



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 699 18 950 T2 2005.07.28

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 051 383 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 699 18 950.0

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/GB99/00155

(96) Europäisches Aktenzeichen: 99 901 732.0

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 99/040056

(86) PCT-Anmeldetag: 02.02.1999

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 12.08.1999

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 15.11.2000

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 28.07.2004

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 28.07.2005

(51) Int Cl.⁷: C07C 49/84

C07C 43/215, C07C 205/35, C07C 255/36,
C07D 213/57, A61K 31/09, A61K 31/12

(30) Unionspriorität:

9802522 06.02.1998 GB
115015 14.07.1998 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

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

(73) Patentinhaber:

De Montfort University, Leicester, GB

(72) Erfinder:

POTTER, Gerard Andrew, Leicester, GB;
PATTERSON, Lawrence Hylton, Leicester, GB;
BURKE, Michael Danny, Leicester, GB; BUTLER,
Paul Crispin, Leicester, GB

(74) Vertreter:

PFENNING MEINIG & PARTNER GbR, 10719 Berlin

(54) Bezeichnung: DURCH HYDROXYLIERUNG AKTIVIERTE MEDIKAMENTVORSTUFEN

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 eingelebt, 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

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Prodrugs, die durch enzymatische, aromatische Hydroxylierung aktiviert werden, insbesondere Anti-Tumor-Prodrugs und solche, die durch die Hydroxylierungsaktivität des Enzyms CYP1B1 aktiviert werden.

[0002] Es sind viele konventionelle zytotoxische Arzneimittel bekannt, die für chemotherapeutische Zwecke verwendet werden. Üblicherweise bringen sie aber das Problem mit sich, dass sie allgemein zytotoxisch sind und daher auch andere Zellen als die, die zerstört werden sollen, beeinflussen. Dies kann dadurch etwas gemildert werden, dass zielgerichtete Systeme zur Wirkstofffreisetzung verwendet werden, z.B. die direkte Injektion an einer Stelle des tumorösen Gewebes, oder z.B. durch Bindung des zytotoxischen Mittels an einen Antikörper, der ein Antigen, das durch kanzerogene Zellen entwickelt wird, erkennt. Alternativ kann elektromagnetische Strahlung eingesetzt werden, um chemische Änderungen in einem Mittel an einer gewünschten Stelle im Körper zu bewirken, so dass dieses zytotoxisch wird. Dennoch besitzen all diese Techniken in größerem oder kleinerem Umfang gewisse Einschränkungen und Nachteile.

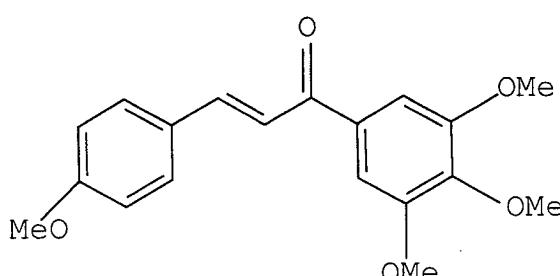
[0003] In Murray, G.I. et al., 15 July 1997, Cancer Research, 57: 3026-3031 wird berichtet, dass das Enzym CYP1B1, ein Mitglied der Cytochrom-P450-Familie von xenobiotisch metabolisierenden Enzymen, mit einer hohen Frequenz in einem Bereich menschlicher Krebsarten einschließlich Brust-, Dickdarm-, Lungen-, Speiseröhre-, Haut-, Lymphknoten-, Gehirn- und Hodenkrebs exprimiert wird und dass es in normalen Geweben nicht detektierbar ist. Dies führt zur Schlussfolgerung (S. 3030, letzter Satz), dass „...die Expression von CYP1B1 in Tumorzellen ein molekulares Ziel für die Entwicklung neuer Antikrebsmittel bereitstellt, das durch die Anwesenheit von CYP1B1 in Tumorzellen selektiv aktiviert werden könnte“. Keine spezifischen Antikrebsmittel werden vorgeschlagen.

[0004] Die vorliegenden Erfinder waren nun bei der Herstellung einer Gruppe von Prodrugs erfolgreich, die im normalen Zustand einen geringen oder vernachlässigbaren zytotoxischen Effekt aufweisen, die aber eine hohe Zytotoxizität aufweisen (d.h. sie besitzen eine im wesentlichen gesteigerte Zytotoxizität), wenn sie durch CYP1B1 hydroxyliert werden. Dies ermöglicht ein selbständige zielendes System zur Wirkstofffreisetzung, in dem eine nicht-zytotoxische Verbindung (oder zumindest vernachlässigbare zytotoxische Verbindung) einem Patienten verabreicht werden kann, z.B. in einer systemischen Weise, und die Verbindung dann an der Stelle der Tumorzellen hydroxyliert wird (intratumorale Hydroxylierung), um eine Verbindung hoher Zytotoxizität zu bilden, die die Tötung der Tumorzellen bewirkt. Die Tatsache, dass CYP1B1 durch normale Zellen nicht exprimiert wird, bedeutet, dass die Hydroxylierung der Verbindung nur an der Stelle der Tumorzellen erfolgt und daher nur Tumorzellen betroffen sind, wodurch ein selbständige zielendes System zur Wirkstofffreisetzung bereitgestellt wird.

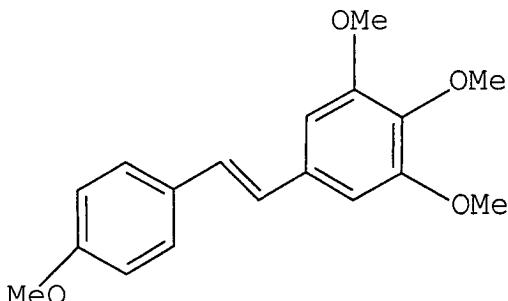
[0005] Die Prodrugs der vorliegenden Erfindung zeigen den ausgeprägten Vorteil, dass sie in der Behandlung von Tumoren an allen Stellen im Körper einsetzbar sind, was bedeutet, dass sogar Tumore, die eine Metastase durchlaufen haben (und normalerweise nicht ortsspezifischen Therapien zugänglich sind) genauso wie natürlich primäre und sekundäre Tumore behandelt werden können.

[0006] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird die Verwendung eines Prodrugs (d.h. Pro-Pharmakon), das durch enzymatische, aromatische Hydroxylierung aktiviert wird, mit der Formel einer der Formeln VII oder XII:

(VII) :



(XII) :



bei der Herstellung eines Arzneimittels für die Behandlung eines Tumors bereitgestellt.

[0007] Beispiele von Tumoren schließen Krebse (maligne Plastome) genauso wie andere Plastome, z.B. „unschuldige“ Tumore, ein. Das Prodrug kann durch Hydroxylierung durch CYP1B1 aktiviert werden.

[0008] Diese Prodrugs sind Styrol- oder Chalcon-Derivate und deren spezifische Anti-Tumor-Verwendung ist von Murray, G.I. et al. (supra) weder vorgeschlagen noch offenbart worden. Ebenso wenig ist die Tatsache, dass sie tatsächlich Prodrugs mit einer „aktivierten“ hydroxylierten Form sind, bekannt. Dort wo Verbindungen gemäß der vorliegenden Erfindung zuvor identifiziert und hergestellt wurden, wurden sie aufgrund ihrer geringen (oder vernachlässigbaren) Zytotoxizität nicht als Anti-Tumor-Mittel identifiziert. Somit führt die intratumorale Hydroxylierung der Prodrugs gemäß der vorliegenden Erfindung zu deren überraschenden und unerwarteten Wirksamkeit. Die Styrol-Substruktur der Verbindungen der Formel (VII) und (XII) ist für die Bereitstellung ihrer Wirksamkeit wesentlich.

[0009] Verbindung XII (ein trans-Stilben) ist aus der US 5,430,062 bekannt, aber sie weist eine geringe Anti-Tumor-Wirksamkeit während in vitro-Studien auf.

[0010] JP 98 188546 betrifft die Herstellung von Manganat-Derivaten der Chalcone und die nachfolgenden chemischen Reaktionen mit Methylacrylat und anderen α,β -ungesättigten Carbonylverbindungen.

[0011] Keine Veröffentlichung schlägt vor, dass die Verbindungen VII oder XII therapeutisch wirksame Anti-Tumor-Mittel sein können und insbesondere schlägen sie nicht vor, dass die Verbindungen VII oder XII aktiviert werden können, um wirksame zytotoxische Mittel innerhalb von Tumorzellen zu werden.

[0012] Das Prodrug kann von einer der Gruppen bestehend aus den Formeln VII und XII ausgewählt sein und kann ein antimitotisches Mittel in seinem hydroxylierten Zustand sein.

[0013] Die antimitotischen Prodrugs der Formeln (VII) und (XII) sind insbesondere nützlich, da derzeitige antimitotische Mittel aufgrund schwerwiegender Nebeneffekte, die von der Vergiftung sowohl normaler Zellen als auch Tumorzellen resultieren, von eingeschränktem Nutzen sind. Dennoch ermöglicht die vorliegende Erfindung die spezifische *in situ*-Herstellung des antimitotischen Mittels an den Tumorzellen, wodurch deren spezifische Zielführung erreicht wird.

[0014] Herstellungsverfahren der Prodrugs gemäß der vorliegenden Erfindung sind dem Fachmann griffbereit, z.B. wie im folgenden dargestellt. Die Verbindung gemäß der vorliegenden Erfindung können in einer Vielzahl verschiedener Wege hergestellt werden, z.B. durch Aldol-Kondensation (Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 4th Edition, S. 146), durch McMurry-Kupplung (McMurry, Fleming, 1974, J. Am. Chem. Soc., 96: 4708-4709) oder durch Wittig-Reaktion (1973, Org. Synth. Coll., 5: 751).

[0015] Verfahren zur Herstellung von Medikamenten sind weitverbreitet. Zum Beispiel kann ein Medikament zusätzlich einen pharmazeutisch annehmbaren Träger, ein Diluens oder ein Corrigens enthalten (Remington's Pharmaceutical Sciences and US Pharmacopeia, 1984, Mack Publishing Company, Easton, PA, USA).

[0016] Die exakte Dosierung, d.h. eine pharmazeutisch annehmbare Dosierung, des einem Patienten zu verabreichenden Prodrugs kann vom Fachmann leicht, z.B. durch Verwendung von einfachen Dosen-Reso-

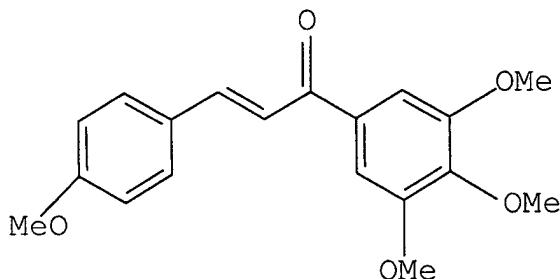
nanz-Versuchen, festgestellt werden.

[0017] Da die Prodrugs gemäß der vorliegenden Erfindung gegenüber Tumorzellen spezifisch sind, können sie nicht nur zur Behandlung von Tumoren verwendet werden, sondern ebenso zur Bestimmung, ob ein Patient (oder eine vom Patienten genommene Probe) Tumorzellen besitzt oder nicht. Zum Beispiel kann die Zellzahl in einer Probe ebenso wie die Anwesenheit und Menge des hydroxylierten Prodrugs untersucht werden, wodurch die Diagnose der Anwesenheit von Tumorzellen ermöglicht wird.

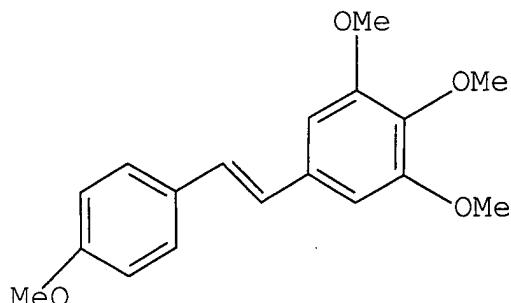
[0018] Ebenso wird ein Verfahren zur Diagnose, ob eine Zellprobe tumorös ist, bereitgestellt, das die Schritte umfasst:

(i) Verabreichung einer Verbindung mit der Formel einer der Formeln VII oder XII:

(VII) :



(XII) :



zu der Zellprobe;

(ii) Bestimmung der Anwesenheit oder Abwesenheit des hydroxylierten Metabolits der Verbindung in den Zellen und

(iii) Korrelation der Ergebnisse von Schritt (ii) mit der Anwesenheit oder Abwesenheit einer tumorösen Zellprobe.

[0019] Die Erfindung wird weiter von der nachfolgenden Beschreibung verdeutlicht, die, nur anhand von Beispielen, verschiedene Formen von Prodrugs zeigt.

[0020] Die Figur zeigt das Ergebnis einer 40stündigen Exposition von Zellen mit der Verbindung (VII) (ebenso als DMU 102 bezeichnet). Die x-Achse zeigt die Konzentration in μM von DMU 102. Die y-Achse zeigt die Überlebensrate von Zellen, als Prozentsatz der überlebenden Zellen in einem Kontrollexperiment. Die Fehlerbalken zeigen Resultate $\pm 1 \text{ SE}$ (Standardabweichung). Die runden Markierungen stehen für Zellen der Linie V79mz. Dreieckige Markierungen stehen für die Zelllinie V79h1B1.

EXPERIMENTELLES

[0021] Prodrugs gemäß der vorliegenden Erfindung wurden, wie im folgenden beschrieben, hergestellt und die Produkte der hydroxylierten Metaboliten wurden auf die Anwesenheit der gewünschten hydroxylierten Produkte untersucht. Es wurde ebenso ihre in vitro-Zytotoxizität gegen Kontroll- und Test-Zelllinien bestimmt.

Mikrosomale Herstellung von herausgeschnittenem, menschlichen Tumorgewebe

[0022] Eine mikrosomale Herstellung von menschlichem Tumorgewebe, das das CYP1B1-Enzym exprimiert, wurde im wesentlichen nach dem Verfahren von Barrie et al. (1989, J. Steroid Biochem., 6: 1191-1195) hergestellt.

Untersuchung des Metabolismus

[0023] Die Versuche wurden bei 37° C unter gelbem Licht durchgeführt.

Stand der Technik

[0024] Ein Array von Zentrifugenröhren (1,5 ml) wurden in einem Wasserbad-Schüttler unter aeroben Bedingungen angeordnet. Zu jedem Röhrchen wurden 500 µl eines Puffers (0,1 M NaK₂PO₄, pH = 7,6), gefolgt von 5 µl einer Stammlösung (25 mM) von NADPH zugesetzt. Der mikrosomale Ansatz (80 ml) wurde dann zugesetzt und die Röhrchen 5 min. bei 37° C präinkubiert. Das Prodrug-Substrat wurde anschließend zugesetzt (10 µl einer 5 mM Stammlösung) und eine Stunde lang bei 37° C inkubiert. Nach einer Stunde wurden die Röhrchen in ein Eiswasser-Kühlbad (0° C) übertragen. Die Röhrchen wurden dann bei 15.000 rpm 30 min. lang zentrifugiert. Im Anschluss wurde eine Probe der überstehenden Lösung (100 µl) genommen und mittels HPLC analysiert.

[0025] HPLC-Bedingungen: Spherisorb C18 (25 cm × 4,6 mm id), wurde ohne Vorsäule verwendet. Die Flussgeschwindigkeit betrug 1 mm/min. Eluent: 75% 0,1 M KH₂PO₄ und 15 % Acetonitril.

[0026] Die Prodrugs wurden wie zuvor beschrieben untersucht, wobei festgestellt wurde, dass eine aromatische Hydroxylierung stattgefunden hatte. Die hydroxylierten Metaboliten wurden mittels HPLC detektiert und bestätigten die Synthese von authentischen hydroxylierten Metaboliten.

[0027] Die Verbindung VII (E)-1-(4-Methoxyphenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-1-en-3-on wurde in den hydroxylierten Metaboliten (E)-1-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-3-(3,4,5-tribmethoxyphenyl)prop-1-en-3-on.

In vitro-Studien der Zytotoxizität

[0028] Das verwendete Zytotoxizitäts-Assay-Verfahren war eine Modifikation des MTT-Zytotoxizitäts-Assays (Carmichael et al., 1987, Cancer Research, 47: 936). Die Aktivität der Verbindungen wurde anhand von Zelllinien, die das Enzym CYP1B1 (V79mzb1B1) exprimieren und der korrespondierenden, parentalen Zelllinie, die ZYP1B1 (V79mz) nicht exprimiert, ausgewertet (Luch et al., 1998, Chem. Res. Toxicol., 11: 686). 10³ Zellen wurden in 100 µl DMEM (hohe Glucose) (Dulbecco's Modified Beagles Medium, Life Science International) und 10 % Temperatur-inaktiviertes FBS (Fötale Bovin-Serum, Hybrimax, Sigma) pro Reaktionsgefäß von 96 Well-Mikrotiterplatten 24 Stunden lang plattiert, um die Adhäsion und metabolische Wiedergewinnung zu ermöglichen, gefolgt von der vierfachen Addition bei doppelter Stärke in dem gleichen Medium in 100 µl, um eine letztlich maximale Konzentration von 0,2 % DMSO (Dimethylsulfoxid) zu erreichen. Stammlösungen der Verbindung wurden bis zu 100 mM in DMSO hergestellt und nicht länger als einen Monat bei 4° C aufbewahrt. Die Platten wurden dann bei 37° C, 5 % CO₂, 100 Luftfeuchtigkeit für weitere 48 Stunden inkubiert, gefolgt von einem Waschschritt durch dreimalige Immersion in Dulbecco's PBS (phosphatgepuffertes Salz) A. Anschließend wurden 50 µl RPMI 1640 w/o Phenolrot (Roswell Park Memorial Institute Medium 1640, Life Science International) mit 2 mg/ml MTT 4 Stunden wie zuvor zugesetzt, der Überschuss MTT durch Absaugen entfernt und 125 µl DMSO auf einem Vortex 30 min. lang zugesetzt, um das Produkt zu lösen. Die Absorption bei A₄₅₀ wurde aufgenommen und die Ergebnisse als Prozent der Überlebensquote der nur mit Carrier behandelten Kontrollproben ausgedrückt. Aus diesen Daten wurde der IC₅₀-Wert berechnet, der die Konzentration darstellt, bei der 50 % Zytotoxizität beobachtet wird. Die Bestätigung der Expression von CYP1B1 wurde durch Immunozytologie, Western Blotting und EROD-Assay (Ethoxresorufin-O-dealkylase-Assay; Burke, M.D. et al., 1985, Biochem. Pharmacol., 34: 3337) von in dem Assay zum Zeitpunkt, wenn die Verbindungen zugesetzt wurden, verwendeten Zellen bestimmt, jeweils fixiert in Methanol bei -20° C oder eingesammelt von replizierten

Platten und gelagert bei -80° C bis zum Assay.

[0029] Verbindung VII wurde unter Verwendung des obigen Assay-Systems untersucht und die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt. Diese Ergebnisse demonstrieren, dass die Verbindung verschiedene Toxizitäten gegen CYP1B1 exprimierende Zelllinien zeigt.

Tabelle 1: Inhibierung des Wachstums von Zellen, die CYP1B1 nicht exprimieren bzw. exprimieren (IC50/uM ± 2 %).

Verbindung	DMU Code Nr.	V79 Zellen	V791B1 Zellen
Verbindung VII	DMU-102	1,0	0,005

[0030] Besonders beachtet werden muss, dass Verbindung VII eine etwa 200fach größere Zytotoxizität gegenüber der CYP1B1 exprimierenden Zelllinie als zu der parentalen, dieses Enzym nicht exprimierenden Zelllinie zerstört. Daher ist Verbindung VII besonders als tumorselektives Antikrebsmittel nützlich. Ein Plot der prozentualen Zellenüberlebensrate gegen die Konzentration für Verbindung VII (DMU-102) ist in **Fig. 1** gezeigt.

Herstellungsverfahren Verbindung VII

(E)-1-(4-Methoxyphenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-1-en-3-on (DMU-102)

[0031] Zu einer gerührten Lösung von 4-Methoxybenzaldehyd (1,0 g, 7,3 mmol) und 3,4,5-Trimethoxyacetophenon (1,54 g, 7,3 mmol) in Methanol (30 ml) wurde eine 50 Gew.-%-Lösung von wässrigen NaOH (1 ml) zugesetzt. Die Mischung wurde 24 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt, mit zwei M HCl angesäuert und mit Ethylacetat (3 × 30 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet, gefiltert und das Lösungsmittel im Vakuum verdampft. Das Produkt wurde durch Säulenchromatographie, gefolgt von einer Rekristallisation aus Methanol gereinigt, um die oben bezeichnete Verbindung als schwach gelben Feststoff zu erhalten. 1,22 g (51 %). ¹H NMR (CDCl₃), 7,8 (1H,d), 7,6 (2H,m), 7,4 (1H,d), 7,3 (2H,d), 7,0 (2H,d), 3,9 (9H,s), 3,8 (3H,s). Massenspektrum (FAB) m/e 329 (M+1).

Hydroxylierter Metabolit der Verbindung VII

(E)-1-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-1-en-3-on

[0032] Zu einer gerührten Lösung von 3-Hydroxy-4-Methoxybenzaldehyd (1,0 g, 6,57 mmol) und 3,4,5-Trimethoxyacetophenon (1,38 g, 6,57 mmol) in Methanol (30 ml) wurde eine 50 %ige (w/v) Lösung von wässrigen NaOH (1 ml) gegeben. Die Mischung wurde 24 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt, mit 2N HCl angesäuert und mit Ethylacetat (3 × 30 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet, gefiltert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum verdampft. Das Produkt wurde durch Kristallisation aus Methanol gereinigt (0,63 g, 28 % Ausbeute). ¹H-NMR(CDCl₃) 7,8 (1H, d), 7,3 (4H,m), 7,2 (1H,m), 6,9 (1H,d), 5,7 (1H,s), 3,9 (12H,s). Massenspektrum (FAB) m/e 345 (M+1).

Verbindung XII (über eine Wittig-Reaktion)

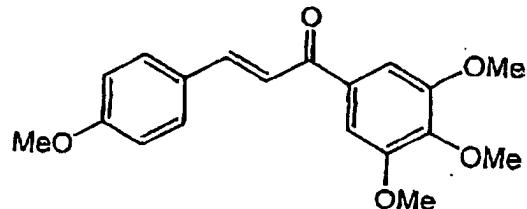
(E)-3,4,5-Trimethoxy-4'-methoxystilben (DMU-212)

[0033] Zu einer gerührten Lösung von 4-methoxybenzyltriphenylphosphoniumchlorid (6,4 g, 15,3 mmol) und 3,4,5-trimethoxybenzaldehyd (3 g, 15,3 mmol) in CH₂Cl₂ wurde eine gekühlte wässrige Lösung von NaOH (62,5 Äquivalente) in H₂O zugesetzt. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur 48 Stunden lang gerührt. Die organische Phase wurde separiert und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ gewaschen. Die organische Phase wurde konzentriert und der Rest wurde aus Ethanol rekristallisiert, um das oben genannten E-trans-Isomer 1H NMR (CDCl₃) 8,7 (1H, d:), 8,2 (4H,m), 8,0 (2H,s), 5,2 (6H,s), 5,0 (6H,s). Massenspektrum (FAB) 301 (M+1).

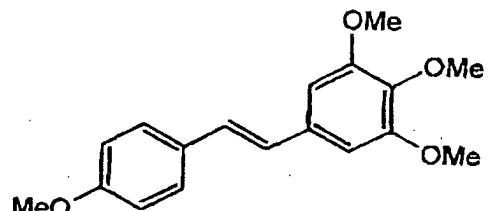
Patentansprüche

1. Verwendung eines Pro-Pharmakons, das durch enzymatische aromatische Hydroxylierung aktiviert ist, mit der Formel von einer der Formeln VII oder XII:

(VII):



(XII):

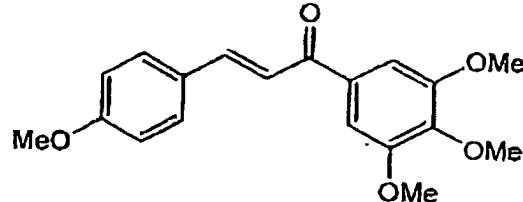


bei der Herstellung eines Medikaments für die Behandlung eines Tumors.

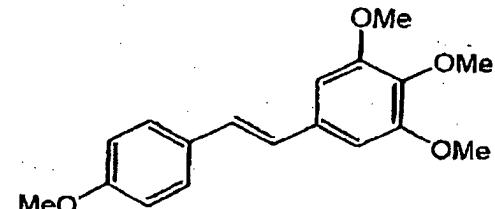
2. Verwendung nach Anspruch 1, bei der das Medikament zusätzlich einen Träger, ein Diluens oder ein Corrigens, die pharmazeutisch annehmbar sind, aufweist.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, bei der das Pro-Pharmakon durch CYP1B1 hydroxyliert ist.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei der das Pro-Pharmakon aus einer der Gruppen bestehend aus den Formeln VII und XII ausgewählt ist und in seinem hydroxylierten Zustand ein antimitotisches Mittel ist.
5. Verfahren zur Diagnose einer Zellprobe als tumorös, welches die Schritte aufweist:

i) Zugeben einer Verbindung mit der Formel von einer der Formeln VII oder XII:

(VII):



(XII):



zu der Zellprobe;

- ii) Bestimmen der Anwesenheit oder Abwesenheit des hydroxylierten Metabolits der Verbindung in den Zellen; und
- iii) Bringen der Ergebnisse des Schritts (ii) in Wechselbeziehung mit der Anwesenheit oder Abwesenheit einer

DE 699 18 950 T2 2005.07.28

tumorösen Zellprobe.

Es folgt ein Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Figure 1

