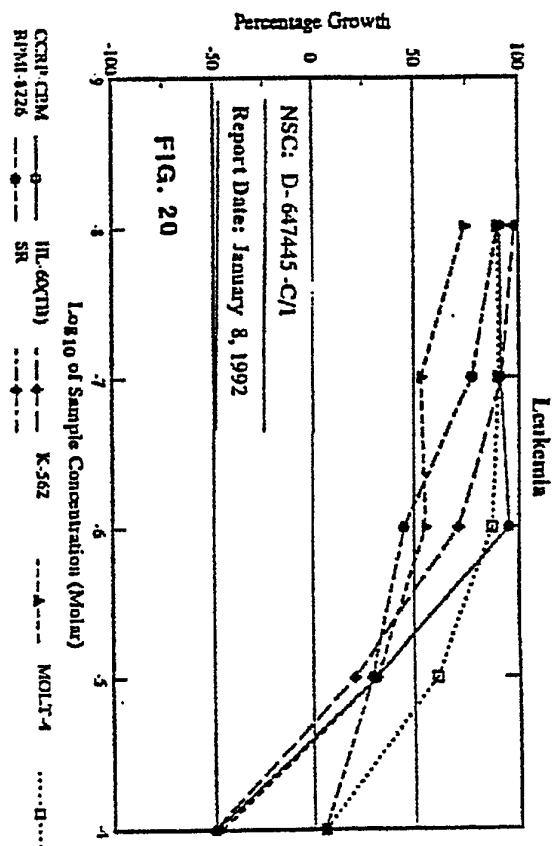


DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNG

CALCIOL-all trans-RETINAT-KONZENTRAT FIG. 16 - 19



DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNG
CALCIOL-LINOLENT-KONZENTRAT FIG. 20 - 23



DOSIS-WIRKUNGS-BEZIEHUNG
CALCIOL-LINOLENAT-KONZENTRAT FIG. 24 - 27

