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

(10) **DE 696 32 909 T2** 2004.12.09

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 825 868 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **696 32 909.3**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/AU96/00253**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **96 911 839.7**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 96/034614**
(86) PCT-Anmeldetag: **02.05.1996**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **07.11.1996**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **04.03.1998**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **14.07.2004**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **09.12.2004**

(51) Int Cl.[7]: **A61K 35/20**
A61K 38/18, A61K 38/40, A61K 38/30, A61K 38/44

(30) Unionspriorität:
PN271295 02.05.1995 AU

(84) Benannte Vertragsstaaten:
DE, FR, GB, IT, NL

(73) Patentinhaber:
GroPep Ltd., Adelaide, AU

(72) Erfinder:
READ, Christine, Leanna, Kensington Park, AU;
HOWARTH, Stanley, Gordon, Hillbank. S.A. 5112, AU

(74) Vertreter:
Weickmann & Weickmann, 81679 München

(54) Bezeichnung: **VERHINDERUNG ODER BEHANDLUNG VON SCHÄDEN DES VERDAUUNGSTRAKTES AUF GRUND VON CHEMOTHERAPIE UND BESTRAHLUNG**

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

[0001] Diese Erfindung betrifft die Prophylaxe, Verbesserung und/oder Behandlung einer Schädigung der Auskleidung des Verdauungstrakts bzw. Verdauungskanals, die aus einer Chemotherapie und/oder Bestrahlung resultiert.

[0002] Chemotherapie und/oder Radiotherapie sind wirkungsvoll zum Zerstören von Tumoren, da sie auf schnell wachsende Gewebe zielen. Der Mechanismus umfasst eine Beeinträchtigung der DNA-Synthese oder Störung der metabolischen Prozesse, die erforderlich sind für schnell teilende Zellen. Während Tumorzellen selektive Ziele sind von Antikrebsbehandlungen, sind die schnell wachsenden Gewebe des Wirts ebenfalls anfällig, insbesondere die Immunzellen des Körpers und die Auskleidung des Verdauungstrakts. Epithelialzellteilung in dem Verdauungstrakts tritt im Kryptenbereich der Mukosa bzw. Schleimhaut auf. Die neu synthetisierten Zellen erwerben dann ihre funktionellen Eigenschaften (wie etwa Verdauungsenzmye), wenn sie in Richtung der luminalen Oberfläche migrieren und schließlich werden sie in das Lumen des Verdauungstraktes ausgestoßen. Das gesamte Verfahren dauert nur einige Tage, sodass das Mukosaepithel des Verdauungstraktes eine der schnellsten Zellteilungsraten eines Körpergewebes aufweist und daher eine Hauptstelle für Toxizität von Antikrebsbehandlungen ist.

[0003] Die Auskleidungen des Mundes und Oesophagus sind besonders empfindlich für Chemotherapie und Bestrahlung. Die oralen Ulzerationen, die charakteristisch für Mukositis (ebenfalls bezeichnet als "Stomatitis") sind, sind ein klinisches Hauptproblem, das beachtlichen Schmerz, erhöhte Suszeptibilität gegenüber Infektion und Unfähigkeit zu essen bewirkt. Schädigung der Intestinalauskleidung tritt üblicherweise im Dünndarm und weniger häufig im Dickdarm auf, was zu schwerer Diarrhoe und Schmerz führt. (Verdi CJ 1993 Cancer therapy and oral mucositis. An appraisal of drug prophylaxis. Drug Safety 9: 185–195; Sonis ST 1993 Oral complications of cancer chemotherapy in VT DeVita Jr. S, Hellman und SA Rosenberg (Hrsg.) Cancer, Principles and Practice of Oncology, S. 2385–2394. Philadelphia, JB Lippencott Co.).

[0004] Mukositis tritt durch zwei verschiedene Mechanismen auf: Durch direkte Schädigung der Verdauungstraktauskleidung durch Antikrebsmittel oder Bestrahlung und indirekt als ein Ergebnis opportuner Infektionen, die verbunden sind mit Neutropenie in Patienten mit einem beeinträchtigten Immunsystem. Als ein Ergebnis kann sich jedes Arzneimittel, das signifikante Neutropenie bewirkt, indirekt in Mukositis niederschlagen (Verdi CJ 1993). Direkte Schädigung der Darmbarriere würde ebenfalls die Suszeptibilität gegenüber opportunen Infektionen erhöhen, indem bakterielle Translokation über eine beschädigte Darmauskleidung erlaubt wird.

[0005] Im Allgemeinen wird Mukositis innerhalb von 5 bis 10 Tagen unter Arzneimittel- oder Bestrahlungsbehandlung manifestiert und kann mehrere Wochen dauern. Die Schwere der Mukositis kann von leicht bis so schwer variieren, dass sie die Dosis der Chemotherapie oder Bestrahlung begrenzt. Für Patienten, die hochdosierte Chemo/Bestrahlungstherapie erhalten, ist Mukositis die Hauptquelle für Infektion und die resultierende Sepsis, der Hauptgrund für Morbidität und Mortalität und der Hauptgrund für ihre Hospitalisierung. Patienten, die unter Mukositis leiden, können einige Wochen oder mehr intravenöse Ernährung benötigen, als ein Ergebnis der Mundgeschwüre, Krämpfe, extremen Schmerz, Darmfreilegung und schwerer Diarrhoe (Verdi 1993; Sonis 1993).

[0006] Mukositis kann die Wiederbehandlung von Patienten mit Chemotherapie oder Radiotherapie verzögern oder eine nachfolgende Dosisreduktion erforderlich machen, wobei die Gesamtwirksamkeit der Antikrebsbehandlung beeinträchtigt wird. Bei einigen Antikrebsbehandlungen ist Mukositis die begrenzende Toxizität. Das Beseitigen dieser Toxizität würde die Lebensqualität verbessern, Suszeptibilität für sekundäre Infektion verringern, die Notwendigkeit intravenöser Ernährung vermeiden und wichtigerweise die Wirksamkeit der Tumorablation durch erhöhte Toleranz für höhere Dosen Chemotherapie oder Bestrahlung verbessern (Verdi CJ 1993). Kosten der Hospitalisierung würden wesentlich verringert werden, da mehr Patienten nichtstationär behandelt werden könnten.

[0007] Etwa 40% aller Patienten, die Chemotherapie erhalten, entwickeln signifikante Mukositis, mit bis zu 100% Inzidenz bzw. Häufigkeit bei einigen Formen der Chemotherapie oder Radiotherapie. Klinisch signifikante Mukositis entwickelt sich bei einem Bereich von Standardchemotherapiearzneimitteln, die verwendet werden, entweder alleine oder in Kombination, um verschiedene Krebse zu behandeln, einschließlich diejenigen des Colons, der Brust, der Prostata, des Kopfs, des Nackens und des haemopoetischen Systems. Beispiele von Arzneimitteln, die häufig direkt Mukositis bewirken, umfassen, ohne darauf begrenzt zu sein, Alkylierungsmittel, wie etwa Mechlorethamin, Melphalan und Busulphan, Antimetaboliten, einschließlich Cytarabin, Floxuridin, 5-Fluoruracil, Mercaptopurin, Methotrexat und Thioguanin, cytotoxische Arzneimittel, wie etwa Bleomycin, Actinomycin-D, Daunorubicin, Etoposid, Mitomycin, Vinblastin und Vincristin, und andere chemotherapeutische Arzneimittel, wie etwa Hyroxyharnstoff und Procarbazin (Sonis 1993). Direktes Aussetzen des Verdauungstraktes unter eine hohe Dosis Radiotherapie, wie sie z. B. bei Gesamtkörperbestrahlung auf-

tritt, Behandlung von Kopf- und Nackentumoren oder Radiotherapie von abdominalen Tumoren, werden ebenfalls eine hohe Mukositisinzidenz bewirken.

[0008] Mukositis ist besonders schwer bei hochdosierter Chemotherapie oder wenn zwei oder mehr Arzneimittel in einer Behandlung verwendet werden, z. B. bei der Ablativtherapie vor Knochenmarkstransplantation oder Transplantation periphärer Stammzellen. Die Kombination von hochdosierter Chemotherapie mit aggressiver Radiotherapie kann auch starke Mukositis bewirken (Sonis 1993).

[0009] Der Stand der Technik leidet unter dem Fehlen eines wirkungsvollen Arzneimittels zum Verhindern, Reduzieren oder Behandeln einer Schädigung der Auskleidung des Verdauungstrakts, die aus einer Chemotherapie und/oder Bestrahlung resultiert. Derzeit ist die Patientenbehandlung hauptsächlich palliativ, um Schmerzen durch Analgetika zu kontrollieren, Infektion zu verhindern und intravenöse Nahrungsversorgung bereitzustellen.

[0010] Der Stand der Technik umfasst eine Vielzahl von Ansätzen, die auf das Verringern der Schwere von Mukositis gerichtet sind. Es ist berichtet worden, dass Niederenergielaserbehandlung des Mundes die Schwere oraler Mukositis in Patienten, die hochdosierte Chemotherapie vor Knochenmarkstransplantation erhalten, reduziert (Ninth Annual Meeting of the International Soc. Oral Oncology, Juni 1994, NIH, Bethesda, USA). Zahlreiche Arzneimittel sind bei der Verhinderung von Mukositis beurteilt worden, mit einem gewissen Wirkungsgrad für Cytoprotektanten (z. B. Sucralfat) und antimikrobielle Arzneimittel wie etwa Chlorhexidin und Benzydamin (Übersicht in Verdi CJ 1993). Ein Somatostatinanaloges (Octreotidacetat) erwies sich so, dass es sekretorische Diarrhoe in Patienten mit Mukositis, induziert durch das Chemotherapiearzneimittel 5-Fluoruracil, inhibiert. Der Wirkungsmechanismus ist möglicherweise sekundär zur Inhibierung der Pankreas- und Gastrointestinalfunktion (Petrelli NJ, Rodriguez-Bigas M, Rustum Y, Herrara L, Creaven P 1993 Bowel rest, intravenous hydration and continuous high-dose infusion of octreotide acetate for the treatment of chemotherapy-induced diarrhoea in patients with colorectal carcinoma. Cancer. 72: 1543–1546).

[0011] Der rekombinante transformierende Wachstumsfaktor beta-3 (TGF-b3) erwies sich so, dass er die Schwere oraler Mukositis, induziert durch Injektion von Hamstern mit 5-Fluoruracil, reduziert (Sonis ST, Lindquist L, Van Vugt A, Stewart AA, Stam K, Qu G-Y, Iwata KK, Haley JD 1994 Prevention of chemotherapyinduced ulcerative mucositis by transforming growth factor-b3. Cancer Res. 54: 1135–1138). Die Wirkungen anderer Wachstumsfaktoren sind weniger klar. Zum Beispiel scheint der rekombinante epidermale Wachstumsfaktor (EGF) orale Mukositis nicht zu lindern (Sonis ST, Costa JW, Evitts SM, Linquist LE, Nicolson M 1992 Effect of epidermal growth factor on ulcerative mucositis in hamsters that receive cancer chemotherapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 74: 749–755), kann jedoch die Intestinalrekonvaleszenz nachfolgend auf abdominale Bestrahlung verbessern (McKenna KJ, Ligato S, Kauffman GL, Abt AB. Stryker JA, Conter RL 1994 Epidermal growth factor enhances intestinal mitotic activity and DNA content alter acute abdominal radiation. Surgery. 115: 626–632).

[0012] Der Stand der Technik umfasst auch die internationale Patentanmeldung PCT/SE93/00503 von Kabi Pharmacia. Diese Anmeldung offenbart die Verwendung des Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktors II (IGF-II) oder wirkungsvoller Analoga davon zur Herstellung eines Medikaments zur Verhinderung oder Behandlung von Ernährungs- oder Gastrointestinalkrankheiten oder zum Unterstützen des humanen oder tierischen neonatalen Wachstums. Jedoch die Verwendbarkeit bei der Prophylaxe, Verbesserung und/oder Behandlung der Schädigung der Auskleidung des Verdauungstrakts, die aus Chemotherapie und/oder Bestrahlung resultiert, ist weder offenbart noch nahegelegt.

[0013] Der Stand der Technik umfasst auch WO 92/00994 A1 von GroPep Pty Ltd. Diese Anmeldung offenbart die Verwendung eines Milchproduktextrakts zur Behandlung einer Gastrointestinalbeschädigung, Krankheit oder -Ulcera. Jedoch die Anwendbarkeit bei der Verhinderung oder Behandlung der Schädigung des Verdauungstrakts, die aus Chemotherapie oder Radiotherapie resultiert, ist weder offenbart noch nahegelegt in dieser Literaturstelle. Der Stand der Technik im Bereich der Mukositis, die häufigste Beschädigung aus Chemotherapie und/oder Radiotherapie, sagt voraus, dass es eher vorteilhaft wäre die Wachstumsrate der Auskleidung des Verdauungstrakts zu verringern als zu erhöhen und dadurch die Zellen weniger suszeptibel für die Chemotherapie oder Radiotherapie zu machen, welche sich auf schnell wachsende Gewebe richtet. Dies ist die entgegengesetzte Wirkung zu derjenigen, deren Auftreten mit Mitteln vorausgesagt wird, die das Wiederwachstum von Gastrointestinalgewebe heilen oder fördern, wie etwa die Vielzahl von Zellwachstum-stimulierenden Mitteln, die in WO 92/00994 A1 beschrieben sind. Dementsprechend ist der Ansatz, der durch die Anmelder bei der Behandlung von Mukositis aufgegriffen wird, entgegengesetzt zu dem normalen Ansatz.

[0014] WO 92/00994 A1 lehrt oder offenbart nicht die Verwendung eines Milchproduktextrakts für die Linderung oder Behandlung von Mukositis, da der Mechanismus der Verdauungstraktschädigung bei Mukositis (Inhibierung der Zellproliferation und Neuropenie) verschieden von demjenigen ist, welcher bei

anderen Verdauungstraktbedingungen auftritt. Zum Beispiel gastritische Ulzera, deren Behandlung durch Milchprodukte im Stand der Technik beschrieben ist, werden nicht bewirkt durch eine Inhibierung der Zellproliferation noch werden sie von Neutropenie begleitet. Sie resultieren eher aus Säure-induzierter Zerstörung der Magenauskleidung.

[0015] Mukositis des Mundes und Ösophagus ist außerhalb des Bereiches des Verdauungstraktes, der ebenfalls in WO 92/00994 A1 beansprucht wird, welche nur den Gastrointestinaltrakt (Magen und Darm) betrifft. Da die Struktur der Epithelialauskleidung des Mundes und Ösophagus verschieden von der in dem Magen und Darm ist, kann nicht vorhergesagt werden, dass ein Mittel, das eine Schädigung der Auskleidung des Gastrointestinaltrakts verringert, die gleiche Wirkung im Mund und Ösophagus aufweist.

[0016] WO 92/00994 beschreibt die Herstellung von zwei Extrakten, die als GFE und GFE-2 in den Beispielen 1 bzw. 2 beschrieben werden. Diese Extrakte werden erhalten durch Filtration von pasteurisierter Molke, die als ein Endprodukt der Käseherstellung erhalten wird, welche dann einem Kationenaustauscherharz ausgesetzt wird. Wie in WO 92/00994 beschrieben, wird GFE erhalten durch Elution mit 1 M NaCl, welche 0,25 M NH_4OH enthält und GFE-2 durch Elution mit 0,4 M NaCl, welche zugegeben wird zu 10 mM Natriumcitrat, pH-Wert 6,5.

[0017] Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Beseitigung oder zumindest Linderung einer oder mehrerer der Schwierigkeiten oder Nachteile, die mit dem Stand der Technik verbunden sind.

[0018] In einem ersten Aspekt liefert die vorliegende Erfindung ein Verfahren zum Verhindern, Lindern und/oder Behandeln einer Schädigung der Auskleidung des Verdauungstraktes, welche aus Chemotherapie und/oder Bestrahlung resultiert, wobei das Verfahren das Verabreichen an den Patienten, der es benötigt, einer aktiven Menge eines Milchproduktextrakts umfasst.

[0019] In dem zweiten Aspekt liefert die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische oder veterinäre Zusammensetzung zum Verhindern, Verbessern und/oder Behandeln einer Schädigung der Auskleidung des Verdauungstrakts, welche aus Chemotherapie und/oder Bestrahlung resultiert, wobei die Zusammensetzung eine wirksame Menge eines Milchproduktextrakts und eines pharmazeutisch oder veterinärmedizinisch verträglichen Verdünnungsmittels, Trägers oder Hilfsmittels hierfür umfasst.

[0020] Die vorliegende Erfindung kann geeignet sein für Forschungszwecke, einschließlich Verabreichung von Milchproduktextrakt an Tiere mit experimenteller Schädigung der Auskleidung des Verdauungstrakts. Zum Beispiel kann die Erfindung verwendet werden bei Hamstern mit 5-Fluoruracil-induzierter Oral- oder Dickdarmmukositis, oder Nagetieren mit Intestinalmukositis, induziert durch Bestrahlung oder Chemotherapiearzneimittel, wie etwa Cytarabin oder Etoposid. Die vorliegende Erfindung kann z. B. auch geeignet sein in einer Zellkultur zum Schützen oder Behandeln von Epithelialzellen, die aus der Mund-, Ösophagus- oder Gastrointestinal-Auskleidung kultiviert sind, aus Chemotherapie- oder Strahlungs-induzierter Schädigung.

[0021] Unter "Schädigung" versteht sich jede Veränderung der normalen Struktur oder Funktion. Eine derartige Schädigung umfasst Mukositis, zumindest teilweisen Verlust des Mukosakryptenbereichs und/oder der Mukosavilluslänge bzw. Mukosazottenlänge oder eine Erhöhung der bakteriellen Translokation über den Verdauungstrakt.

[0022] Der Ausdruck "Verdauungstrakt", wie hier verwendet, betrifft den Verdauungsdurchgang in jedem Lebewesen vom Mund bis zum Anus und umfasst Mund, Ösophagus und Gastrointestinaltrakt (einschließlich Magen, Dünn- und Dickdarm). In einem bevorzugten Aspekt ist die Erfindung besonders anwendbar auf den Mund und/oder Ösophagus.

[0023] "Auskleidung" soll jedes biologische Material bedeuten, welches eine Oberfläche überdeckt oder einen Hohlraum auskleidet oder dgl. und welches Schutz-, Abschirmungs- und/oder andere Funktionen ausübt. Die Auskleidung des Verdauungstrakts umfasst die oralen, ösophagalen und Gastrointestinalepithele.

[0024] "Eine wirksame Menge" soll eine Menge Milchproduktextrakt bedeuten, welche bei Einzel- oder Mehrfachdosisverabreichung an den Patienten wirkungsvoll bei der Prophylaxe, Verbesserung und/oder Behandlung der Schädigung der Auskleidung des Verdauungstrakts ist, die aus Chemotherapie und/oder Bestrahlung resultiert.

[0025] "Verhindern, Verbessern und/oder Behandeln" bedeutet

(a) im Falle, worin der Milchproduktextrakt verabreicht wird, bevor die Schädigung auftritt, eine Verringerung oder Eliminierung der nachfolgenden Schädigung im Vergleich mit der Schädigung, die aufgetreten wäre, wenn der Milchproduktextrakt nicht verabreicht worden wäre; und

(b) in dem Falle, worin der Milchproduktextrakt verabreicht wird nachdem die Beschädigung aufgetreten ist, eine Verringerung oder Eliminierung einer derartigen Schädigung.

[0026] "Pharmazeutisch oder veterinär vertretbares Verdünnungsmittel, Träger oder Hilfsmittel" bedeutet

einen Verdünnungsmittelträger oder ein Hilfsmittel, welcher/welches kompatibel ist mit den anderen Bestandteilen der Zusammensetzung und für den Patienten nicht schädigend.

[0027] Der Ausdruck "Milchprodukt" bedeutet, wie er hier verwendet wird, ein Derivat von humaner oder tierischer Milch, worin die Anteile von Fett- und/oder Protein-Bestandteilen davon verändert sind. Beispiele von Milchprodukten umfassen Milchmolke, Magermilch, Vormilchmolke, Käsemolke und saure (Kasein)-Molke. In einer bevorzugten Hinsicht kann das Milchprodukt von einem Huftier sein.

[0028] Der Ausdruck "Milchproduktextrakt" bedeutet, wie er hier verwendet wird, einen Extrakt von humanem oder tierischem Milchprodukt, worin die Anteile von Salz, Fett und/oder Hauptprotein-Bestandteilen davon, geändert sind. Der Milchproduktextrakt kann ein Käsemolkeextrakt, ein Vormilchmolkeextrakt, ein Magermilchextrakt oder ein Sauermolke (Kasein)-Extrakt sein. Beispiele von Milchproduktextrakten umfassen Ultrafiltrate von Milchprodukten oder Milchprodukte, die einer Adsorption und Elution von chromatographischen Matrizes unterzogen worden sind. Vorzugsweise wird der Milchproduktextrakt hergestellt durch Aussetzen eines Milchprodukts unter Kationenaustauschchromatographie, z. B. durch das Verfahren, das in dem australischen Patent 645,589 beschrieben ist.

[0029] Vorzugsweise ist der Milchproduktextrakt eine Milchproduktextraktzusammensetzung, einschließlich mehrerer Zellwachstumstimulierender Faktoren, die aus Milchprodukt extrahiert sind, in konzentrierter Form; wobei die Faktoren basische bis ungefähr neutrale isoelektrische Punkte aufweisen. Bevorzugter ist der Milchproduktextrakt eine Milchproduktextraktzusammensetzung, einschließlich eines Gemisches von Zellwachstumsfaktoren mit basischen bis etwa neutralen isoelektrischen Punkten (z. B. isoelektrische Punkte zwischen ungefähr 6,0 und ungefähr 10,5), worin das Gemisch von Zellwachstumsfaktoren erhalten wird aus einem Milchprodukt eines Huftiersäugers, und worin das Milchprodukt einer Kationenaustauschmatrix unter Bedingungen ausgesetzt wird, wobei Kasein, α-Lactalbumin und β-Lactoglobulin, die in dem Milchprodukt vorliegen, nicht an die Matrix adsorbiert werden, wonach das adsorbierte Wachstumsfaktorgemisch eluiert wird mit einer im Wesentlichen wässrigen Salzlösung und dann optional konzentriert wird.

[0030] Vorzugsweise ist die Milchproduktextraktzusammensetzung eine Käsemolkeextraktzusammensetzung.

[0031] Die Käsemolkeextraktzusammensetzung kann gebildet werden aus Käsemolke, worin die Anteile der Hauptproteinbestandteile davon geändert sind.

[0032] Der Milchproduktextrakt kann weniger als ungefähr 1% Gew./Gew. Kasein, α-Lactalbumin oder β-Lactoglobulin umfassen, basierend auf dem Gesamtgewicht des Extrakts.

[0033] Bevorzugter ist der Milchproduktextrakt ein Käsemolkeextrakt, hergestellt durch das Verfahren, das in dem australischen Patent 645,589 beschrieben ist. Dies umfasst GFE und GFE-2, wie in dem australischen Patent 645,589 beschrieben.

[0034] Der Milchproduktextrakt kann Lactoperoxidase und/oder Lactoferrin enthalten. Vorzugsweise wird der Milchproduktextrakt, der Lactoperoxidase und/oder Lactoferrin enthält, durch Adsorption eines Milchprodukts an und Elution von einer oder mehreren Chromatographiematrices, z. B. einer Kationenaustauschmatrix, hergestellt. Derjenige, der sich in der Technik auskennt, wird erkennen, dass Lactoperoxidase und Lactoferrin Hauptproteinkomponenten in GFE sind und Lactoperoxidase eine Hauptproteinkomponente in GFE-2 ist, wie in dem australischen Patent 645,589 beschrieben.

[0035] Der Milchproduktextrakt kann modifiziert werden, um die Wirksamkeit zu erhöhen, einschließlich, jedoch ohne darauf begrenzt zu sein, vorübergehende Acidifizierung und/oder Reinigung unter sauren Bedingungen, z. B. unter Verwendung von Molekularsiebchromatographie oder kontrollierter Porenultrafiltration, wie in der internationalen Patentanmeldung Nr. PCT/AU95/00237 beschrieben.

[0036] Demgemäß ist in einer alternativen bevorzugten Form der Milchproduktextrakt eine Milchproduktextraktzusammensetzung, einschließlich mehrerer modifizierter Milchwachstumsfaktoren mit isoelektrischen Punkten über ungefähr 6,0 und Molekulargewichten im Bereich von ungefähr 5000 bis 30.000, wobei die Milchwachstumsfaktoren durch vorübergehende Acidifizierung modifiziert sind.

[0037] Alternativ oder zusätzlich kann der Milchproduktextrakt modifiziert werden, um die Wirksamkeit zu verbessern, durch die Zugabe eines oder mehrerer Wachstumsfaktoren, einschließlich, jedoch ohne darauf begrenzt zu sein, IGF-I, IGF-II, TFGβ, EGF, transformierender Wachstumsfaktor α (TGFα), von Plättchen abgeleiteter Wachstumsfaktor (PDGF), Fibroblastenwachstumsfaktor (FGF) und Keratinocytenwachstumsfaktor (KGF).

[0038] Die vorliegende Erfindung kann angewendet werden in Zusammenhang mit jedem Typ Chemotherapie- oder Betrahlungsbehandlung, der eine Schädigung der Auskleidung des Verdauungstrakts bewirkt. Beispiele umfassen, ohne darauf begrenzt zu sein, Alkylierungsmittel, wie etwa Mechlorethamin, Mel-

phalan und Busulphan, Antimetaboliten, einschließlich Cytarabin, Floxuridin, 5-Fluoruracil, Mercaptopurin, Methotrexat und Thioguanin, cytotoxische Arzneimittel, wie etwa Bleomycin, Actinomycin-D, Daunorubicin, Etoposid, Mitomycin, Vinblastin und Vincristin und andere Arzneimittel, wie etwa Hyroxyharnstoff und Procarbazin, als auch Gewebe-spezifische oder Gesamtkörperbestrahlung. Jede Kombination dieser Arzneimittel und Bestrahlungsabläufe kann anwendbar sein auf die vorliegende Erfindung.

[0039] Der Milchproduktextrakt kann auf jedem geeigneten Weg verabreicht werden, einschließlich dem oralen, enteralen oder systemischen Weg. Vorzugsweise wird der Milchproduktextrakt direkt in den Verdauungskanal verabreicht durch orale Zuführung oder andere Mittel der direkten enteralen Verabreichung, um die wirksame Dosis, die das befallene Gewebe erreicht, zu maximieren.

[0040] Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung, die geeignet sind für orale Verabreichung, können als diskrete Einheiten, wie etwa Kapseln, Beutel oder Tabletten, bereitgestellt werden, welche jeweils eine vorbestimmte Menge des wirksamen Bestandteils enthalten; als ein Pulver oder Granalien; als eine Lösung oder eine Suspension in einer wässrigen oder nicht-wässrigen Flüssigkeit; als Mundwasser oder als eine Öl-in-Wasser-Flüssigemulsion oder eine Wasser-in-Öl-Flüssigemulsion. Der aktive Bestandteil kann auch als ein Bolus, Electuarium oder eine Paste vorliegen.

[0041] Zusammensetzungen, die geeignet sind für parenterale Verabreichung umfassen wässrige und nichtwässrige sterile Injektionslösungen, welche Antioxidationsmittel, Puffer, Bakteriostatika und Solute enthalten können; und wässrige und nichtwässrige sterile Suspensionen, welche Suspendiermittel und Verdickungsmittel umfassen können. Die Zusammensetzungen können in verschlossenen Einheitsdosis- oder Mehrfachdosisbehältern bereitgestellt werden, z. B. als Ampullen und Fläschchen und können in einem gefriergetrockneten (lyophilisierten) Zustand, der nur die Zugabe des sterilen flüssigen Trägers erfordert, z. B. Wasser für Injektionen, unmittelbar vor Anwendung, aufbewahrt werden. Unvorbereitete Injektionslösungen und Suspensionen können aus sterilen Pulvern, Granalien und Tabletten der früher beschriebenen Art hergestellt werden.

[0042] Es versteht sich, dass zusätzlich zu den oben im Speziellen genannten Bestandteilen die Zusammensetzungen dieser Erfindung andere Mittel enthalten können, die üblich sind in der Technik im Hinblick auf den in Frage stehenden Typ der Zusammensetzung, z. B. können diejenigen, welche für orale Verabreichung geeignet sind, solche weiteren Mittel umfassen, wie etwa Süßungsmittel, Verdickungsmittel und Aromamittel.

[0043] Der Milchproduktextrakt kann zu jeder geeigneten Zeit verabreicht werden, einschließlich vor, während oder nach Chemotherapie oder Bestrahlung.

[0044] Der Milchproduktextrakt kann geeignet sein in Kombination mit bekannten chemotherapeutischen Mitteln. Bei Formulierung als eine vorbestimmte Dosis verwenden solche Kombinationsprodukte den Milchproduktextrakt in einem geeigneten Dosisbereich und das andere pharmazeutisch wirksame Mittel innerhalb seines empfohlenen Dosisbereichs. Zusammensetzungen der Erfindung können schrittweise mit bekannten chemotherapeutischen Mitteln verwendet werden, wenn eine Kombinationsformulierung nicht geeignet ist.

[0045] Wenn der Milchproduktextrakt einem Menschen verabreicht wird, kann die Tagesdosis bestimmt werden durch den konsultierenden Arzt, wobei die Dosis im Allgemeinen variiert entsprechend des Alters, des Gewichts und der Reaktion des einzelnen Patienten, als auch mit der Schwere der Symptome des Patienten. Im Allgemeinen wird eine geeignete Dosis der Verbindung der Erfindung in dem Bereich von 10 mg bis 10 g pro Kilogramm Körpergewicht des Rezipienten pro Tag sein, vorzugsweise im Bereich von 100 mg bis 1 g pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag. Jedoch wird die Dosis auch von der Formulierung und der Reinheit des verwendeten Milchproduktextrakts abhängen. Die oben genannten Dosen sind auf GFE oder GFE-2 berechnet und könnten entsprechend durch einen Fachmann in der Technik modifiziert werden, wenn ein Produkt verschiedener Wirksamkeit oder Reinheit verwendet würde.

[0046] Die vorliegende Erfindung wird nun im Hinblick auf die folgenden Beispiele vollständiger beschrieben. Es versteht sich jedoch, dass die Beschreibung, die nachfolgt, nur veranschaulichend ist, und nicht auf irgendeine Art als begrenzend für das Allgemeine der oben beschriebene Erfindung ausgelegt werden sollte.

In den Figuren

[0047] **Fig.** 1. Orale Verabreichung eines Milchproduktextrakts (GFE-2) für 5 Tage an Methotrexat-injizierte Ratten verringert (a) den Verlust des Mukosakryptenbereichs in dem Jejunum und Ileum und (b) den Verlust der Mokosavilluslänge im Jejunum und Ileum.

[0048] **Fig.** 2. Orale Verabreichung eines Milchproduktextrakts (GFE-2) für 5 Tage an Methotrexat-injizierte Ratten erhöht die Sucraseaktivität der Mukosa bzw. Schleimhaut in dem Ileum.

[0049] **Fig.** 3. Orale Verabreichung eines Milchpro-

duktextrakts (GFE-2) für bis zu 12 Tage an Methotrexat-injizierte Ratten verringert (a) das Auftreten von Ratten, die Bakterientranslokation zeigen und (b) die Anzahl von Bakterienkolonien pro Gramm Intestinallymphknoten.

[0050] Fig. 4. Verabreichung von Milchproduktextrakten (GFE-2, vorübergehend angesäuerter GFE-2 und Permeat-GFE-2) gleichzeitig mit Methotrexat an kultivierte Intestinalzellen (IEC-6) verbessert in Kultur für 24 Stunden das Überleben der Zellen in einer dosisabhängigen Art.

[0051] Fig. 5. Tägliche Behandlung der Backentasche von Hamstern mit einem Milchproduktextrakt (GFE-2) verringert die Empfindlichkeit von oralen Mukositisulzera, die durch 5-Fluoruracil bewirkt werden.

[0052] Fig. 6. Die tägliche Behandlung der Backentasche von Hamstern mit einem Milchprodukt (GFE-2) verringert den Körpergewichtsverlust, der durch 5-Fluoruracil induziert wird.

Einführung in die Beispiele

[0053] Überraschenderweise ist durch die Anmelder gefunden worden, dass ein Milchproduktextrakt von Käsemolke, äquivalent GFE-2 im australischen Patent 645,589, die Schwere von Intestinalmukositis verringert, die durch Injektion von Ratten mit dem Chemotherapiemittel Methotrexat bewirkt wird.

[0054] Die Anmelder haben ebenfalls gefunden, dass der gleiche Milchproduktextrakt die Schwere oraler Mukositis in der Hamsterbackentasche verringert, die durch Injektion der Hamster mit dem Chemotherapiemittel 5-Fluoruracil bewirkt wird.

[0055] Gemäß dem obigen würde die Behandlung von Chemotherapie- oder Radiotherapiepatienten mit GFE-2 mindestens teilweise die Symptome von Darmmukositis lindern, einschließlich Mukosaschädigung, funktioneller Störungen und Suszeptibilität für Injektion, als auch mindestens teilweise die Symptome von oraler und ösophagaler Mukositis lindern, wodurch die Rekonvaleszenz erleichtert wird und potenziell die Toleranz höherer Dosen Chemotherapiearzneimittel oder Bestrahlung erhöht wird.

Beispiel 1

Orale Verabreichung eines Milchproduktextrakts aus Rinderkäsemolke (GFE-2) verhindert teilweise den Verlust kleiner Intestinalkrypten und Villi in Ratten mit Methotrexat-induzierter Dünndarmmukositis

[0056] In diesem Beispiel wurden Ratten mit hohen Dosen des Chemotherapiemittels Methotrexat als ein Versuchsmodell von Darmmukositis injiziert. In Ratten schädigt Methotrexat den Dünndarm, jedoch nicht die orale oder Colon-Mukosa (Vanderhoof JA, Park JHY, Mohammadpour H, Blackwood D 1990 Effects of dietary lipids on recovery from mukosal injury. Gastroenterology. 98: 1226–1231). Die orale Verabreichung eines Milchproduktextrakts, aufgereinigt aus Rinderkäsemolke (GFE-2, wie im australischen Patent 645,589 beschrieben) an Methotrexat-injizierte Ratten lieferte einen Beweis dafür, dass der Milchproduktextrakt die Schädigung des Dünndarmes durch Chemotherapie verbessern kann.

[0057] Männliche Sprague Dawley-Ratten mit einem mittleren Gewicht von 140 g, die in Metabolismuskäfigen gehalten wurden, wurden mit einer Hoch-Kohlehydrathaltigen Diät gefüttert. Kontrollratten erhielten keinen Milchproduktextrakt, während Versuchsratten für 5 Tage mit einem Milchproduktextrakt behandelt wurden, gereinigt aus Rinderkäsemolke. Der aus Molke erhaltene Milchproduktextrakt (Whey Growth Factor Extract; (Molkewachstumsfaktorextrakt)) wurde wie GFE-2 im australischen Patent 645,589 beschrieben, hergestellt. GFE-2-behandelte Ratten wurden mit einer modifizierten Diät gefüttert, enthaltend 31,2 g GFE-2/kg-Diät, anstelle der gleichen Menge Kasein. Zusätzlich erhielten die mit GFE-2 gefütterten Ratten GFE-2 durch eine Magensonde an den Tagen 3, 4 und 5 der Versuchsperiode, sodass die Gesamtdosis GFE-2 pro Tag im Mittel 514 mg/Tag GFE-2 war. Kontrollratten wurde die unmodifizierte Diät gefüttert und wurden mit Sonde ernährt nach einem identischen Protokoll an den Tagen 3, 4 und 5, mit einer äquivalenten Menge Rinderserumalbumin, um eine Isostickstoff-haltige Diät sicherzustellen.

[0058] Eine Gruppe von Kontrollratten und die GFE-2-behandelten Ratten (8 Ratten pro Gruppe) wurden subkutan mit 2,5 mg/kg Methotrexat zu Beginn der Tage 1, 2 und 3 entsprechend dem von Vanderhoof et al. (1990) beschriebenen Protokoll injiziert, wobei die vollständige Offenbarung von dieser hier durch Bezugnahme eingeführt wird. Eine zusätzliche Kontrollgruppe ("paarweise gefüttert"), erhielt Schein-Methotrexat-Injektionen und wurde paarweise mit der Methotrexatinjizierten Kontrollgruppe gefüttert.

[0059] Ratten wurden in Metabolismuskäfigen für 5 Tage gehalten, zu welcher Zeit sie zur Aufnahme des Gastrointestinaltrakts getötet wurden. Gewebeproben wurden von dem proximalen Dünndarm (Duodenum und Jejunum), als auch dem distalen Dünndarm (Ileum) gesammelt. Gewebeproben wurden in Methacam fixiert, eingebettet in Paraffin, sektioniert und mit Hämatoxylin-Eosin für histologische Analyse gefärbt, unter Verwendung von Verfahren, die in Read et al. (1992) beschrieben sind, wovon die gesamte Offenbarung hier durch Bezugnahme eingeführt wird (Read LC, Tomas FM, Howarth GS, Martin AA, Edson KJ, Gillespie CM, Owens PC, Ballard FJ 1992 In-

sulin-like growth factor-I and its N-terminal modified analogues induce marked gut growth in dexamethasone-treated rats. J Endocrinol. 133: 421–431).

[0060] Verglichen mit den paarweise gefütterten Kontrollen, zeigte die Methotrexatinjizierte Kontrollgruppe Verlust von Mukosakrypten in dem Jejunum und zu einem geringeren Ausmaß in dem Ileum. Dies wird gezeigt in **Fig.** 1(a) als die Fläche intakter Krypten pro Einheitsfläche gesamter Mukosa und zeigt, dass Methotrexat Verlust von Mukosakrypten (welche die teilenden Zellen des Epithels enthalten) bewirkt, was charakteristisch für Chemotherapieschädigung ist. Ebenfalls charakteristisch für Chemotherapieschädigung im Dünndarm bewirkte Methotrexat-Injektion Hemmung und Verlust von Intestinalvilli, die das funktionelle Kompartiment der Mukosa des Dünndarms sind. Dies wird in **Fig.** 1(b) gezeigt durch eine Verringerung der Oberflächenlänge der fingerähnlichen Villi pro Einheitslänge Intestinalumfang in Methotrexat-behandelten Kontrollen, im Vergleich mit der paarweise gefütterten Gruppe, die kein Methotrexat enthält.

[0061] Orale Verabreichung von GFE-2 für 5 Tage, beginnend zum Zeitpunkt der ersten Methotrexat-Injektion, verhinderte teilweise den Verlust von mukosalen Krypten bzw. Mukosakrypten und -villi in beiden Bereichen des Dünndarms (**Fig.** 1). Die Wirkungen von GFE-2 waren statistisch signifikant ($P < 0,05$ durch ANOVA) in dem Jejunum, wo Methotrexat-induzierte Schädigung schwerwiegender war, und in dem Ileum für die Villusoberflächenlänge. Das Beispiel zeigt, dass orale Verabreichung von GFE-2 teilweise Chemotherapieschädigung in dem Dünndarm verhindern oder die Reparatur beschleunigen kann.

Beispiel 2

Sucraseaktivität in der Mukosa von Ratten aus Beispiel 1

[0062] Aus dem gleichen Versuch, wie in Beispiel 1 beschrieben, wurden 4 cm Längen Dünndarm gefroren zur Messung der Aktivität von mukosaler Sucrase, einem Enzym, das auf der Oberfläche von Epithelzellen des Villus lokalisiert ist. Aufgrund dessen, dass Sucrase wesentlich zum Verdau von Diätsucrose ist, liefert die Sucraseaktivität pro Einheitslänge Intestinum bzw. Darm ein Maß der funktionellen Kapazität des Dünndarms (Read et al., 1992).

[0063] Fünf Tage orale Verabreichung von GFE-2 an Methotrexat-injizierte Ratten verbesserte wesentlich ($P < 0,05$) die Sucraseaktivität pro Einheitslänge Ileum, verglichen mit der Methotrexat-injizierten Kontrollgruppe oder der paarweise gefütterten Kontrollgruppe (**Fig.** 2).

[0064] Dieses Beispiel zeigt, dass GFE-2 die funktionelle Kapazität des Chemotherapiegeschädigten Dünndarms verbessert.

Beispiel 3

Orale Verabreichung von GFE-2 an Ratten für 5 bis 12 Tage verringert Bakterientranslokation über den Darm.

[0065] Die Fähigkeit des Darmepithels zum Bereitstellen einer Barriere gegen Bakterieninvasion liefert ein anderes Maß der Darmfunktion, welche durch Darmmukositis beeinträchtigt ist.

[0066] In Beispiel 3 wurden Sprague Dawley Ratten mit 140 g injiziert mit Methotrexat an drei aufeinanderfolgenden Tagen, wie in Beispiel 1 beschrieben. Methotrexatinjizierten Ratten wurde oral GFE-2 durch ein identisches Protokoll zu demjenigen, das in Beispiel 1 beschrieben ist, verabreicht. Eine Gruppe Ratten wurde am Tag 5 nach dem Start der Methotrexat-Injektionen getötet (wie in Beispiel 1), während in den anderen Gruppen GFE-2-Behandlung für insgesamt 8 oder 12 Tage (8 Ratten pro Gruppe) fortgesetzt wurde. Methotrexat-behandelte Kontrollratten und paarweise gefütterte Kontrollratten, identisch denjenigen in Beispiel 1, wurden an den Tagen 5, 8 und 12 getötet (8 Ratten pro Gruppe).

[0067] Ratten wurden in Metabolismuskäfigen wie in Beispiel 1 gehalten, bis zur Exsanguination an Tag 5, 8 oder 12. Die abdominale Haut wurde in 70%iges Ethanol eingetaucht, bevor das Intestinum unter aspetischen Bedingungen entfernt wurde. Alle sichtbaren mesenterischen Lymphknoten wurden in einem sterilen, vorher eingewogenen Behälter angeordnet. Die Proben wurden dann ausgewogen und Gehirn-Herz-Infusionslösung wurde bis zu einer Endkonzentration von 100 mg/ml zugegeben. Die Gewebe wurde homogenisiert in dieser Lösung mit sterilen Glas-verstärkten Mahlmitteln. Zur Messung der Translokation gram-negativer Bakterien in Mesenteriallymphknoten wurden 40 oder 60 mg von jedem Gewebehomogenat auf MacConkey Agar II oder Blutagarplatten angeordnet und aerob bei 35°C für 48 Stunden inkubiert. Enterische gram-negative Bakterienkolonien wurden identifiziert unter Verwendung von API 20E-Streifen, dann gezählt. Die Häufigkeit (Anteil von Tieren, die nachweisbare Bakterientranslokation zeigen) und die mittlere Anzahl von Bakterienkolonien pro Gramm Gewebe wurden für jede Behandlungsgruppe berechnet.

[0068] Paarweise gefütterte Kontrolltiere, die kein Methotrexat erhielten, zeigten keinen Hinweis auf Bakterientranslokation durch den Darm. Methotrexat-Injektion beeinträchtigte die Intestinalbarriere, sodass alle Ratten in der Methotrexatinjizierten Kontrollgruppe (**Fig.** 3: "Kein GFE-2") positive Bakterienkulturen aus mesenteren Lymphknoten am Tag 5 auf-

wiesen. Die Häufigkeit in dieser Gruppe verringerte sich über die nächsten 7 Tage, blieb jedoch bei 60% der Ratten am Tag 12 (**Fig.** 3a). Die Anzahl von Kolonien pro Gramm mesenterialer Lymphknoten bzw. Mesenteriallymphknoten war maximal am Tag 5 und verringerte sich dann hiernach parallel mit der Häufigkeit (**Fig.** 3b).

[0069] Orale Verabreichung von GFE-2 führte zu einer geringeren Translokationshäufigkeit an den Tagen 8 und 12, wobei der Unterschied zwischen GFE-2-behandelten und Methotrexat-injizierten Kontrollratten statistische Signifikanz durch den χ^2-Test ($P < 0,05$) am Tag 12 erreichte. Die Anzahl von Kolonien pro Gramm Mesenteriallymphknoten war ebenfalls signifikant geringer in der GFE-2-behandelten Gruppe, sowohl an Tag 5 als auch 8.

[0070] Das Beispiel zeigt, dass orale Verabreichung des Milchproduktextrakts teilweise den Chemotherapie-induzierten Verlust der Barrierefunktion in dem Darm verhindert. Es könnte erwartet werden, dass dies die Häufigkeit von Infektion und Sepsis nachfolgend auf Chemotherapie verringert.

Beispiel 4

Milchproduktextrakte schützen Intestinalzellen in Kultur gegen Schädigung durch das Chemotherapiemittel Methotrexat

[0071] Die Milchproduktextrakte, die in diesem Beispiel beurteilt werden, waren GFE-2, hergestellt wie beschrieben im australischen Patent 645,589, vorübergehend angesäuertes GFE-2, hergestellt wie in Beispiel 2 der internationalen Patentanmeldung PCT/AU95/00237, und die Permeatfraktion, erhalten durch kontrollierte Porenultrafiltration unter sauren Bedingungen von GFE-2, wie in Beispiel 5 der internationalen Patentanmeldung PCT/AU95/00237 beschrieben.

[0072] Intestinalepithelzellen (IEC-6) wurden auf den Kunststoffplatten mit 96 Vertiefungen in einer Dichte von $2,5 \times 10^4$ Zellen/ml in Dulbecco-Modified Eagle's Minimal Essential Medium (DMEM), enthaltend 10% fötales Rinderserum, plattiert. Die Platten wurden in einer befeuchteten Atmosphäre bei 37 °C in der Gegenwart von 5% CO_2 für 1 Tag inkubiert, wonach das Medium ersetzt wurde und die Inkubation für einen zweiten Tag fortgesetzt wurde.

[0073] Am dritten Tag wurde das Medium in jeder Vertiefung ersetzt durch 100 µl einer Methotrexatlösung (10^{-6} M in DMEM plus 10% fötales Rinderserum), plus 100 µl einer Milchproduktextraktlösung, enthaltend entweder GFE-2, vorübergehend angesäuertes GFE-2 oder Permeat-GFE-2 bei verschiedenen Verdünnungen in DMEM plus 10% fötales Rinderserum.

[0074] Die Zellen wurden in Kontakt mit diesen Lösungen für einen Tag belassen. Die Vertiefungen wurden dann zweimal mit DMEM gewaschen und für einen weiteren Tag in DMEM, enthaltend 10% fötales Rinderserum, inkubiert.

[0075] Nach Inkubation der Zellen in diesem frischen Medium für einen Tag wurden die Zellen gewaschen, fixiert und die Zellanzahlen unter Verwendung einer automatisierten Methylenblaumethode quantifiziert (MH Oliver et al., J. Cell Sci. 92, 513, 1989, wobei die gesamte Offenbarung hiervon durch Bezugnahme eingeführt wird). Wachstum wird ausgedrückt als der Prozentanteil Überleben von Zellen relativ zu Zellen, die nicht Methotrexat ausgesetzt sind. Die Ergebnisse sind in **Fig.** 4 dargestellt.

[0076] Der Versuch zeigt dosisabhängige Erhöhungen des Überlebens von Intestinalzellen mit allen drei Milchproduktextraktbeispielen.

Beispiel 5

Kontinuierliche topische Anwendung von GFE-2 auf die Hamsterbackentasche verringert die Schwere von 5-Fluoruracil (5-FU)-induzierter Chemotherapieinduzierter Mukositis

[0077] Dieser Versuch untersuchte die Wirkungen von topisch verabreichtem GFE-2 auf Chemotherapie-induzierte orale Mukositis in männlichen Syrischen Goldhamstern (Golden Syrian Hamsters). Der Versuch umfasste kontinuierliche Behandlung mit GFE-2 der Backentasche von 10 Hamstern, die mit 5-Fluoruracil behandelt sind.

[0078] Die Hamster wurden in zwei Gruppen mit fünf Tieren eingeteilt. Das anfängliche mittlere Körpergewicht in jeder Gruppe war ähnlich. Alle Hamster erhielten interaperitoneale Injektionen von 90 mg/kg 5-FU am Tag 1 und 60 mg/kg an Tag 3. Die Backentasche wurde an den Tagen 1, 2 und 3 mit sechs Abstrichen einer Drahtbürste in einer Richtung und sechs Abstrichen in der anderen senkrechten Richtung abgekratzt, um eine einheitliche Wunde zu erreichen.

[0079] Die Gruppen wurden mit entweder mit einem kommerziellen Mundwasser als Vehikel oder 0,3 ml GFE-2 mit 40 mg/ml Proteinkonzentration behandelt. Die Backentaschenflüssigkeitsbehandlungen wurden täglich für eine Minute angewendet, während welcher Zeit die Hamster unter Verwendung von Isofluran anästhetikum anästhesiert wurden.

[0080] Die Backentasche wurde an den Tagen 5, 7, 8, 11, 13 und 15 beurteilt. Die Beobachtung basierte auf einer visuellen Beurteilung der Backentasche (eingeteilt in eine Skala 1–10), unter Beachtung der Gesamtschwere der Läsion, des Ausmaßes der Blut-

ergussbildung, des Anschwellens und der Narbenbildung. Das Körpergewicht wurde als ein Prozentanteil des Werts am Tag 0 aufgezeichnet.

[0081] Tieren, denen eine topische Behandlung von GFE-2 gegeben wurde, zeigten verringerte Mukositis im Vergleich mit der Vehikel-behandelten Gruppe, gemessen als visuelle Gesamtbeurteilung (**Fig.** 5), Gesamtulcusbereich und Körpergewichtsverlust (**Fig.** 6). Jede dieser Wirkungen war statistisch signifikant durch paarweisen t-Test, wodurch GFE-2-Behandlung favorisiert wird.

[0082] Dieses Beispiel legt nahe, dass topische Verabreichung von GFE-2 die Schwere oraler Mukositis und damit verbundener Symptome, wie etwa Körpergewichtsverlust, reduzieren kann.

Patentansprüche

1. Verwendung eines Milchproduktextrakts bei der Herstellung eines Medikaments zum Verhindern einer Schädigung der Auskleidung des Verdauungskanals, die aus einer Chemotherapie und/oder Bestrahlung resultiert.

2. Verwendung eines Milchproduktextrakts bei der Herstellung eines Medikaments zum Verbessern und/oder Behandeln einer Schädigung der Auskleidung des Verdauungskanals, die aus einer Chemotherapie und/oder Bestrahlung resultiert.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, worin der Milchproduktextrakt ein Käsemolkeextrakt, ein Vormilchmolkeextrakt, ein Magermilchextrakt oder ein Sauermolkeextrakt ist.

4. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin der Milchproduktextrakt hergestellt wird durch Unterziehen eines Milchprodukts einer Kationenaustauschchromatographie.

5. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin der Milchproduktextrakt eine Milchproduktextraktzusammensetzung ist, umfassend ein Gemisch von Zellwachstumsfaktoren mit basischen bis etwa neutralen isoelektrischen Punkten, worin das Gemisch von Zellwachstumsfaktoren erhalten wird aus einem Milchprodukt eines Hufsäugetiers und worin das Milchprodukt einer Kationenaustauschmatrix unter Bedingungen ausgesetzt wird, wobei Casein, α-Lactalbumin und β-Lactoglobulin, die in dem Milchprodukt vorliegen, nicht an die Matrix absorbiert werden.

6. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin der Milchproduktextrakt Lactoperoxidase und/oder Lactoferrin umfasst.

7. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin der Milchproduktextrakt GFE oder GFE-2 ist.

8. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin der Milchproduktextrakt durch vorübergehende Ansäuerung zum Verstärken der Aktivität modifiziert wird.

9. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin der Milchproduktextrakt zur Erhöhung der Aktivität modifiziert ist durch die Zugabe eines oder mehrerer Wachstumsfaktoren, einschließlich IGF-I, IGF-II, TGFβ, EGF, Transformationswachstumsfaktor α (TGFα), Plättchenwachstumsfaktor (PDGF), Fibroblastenwachstumsfaktor (FGF) oder Keratinocytenwachstumsfaktor.

10. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Schädigung eine Schädigung der Auskleidung des Mundes und/oder Oesophagus umfasst.

11. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Schädigung Mukositis umfasst.

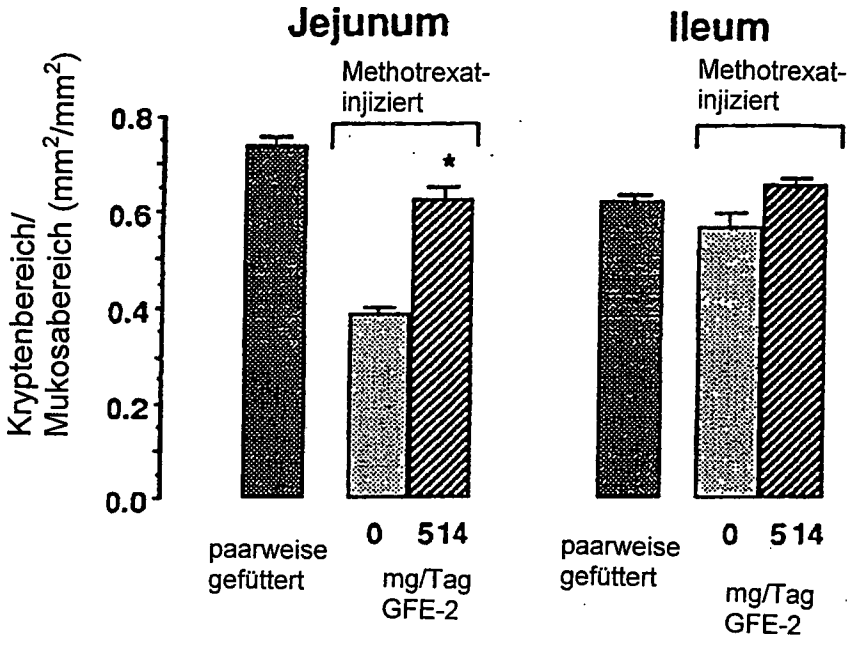
12. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Schädigung einen zumindest teilweisen Verlust des Mukosakryptabereichs und/oder der Mukosazottenlänge umfasst.

13. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Schädigung eine Erhöhung der Bakterientranslokation über den Verdauungskanal umfasst.

14. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Schädigung aus einer Chemotherapie resultiert, die die Verabreichung von Mechloretamin, Melphalan, Busulphan, Cytarabin, Floxuridin, 5-Fluoruracil, Mercaptopurin, Methotrexat, Thioguanin, Bleomycin, Actinomycin-D, Daunorubicin, Etoposid, Mitomycin, Vinblastin, Vincristin, Hydroxyharnstoff oder Procarbazin alleine oder in Kombination umfasst.

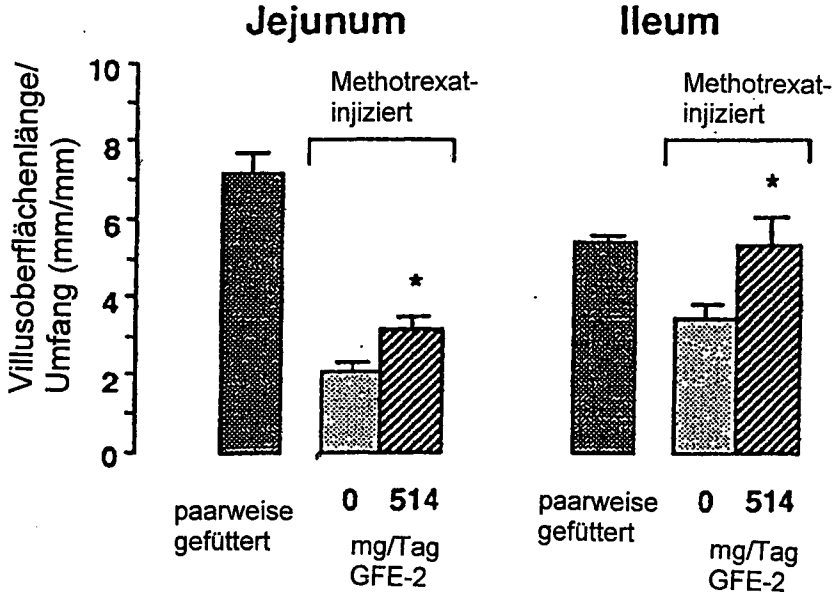
Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



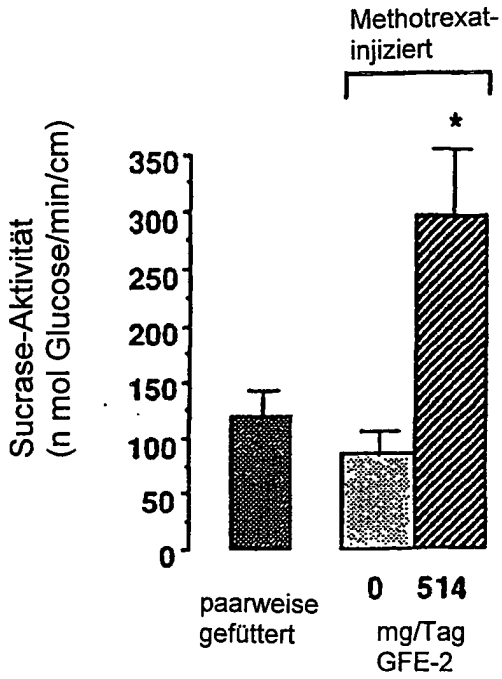
*:P<0,05 vs Methotrexat-behandelte Kontrollen (0 mg/Tag GFE-2)

Fig 1a



*:P<0,05 vs Methotrexat-behandelte Kontrollen (0 mg/Tag GFE-2)

Fig 1b



*:P<0,05 vs Methotrexat-behandelte Kontrollen (0 mg/Tag GFE-2)

Fig 2

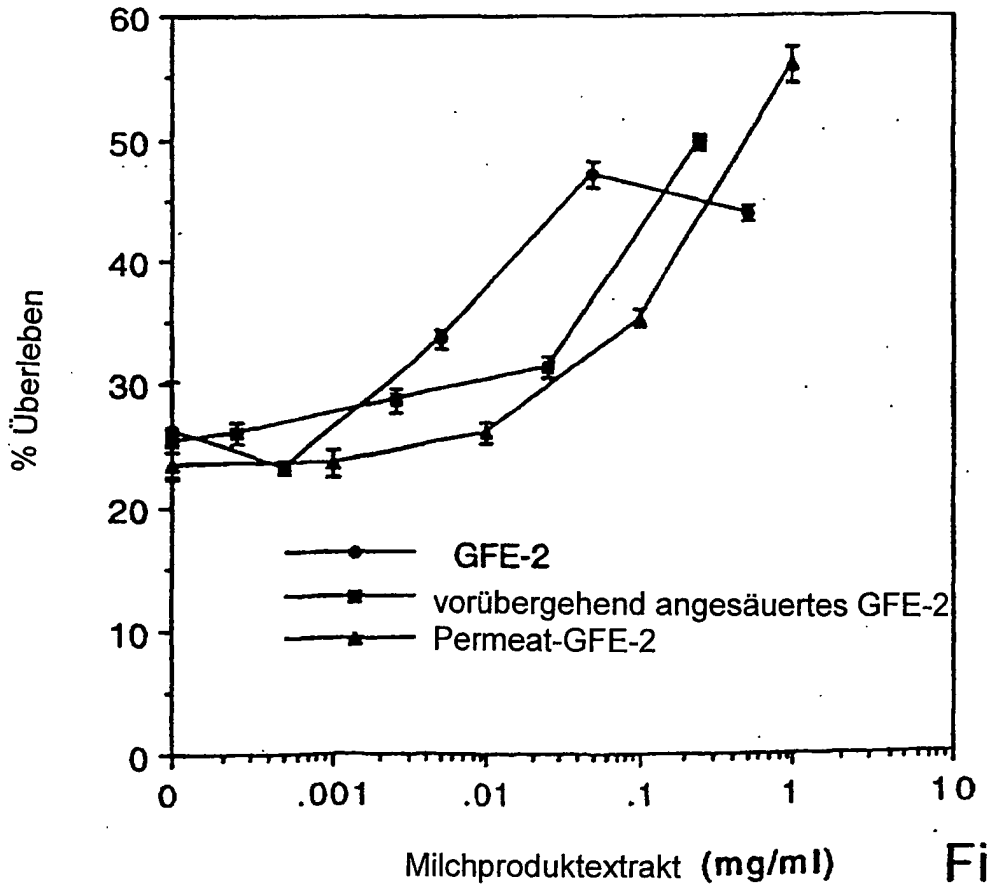
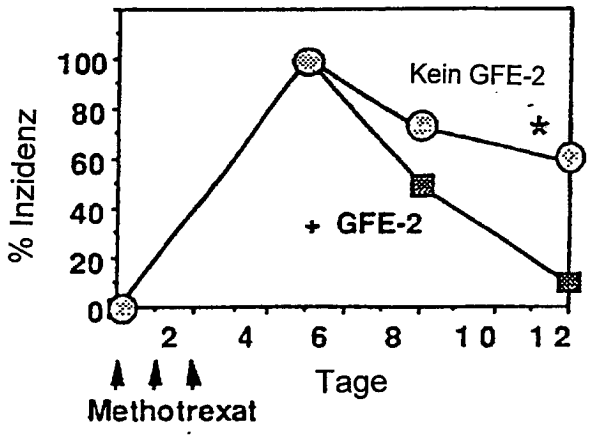
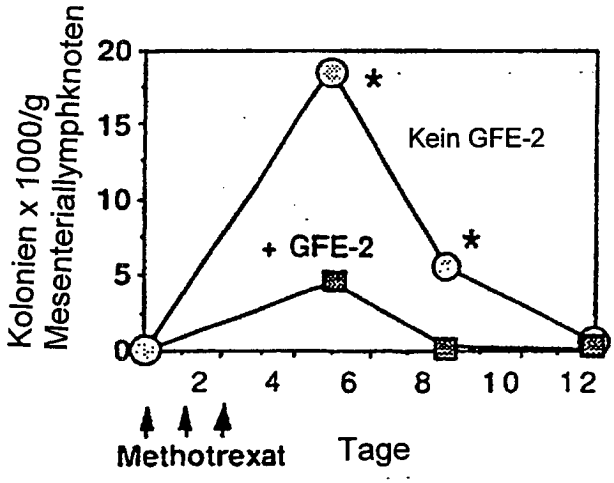


Fig 4



*P<0,05 vs
+GFE-2 Gruppe

Fig 3a



*P<0,05 vs
+GFE-2 Gruppe

Fig 3b

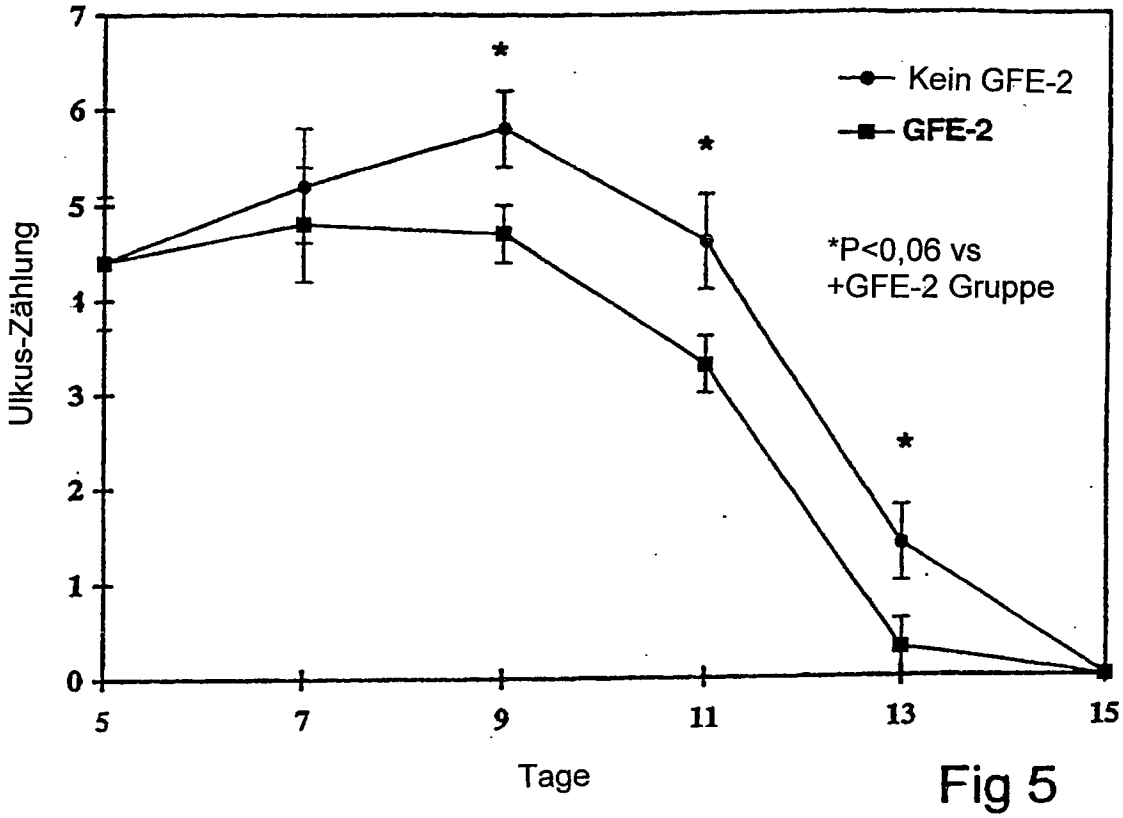

Ulkus-Zählung
Tage
Kein GFE-2
GFE-2
*P<0,06 vs
+GFE-2 Gruppe
0
1
2
3
4
5
6
7
5
7
9
11
13
15
*
*
*

Fig 5

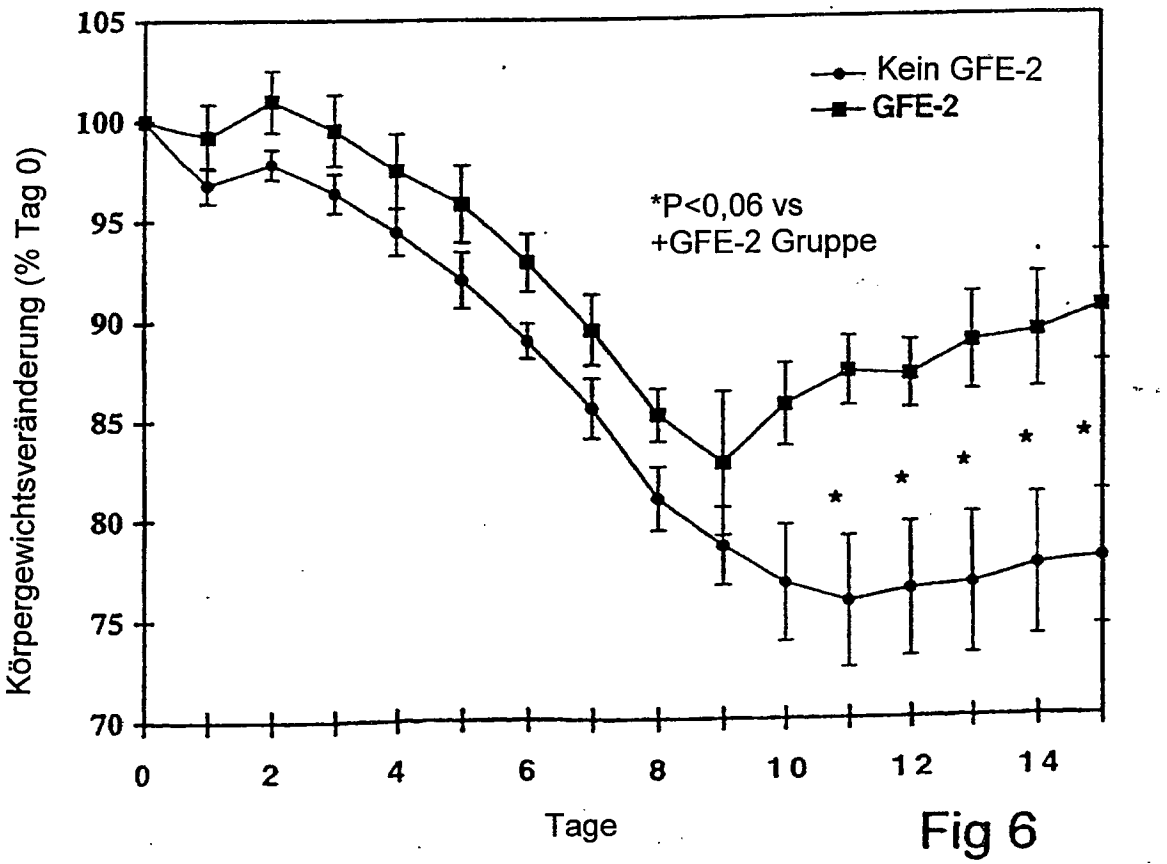

Körpergewichtsveränderung (% Tag 0)
Tage
Kein GFE-2
GFE-2
*P<0,06 vs
+GFE-2 Gruppe
70
75
80
85
90
95
100
105
0
2
4
6
8
10
12
14
*
*
*
*
*

Fig 6