



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) **DD** (11) **272 033 A1**

4(51) **A 61 K 31/54**
A 61 N 5/00
A 61 B 6/00

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP A 61 K / 301 388 3 (22) 02.04.87 (44) 27.09.89

(71) Friedrich-Schiller-Universität Jena, August-Bebel-Straße 4, Jena, 6900, DD
(72) Bockhorn, Volker, Dr.; Dietel, Wieland, Dr.; König, Karsten, DD

(54) **Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur photochemotherapeutischen Behandlung von Tumoren der Harnblase**

(55) Harnblasentumor, Photochemotherapie, aktivierbare Substanz, Methylenblau, Kryptonionenlaser
(57) Das Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels liefert ein Mittel für die Behandlung von Tumoren in der Harnblase. Es enthält als wirksame, durch Licht aktivierbare Substanz Methylenblau, das durch die langwellige Strahlung eines Kryptonionenlasers aktiviert wird und dadurch zur antitumorösen Wirksamkeit in der Lage ist.

Patentanspruch:

Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur photochemotherapeutischen Behandlung von Tumoren der Harnblase, gleichzeitigen Diagnose und Grading-Bestimmung, dadurch gekennzeichnet, daß pharmazeutische Zusammensetzungen, die als wirksame, durch Licht aktivierbare Substanz Methylenblau enthalten, in einem Hilfs- oder Trägerstoff gelöst werden, derart, daß der Gehalt an Methylenblau im, für die lokale Applikation vorgesehenen Arzneimittel 0,1 bis 1 Ma.-% beträgt.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur photochemotherapeutischen Behandlung von Tumoren der Harnblase.
Anwendungsgebiet ist die Humanmedizin.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Es ist bekannt, daß tumoröse Erkrankungen der Harnblase photochemotherapeutisch behandelt werden können (J. of Urology 134 [1985] 675-678). Die therapeutische Wirkung beruht dabei auf photochemischen Prozessen, die durch die Aktivierung photodynamisch wirksamer Substanzen (Photosensibilisatoren) ausgelöst werden. Die Aktivierung erfolgt durch Bestrahlung mit Licht. Dabei geht der Sensibilisator durch Elektronenanregung in höhergelegene Energieniveaus über. Photosensibilisatoren besitzen eine hohe Intersystem-Crossing (ISC)-Rate, so daß anschließend eine Besetzung des langlebigen Triplett-Zustandes erfolgt. Dieser Zustand ist aber Ausgangspunkt für Energie- und Ladungs-Transfer-Prozesse, die zur Bildung von hochreaktivem Singulett-Sauerstoff oder zur Radikalbildung führen. Die Wechselwirkung dieser Spezies mit den umgebenen Biomolekülen führt zu deren Vernichtung. Lagert sich ein derartiger Sensibilisator in tumorösem Gewebe mit höherer Konzentration ab als in dem umgebenden gesunden Gewebe, ist die Möglichkeit einer selektiven Therapie gegeben. Fluoresziert zudem der Photosensibilisator, kann die Fluoreszenz zur Lokalisation von Tumoren genutzt werden. Die Aktivierung des Sensibilisators erfolgt günstigerweise mit Laserstrahlung geringer Leistung, die verlustarm mittels Lichtleiter endoskopisch dem tumorösen Gewebe zugeführt wird.

Als Photosensibilisator wird bei der photochemotherapeutischen Behandlung von Harnblasentumoren Hämatoporphyrinderivat (HpD) eingesetzt. Dieses Mittel weist jedoch eine Reihe von Nachteilen auf. So ist die Absorption des Photosensibilisators im therapeutisch interessierenden roten und nahen IR-Bereich (optisches Fenster von biologischem Gewebe) gering. Zudem besteht HpD aus einem Gemisch verschiedener Porphyrine, dessen aktive Komponente bisher noch nicht in reiner Form synthetisiert werden konnte. Als besonders nachteilig erweist sich der Umstand, daß eine Lichtempfindlichkeit des Patienten über einen mehrwöchigen Zeitraum nach erfolgter Applikation des Sensibilisators HpD, die intravenös erfolgt, vorliegt. Diese Nebenwirkung basiert auf der Tatsache, daß sich ein geringer Anteil des Sensibilisators HpD im Hautgewebe anreichert. Der Einsatz von HpD ist weiterhin mit einem beträchtlichen technischen Aufwand verbunden, da die therapeutische Behandlung üblicherweise mit einem argonlasergepumpten Farbstofflaser, die Diagnose üblicherweise mittels im blauen Wellenlängenbereich emittierende Kryptonionenlaser erfolgt (Doiron DR, Gomer GJ [1983] Porphyrin Localization and Treatment of Tumours, Alan R. Liss N. Y.).

Es ist weiterhin bekannt, daß auch andere Stoffe, z. B. Methylenblau, photodynamische Wirkungen im biologischen Gewebe hervorrufen (Naturwissenschaften 18 [1966] 481-482). Methylenblau wird in der Humanmedizin bisher nur als Diagnostikum und in einigen Fällen (Behandlung von herpes simplex, Blausäurevergiftung) auch als therapeutisches Mittel eingesetzt. Weiterhin ist bekannt, daß eine Korrelation zwischen dem Grad der Färbung von tumorösem Gewebe und dem Grading besteht (J. of Urology 130 [1983] 252-255).

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung eines Mittels zur photochemotherapeutischen Behandlung von Harnblasentumoren, das sich dadurch auszeichnet, daß es keine der von dem bisher verwendeten Mittel Hämatoporphyrinderivat bekannten Nachteile besitzt.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Aufgabe der Erfindung ist die Entwicklung eines Verfahrens zur Herstellung eines Arzneimittels für die photochemotherapeutische Behandlung von Harnblasentumoren. Dieses Mittel soll gegenüber dem bisher verwendeten HpD wesentliche Vorteile aufweisen. Die Lösung dieser Aufgabe gelingt mit einem Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur photochemotherapeutischen Behandlung von Harnblasentumoren, gleichzeitigen Diagnose und Grading-Bestimmung erfindungsgemäß dadurch, daß pharmazeutische Zusammensetzungen, die als wirksame, durch Licht aktivierbare Substanz Methylenblau enthalten, in einem Hilfs- oder Trägerstoff gelöst werden, derart, daß der Gehalt an Methylenblau im, für eine lokale Applikation vorgesehenen Arzneimittel 0,1 bis 1 Ma.-% beträgt.

Vorteilhafterweise wird für die Aktivierung dieses Mittels zur photochemotherapeutischen Behandlung und gleichzeitigen Diagnose und Grading-Bestimmung die langwellige Strahlung eines Kryptonionenlasers, die im Bereich des optischen Fensters von Gewebe liegt, genutzt. Methylenblau weist in diesem Wellenlängenbereich und zwar im Bereich von 600 nm bis 700 nm ein

starkes Absorptionsvermögen auf. Dadurch kann zum einen ein großer Anteil an Molekülen des Sensibilisators aktiviert, zum anderen Laserstrahlung verwendet werden, die eine hohe Eindringtiefe der Strahlung in biologischem Gewebe gewährleistet. Die therapeutisch wirksame Strahlung des Kryptonionenlasers (647 nm und 676 nm) kann zudem als Anregungsstrahlung für die Fluoreszenz von Methylenblau genutzt werden. Da eine Korrelation zwischen dem Grad der Färbung und dem Grading besteht, kann diese Fluoreszenz zur Lokalisation und zur Messung des Gratings verwendet werden. Das Maximum der Fluoreszenzbande von Methylenblau liegt bei etwa 700 nm. Durch die Verwendung eines Kryptonionenlasers sowohl für die Therapie, als auch für die Fluoreszenzdiagnostik, kann der technische Aufwand gering gehalten werden.

Die Applikation des Sensibilisators kann lokal erfolgen. Damit wird eine Ganzkörper-Sensibilisierung des Patienten vermieden. Bei Patienten mit Harnblasentumoren wird die lokale Applikation durch Einfüllung einer 0,1 bis 0,5%igen Methylenblaulösung in die Harnblase erreicht. Es erfolgt dann eine Färbung des tumorösen Gewebes.

Ausführungsbeispiel

Die Überprüfung der antitumorösen Wirksamkeit von Methylenblau bei Aktivierung durch Laserstrahlung eines Kryptonionenlasers wurde an Mäusen mit subcutanem, solidem Ehrlich-Carcinom durchgeführt.

Der Tumor wurde durch Applikation von 0,2 ml einer Ehrlich-Ascites-Zellsuspension (5 Millionen Zellen/ml) an männlichen ICR-Mäusen subcutan induziert. Die Behandlung erfolgte ab dem vierten Tag nach Gabe der Zellsuspension. Der Tumor war zu diesem Zeitpunkt makroskopisch erkennbar und befand sich in der für die Therapie günstigen Expansionsphase.

Methylenblaulösung (Dosis: 25 mg/kg Körpergewicht) wurde durch Umspritzen des Tumorbettes eine halbe Stunde vor der Bestrahlung lokal appliziert. Es erfolgten vier Bestrahlungen (je 10 min Dauer) im Abstand von 24 Stunden. Der Laserstrahl wurde auf die dorsale enthaarte Hautpartie der Maus so gerichtet, daß der induzierte Tumor innerhalb des etwa 1 cm² großen Strahlquerschnitts lag. Das Intensitätsverhältnis der beiden Linien 647 nm und 676 nm betrug 4:1, die Strahlungsleistung max. 200 mW. Bei diesen geringen Leistungen werden keine sichtbaren thermischen Schädigungen hervorgerufen, die Laserstrahlung dient lediglich der Aktivierung des Sensibilisators. Die Effektivität der Photochemotherapie erfolgte durch Ermittlung der Tumorfleuchtgewichte nach Sektion im Vergleich zu Kontrolltumoren. Zudem wurden die Nekrosen histologisch untersucht. Die Tötung erfolgte am 10. Tag nach der Behandlung. Voruntersuchungen zeigten, daß Laserstrahlung allein ohne vorherige Applikation von Methylenblau keinen therapeutischen Effekt zeigt.

Die Ergebnisse sind Tab. 1 zu entnehmen. Es ist ersichtlich, daß Methylenblau eine antitumoröse Wirksamkeit zeigt. Eine Reduktion der Tumormassen im Vergleich zu Kontrolltumoren kann bereits bei Methylenblaugabe ohne Bestrahlung erfolgen. Die Photochemotherapie unter Benutzung eines Kryptonionenlasers verstärkt diesen Effekt signifikant.

Tabelle 1

Gruppe	MB	B	n	durchschn. Tumormasse in mg	Standardabweichung in mg
1	—	—	6	923	156
2	x	—	6	460	114
3	x	x	8	118	80

MB: Methylenblau-Applikation

B: Bestrahlung mit Kryptonionenlaser

n: Anzahl der Tiere