



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 602 04 067 T2** 2006.01.26

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 238 666 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **602 04 067.1**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 004 592.8**

(96) Europäischer Anmeldetag: **28.02.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **11.09.2002**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **11.05.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **26.01.2006**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 31/352** (2006.01)

A61K 49/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

801163 07.03.2001 US

(73) Patentinhaber:

Health Research Inc., Buffalo, N.Y., US

(74) Vertreter:

derzeit kein Vertreter bestellt

(84) Benannte Vertragsstaaten:

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

(72) Erfinder:

**Bellnier, David A., Buffalo, New York 14214, US;
Dougherty, Thomas J., Grand Island, New York
14072, US**

(54) Bezeichnung: **Verwendung von Xanthenon-4-Essigsäure zur Herstellung eines Medikaments für die Behandlung von hyperproliferativer Störungen**

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**

[0001] Diese Erfindung betrifft die Herstellung von Produkten als eine kombinierte Präparation für eine getrennte oder aufeinanderfolgende Anwendung bei der Behandlung von hyperproliferativen Geweben, wie Tumoren und hyperproliferativen Blutgefäßen, z.B. solchen, die mit altersbedingter Makuladegeneration (AMD) einhergehen, unter Anwendung von photodynamischen Verfahren. Bestimmte photodynamische Verbindungen, z.B. mit Porphyrin verwandte Verbindungen, wie beispielsweise Derivate von Chlorinen, Bacteriochlorinen und Hematoporphyrinen, wie Porfimer-Natriumverbindungen, können, wenn sie stabil sind, zu diesem Zweck verwendet werden. Diese Verbindungen besitzen die Fähigkeit, sich bevorzugt in hyperproliferativen Geweben anzusammeln, wenn sie in einen Organismus injiziert werden, und Licht zu absorbieren, so daß sie eine Reduzierung des Wachstums des Gewebes bewirken, wie beispielsweise durch dessen Zerstörung. Solch eine Reduzierung des Wachstums von hyperproliferativem Gewebe unter Verwendung photodynamischer Verbindungen wird hierin kollektiv als photodynamische Therapie bezeichnet.

[0002] Photodynamische Therapie (PDT) ist eine relativ neue Modalität für die Behandlung verschiedener Typen solider Tumore. Viele Porphyrine und verwandte photosensitive Verbindungen zeigen die Fähigkeit, sich nach intravenöser Injektion selektiv in neoplastischem Gewebe anzusammeln und das Gewebe für eine Bestrahlung zu sensibilisieren. Eine Aktivierung des photosensitiven Mittels durch sichtbares Licht, welches von einem Laser durch Faseroptiken geliefert wird, führt zu der Erzeugung von zytotoxischen Mitteln. Es ist derzeit anerkannt, daß die Erzeugung von aus molekularem Sauerstoff gebildetem Singulett-Sauerstoff, der aus molekularem Sauerstoff durch die Übertragung von Energie direkt oder indirekt von dem aktivierten Photosensibilisator gebildet wird, für Tumorumöostase und die beobachtete Tumorerstörung verantwortlich ist.

[0003] Nach der Absorption von Licht wird der Photosensibilisator von seinem Singulettgrundzustand (P) in einen elektronisch angeregten Triplettzustand ($^3P^*$; $T \sim 10^{-2}$ sec) über einen kurzlebigen angeregten Singulettzustand ($^1P^*$; $T \sim 10^{-6}$ sec) umgewandelt. Das angeregte Triplett kann nicht-radioaktivem Zerfall unterworfen werden oder an einem Elektronenübertragungsvorgang mit biologischen Substraten unter Ausbildung von Radikalen und Radikationen, welche nach Wechselwirkung mit molekularem Sauerstoff (O_2) Singulett-Sauerstoff und Superoxid (O_2^-) erzeugen können, teilnehmen. Singulett-Sauerstoff ist die Schlüsselsubstanz, die für Zell- und Gewebeschädigung in der PDT verantwortlich ist, wobei sie

eine Oxidation des Zielgewebes (T) verursacht; es gibt auch Belege dafür, daß das Superoxidion daran beteiligt sein kann.

[0004] 1978 wurde berichtet, daß eine Kombination aus Hematoporphyrinderivat (HpD) und Licht effektiv eine teilweise oder vollständige Tumornekrose in 111 von 113 Tumoren in 25 Patienten bewirkte. PDT mit Photofrin®, einem gereinigten HpD, wurde in Kanada für Blasen- und Speiseröhrenkrebs zugelassen, in den Niederlanden und Frankreich für Speiseröhrenkrebs im frühen und fortgeschrittenen Stadium, in Japan für Lungen-, Speiseröhren-, Magen- und Gebärmutterkrebs im frühen Stadium und in den Vereinigten Staaten für Speiseröhren- und Lungenkrebsarten im fortgeschrittenen Stadium. Mehr als 10.000 Patienten wurden weltweit mit PDT gegen eine Vielzahl von Tumoren, die für Licht zugänglich sind, einschließlich Haut-, Lungen-, Blasen-, Kopf- und Nacken-, Brust- und Speiseröhrenkrebsarten, behandelt. PDT übt ihre Antitumorwirkung durch verschiedene Mechanismen aus, z.B. durch direkte Toxizität auf Tumorzellen, Einschluß und Auflösung von Tumorgefäßversorgung und -mikrogefäßversorgung. Trotz dieser Wirkungsweisen wird eine Anzahl von mit PDT behandelten Tumoren nicht geheilt. Darüber hinaus hat PDT wenig oder keine Wirkung auf metastatische Läsionen, die nicht an Licht ausgesetzt werden. Darüber hinaus sind bekannte photodynamische Verbindungen häufig gegenüber hypoxischen Tumorzellen unwirksam und tragen wenig dazu bei, eine Immunantwort des Organismus gegen unerwünschtes hyperproliferatives Gewebe zu verstärken. Daher ist photodynamische Therapie, obwohl sie wirkungsvoll ist, nicht so wirkungsvoll, wie es erwünscht ist, und es wird ein Verfahren zur Verbesserung der Gesamtwirksamkeit benötigt.

[0005] Chemotherapie wird a) als eine unterstützende Behandlung vor und nach einer lokalen Behandlung der primären Erkrankung mit dem Ziel, okkulte Metastasierung auszuschließen, und b) in Kombination mit anderen Modalitäten, einschließlich anderen chemotherapeutischen Arzneimitteln, in einem Ansatz, deren therapeutische Wirkungen zu verbessern, eingesetzt. Diese Synergie führt nicht zu einem therapeutischen Vorteil, wenn die Interaktion zwischen den Wirkungen nicht tumorspezifisch ist. Es gab in jüngerer Zeit ein Interesse, Modifizierer der biologischen Reaktion (BRM) als einzelne oder unterstützende Therapien gegen Krebs einzusetzen. BRM bestehen aus einer großen Anzahl von Molekülen, die dahingehend wirken können, daß sie verschiedene Komponenten der Immunantwort oder anderer Verteidigungsmechanismen regulieren.

[0006] Die Entwicklung von Mitteln, welche die Immunantwort des Wirts gegen Malignitäten stimulieren oder verstärken können, stellt einen interessanten Ansatz für die Krebstherapie dar. Flavon-8-Essigsäu-

re ([Fig. 1a](#)) ist ein synthetisches Flavonoid, das von der Mitte der 80er Jahre bis in die 90er Jahre als ein Mittel zur Behandlung solider Tumoren in breitem Maße untersucht wurde. FAA übt seine Antitumoraktivität zumindest zum Teil durch Störung der Gefäßversorgung des Tumors aus. Zum Beispiel haben verschiedene Forscher unter Anwendung von Farbstoffperfusions-, NMR-, RbCl-Aufnahme- und Xe-Clearance-Techniken gezeigt, daß FAA eine Verminderung des Tumorblutstroms bewirkt. Es wurde wenig oder keine Veränderung im normalen Gewebeblutstrom beobachtet. Obwohl FAA in vitro Aktivität gegen eine Anzahl von Tumorzelllinien zeigt, sind die Wirkungen in vivo, in erster Linie hämorrhagische Tumornekrose, ähnlich denjenigen, die nach einer Behandlung mit TNF beschrieben wurden. FAA induziert die Aktivität von natürlichen Killerzellen in der Milz und anderen Geweben. Ein Vergleich von in vitro- und in vivo-Studien unter Verwendung des Lewis-Lungenkarzinoms legte einen indirekten Modus der Antitumorwirkung sehr stark nahe. Mahadevan et al. zeigten, daß eine Vorbehandlung von Mäusen mit Antiserum gegen TNF- α die Reduzierung des Colon 26-Tumorblutstroms, die durch FAA induziert wurde, fast vollständig aufheben konnte. In der gleichen Studie wurde gezeigt, daß FAA in vitro Splenozyten und peritoneale Exsudatzellen anregt, Material mit TNF- α -artiger Aktivität zu produzieren und freizusetzen (bestimmt in einem funktionalen Test unter Verwendung von TNF-sensitiven WEHI 164-Zellen). Diese Beobachtungen legen nahe, daß die Aktivität von FAA ihrer Fähigkeit zugeschrieben werden kann, TNF-alpha in Tumoren zu induzieren.

[0007] Trotz der eindrucksvollen vorklinischen Aktivität von FAA waren klinische Versuche aufgrund des Fehlens von Wirksamkeit und einer die Dosierung beschränkenden Toxizität enttäuschend. Struktur-Aktivität-Studien von Analogen von FAA wurden unternommen, um Verbindungen mit ähnlichen biologischen Profilen, aber mit höherer klinischer Wirksamkeit zu finden. In der frühesten Studie erwies sich das topologisch verwandte, einfach substituierte Analoge mit kondensierten Ringen, Xanthenon-4-essigsäure (XAA), als wirksamer als FAA bei der Eliminierung von Colon 38-Tumoren. Anschließend zeigte eine Studie von der gleichen Gruppe, daß einige disubstituierte Derivate von XAA, insbesondere 5,6-Dimethylxanthenon-4-essigsäure (DMXAA; [Fig. 1b](#)), gegen implantierte Maustumore beträchtlich größere Dosiswirksamkeiten besaß als FAA. Wie für FAA wurde für DMXAA gezeigt, daß es TNF- α zusammen mit IFN- γ induziert. Das TNF- α wird nahezu vollständig innerhalb des Tumors von sowohl Tumorzellen als auch von den Tumor infiltrierenden Wirtszellen produziert. Zirkulierendes TNF ist deutlich geringer vorhanden als dasjenige, welches man durch Injizieren von therapeutischen Mengen an TNF- α oder durch endogene Induktion von TNF- α durch LPS-Verabreichung erhält. Dies führt zu einer selektiven Tumo-

rantwort mit moderater systemischer Toxizität. DM-XAA ist im Gegensatz zu FAA in vitro aktiv gegen kultivierte menschliche und Mauszellen. Es wurde gezeigt, daß exogenes rHuTNF- α PDT ohne eine damit einhergehende Erhöhung von entweder lokaler oder systemischer Toxizität verstärkt.

[0008] Chaplin, D.J. Inc. J. Radial. Biol., 1991, Band 60, Nr. 1/2, S. 311–325 offenbart eine Kombination von PDT unter Verwendung von Hematoporphyrinoligomeren und lokaler Verabreichung von BRM, nämlich der Streptokokkenpräparation OK-432.

[0009] Es ist daher eine Aufgabe der Erfindung, die Wirksamkeit von photodynamischen Verbindungen gegen hyperproliferatives Gewebe, einschließlich hypoxische Tumorzellen, zu verbessern, die Immunantwort des Organismus gegen unerwünschtes hyperproliferatives Gewebe zu verstärken und eine Wirksamkeit auch in der Abwesenheit eines Aussetzens an Licht zu liefern.

KURZE ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0010] Erfindungsgemäß wird die Verwendung einer photodynamischen Verbindung bereitgestellt, die tumorselektive Inkorporation aufweist und welche bei einer bestimmten Lichtfrequenz aktiviert wird, und einer Xanthenon-4-essigsäure oder eines Salzes eines Metalls der Gruppe I, eines Metalls der Gruppe II, eines Ammoniumsalzes oder eines quaternären Salzes davon für die Herstellung eines Produkts als eine kombinierte Präparation für eine getrennte oder aufeinanderfolgende Anwendung bei der Behandlung von hyperproliferativem Gewebe eines Säugers.

[0011] Die Anwendung der kombinierten Präparation der Erfindung umfaßt die Stufen, in denen man dem Säuger eine photodynamische Verbindung, die eine selektive Aufnahme in das hyperproliferative Gewebe aufweist und welche bei einer bestimmten Lichtfrequenz aktiviert wird, injiziert, dem Säuger eine Xanthenon-4-essigsäure oder ein Salz eines Metalls der Gruppe I, eines Metalls der Gruppe II oder ein quaternäres Salz davon nahe dem Zeitpunkt der maximalen Aufnahme der photodynamischen Verbindung in das hyperproliferative Gewebe injiziert und das hyperproliferative Gewebe an Licht bei der bestimmten Frequenz, welche die photodynamische Verbindung aktiviert, aussetzt.

[0012] Die Anwendung der kombinierten Präparation bewirkt Nekrose des hyperproliferativen Gewebes in einem Ausmaß, das größer ist als dasjenige, welches man durch entweder die photodynamische Verbindung oder Xanthenon-4-essigsäure allein erreichen kann. Darüber hinaus und überraschenderweise verstärkt die Anwendung der kombinierten Präparation eine Immunantwort des Säugers gegen das hyperproliferative Gewebe, sogar nachdem die pho-

todynamische Verbindung und die Xanthenon-4-essigsäure nicht mehr in dem Säuger vorhanden sind.

[0013] In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das hyperproliferative Gewebe ein Tumor.

[0014] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist die photodynamische Verbindung Porfimer-Natrium und die Lichtfrequenz zur Aktivierung ist 630 nm bei einer Energie von etwa 100 bis etwa 225 J/cm².

[0015] Vorzugsweise ist die Xanthenon-4-essigsäure 5,6-Dialkylxanthenon-4-essigsäure. Besonders bevorzugt ist die Xanthenon-4-essigsäure 5,6-Dimethylxanthenon-4-essigsäure. Bei der Anwendung der kombinierten Präparation der Erfindung ist die 5,6-Dimethylxanthenon-4-essigsäure vorzugsweise für das Injizieren in einer Dosis von etwa 5 bis etwa 50 mg/kg Körpergewicht des Säugers angepaßt. Ganz besonders bevorzugt ist die 5,6-Dimethylxanthenon-4-essigsäure für das Injizieren in einer Dosis von etwa 10 bis etwa 30 mg/kg Körpergewicht des Säugers angepaßt.

KURZE BESCHREIBUNG DER FIGUREN

[0016] [Fig. 1A](#) zeigt die chemische Struktur von FAA.

[0017] [Fig. 1B](#) zeigt die chemische Struktur von DMXAA.

[0018] [Fig. 2A](#) ist ein Diagramm, das die Dosisantwort von RIF-1-Tumoren auf PDT unter Verwendung von Porfimer-Natrium (Photofrin TM) unter Anwendung von Laserlicht bei 630 nm bei variierenden Dosierungen und Lichtenergien zeigt.

[0019] [Fig. 2B](#) ist ein Diagramm, das die Dosisantwort von RIF-1-Tumoren auf DMXAA bei variierenden Dosierungen zeigt.

[0020] [Fig. 3](#) ist ein Diagramm, das die Antwort von RIF-1-Tumoren auf PDT + DMXAA zeigt.

[0021] [Fig. 4](#) ist ein Diagramm, das die Antwort von RIF-1-Tumoren auf PDT + DMXAA zeigt, wobei eine schwache unmittelbare Antwort, gefolgt von einer verzögerten Tumorantwort, gezeigt ist.

[0022] [Fig. 5](#) ist ein Diagramm, das eine Reizsetzung von C3H-Mäusen mit RIF-1-Tumoren, gefolgt von Tumorregression von ursprünglichen Tumoren, die mit einer Kombination von PDT und DMXAA behandelt wurden, was zu einer verzögerten Antwort führt, zeigt.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0023] Das hyperproliferative Gewebe, welches Gegenstand einer Behandlung durch Anwendung der kombinierten Präparation der Erfindung ist, ist jedes Gewebe, das unkontrollierbar in dem Säuger wächst, wie Tumore und hyperproliferative Blutgefäße, wie man sie in AMD finden kann. Die Anwendung der kombinierten Präparation ist besonders geeignet für sowohl große als auch kleine Tumore, die metastatisch sein können. Die Tumore können Mikrotumore sein oder sie können hypoxisch sein.

[0024] Die kombinierte Präparation ist im wesentlichen auf jeden Säuger anwendbar, da die Wirkung der photodynamischen Verbindung unabhängig vom Säuger ist. Des weiteren ist, da die Xanthenon-4-essigsäure (XAA) Tumornekrosefaktor (TNF) unabhängig von dem betroffenen Säuger durch den gleichen Mechanismus induziert, die Verwendung von XAA ebenfalls unabhängig vom Säuger. Die kombinierte Präparation ist daher auf sämtliche Säuger anwendbar, insbesondere Nager und Primaten.

[0025] Die photodynamische Verbindung ist üblicherweise jede mit Porphyrin verwandte Verbindung, z.B. Porfimer-Natrium, welches unter der Marke PHOTOFRIN® vertrieben wird, und Derivate von Chlorin und Bacteriochlorin, wie sie z.B. beschrieben sind in den US-Patenten 4,866,168, 5,002,962, 5,028,621, 5,093,349, 5,173,504, 5,190,966, 5,198,460, 5,225,433, 5,314,905, 5,456,159, 5,498,710, 5,591,847, 5,864,035 und 6,103,751. Die photodynamische Verbindung wird üblicherweise in einer Menge von etwa 1 bis etwa 10 mg/kg Körpergewicht des Säugers eingesetzt. Wenn die photodynamische Verbindung Porfimer-Natrium ist, beträgt die verwendete Lichtfrequenz etwa 630 nm bei einer Energie von etwa 100 bis etwa 225 J/cm².

[0026] Die Xanthenon-4-essigsäure ist Xanthenon-4-essigsäure und deren substituierte Derivate, insbesondere Dialkylxanthenon-4-essigsäure und vorzugsweise 5,6-Dialkylxanthenon-4-essigsäure. Die Dialkylxanthenonessigsäure ist meistens Dimethylxanthenonessigsäure (DMXAA), welche in einer Konzentration von etwa 10 bis etwa 30 mg/kg Körpergewicht des Säugers eingesetzt wird. Es soll klar sein, daß der Begriff Xanthenon-4-essigsäure deren substituierte Derivate umfaßt, insbesondere deren alkylsubstituierte Derivate, und daß er deren Salze der Metalle der Gruppe I und der Gruppe II und deren Ammoniumsalze und quaternäre Salze umfassen soll.

[0027] DMXAA kann prinzipiell aus folgenden Gründen erfolgreich mit PDT kombiniert werden: a) die unterschiedlichen systemischen Toxizitäten dieser zwei Modalitäten erlauben ihre Kombination nahe bei den

vollständigen tolerierten Dosierungen mit additiven Wirkungen gegen Tumore und weniger als additiven Toxizitäten gegen normale Gewebe, b) veröffentlichte Ergebnisse legen nahe, daß DMXAA wirksamer ist gegen hypoxische Tumorzellen, genauer gesagt gegen solche Zellen, die höchstwahrscheinlich gegen PDT resistent sind, und c) die BRM-Eigenschaften von DMXAA in Kombination mit PDT können Immunität gegen den Tumor stimulieren. Unsere vorläufigen Daten mit dem genetisch identischen Mausfibrosarkom RIF-1 legen nahe, daß PDT mit unterstützender DMXAA sowohl zu erhöhter Antitumoraktivität ohne damit einhergehender Toxizität als auch zu Immunogenität gegen den Tumor führt. Eine Optimierung dieser letztgenannten Eigenschaft kann zu der erfolgreichen Auslöschung von okkulten Mikrometastasen führen.

[0028] Die kombinierte Präparation der Erfindung ist geeignet für eine lokale Behandlung von malignen Tumoren durch Kombinieren von photodynamischer Therapie mit einer Substanz, die in der Lage ist, eine biologische Antwort zu modifizieren, und sie ist geeignet, Tumormunität zu stimulieren, was zu der Kontrolle von primären Tumoren und okkulten Metastasen durch Kombinieren von photodynamischer Therapie mit einer Substanz, die in der Lage ist, eine biologische Antwort zu modifizieren, führt.

[0029] PDT und DMXAA oder verwandte Verbindungen, die eine biologische Antwort modifizieren, werden unter Anwendung von Dosierungen und Intervallen zwischen der Anwendung jeder Therapie so angewendet, daß eine starke, unmittelbare Antitumorantwort erzielt wird.

[0030] PDT und DMXAA oder verwandte Verbindungen, die eine biologische Antwort modifizieren, werden unter Anwendung von Dosierungen und Intervallen zwischen der Anwendung jeder Modalität so angewendet, daß eine verzögerte Antitumorantwort erzielt wird. Die verzögerte Antwort kann eine schwache und ineffektive unmittelbare Antitumorantwort erfordern. Die verzögerte Antwort führt unerwarteterweise zu der Immunität des Subjekts gegen anschließendes Tumorwachstum.

[0031] Die Figuren erläutern die Antworten von RIF-1-Tumoren auf entweder PDT ([Fig. 2a](#)) oder DMXAA ([Fig. 2b](#)). Dosisantwortdaten sind in der Form von Kaplan-Meier'schen Überlebenskurven dargestellt, worin der Prozentsatz an RIF-1-Tumoren mit Volumen von weniger als 400 mm³ gegenüber der Zeit seit der Behandlung aufgetragen sind. Tumolvolumen zum Zeitpunkt der Behandlung waren 50–70 mg (etwa 3% des Körpergewichts der Maus). Sowohl PDT als auch DMXAA können, wenn sie alleine angewendet bzw. verabreicht werden, Tumore in einer dosisabhängigen Art und Weise kontrollieren. Jedoch liegen die wirkungsvollsten Dosierungen bei oder

nahe den toxischen Behandlungsgrenzen in diesem Mausmodell. Es wird angenommen, daß Morbidität und Mortalität nach hohen PDT-Dosierungen zumindest teilweise modellspezifisch sind, d.h. eine lokale Behandlung des Tumors führt zu der Beleuchtung eines relativ großen Volumens des Subjekts gegenüber viel größeren Subjekten, wie menschlichen Patienten.

[0032] In Pilotstudien von PDT plus ergänzender DMXAA wurden nur geringe Dosierungen von jeder Modalität gewählt. [Fig. 3](#) zeigt erneutes RIF-1-Tumorwachstum unter Anwendung der folgenden Bedingungen: 2 mg Photofrin/kg; 23 Stunden, 20 mg DMXAA/kg; 2 Stunden, 135 J/cm² 630 nm Laserlicht. Kontrolltumore (kein Arzneimittel, kein Licht) sind als ausgefüllte schwarze Quadrate gezeigt; DMXAA sind als offene Kreise gezeigt; PDT alleine als graue Kreise. Wenn PDT und DMXAA kombiniert wurden (einzelne Tumore sind als gepunktete Linien gezeigt), gab es eine Verzögerung des erneuten Tumorwachstums von 10 Tagen, wobei 1/5 der Tumore nach 60 Tagen unter Kontrolle waren.

[0033] [Fig. 4](#) zeigt eine Tumorantwort unter Anwendung geringfügig anderer Bedingungen: 2 mg Photofrin/kg, 23 Stunden, 20 mg DMXAA/kg, 1 Stunde, 135 J/cm² 630 nm Laserlicht. Die Symbole in dem Diagramm sind die gleichen wie in [Fig. 3](#). Alle fünf Mäuse in der Gruppe der kombinierten Behandlung zeigten schwache unmittelbare Antworten, d.h. nur eine Verzögerung des erneuten Wachstums von zwei Tagen. Jedoch zeigten drei von fünf Tumoren eine verzögerte Antwort, wobei die Tumolvolumen über einen Zeitraum von zwei Tagen von ~160 mm³ auf ein Volumen von 0 abnahmen; 1 von 3 Tumoren, die dieser späten Antwort unterworfen waren, wuchsen erneut nach einer Verzögerung von 4 Tagen. Diese verzögerte Antwort wurde unter Anwendung anderer Behandlungsbedingungen beobachtet, bei denen die anfängliche Antwort als schwach eingestuft wurde (Daten nicht gezeigt). Verzögerte Antworten werden nicht erhalten nach starken unmittelbaren Tumorantworten auf eine Kombinationstherapie, noch wurden in irgendeiner Kontrollgruppe verzögerte Antworten gesehen.

[0034] Einen Monat nach der Behandlung wurden die zwei Mäuse mit kontrollierten Tumoren (welche in [Fig. 4](#) unten gezeigt sind) erneut mit einer tumorbildenden Standarddosis von 3×10^5 RIF-1-Zellen injiziert (an der Schulter gegenüber von derjenigen des ursprünglich behandelten Tumors). Wie man in [Fig. 5](#) sieht, bildete sich ein Tumor nach einem geringfügigen Wachstum auf ein Volumen von 0 zurück und blieb so für > 1 Monat; der zweite Tumor zeigte etwas anfängliches Wachstum und blieb für mehrere Wochen statisch, bevor er erneut wuchs. Diese Antwort ist ein Anzeichen für eine erworbene Immunantwort gegen diese Tumormlinie, und als solche kann diese

Therapie dazu verwendet werden, sowohl primäre Tumore als auch okkulte mikrometastatische Malignitäten zu kontrollieren.

Patentansprüche

1. Verwendung einer photodynamischen Verbindung, die tumorselektive Inkorporation aufweist und welche bei einer bestimmten Lichtfrequenz aktiviert wird, und einer Xanthenon-4-essigsäure oder eines Salzes eines Metalls der Gruppe I, eines Metalls der Gruppe II, eines Ammoniumsalzes oder eines quaternären Salzes davon für die Herstellung eines Produkts als eine kombinierte Präparation für eine getrennte oder aufeinanderfolgende Anwendung bei der Behandlung von hyperproliferativem Gewebe eines Säugers.

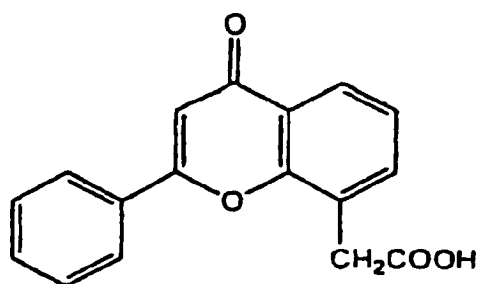
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das hyperproliferative Gewebe ein Tumor ist.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die photodynamische Verbindung Porfimer-Natrium ist und die Lichtfrequenz zur Aktivierung 630 nm bei einer Energie von 100 bis 225 J/cm² beträgt.

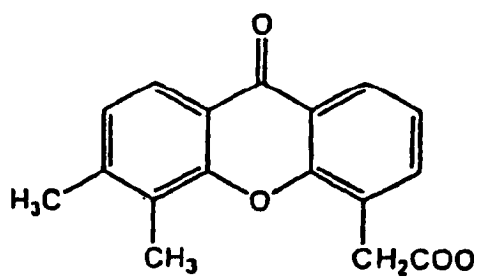
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Xanthenon-4-essigsäure 5,6-Dialkylxanthenon-4-essigsäure ist.

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Xanthenon-4-essigsäure 5,6-Dimethylxanthenon-4-essigsäure ist.

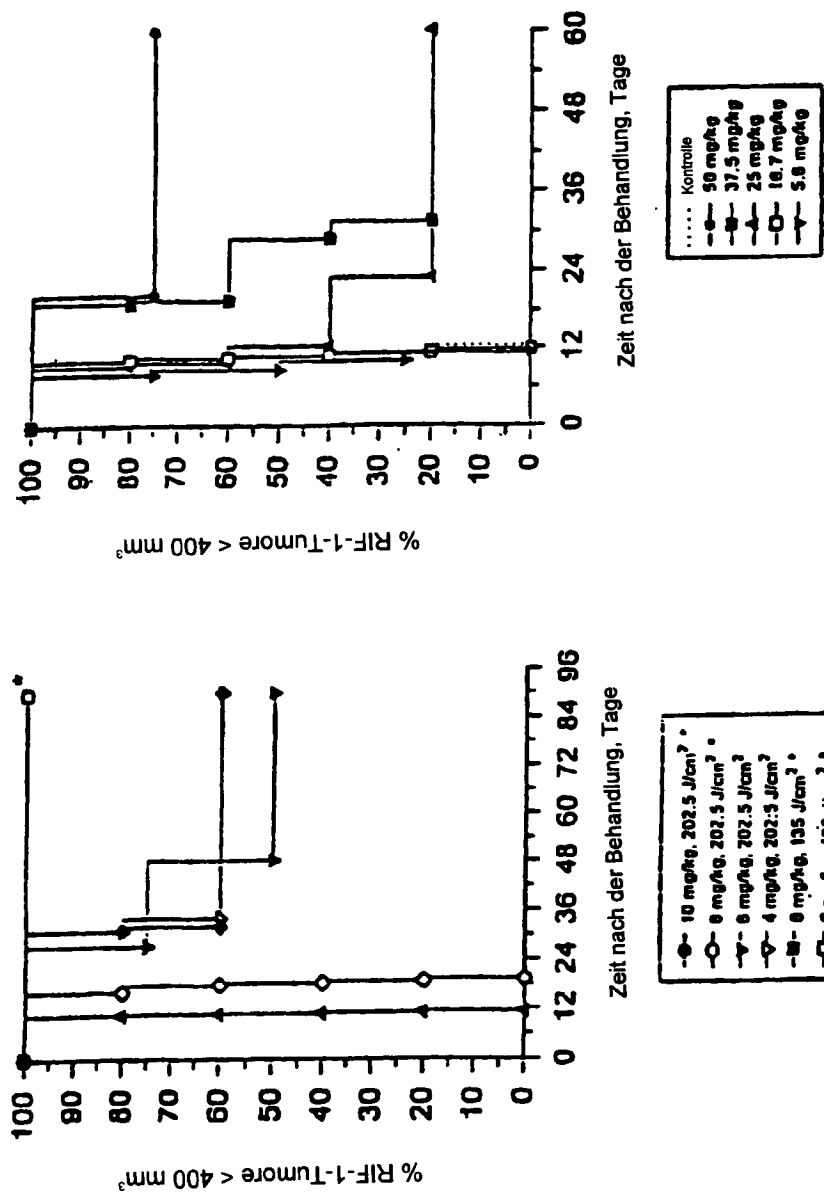
Es folgen 5 Blatt Zeichnungen



Figur 1A

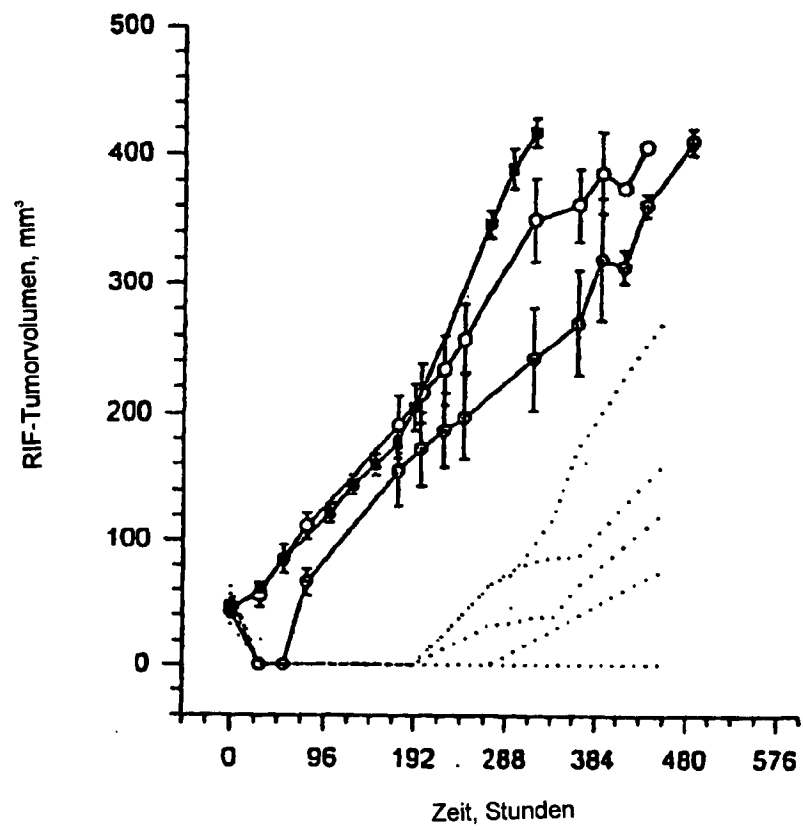


Figur 1B

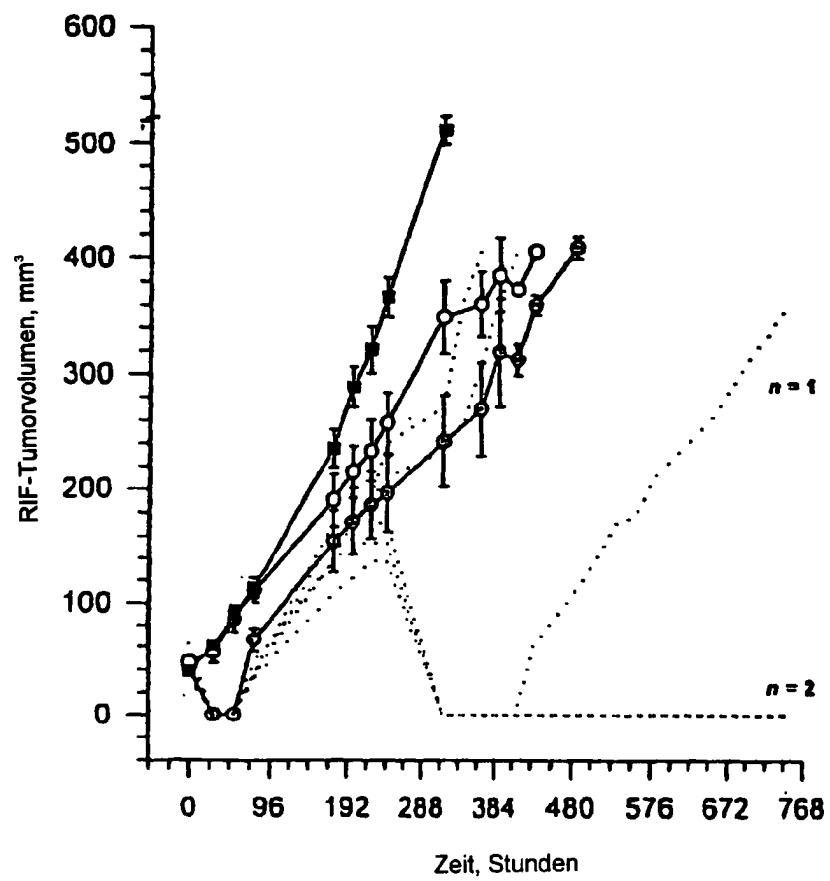


Figur 2A

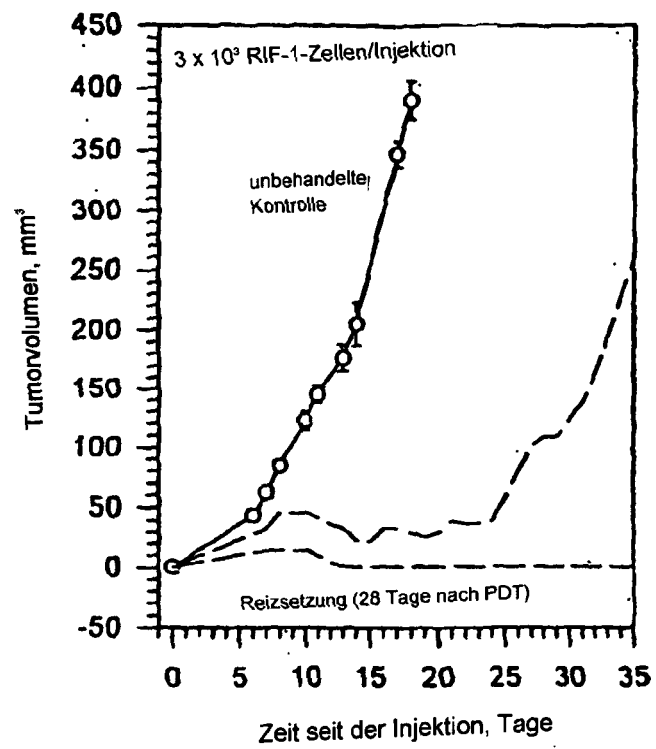
Figur 2B



Figur 3



Figur 4



Figur 5