(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 694 34 218 T2** 2005.12.22

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 682 517 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **694 34 218.1**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US94/01511**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **94 908 030.3**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 94/017797**
(86) PCT-Anmeldetag: **14.02.1994**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **18.08.1994**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **22.11.1995**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **05.01.2005**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **22.12.2005**

(51) Int Cl.[7]: **A61K 31/40**
A61P 19/02

(30) Unionspriorität:
16609 **11.02.1993** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
The General Hospital Corp., Boston, Mass., US

(72) Erfinder:
TRAUNER, Kenneth, Sacramento, US; HASAN, Tayyaba, Arlington, US

(74) Vertreter:
Dr. Weber, Dipl.-Phys. Seiffert, Dr. Lieke, 65183 Wiesbaden

(54) Bezeichnung: **PHOTODYNAMISCHE BEHANDLUNG VON SYNOVIUM**

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] Die Erfindung betrifft die Verwendung photodynamischer Therapie für die Zerstörung von krankhaften Synovium.

[0002] Photodynamische Therapie bezieht sich allgemein auf eine experimentelle Abwandlung von Krebsbehandlung, die selektiv Krebszellen über eine Wechselwirkung zwischen absorbiertem Licht und einem zurückgehaltenen lichtaktivierbaren Mittel (Kessel, Photochem. Photobiol. 44: 489–493; Bottiroli et al., Photochem. Photobiol. 47: 209–214, 1988; Salet et al., Photochem. Photobiol. 53: 391–93, 1991; Gross, Photobiological Techniques (Kapitel 9), Valenzeno et al., Hrsg., Plenum Press, New York, 1991; Star et al., Photochem. and Photobiol., B: Biology 1: 149–167, 1987; und Jori et al., Photodynamic Therapy of Neoplastic Disease, Kessel Hrsg., CRC Press, Boca Raton, FL, 1989). Chemische Sensibilisierung von lebendem Gewebe durch Licht wurde erstmalig 1900 von Raab berichtet. Die Aufnahme eines Hematoporphyrinderivats (HPD) in neoplastischem Gewebe wurde erstmals von Auler und Banzer beschrieben (Z. Krebsforsch. 53: 65–68, 1942). Die Aufnahme wurde später durch Fluoreszenz von Figge et al. (Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 68: 640–641, 1948) bestätigt. Lispon et al. demonstrierten 1960 Tumorlokalisierung von HPD (JNCI 26: 1–12, 1961).

[0003] Das halbgereinigte HPD-Gemisch von Porphyrinen wurde später zu einer Kombination von Estern und Ethern von Dihematoporphyrin (DHE) gereinigt. Die Formulierung wird vorherrschend bei Verwendung als Photofrin® vermarktet, und HPD/Photofrin war das erste von der FDA genehmigte lichtsensibilisierende Mittel, das für PDT-Versuche zur Verfügung stand. Photofrin wurde anschließend intensiv für den Abbau von Mehrfachtumoren in zahlreichen medizinischen Disziplinen getestet (Dougherty et al., In Photodynamic Therapy of Neoplastic Disease, Kessel Hrsg., CRC Press, Boca Raton, FL, 1989).

[0004] Der Wirkungsmechanismus für Hematoporphyrinderivate, wie Photofrin, bei der Behandlung von neoplastischen Erkrankungen ist gut geschildert. Für die Porphyrine sammeln sich große Molekülaggregate um neovaskuläre Tumore an. Schlechte Lymphdrainage neoplastischer Gewebe kann die Ursache für verzögerte Öffnungszeiten aus diesen Geweben sein. Wenn komplexiert, dissoziieren die Molekülaggregate, und die hydrophoben Komponenten teilen Photofrin in den Zellmembranen auf. Die primären zellulären Stellen photodynamischer Aktivität werden als zelluläre und mitochondrische Membranen angesehen. Nukleinsäuren und Proteine werden auch durch Photooxidation zerstört (Henderson et al., Porphyrin Localization and Treatment of Tumors, Doiron und Gomer Hrsg., Liss, New York, 1984, S. 601–612).

[0005] Die Initiierung photodynamischer Aktivität wird durch Erregung des Sensibilisators durch Licht verursacht, das in seine Absorptionsbande fällt. Die Spezifizierung der Wellenlänge hängt von der Molekülstruktur des Photosensibilisators ab, wobei ein größerer Konjugationsgrad in einem Molekül zu größerer Absorptionsfähigkeit bei längeren Wellenlängen führt. Aktivierung von Photosensibilisatoren geschieht mit subablativen Lichtströmen. Toxizität erhält man durch O_2-Radikaltoxizität. Das Singlet-O_2 reagiert mit Doppelbindungen und Organoperoxiden. Diese ihrerseits initiieren Kettenreaktionen mit freien Radikalen, die Membrane abbauen und desorganisieren, oxidative Phosphorylierung entkoppeln und zu Zellaufbrechen führen (Jori et al., Photodynamic Therapy of Neoplastic Disease, Kessel Hrsg., CRC Press, Boca Raton, FL, 1989; und Weishaupt et al., Cancer Res. 36: 2326–2329, 1976).

[0006] Mehrere Eigenschaften photodynamischer Therapie gestatten die selektive Störung von erkranktem Gewebe ohne Zerstörung von nicht pathologischem Gewebe (Kessel, Photochem. Photobiol. 44: 489–493; Bottiroli et al., Photochem. Photobiol. 47: 209–214, 1988; Salet et al., Photochem. Photobiol. 53: 391–3, 1991; Gross Photobiological Techniques (Kapitel 9), Valenzeno et al., Hrsg., Plenum Press, New York, 1991; Star et al., Photochem. and Photobiol., B: Biology 1: 149–167, 1987; Jori et al., Photodynamic Therapy of Neoplastic Disease, Kessel Hrsg., CRC Press, Boca Raton, FL, 1989; Dougherty et al., In Photodynamic Therapy of Neoplastic Disease, Kessel Hrsg., CRC Press, Boca Raton, FL, 1989; Richelli et al., J. Photochem. Photobiol. 6: 69–77, 1990; und Jori und Spikes, J. Photochem. Photobiol. 6: 93–101, 1990; Mazierre et al., J. Photochem. Photobiol. 6: 61–68, 1990; Brault, J. Photochem. and Photobiol. 6: 79–86, 1990; und Pottier, J. Photochem. Photobiol. 6: 103–109, 1990). Lichtsensibilisierungsmittel sind nicht-toxisch, bis sie durch spezielle Frequenzen und Dosierungen von Lichtenergie aktiviert werden. Außerdem können Lichtsensibilisatoren aktiviert werden, wenn transiente Unterschiede in der Aufnahme zwischen pathologischen und normalen Geweben auftreten. Unterschiede sowohl in der zeitlichen als auch in der geographischen biologischen Verteilung in Geweben kann Vorteile für die selektive Zerstörung pathologischer Gewebe bewirken.

[0007] Carson, US-Patentschrift 5,028,594 beschreibt eine Methode zur selektiven Eliminierung hematopoietischer Zellen, die in rheumatoide Arthritis verwickelt sind, durch Verwendung lichtaktivierbarer zytotoxischer Mittel in Kombination mit Licht. Die photoaktivierten Mittel werden mit Liganden, wie Zuckern, markiert, die Ziellymphozytzellen sind. In dem Beispiel wurde Monoethylendiaminmonoamid an Ratten in Kombination mit Licht verabreicht, was eine Reduktion der Verbindungsquellung und -entzündung mit sich brachte.

[0008] Nagai H. et al., "Anti-inflammatory properties of zinc protoporphyrin disodium (Zn-PP-2Na)" Agents Actions, Band 37, Nr. 3, November 1992 (1992-11), Seiten 273–283, beschreiben die Verwendung von Zinkprotoporphyrindinatrium (Zn-PP-2Na), eines Protoporphyrinsalzes zur Hemmung von Arthritis. Dieses Dokument lehrt, daß Zn-PP-2Na die Entwicklung von kollageninduzierter Arthritis vom Typ II bei Mäusen durch Hemmung von Interleukin-I-Aktivität hemmt.

[0009] Tauraitis, V. A. et al. "Assessment of the possibility of using the photodynamic effect in rheumatology" Biofizika, Band 37, Nr. 2, März 1992 (1992-03)–April 1992 (1992-04), Seiten 345–351, beschreiben die Verwendung von photodynamischer Wirkung für die Behandlung rheumatoider Arthritis. Insbesondere wird die Verbindung Chlor e_δ beschrieben.

[0010] WO 94/12239 A (Universität von British Columbia), 9. Juni 1994, beschreibt eine verbesserte Methode zur Verabreichung photodynamischer Therapie.

[0011] Kennedy, US-Patentschrift 5,079,262 beschreibt ein Verfahren zur Feststellung und Behandlung von Gewebeanomalitäten, wie Hautverletzungen und Tumoren, durch die Verabreichung von Aminolevulinsäure in Kombination mit photoaktivierendem Licht. Kennedy schlägt vor, ALA, einen Stoffwechselvorläufer von Protoporphyrin IX in einer Vielzahl von PDT-Anwendungen zu benutzen.

[0012] Versuche bei der Zerstörung von erkranktem Synovium mit nicht-selektiven toxischen Verbindungen waren erfolglos (Goldberg et al., Arthritis Rheum. 19: 737, 1976; Mitchell et al., JBJS 55-B: 814, 1973; und Oka et al., Acta Rheum. Scand. 15: 35, 1969). In jüngster Zeit wurden in einem Versuch, minimalinvasive Techniken zu entwickeln, Synovektomien mit radioaktiven Verbindungen durchgeführt (Zuckerman et al., J. Orthop. Res. 7: 50–60, 1989, und Sledge et al., Clin. Orthop. Rel. Res. 182: 37–40, 1984). Obwohl ein Vorteil von kleinem Umfang erreicht wurde, verhinderte die Verwendung von Radioaktivität eine weitverbreitete Verwendung.

Zusammenfassung der Erfindung

[0013] Die Erfindung besteht in der Verwendung einer photoaktivierbaren zytotoxischen Verbindung oder eines Vorläufers hiervon bei der Herstellung eines Arzneimittels für die Durchführung photochemischer Synovektomie. Die photochemische Synovektomie wird durch Verabreichung einer photoaktivierbaren zytotoxischen Verbindung oder eines Vorläufers hiervon, gefolgt von der Verabreichung photoaktivierbarer Lichtwellen zu dem Bereich des erkrankten Synovialgewebes. Durch Verwendung dieser Methode werden Synovialgewebe zerstört.

[0014] Erkrankungen des Gelenks, die unter Verwendung PDT behandelt werden können, sind teilweise in Tabelle 1 aufgelistet. Zusätzlich zu jenen speziell aufgelisteten Erkrankungen ist verständlich, daß jede Erkrankung, die eine Proliferation der Synovialgewebe einschließt, unter Verwendung photochemischer Synovektomie behandelt werden können.

[0015] Verbindungen werden einem Patienten unter Verwendung von Richtlinien für die Verabreichung zugeführt, die größere Konzentrationen der Arzneimittel in den Zielgeweben in Bezug auf die umgebenden Gewebe erzeugen, während adäquate Konzentrationen des Arzneimittels in dem Zielgewebe behalten werden. Im allgemeinen kann diese unterschiedliche Arzneimittellokalisierung unter Verwendung von Richtlinien für die Verabreichung erzielt werden, die unter Verwendung von Standardmethoden bestimmt werden, welche auf dem Gebiet der Pharmakologie für die Bestimmung einer Arzneimittelfreizeit bekannt sind. Das Verhältnis von Arzneimittel in dem angegriffenen Gewebe zu dem Arzneimittel in dem umgebenden Gewebe ist vorzugsweise größer als 2 : 1. Speziell können Verbindungen entweder systemisch oder lokal an den Bereich des Gelenks verabreicht werden.

[0016] Systemisch oder örtlich verabreichte Verbindungen, die bei der Erfindung brauchbar sind, sind jene, die in größeren Mengen aufgenommen und/oder wesentlich länger in den pathogenen Geweben im Vergleich mit den umgebenden Geweben eines Patienten zurückgehalten werden. Verbindungen mit dieser Eigenschaft können als jene definiert werden, die einen brauchbaren therapeutischen Index für photodynamische Therapie

haben, welche dazu gebracht werden, Zellen des Synoviums von wenigstens 50 abzutöten. Außerdem haben brauchbare Verbindungen vorzugsweise ein therapeutisches Verhältnis für photodynamische Therapie, die synoviale Zellabtötung von wenigstens 10 induziert. Der therapeutische Index wird durch das Verhältnis der Toxizität einer Verbindung und der Lichtzuführung : Toxizität der Verbindung alleine definiert. Das therapeutische Verhältnis wird als die Toxizität der Verbindung mit Zugabe von Licht in erkranktem Gewebe : Toxizität der Verbindung mit Zugabe von Licht in normalem Gewebe definiert. Toxizität ist als Zelltod definiert.

[0017] Spezielle lichtaktivierbare Arzneimittel, die gemäß der vorliegenden Erfindung verwendet werden können, sind zum Teil in Tabelle 2 zusammengestellt. Die lichtaktivierbare zytotoxische Verbindung für die Verwendung bei der vorliegenden Erfindung wird aus der Gruppe ausgewählt, die aus Photofrin (HPD, PFT und PFII), einem Benzoporphyrinderivat und einem Produkt von Aminolevulinsäure besteht.

[0018] Licht der geeigneten Wellenlänge für eine bestimmte Verbindung kann durch verschiedene Methoden, die dem Fachmann bekannt sind, zugeführt werden. Diese Methoden können Laser, Lichtlaser oder Breitbandlicht einschließen und können zu einer extrakorporalen oder intraartikulären Erzeugung des Lichts geeigneter Wellenlängen führen. Licht, das bei der Erfindung verwendet wird, kann unter Verwendung irgendwelcher Einrichtungen zugeführt werden, die die geeignete Wellenform erzeugt, einschließlich, aber nicht ausschließlich Faseroptikinstrumente, arthroskopische Instrumente oder Instrumente, die Transilluminierung ergeben.

[0019] Die vorliegende Erfindung liefert eine minimalinvasive Technik zur Zerstörung von erkranktem Synovium ohne Zerstörung gesunder intraartikulärer Gewebe.

[0020] Andere Merkmale und Vorteile der Erfindung werden aus der folgenden Beschreibung und aus den Ansprüchen offenbar.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0021] Die Zeichnungen werden zunächst kurz beschrieben.

Zeichnungen

[0022] Fig. 1 ist eine Fotografie des Synovialgewebes des Knies eines 11 Wochen alten Kaninchens nach anfänglicher Hautsensibilisierung gemäß dem durch Antigen eingeleiteten Arthritisprotokoll, 5 Wochen nach Kniegelenkbeeinflussung mit dem Antigen ohne photodynamische Therapie an dem Gelenk.

[0023] Fig. 2 ist eine Fotografie des Synovialgewebes des Knies eines 11 Wochen alten Kaninchens nach anfänglicher Hautsensibilisierung nach dem Antigen-eingeleiteten Arthritisprotokoll, 5 Wochen nach Kniegelenkbeeinflussung mit dem Antigen und 4 Wochen nach photodynamischer Behandlung mit Photofrin und Licht.

[0024] Fig. 3 ist eine graphische Darstellung der biologischen Verteilung von Photofrin in dem Synovium, artikulären Knorpel, Haut und Muskel zwischen 0 und 80 Stunden nach Verabreichung.

[0025] Fig. 4 ist eine graphische Darstellung von in vivo durch Laser eingeleiteter Fluoreszenz von erkranktem Synovialgewebe nach systemischer Verabreichung von BPD.

[0026] Fig. 5 ist eine graphische Darstellung der Anordnung des Vorläufers von Protoporphyrin 1X, ALA, an dem Synovium.

Beschreibung der bevorzugten Ausführungsformen

[0027] Rheumatoide Arthritis ist eine Erkrankung, die durch proliferative, erosive Synovialgewebe gekennzeichnet ist, welches intraartikuläre und periartikuläre Gewebe zerstört. Für Patienten ohne medizinische Anleitung für die pharmazeutische Verabreichung waren offene chirurgische Synovektomie oder aggressivere Verfahren, wie Gelenkersatz, die einzigen Behandlungswahlmöglichkeiten. Photodynamische Therapie von Synovektomie bietet nun eine wirksame, weniger invasive neue therapeutische Alternative an. Photoaktive Chemikalien werden in erkrankte Gelenke entweder örtlich oder systemisch eingespritzt. Der örtliche Gelenkbereich wird dann Licht über Faseroptik, die durch hypodermatische Nadeln kleiner Abmessung gefädelt wird, ausgesetzt, oder stattdessen kann die Lichtquelle auch extrakorporal durch Transbeleuchtung vorgesehen sein. Diese Behandlung zerstört das erkrankte Synovium und begünstigt gegebenenfalls die große Patienten-

zahl, für die ein chirurgischer Eingriff als schlecht angezeigt ist.

[0028] Die Beispiele A–D nachfolgend demonstrieren, daß photoaktivierbare Chemikalien selektiv an dem erkrankten Synovium angeordnet sind und daher für die Behandlung der arthritischen Erkrankungen Hoffnung erwecken. Photofrin, das ein Gemisch von Hematoporphyrinen ist und die am weitesten gebräuchliche unter den antineoplastischen Photosensibilisatoren ist, wurde am gründlichsten hinsichtlich seiner therapeutischen Hoffnung untersucht. In einem Beispiel wird demonstriert, daß Photofrin wirksam für die Behandlung von antigeninduzierter Arthritis ist. Untersuchungen bezüglich der biologischen Verteilung demonstrierten in einem Beispiel, daß Photofrin selektiv im Synovium 24 und 48 Stunden nach systemischer Injektion aufgenommen wird. Die Resultate, die den Abbau von Synovium ohne signifikante Nebenwirkungen demonstrieren, zeigen, daß photochemische Synovektomie eine wirksame neue Behandlung auf rheumatoide Arthritis (**Fig. 1** und **Fig. 2**) ist.

[0029] Photofrin ist aber ein Beispiel eines lichtaktivierbaren therapeutischen Mittels für die Verwendung nach der Erfindung. Seine Charakteristika sind erläuternd für die Anordnung und die Eigenschaft der Freimachung von vielen anderen photodynamischen Verbindungen. Das nachfolgende Beispiel A erläutert, daß Photofrin sich an den zerstörten Proliferation ergebenden Synovialgeweben festsetzt. Das nachfolgende Beispiel A zeigt, daß Photofrin Zellen in dem erkrankten Synovium abtötet. Die Beispiele C und D zeigen, daß dies ein genereller Effekt bei photodynamischen Verbindungen und ihren Vorläufern ist, wenn sie in Berührung mit erkranktem Synovium kommen.

[0030] Zahlreiche Möglichkeiten bestehen für die Abgabe sowohl photosensibilisierender Mittel als auch von Lichtenergie an die Gelenke. Bestimmung der meisten geeigneten Parameter für photodynamische Verbindung, um für die Behandlung von Arthritis verwendet zu werden, kann unter Verwendung der experimentellen Techniken, die hier angegeben sind, erfolgen.

I. Abgabe von photoaktivierendem Licht

[0031] Neuere photosensibilisierende Verbindungen ohne systemische Haut-photosensibilisierende Effekte, aktiviert in dem nahen Infrarot- und sichtbaren Spektrum mit längeren Wellenlängen gestatten eine Lichtaktivierung. Dies kann über Gelenkarthroskope mit direktem visuellem Zielen und Aktivieren der Verbindungen geschehen. Faseroptik kann auch direkt über kleine hypodermatische Nadeln mit kleinen Abmessungen erfolgen. Licht kann auch über perkutane Instrumente unter Verwendung von Faseroptik oder kannelierten Wellenleitern geschehen.

[0032] Transilluminierung kann unter Verwendung einer Vielzahl von Einrichtungen erfolgen, die Laser- oder Nicht-Laserquellen, d. h. Lichtboxen oder konvergierende Lichtstrahlen, einschließen. Aktivierung kann auch durch offene Arthrotomie geschehen. Die Entwicklung dieser Parameter erlaubt minimalinvasive oder sogar nichtinvasive Einrchtungen (über Transilluminierung) zur Durchführung photodynamischer Synovektomien.

II. Abgabe von photodynamischen Verbindungen

[0033] Lokale Injektion der therapeutischen Chemikalie in Gelenke kann die Notwendigkeit systemischer Injektion ausschalten. Die Verwendung lokalisierter gegenüber systemischer Injektion wird teilweise durch die Anzahl von Gelenken bestimmt, die während eines bestimmten therapeutischen Behandlungsplans behandelt werden sollen.

[0034] Die therapeutischen Verbindungen, die für die Verwendung in photodynamischer Therapie verabreicht werden sollen, können für pharmazeutische oder veterinärmedizinische Verwendung durch Kombination mit einem annehmbaren Verdünnungsmittel, Träger oder Hilfsstoff und/oder in Dosierungseinheitsform verabreicht werden. Bei der Verwendung der therapeutischen Verbindungen in den Verfahren der Erfindung können herkömmliche Pharmazeutika oder veterinärmedizinische Praxis angewandt werden, um geeignete Formulierungen oder Zusammensetzungen zu bekommen.

[0035] So können die Formulierungen nach dieser Erfindung zur parenteralen Verabreichung beispielsweise intravenös, intraartikulär, subkutan, intramuskulär, intraventrikulär, intrakapsulär, intraspinal, intraperitoneal, topisch, intranasal, aerosol, unter Skarifizierung und auch orale, bukkale, rektale oder vaginale Verabreichung.

[0036] Parenterale Formulierungen können in der Form von flüssigen Lösungen oder Infusionen vorliegen, für orale Verabreichung können Formulierungen in der Form von Tabletten oder Kapseln vorliegen, und für in-

tranasale Formulierungen in der Form von Pulvern, Nasentropfen und Aerosolen.

[0037] Verfahren, die dem Fachmann zur Herstellung von Formulierungen wohlbekannt sind, werden beispielsweise in "Remington's Pharmaceutical Sciences" gefunden. Formulierungen für parenterale Verabreichung können beispielsweise als Hilfsmittel, steriles Wasser oder Salzlösung, Polyethylenglycole, wie Polyethylenglycol, Öle pflanzlichen Ursprungs oder hydrierte Naphthaline, biologisch verträgliche Stoffe, biologisch abbaubare Lactidpolymere oder Polyoxyethylen-Polyoxypropylencopolymere, die auch verwendet werden können, um die Abgabe der vorliegenden Faktoren zu steuern. Andere potentiell brauchbare parenterale Abgabesysteme für die Faktoren schließen Ethylen-Vinylacetatcopolymerteilchen, osmotische Pumpen, implantierbare Infusionssysteme, Liposomen und Antikörperkonjugate ein. Formulierungen für die Inhalation können als Hilfsstoffe beispielsweise Lactose enthalten oder können wäßrige Lösungen sein, wie beispielsweise Polyoxyethylen-9-laurylether, Glycocholat und Deoxycholat, oder können ölige Lösungen für die Verabreichung in der Form von Nasaltropfen oder als ein Gel, das intranasal aufzubringen ist, sein. Formulierungen für parenterale Verabreichung können auch Glycocholat für bukkale Verabreichung, Methoxysalicylat für rektale Verabreichung oder Zitronensäure für vaginale Verabreichung sein.

[0038] Die vorliegenden Faktoren können als die einzigen Wirkstoffe verwendet werden oder können in Kombination mit anderen aktiven Bestandteilen benutzt werden.

[0039] Die Konzentration der vorliegenden Faktoren in den Formulierungen nach der Erfindung wird je nach der Anzahl der Kriterien einschließlich der zu verabreichenden Dosierung und des Verabreichungsweges variieren.

[0040] Allgemein gesagt können die Faktoren dieser Erfindung in einer wäßrigen physiologischen Pufferlösung vorgesehen werden, die etwa 0,1–10% Gewicht/Volumen der Verbindung für parenterale Verabreichung enthält. Allgemeine Dosierungsbereiche liegen bei etwa 0,2 mg/kg bis 1 g/kg Körpergewicht je Tag. Ein bevorzugter Dosisbereich liegt bei etwa 0,1 mg/kg bis 2 mg/kg Körpergewicht je Tag. Die bevorzugte zu verabreichende Dosierung hängt wahrscheinlich von der Type und dem Umfang des Voranschreitens des behandelten Gelenkzustands, der Gesamtverfassung des Patienten, dem Aufbau der Formulierung und dem Verabreichungsweg ab.

III. Verfahren zur Vorauswahl von therapeutischen Mitteln für die Verwendung in PDT von Arthritis

A. Entwicklung von Antigen-eingeleiteter Arthritis beim Kaninchen

[0041] Das folgende ist ein Protokoll, welches verwendet werden kann, um durch Antigen eingeleitete Arthritis bei Kaninchen zu erzeugen. Kaninchen, die in der Weise vorbereitet wurden, können dann benutzt werden, um verschiedene Phototherapeutika hinsichtlich ihrer Anwendung für die Behandlung von Arthritiserkrankungen auszusondern.

[0042] Protokoll: 200 mg Ovalbumin werden ausgewogen und in 10 ml normaler Kochsalzlösung gelöst und durch ein Millipore-Filter in einen sterilen Becher filtriert. Ovalbuminlösung wird dann in eine sterile Glasspritze von 20–30 cm^3 eingesaugt. Außerdem werden 10 ml Freund'sches Adjuvans in eine andere sterile Glasspritze eingezogen. Unter Verwendung eines sterilen Metall-Dreiwegehahns werden die beiden Lösungen vermischt, indem man sie zwischen Spritzen vor und zurück überführt, bis die Lösung dick und weiß ist. Die Suspension wird dann in sterile Glasfläschchen oder sterile 25 ml-Erlenmeyerkolben mit Gummistopfen überführt. 0,2 ml dieser Sensibilisierungslösung werden dann über eine 23- oder 25-Gauge-Nadel in 5 Bereiche des Rückens eines jeden Kaninchens injiziert. Sensibilisierung wird 3 Wochen nach der Anfangsimmunisierung wiederholt.

[0043] Anforderung an das Gelenk: 10 mg/ml Ovalbumin werden zu normaler Kochsalzlösung zugesetzt, gefolgt von einer Millipore-Filtration in ein steriles Fläschchen. Kaninchen werden anästhesiert, und ihre Knie werden rasiert. 0,25 ml Probenlösung werden direkt in das Kniegelenk eingespritzt.

[0044] Unter Verwendung dieser Technik erreicht man monoartikuläre Synovitis innerhalb von 4 Tagen und setzt sie während zwei Wochen fort. Bis zu sechs Monate belassene Tiere werden Knorpelerosion, gelegentliche Osteophytbildung und Synovialinfiltration zeigen.

B. Tierstudien von photodynamischen therapeutischen Mitteln unter Verwendung von Kaninchen mit durch Antigen induzierter Arthritis

[0045] Weiße Neuseeland-Kaninchen mit einem Gewicht von 3–4 kg werden in drei Gruppen aufgeteilt, wie in Tabelle 3 zusammengestellt wurde. Alle Tiere wurden dann einer sechswöchigen Sensibilisierungsperiode gemäß dem Protokoll für Antigen-induzierte Arthritis-Kaninchen unterzogen. Bei allen Tieren wurden beide Kniegelenke nach 60 Tagen mit 0,25 ml Ovalbuminlösung mit einer Konzentration von 2,5 mg/ml intraartikulär injiziert. Injektionen erfordern Sedierung mit Rompen und Ketamin. Sechs Tage nach der Belastung bekommen 24 Tiere in der Gruppe A eine systemische Injektion von 2 mg/kg des zu testenden therapeutischen Mittels in Lösung über eine 25 Gauge-Nadel in eine Ohrvene. 16 Tiere in Gruppe B dienen als Kontrolle und bekommen keine Injektionen des therapeutische Mittels. Lokalisierte Injektion kann auch 48 Stunden nach Injektion der Verbindung oder zu irgendeinem anderen Zeitpunkt, der durch Arzneimittel-Clearance-Studien angegeben wird. Tiere in den Gruppen A und C werden wiederum mit Rompen und Ketamin sediert. Beidseitige Knie aller Tiere in der Gruppe A und das rechte Knie von Tieren in der Gruppe C empfangen Lichtaktivierungsbehandlungen. Lichtenergie von 400 nm bis 690 nm Wellenlänge oder irgendeine Wellenlänge, die für die gewählte therapeutische Zusammensetzung über 400 Mikron-Faseroptik aktiviert, wird durch eine 23-Gauge-Nadel in die Hohlräume des Kniegelenks überführt. Alternativ kann Licht extrakorporal zugeführt werden. Eine Gesamtlichtenergie von 100 J/cm^2 oder jener Energiebereich, der für eine bestimmte Verbindung geeignet erscheint, wird jedem Gelenk während 20 Minuten mit einer mittleren Laserkrafteinstellung von 3–5 Watt oder der Wattzahl und -zeit, die für eine bestimmte Verbindung wirksam sind, zugeführt. Sechs Tiere aus der Gruppe A und 4 Tiere aus beiden Gruppen B und C werden eine Woche, zwei Wochen, vier Wochen und zehn Wochen nach der Injektion der Verbindung geopfert. Pauschalbeobachtungen zum Zeitpunkt der Ergebnisfeststellung werden dann aufgezeichnet. Proben von Synovium, artikulärem Knorpel, Meniskus und Sehnen werden entnommen und in Formalin fixiert. Proben werden dann in Paraffin eingebettet, Probenschnitte werden angefertigt und mit Hematoxylin und Eosin angefärbt. Dann werden Proben mikroskopisch hinsichtlich Entzündung, Narbenbildung und Nekrose geprüft. Dieses allgemeine Schema wird nachfolgend zusammengestellt. Es soll verstanden werden, daß spezifische Abwandlungen in der Dosierung, der Zeitgebung, der Lichtwellenlänge und der Dauer für jede getestete therapeutische Verbindung gemacht werden können. Diese allgemeinen Perimeter sind dem Fachmann bekannt und teilweise in den folgenden Dokumenten und darin zitierten Veröffentlichungen zusammengestellt: Gomer, Photochemistry and Photobiology 54: 1093–1107, 1991; Maziere et al., J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 8: 351–360, 1991; Allison et al., Photochemistry and Photobiology 54: 709–715, 1991; Allison et al., SPIE Proc., In Press, 1991; Allison et al., Photochemistry and Photobiology 52: 501–507, 1990; Poon et al., J. Neurosurg. 76: 679–686, 1992; Reddi et al., Br. J. Cancer 61: 407–411, 1990; Richter et al., Br. J. Cancer 63: 87–93, 1990. Dieses Protokoll erlaubt dem Praktiker:

1) Mit Pathologie die Fähigkeit eines aktivierten lichtsensibilisierenden Mittels, das Synovium zu zerstören, zu dokumentieren.

Synoviumproben von Tieren aller Terminierungsdaten werden fixiert, in Paraffin eingebettet, gefärbt und mikroskopisch geprüft. Pauschale Beobachtungen zum Zeitpunkt der Entnahme sind festzustellen. Knieentzündungen zum Zeitpunkt der Lichtzuführung werden klinisch geprüft und aufgezeichnet. Die Beobachtungen beim Sezieren von Knien werden zum Zeitpunkt, wenn die Tiere getötet werden, aufgezeichnet.

2) Eine Dokumentation der nicht-schädlichen Wirkungen von aktiviertem Photofrin auf artikuläre Knorpel, Meniskus und andere periartikuläre Gewebe.

Proben von artikulärem Knorpel, Meniskus, Sehne und Muskel von Tieren bei allen Terminierungsdaten werden fixiert, in Paraffin eingebettet, angefärbt und mikroskopisch geprüft. Pauschale Beobachtungen zum Zeitpunkt der Entnahme werden aufgezeichnet. Beobachtungen beim Kniesezieren werden zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme aufgezeichnet.

[0046] Die folgenden Beispiele sollen die Erfindung erläutern, nicht aber beschränken.

IV. BEISPIELE

[0047] Vier Beispiele bezüglich einer photochemischen Synovektomie werden vorgelegt.

[0048] Die erste Studie, Beispiel A, ist eine biologische Verteilungsuntersuchung mit 30 Kaninchen (60 Knie), um 1) das Tiermodell nach den Abwandlungen, die von der Pilotstudie vorgeschlagen werden, wiederzugewinnen, 2) selektive Aufnahme von Hematoporphyrinderivat, Photofrin (PF) in entzündetem um zu bekommen, 3) zur Identifizierung der temporären Verteilung von Photofrin in Synovium, um künftige Lichtenergieabgabe für photochemische Aktivierung zu optimieren, 4) die Aufnahme von Photofrin in Synovium als Vorschlag für die Durchführbarkeit in der Zerstörung von Photofrin in Synovium zu quantifizieren, 5) zur Dokumentierung biologischer Verteilung von Photofrin in artikulärem Knorpel, Muskel und Haut.

[0049] Beispiel B war eine Studie, die mit 12 Tieren durchgeführt wurde, um 1) die Durchführbarkeit einer Verwendung von photodynamischer Therapie für die Behandlung eines entzündlichen Zustands zu bestimmen; 2) das Kaninchenmodell mit Antigen-induzierter Arthritis einzurichten; 3) potentielle Quellen von Schwierigkeiten vor der Bearbeitung mit einer Tierstudie größeren Maßstabs zu identifizieren und 4) unseren chirurgischen Versuch und Verabreichungsweg von Lichtenergie zu bestätigen. Diese Experimente wurden mit Photofrin durchgeführt.

[0050] Drittens ist Beispiel C eine Studie, die demonstriert, daß die phototherapeutische BPD auch lokalisierte Wirksamkeit auf das Synovium ausübt und die Generalisierung von Ergebnissen bezüglich Lokalisierung und Clearance für andere photodynamische Verbindungen gestattet, die in neoplastischem Gewebe lokalisiert sind, aber noch nicht zeigten, daß sie spezifisch an synovialen Geweben lokalisiert sind.

[0051] Die vierte Studie, Beispiel D, demonstriert, daß Aminovuulinsäure (ALA) als ein Vorläufer verabreicht werden kann, um den Photosensibilisator Protoporphyrin IX in situ in dem Synovium zu verabreichen.

Beispiel A: Biologische Verteilung von Photofrin

Methoden:

[0052] Dreißig weiße Neuseeland-Kaninchen mit einem Gewicht von 3–4 kg wurden über eine Zeitdauer von sechs Wochen mit zwei Hautinjektionen von Ovalbumin, suspendiert in Freund'schem Adjuvans, sensibilisiert. Nach sechs Wochen wurden die Kniegelenke aller Tiere mit einer intraartikulären Injektion von Ovalbuminlösung beansprucht. Sieben Tage nach der Gelenkbeanspruchung erhielten 25 Tiere systemische intravenöse Injektionen mit Photofrin (2,0 mg/kg). Tiere wurden nach 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden nach der Photofrininjektion getötet, und Gewebeproben wurden von der Haut, dem Quadrizepsmuskel, Kniesynovium, artikulärem Knorpel, Meniskus, Knochen und Sehne erhalten. Das Gewebegewicht wurde gemessen (Mettler AE 163-Abgleich), und Gewebeproben wurden bei –90°C (Revco Ultra Low Freezer) bis zur Farbstoffextraktion gefroren.

[0053] Für die Extraktion wurden Gewebeproben homogenisiert (Homogenisator, Model PT 10/35, Brinkman Instruments, Co., Westbury, NY) in 8 cm^3 0,1 N NaOH-Lösung. Jede Probe wurde bei 17.000 U. p. M. (Sorvall RC-5B, tiefgekühlte Supergeschwindigkeitszentrifuge, DuPont Instruments) während 20 Minuten zentrifugiert. Die Fluoreszenz von 2 cm^3 des Überstands wurde mit einem Spektrofluorometer (Modell Fluorolog 2, Spex Industries, Inc., Edison, NJ) gemessen und mit jener von Standardlösungen von Photofrin mit bekannter Konzentration verglichen, und Photofrin wurde mit dem Rückstand von extrahiertem Kontroll-Quadrizepsmuskel vermischt. Die Erregung der Wellenlänge 366 nm und Fluoreszenzspektrum zwischen 600 und 700 nm wurde analysiert. Unbehandelte Tiere werden als Kontrolle und für Hintergrundkorrektur dienen.

[0054] Die biologische Verteilung von Photofrin in Synovium, artikulärem Knorpel und Meniskus wurde auch mit Fluoreszenzmikroskopie untersucht. Bei jedem der Entnahmeintervalle von 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden nach der Injektion wurden Gewebeproben von experimentellen Tieren sowie Kontrolltieren erhalten. Proben wurden in O. C. T.-Medium gegeben und bei –90°C eingefroren. Ungefärbte gefrorene Abschnitte von 10 Mikron wurden unter Verwendung eines Kryostaten (Microm, Inc., Heidelberg, Deutschland) hergestellt und mit einem Fluoreszenzmikroskop (Axiophot, Zeiss, Oberkochen, Deutschland) unter Epilumineszenz einer Quecksilberlampe (HBO 200 W/2, Zeiss) analysiert. Die Erregungswellenlänge war zwischen 300 und 500 nm. Die Emission oberhalb 580 wurde auf einem Videoschirm nach Lichtverstärkung in einem Silicium-intensivierten Rohr einer Videokamera (MTI-DAGE SIT 66) und Mittelung von 60 Abbildungen gezeigt. Die Abbildungen wurden digitalisiert und unter Verwendung eines Macintosh II-Computers, ausgestattet mit einer Digitalisierungsplatine (DT 2255, Data Translation, Marlboro, MA) gespeichert. Gefrorene Abschnitte wurden mit histologischen Feinschnitten des gleichen Bereichs nach Anfärben mit Hematoxylin und Eosin verglichen. Unbehandelte Tiere dienten als Kontrollen. Diese Ergebnisse sind in **Fig. 3** zusammengefaßt.

Ergebnisse

[0055] Licht und Fluoreszenzmikroskopie: Übereinstimmende Entzündung von Synovium war in allen Tieren zum Zeitpunkt der Tötung der Tiere ersichtlich. Proben von synovialem Gewebe aus Kontrolltieren demonstrierten keine Aufnahme durch Fluoreszenzmikroskopie. Aufnahme von Photofrin wurde nicht visualisiert in Proben von artikulärem Knorpel und Meniskus, die von experimentellen Tieren erhalten wurden. Synovialproben aus experimentellen Tieren, die systemische Injektionen von Photofrin erhalten hatten, demonstrierten signifikante Aufnahme bei 12, 24, 48 und 72 Stunden. Photofrinfluoreszenz zeigte ein zelluläres Bild, das synovial- und entzündungszelluläre Aufnahme nahelegt.

[0056] Quantitative spektroskopische Analyse von extrahierten Gewebeproben demonstrierte wiederum signifikante entzündete Synovialaufnahme des Photofrins. Maximalaufnahme ergab sich bei 48 nach Injektion. Ein Vergleich mit spektroskopischer Analyse bekannter Probenkonzentrationen ergab Photofrinkonzentrationen größer als 4 Mikrogramm/Gramm Gewebe. Die Dosierung ist vergleichbar mit therapeutischen Konzentrationen, dokumentiert in erfolgreich behandelten neoplastischen Geweben. Fluoreszenzgehalte in artikulärem Knorpel, Meniskus und Muskel waren vernachlässigbar und überschritten die Basislinie von endogener Porphyrinproduktion.

Schlußfolgerungen

[0057] Diese biologische Verteilungsstudie demonstriert selektive Aufnahme von Hematoporphyrinderivaten (Photofrin) in entzündetem Synovium in einem Kaninchenantigen, induziert durch Arthritismodell für rheumatoide Arthritis. Die Studie besagt, daß Lichtaktivierung des Kniegelenks nach 48 Stunden nach systemischer Photofrininjektion für die isolierte Zersetzung von entzündetem Synovium durchgeführt werden kann. Photofrinaufnahme in artikulärem Knorpel, Meniskus, Muskel und Sehne scheint unbedeutend zu sein und minimale Gefahr für andere intraartikuläre und periartikuläre Gewebe vorzuschlagen.

Beispiel B: PDT unter Verwendung von Photofrin für die Behandlung von Arthritis

Methoden

[0058] Photochemotherapeutische Synovektomie erfolgte bei einem Antigen-induzierten Arthritismodell (AIA) in 12 weißen Neuseeland-Kaninchen in einer Doppelkontrollstudie. Nach einer sechswöchigen Sensibilisierungsperiode wurden die Gelenke aller Tiere beidseitig mit einer Injektion von Albumin, suspendiert in Freund'schem Adjuvans, angegriffen. Nach fünf Tagen hatten acht Tiere systemische Injektionen von 2 mg/kg Photofrin II erhalten. Nach 24 Stunden hatten vier Tiere beidseitige Arthrotomie erfahren. Das rechte Kniegelenk eines jeden Tiers wurde 100 J/cm^2 eines 630 nm Laserlichts während 20 Minuten ausgesetzt. Die linken Knie, die keine Laserlichteinwirkung bekamen, dienten als Kontrollproben. 48 Stunden nach der HPD-Injektion wurden weitere vier Tiere nach den identischen operativen Verfahren getötet. Postoperativ wurden alle Tiere zu ihren Käfigen zurückgeführt, und man ließ freie Bewegung zu. Vier Tiere, die als eine zweite Gruppe von Kontrolltieren dienten, wurden nicht operiert und erhielten keine Laserlichtbehandlung. Nach einem Monat Nachbehandlung wurden Tiere getötet, dann wurde Kniegelenksynovium abgenommen, fixiert und mit H und E für pathologische Bewertung angefärbt.

Ergebnisse

[0059] Drei von vier Kontrolltieren zeigten akute bilaterale synoviale Entzündung. Eines der vier Kontrolltiere reagierte nicht auf den Antigenangriff und zeigte keine Entzündung bei Pathologie. Zwei von vier Tieren, die 24 Stunden nach Injektion behandelt worden waren, demonstrierten eine markante Abnahme der synovialen Entzündung im rechten Kniegelenk in Bezug auf die linke Kontrolle. Beide Knie zeigten qualitativen Unterschied zwischen rechts und links. Die Heilung war vergleichbar mit derjenigen, die man in vorausgehenden Experimenten mit Bestrahlungssynovektomie fand. Von den 48 Stunden nach Injektion behandelten Tieren starb eines in der Anästhesie und eines zeigte eine Abnahme der Entzündung bei der Behandlung im Vergleich mit den Kontrolltieren. Diese Ergebnisse sind in den **Fig. 1** und **Fig. 2** gezeigt.

Beispiel C: Verwendung von BPD für PDT

[0060] Weiße Neuseeland-Kaninchen mit einem Gewicht von 3–4 kg wurden für Ovalbumin gemäß dem oben erwähnten, durch Antigen eingeleiteten Arthritismodellprotokoll sensibilisiert. 5–7 Tage nach Angriff auf das Gelenk wurden Kniegelenke als entzündet beobachtet. Tiere wurden mit Rompum und Ketamin sediert und erhielten eine kontinuierliche Infusion von intravenöser Kochsalzlösung. Ein Plastikkatheter ("Angiocath") von 20 Gauge wurde perkutan in das rechte Kniegelenk des Tieres über ein anteromediales Portal eingeführt. Eine 600 µm-Quarzfaseroptik, die an einem durch Laser induzierten Fluoreszenzsystem anhaftete, wurde über den Angiocath in das Kniegelenk eingeführt. Die distale Spitze der verkleinerten Faser wurde in mäßigen Kontakt mit dem Synovium, das über dem Fettpolster in dem obigen älteren Kniegelenk lag, gebracht.

[0061] Durch Laser induziertes Fluoreszenzsystem. Der Energieausgang eines gepulsten Stickstofflasers (VSL-337ND Laser Science Inc., Cambridge, MA) wurde verwendet, um einen Tintenlaser (DLM 220, Laser Science, Inc., Cambridge, MA) zu pumpen, der einen rhodaminhaltigen Laser 610-Farbstoff (Exciton Chemical Co., Dayton, OH) enthält. Die Erregungsimpulse von 610 nm wurden in eine verschmolzene Kieselsäurefaser-

optik mit einem Kern von 600 µm Durchmesser (Superguide-G, Fiberguide Industries, Stirling, NJ) mit einer 5 mm-Brennlängenlinse überführt. Nach Kupplung, Reflexion und Faserverlusten wurden die typischen Impulsenergien, die auf das Gewebe einfallen, etwa 10 µJ. Fluoreszenz von dem Gewebe wird zurück durch die gleiche Faseroptik übertragen. Der Energieausgang der Faser ist mit einem Quarzfaserbündel optisch gekoppelt, welches eine kreisförmige Anordnung der Fasern an dem Eingang hatte. Die Fasern am Ausgangsende des Bündels wurden linear angeordnet und dienten als 0,1 mm × 2,5 mm Eingangsschlitz für den f/3,8, 0,275 m Polychromator (Monospec 27, Anaspec, Acton, MA). Ein langes Paßfilter (CS2-59, Swift Glass Co., Elmira, NY) wurde vor dem Quarzfaserbündel eingeführt, um Laserstreulicht auszuschalten. Fluoreszenz für Wellenlängen zwischen 300 und 800 nm wurde unter Verwendung einer intensivierten Diodenanordnung 1024 durch einem OMA III-Mehrkanalanalysator (Princton Applied Research, Princeton, NJ) aufgezeichnet. Die Intensivierungseinrichtung ist mit den Pulsen von 100 nsec um den Laserimpuls von 3 nsec zentriert torgesteuert. Der Mehrkanalanalysator erlaubt die Aufzeichnung eines kompletten Spektrums bei jedem Erregungspuls. Zwanzig Spektren werden gesammelt und die Peakwerte bei 690 nm für jede Messung gemittelt. Da der Laser bei 10 Hz arbeitet, werden etwa 2 sec benötigt, um dieses Spektrum zu bekommen.

[0062] Basislinienwerte für Fluoreszenz werden für Synovium bei 5 und 10 Minuten vor der Injektion aufgezeichnet. Das Tier bekommt dann eine systemische Injektion von BPD. Für die Werte in **Fig. 4** war die Dosis 2 mg/kg. Aufzeichnungen werden dann in Gruppen von 3 in voranschreitenden Zeitintervallen bis zu 500 Minuten gemacht. Eine Grafik der aufgezeichneten Synoviumfluoreszenzwerte gegen die Zeit findet sich in **Fig. 4**.

Beispiel D: Verwendung von ALA für PDT

[0063] Photodynamische Therapie, in welcher ein Vorläufer, δ-Aminolevulinsäure (ALA), verabreicht wird und eine Synthese des Photosensibilisators in situ erreicht wird, ist ALA ein Vorläufer auf dem Weg der Hemabiosynthese. Die Synthese von ALA ist die beschränkende Stufe in nicht-erythroiden Zellen, so daß eine Steigerung von Porphyrin erwartet wird, wenn diese begrenzende Stufe durch Zugabe von exogenem ALA zu den Zellen überführt wird. Es wird erwartet (siehe Tabelle 4 nachfolgend), daß Zellen, die schneller wachsen, mehr Porphyrin als langsam wachsende Zellen produzieren können. Die Verwendung von ALA als die endogene Quelle eines PS in proliferativen Erkrankungen, wie rheumatoider Arthritis, ist daher vielversprechend.

[0064] Tabelle 4 zeigt Beispiele von PpIX-Synthese und die Proliferationsraten. Wir haben demonstriert, daß Zellproliferationsraten im allgemeinen mit PpIX-Synthese in Zellen in Wechselbeziehung stehen. **Fig. 5** zeigt die biologische Verteilung von ALA in dem Antigen-induzierten Arthritismodell. Wie durch die offenen Quadrate ersichtlich ist, wird in Abwesenheit einer Injektion kein ALA in dem Synovium beobachtet. Im Gegenteil werden große Mengen von ALA nach Injektion in dem Synovium beobachtet.

TABELLE 1

Erkrankungen des Gelenks, die mit PDT behandelt werden können

Rheumatoide Arthritis
Seronegative Spondyloarthropathien
Gelenkversteifende Spondylitis
Seronegative rheumatoide Arthritis
Psoriasis-Arthritis
Juvenile rheumatoide Arthritis
Reiters-Syndrom
Mit ulcerativer Colitis verbundene Arthritis
Whipples-Krankheit
Arthritis, verbunden Granulom-Ileocolitis
Behçets-Krankheit
Systemische Lupus-Erythrematose
Sjögrens-Syndrom
Gemischte verbundene Gewebeerkrankung
Hämophilie
Sichelzellenkrankheit und Trait
Arthritis, verbunden mit Stoffwechsel oder Endokrinerkrankung
Arthritis, verbunden mit Hämochromatose
Arthritis, verbunden mit Wilsons-Erkrankung

Arthritis, verbunden mit Gauchers-Krankheit
Arthritis, verbunden mit Alcaptonurie-Ochronose
Arthritis, verbunden mit Hyperlipoproteinämie (Typ II und Typ IV)
Arthritis, verbunden mit multizentrischer Reticulohistocytose
Arthritis, verbunden mit Acromegalie, Hyperparathryroidismus und Hypoparathyroidismus
Arthritis, verbunden mit hämatologischer Krankheit
Kristallinduzierte Arthritis: Pseudogout und Hydroxylapatit

TABELLE 2

Verbindungen für photodynamische Therapie von Erkrankungen der Gelenke

1. Photofrin
2. Benzoporphyrinderivate (BPD)
Benzoporphyrinmonosäurederivate
Tetracyanoethylenaddukte von Benzoporphyrin
Dimethylacetylendicarboxylataddukte von Benzoporphyrin
Diels-Adler-Addukte
Monosäurering "a"-Derivate von Benzoporphyrin
3. 5-Aminolevulinsäure

TABELLE 3

Schema für Testverbindungen

Gruppe A: Experimentell, 24 Tiere + Photosensibilisator + Lichtaktivierung für rechtes Knie keine Lichtaktivierung für linkes Knie

Tag 0 – Sensibilisierung von Tieren, Hautinjektion
Tag 30 – Sensibilisierung von Tieren, Hautinjektion
Tag 60 – Einwirkung auf Gelenke mit Ovalbuminlösung, Erzeugung von Synovitis-Reaktion
Tag 66 – Systemische Einspritzung der Verbindung, Behandlung der Tiere
Tag 68 – Lichtaktivierung der Verbindung über Faseroptik, Transilluminierung oder offene Abgabe über Arthrotomiesezierung des rechten Knies aller 24 Tiere
Tag 75 – Töten von 6 Behandlungs-Kaninchen, Entnahme beider Knie
Tag 83 – Töten von 6 Behandlungs-Kaninchen, Entnahme beider Knie
Tag 98 – Töten von 6 Behandlungs-Kaninchen, Entnahme beider Knie
Tag 148 – Töten von 6 Behandlungs-Tiere, Entnahme beider Knie

Gruppe B: Kontrolltiere: keine Photosensibilisatoren Lichtaktivierung rechtes Knie keine Lichtaktivierung linkes Knie

Tag 0 – Sensibilisierung von Tieren, Hautinjektion
Tag 30 – Sensibilisierung von Tieren, Hautinjektion
Tag 60 – Einwirkung auf Gelenke mit Ovalbuminlösung, Erzeugung von Synovitis-Reaktion
Tag 66 – Systemische Einspritzung der Verbindung bei allen Tieren
Tag 68 – Keine Lichtaktivierung der Verbindung
Tag 75 – Töten von 4 Tieren
Tag 83 – Töten von 4 Tieren
Tag 98 – Töten von 4 Tieren
Tag 148 – Töten von 4 Tieren

TABELLE 4
Zellproliferationsrate, gemessen durch Verdopplung der Zeitgabe (DTs)

Zellinie	Dt (h)	Intrazelluläres PpIX (4 h) (a Mol/Zelle)
NBT-2 (Rattenblasenkarzinom)	13,5	160
5PAM (Maus-Plattenepithelkarzinom)	14	160
EJ (menschliches Blasenkarzinom)	23	100
HSF (menschlicher Hautfibroblast)	27	40

Patentansprüche

1. Verwendung einer lichtaktivierbaren Zytotoxinverbindung oder eines Vorläufers derselben bei der Herstellung eines Arzneimittels zur Durchführung einer photochemischen Synovektomie, wobei die Verbindung aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus Photofrin (HPD, PFI und PFII), einem Benzoporphyrinderivat und einem Produkt von Aminolävulinsäure besteht, worin die Verbindung oder der Vorläufer derselben bei Bestrahlung mit Licht einer photoaktivierenden Aktivierungswellenlänge eine Zerstörung von Synovialgewebe verursachen kann.

2. Verwendung nach Anspruch 1, bei der lichtaktivierbare Verbindung Photofrin (HPS, PFI und PFII) ist.

3. Verwendung nach Anspruch 1, bei der die lichtaktivierbare Verbindung ein Benzoporphyrinderivat ist.

4. Verwendung nach Anspruch 1, bei dem die lichtaktivierbare Verbindung ein Produkt von Aminolävulinsäure ist.

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, bei der diese Verbindung einen therapeutischen Index von wenigstens 50 hat.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, bei der diese Verbindung einen therapeutischen Index von wenigstens 10 hat.

Es folgen 5 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



FIG. 1



FIG. 2

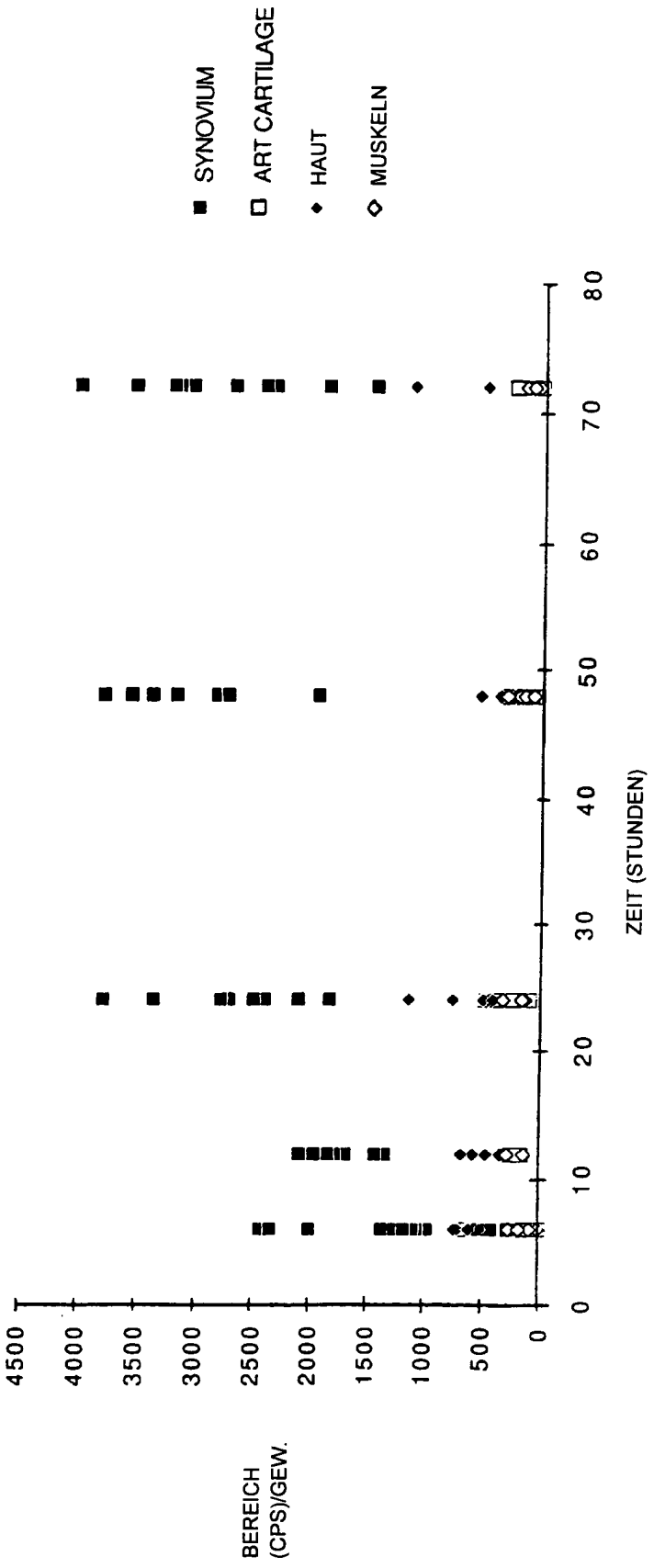

SYNOVIUM
ART CARTILAGE
HAUT
MUSKELN
BEREICH (CPS)/GEW.
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
ZEIT (STUNDEN)

FIG. 3

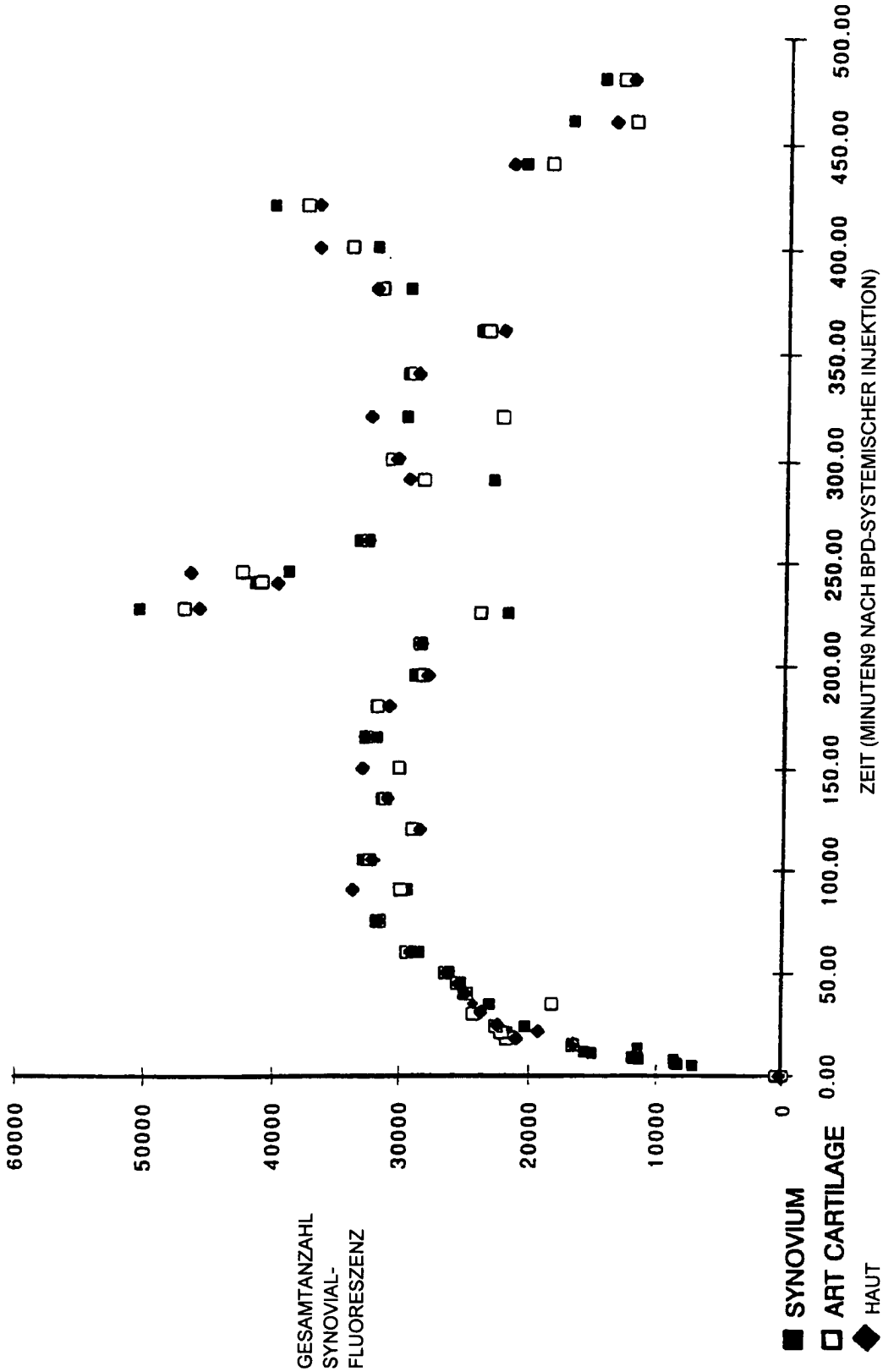

GESAMTANZAHL
SYNOVIAL-
FLUORESZENZ
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
0.00
50.00
100.00
150.00
200.00
250.00
300.00
350.00
400.00
450.00
500.00
ZEIT (MINUTEN9 NACH BPD-SYSTEMISCHER INJEKTION)
SYNOVIUM
ART CARTILAGE
HAUT
MUSKEL

FIG. 4

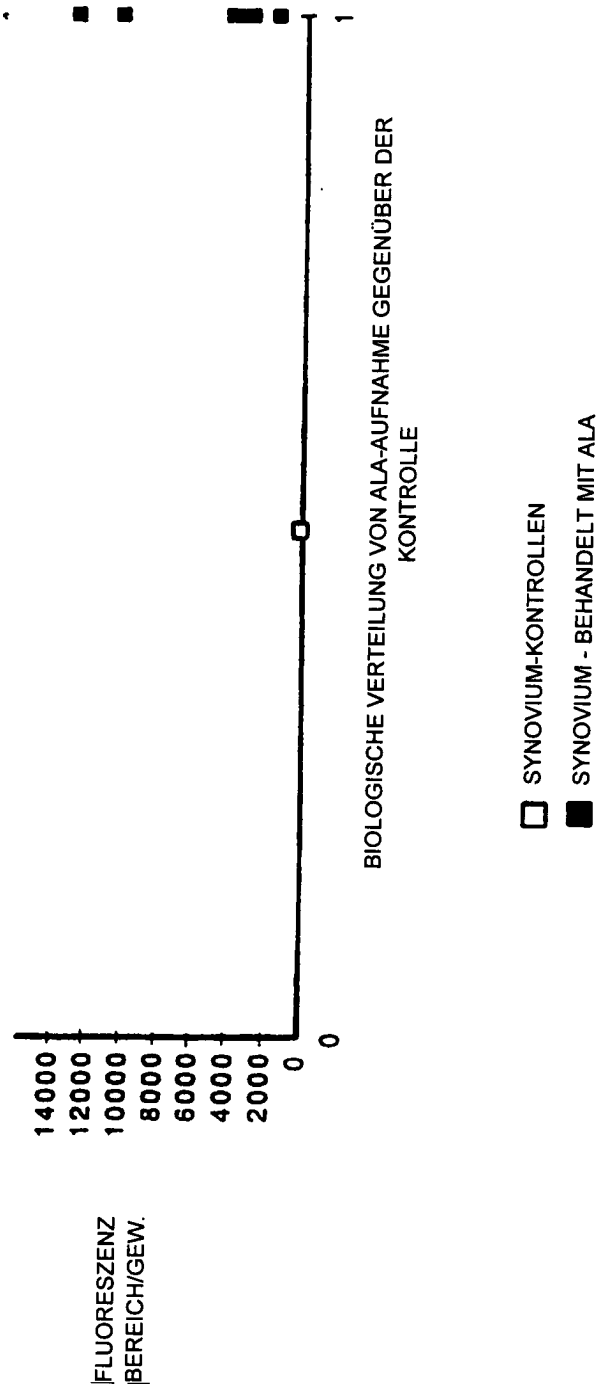

FLUORESZENZ
BEREICH/GEW.
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0
1
BIOLOGISCHE VERTEILUNG VON ALA-AUFNAHME GEGENÜBER DER KONTROLLE
SYNOVIUM-KONTROLLEN
SYNOVIUM - BEHANDELT MIT ALA

FIG. 5