

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
23. Juni 2005 (23.06.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/056005 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 31/401**,
31/506, A61P 35/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2004/002760

(22) Internationales Anmeldedatum:
13. Dezember 2004 (13.12.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
103 59 828.6 12. Dezember 2003 (12.12.2003) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: **SALAMA, Zoser, B.** [DE/DE]; Ansgarstr. 13,
13465 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **BRAUN, Dagmar**
[DE/DE]; An der Wiek 7, 17493 Greifswald-Insel Riems
(DE).

(74) Anwälte: **LANGE, Sven** usw.; Gulde Hengelhaupt Ziebig
& Schneider, Wallstr. 58/59, 10179 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,

AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL,
PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: CHP-GEMCITABIN COMBINED AGENT AND USE THEREOF AS ANTI-TUMOURAL ACTIVE SUBSTANCES

(54) Bezeichnung: CHP-GEMCITABIN-KOMBINATIONSMITTEL UND IHRE VERWENDUNG ALS ANTTUMORWIRKSTOFFE

(57) Abstract: The invention relates to combined agents, comprising cis-hydroxy-proline (CHP) and gemcitabin, in addition to the use of said agents in the prophylaxis of tumours and therapy.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Kombinationsmittel, umfassend cis-Hydroxy-Prolin (CHP) und Gemcitabin sowie die Verwendung dieser Mittel in der Tumorphylaxe und -therapie.



WO 2005/056005 A1

**CHP-GEMCITABIN-KOMBINATIONSMITTEL UND IHRE VERWENDUNG ALS
ANTITUMORWIRKSTOFFE**

5

Beschreibung

10

Die Erfindung betrifft Kombinationsmittel, umfassend cis-Hydroxy-Prolin (CHP) und Gemcitabin sowie die Verwendung dieser Mittel in der Tumorphylaxe und -therapie.

15

Tumoren bzw. Krebs sind örtlich umschriebene Zunahmen des Gewebevolumens und somit im weiteren Sinne jede lokalisierte Anschwellung durch Ödeme, akute oder chronische Entzündungen, wie zum Beispiel entzündlich bedingte Organ-
20 schwellungen. Im engeren Sinne sind Tumoren gewebliche Neubildungen in Form eines spontanen, verschiedengradig enthemmten, autonomen und irreversiblen Überschusswachstums von körpereigenem Gewebe, das in der Regel mit unterschiedlich ausgeprägtem Verlust spezifischer Zell- und Ge-
25 webefunktionen verbunden ist. Die Folgen dieses autonomen und irreversiblen Überschusswachstums führen zu einer erheblichen Beeinträchtigung des Organismus, beispielsweise des Menschen, und können zum Tode führen.

30

Aufgrund der drastischen Folgen einer Krebs- bzw. Tumorerkrankung wurden verschiedene Mittel zur Behandlung dieser pathogenen Veränderungen entwickelt. Der Nachteil zahlreicher dieser Mittel ist, dass sie nicht spezifisch wirken und eine Vielzahl von Nebenwirkungen aufweisen. Insbesondere die hohe Dosis einzelner Antikrebsmittel führt dazu,
35

dass zahlreiche Nebenwirkungen auftreten, die viele Patienten dazu bewegen, trotz der drastischen Folgen die Therapie frühzeitig abzubrechen.

5 Eine weitere Schwierigkeit beim Auffinden von antitumoralen Mitteln ist, dass verschiedene Derivate bzw. die Ursprungssubstanz und ihre Derivate zum einen im Tiermodell, aber auch im Menschen unterschiedlich reagieren und wirken. Es sind zum Beispiel verschiedene Ursprungssubstanzen bekannt,
10 die keine oder nur eine geringe antitumorale Wirkung haben, wohingegen ihre Derivate bzw. Abkömmlinge eine signifikante tumorinhibierende, aber auch eine tumorfördernde Wirkung haben können.

15 Cis-Hydroxy-Prolin hat beispielsweise nach Klohe et al. (1985) keine Eigenschaften, die für ein effektives antitumorales Mittel notwendig sind. Aufgrund anfänglicher positiver Versuche mit dieser und anderen Aminosäuren in den Jahren 1933 bis 1946 am National Cancer Institute wurden in
20 den Folgejahren Derivate von Prolin und Hydroxy-Prolin synthetisiert, um sie als Medikament in der Krebstherapie einzusetzen (EP 02 23 850). Weiterhin wurde wegen der geringen Wirkung von CHP (Klohe et al.) vorgeschlagen, eine Kombination aus verschiedenen CHP-Derivaten einzusetzen, da
25 diese einen synergistischen Effekt als pharmazeutisches Mittel bei der Tumorbehandlung zeigen sollen (US 6,066,665).

Die beschriebenen synergistischen Effekte der Kombinationspräparate erwiesen sich nur als bedingt reproduzierbar und
30 weiterhin konnten die entwickelten Derivate, nur in sehr hohen Konzentrationen - die von Nebenwirkungen begleitet sind - eingesetzt werden.

Aufgabe der Erfindung war es daher, ein Mittel und ein Verfahren für die Krebstherapie auf Basis von CHP bereitzustellen, welche eine einfache, sichere und effektive Anwendung erlauben.

5

Es wurde gefunden, dass eine Kombination aus CHP und Gemcitabin eine hohe Wirkung gegen Tumorzellen aufweist. Die Erfindung betrifft also die überraschende Lehre, dass eine Verbindung, nämlich underivatisiertes CHP, dessen antitumorale Eigenschaften im Stand der Technik als ungenügend beschrieben wurden, in Kombination mit dem Chemotherapeutikum Gemcitabin eine Wirkung auf Krebszellen hat, die überraschend höher als die der Einzelverbindungen ist.

10

15 CHP im Sinne der Erfindung sind cis-Isomere des 4-Hydroxy-L-Prolin oder dessen Salze, ohne dass es sich um CHP-Derivate handelt. Gemcitabin im Sinne der Erfindung ist insbesondere Gemcitabin-Hydrochlorid, 2'-Deoxy-2',2'-difluorocytidin. Das Kombinationsmittel im Sinne der Erfindung kann beispielsweise so beschaffen sein, dass in einer Lösung oder in einem Feststoff, wie zum Beispiel einer Tablette, CHP und Gemcitabin zusammen enthalten sind. Hierbei kann das Verhältnis von CHP und Gemcitabin frei variieren. Bevorzugt ist ein Verhältnis von CHP und Gemcitabin im Bereich von 1 : 10000 bis 10000 : 1. Innerhalb dieses Bereiches kann das Verhältnis von CHP und Gemcitabin je nach Tumor bzw. Patientenstatus variieren. Selbstverständlich können die mindestens zwei Bestandteile - CHP und Gemcitabin - auch so zusammen in eine Lösung oder einen Feststoff eingebracht werden, dass diese zeitversetzt freigegeben werden. Das Kombinationsmittel im Sinne der Erfindung kann jedoch auch aus zwei separaten Lösungen bzw. zwei separaten Feststoffen bestehen, wobei die eine Lösung bzw. der eine Feststoff im Wesentlichen Gemcitabin und die andere Lösung bzw. der andere Feststoff im Wesentlichen CHP

20

25

30

35

umfasst. Hierbei ist es möglich, dass die beiden Lösungen oder Feststoffe mit einem gemeinsamen oder mit getrennten Trägern assoziiert sind. Die beiden Lösungen und/oder die beiden Feststoffe können zum Beispiel in einer Kapsel als gemeinsamen Träger vorliegen. Eine solche Formulierung des 5 erfindungsgemäßen Kombinationsmittels ist insbesondere dann von Vorteil, wenn die CHP- und die Gemcitabin-Gabe zeitversetzt erfolgen sollen. Das heißt, zunächst wird der Organismus mit CHP in Kontakt gebracht, beispielsweise durch Infusion oder durch orale Gabe, um dann zeitversetzt mit dem anderen Bestandteil des Kombinationsmittels in Kontakt gebracht zu werden. Selbstverständlich ist es auch möglich, dass das Kombinationsmittel mit üblichen gale- 10 nischen Methoden und Verfahren so bereitgestellt wird, dass der Organismus zunächst mit Gemcitabin und danach mit CHP in Kontakt gebracht wird. Es ist also bevorzugt, den Organismus sequentiell mit den Bestandteilen des Kombinationsmittels in Kontakt zu bringen. Die Zeitspanne zwischen der Gabe der beiden Bestandteile des 15 erfindungsgemäßen Kombinationsmittels bzw. die Erstfreisetzung von CHP oder Gemcitabin richtet sich nach dem Alter, dem Geschlecht, der Gesamtkonstitution des Patienten, der Tumorart oder nach anderen Parametern, die durch den behandelnden Arzt zum Beispiel durch Vorversuche 20 bestimmt werden können.

Selbstverständlich ist es möglich, dass das erfindungsgemäße Mittel übliche Hilfsstoffe, bevorzugt Träger, Adjuvantien und/oder Vehikel umfasst. Bei den Trägern kann es sich beispielsweise um Füllmittel, Streckmittel, Binde- 30 mittel, Feuchthaltemittel, Sprengmittel, Lösungsverzögerer, Resorptionsbeschleuniger, Netzmittel, Adsorptionsmittel und/oder Gleitmittel handeln. In diesem Fall wird das Kombinationsmittel insbesondere als Arzneimittel oder pharmazeutisches Mittel bezeichnet. 35

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst das Mittel ein oder mehrere zusätzliche Mittel aus der Gruppe der antiviralen, fungiziden oder antibakteriellen Mittel und/oder Immunstimulatoren. Weiterhin kann das Mittel weitere Chemotherapeutika umfassen, bevorzugt Alitretinoin, Aldesleukin (IL-2), Altretamine, All-trans-retinoic acid (Tretinoin), Aminoglutethimide, Anagrelide, Anastrozole, Asparaginase (*E. coli*), Azathioprine, Bicalutamide, Bleomycin, Busulfan, Capecitabine, Carboplatin, Carmustine, Chlorambucil, Cisplatin, Cladribine (2-CDA), Cyclophosphamide, Cytarabine, Dacarbazine, Dactinomycin-D, Daunorubicin (Daunomycin), Daunorubicin, liposomal, Dexamethasone, Docetaxel, Doxorubicin, Doxorubicin, liposomal, Epirubicin, Estramustine Phosphate, Etoposide (VP-16-213), Exemestane, Floxuridine, 5-Fluorouracil, Fludarabine, Fluoxymesterone, Flutamide, Gemcitabine, Gemtuzmab, Goserelin Acetate, Hydroxyurea, Idarubicin, Ifosfamide, Imatmib Mesylate, Irinotecan, α -Interferon, Letrozole, Leuprolide Acetate, Levamisole HCl, Lomustine, Megestrol Acetate, Melphalan (L-phenylalanine mustard), 6-Mercaptopurine, Methotrexate, Methoxsalen (8-MOP), Mitomycin-C, Mitotane, Mitoxantrone, Nilutamide, Nitrogen Mustard (Mechlorethamine hydrochloride), Octreotide, Paclitaxel, Pegaspargase, Pentostatin (2'-deoxycoformycin), Plicamycin, Porfimer, Prednisone, Procarbazine, Rituximab, Streptozotocin, Tamoxifen, Teniposide (VM-26), 6-Thioguanine, Thalidomide, Thiotepa, Topotecan, Toremifene, Trastuzumab, Trimetrexate, Vinblastine, Vincristine und/oder Vinorelbine. Es kann auch bevorzugt sein, Gemcitabin durch eines oder mehrere der genannten Mittel teilweise oder vollständig zu ersetzen.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung des erfindungsgemäßen Mittels in der Diagnose, Prophylaxe, Verlaufskontrolle, Therapie und/oder Nachbehandlung von mit Zell-

wachstum, -differenzierung und/oder -teilung im Zusammenhang stehenden Krankheiten.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist
5 diese Krankheit ein Tumor, insbesondere ein neoplastischer Tumor, ein entzündlicher Tumor, ein Abszess, ein Erguss und/oder ein Ödem. Besonders bevorzugt ist es, dass der Tumor ein solider Tumor oder eine Leukämie ist.

10 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird das erfindungsgemäße Mittel als Gel, Puder, Pulver, Tablette, Retard-Tablette, Premix, Emulsion, Aufgussformulierung, Tropfen, Konzentrat, Granulat, Sirup, Pellet, Boli, Kapsel, Aerosol, Spray und/oder Inhalat zubereitet
15 und/oder in dieser Form angewendet. Die Tabletten, Dragees, Kapseln, Pillen und Granulate können mit den üblichen, gegebenenfalls Opakisierungsmitteln enthaltenden, Überzügen und Hüllen versehen sein und auch so zusammengesetzt sein, dass sie den oder die Wirkstoffe nur oder bevorzugt in
20 einem bestimmten Teil des Intestinaltraktes gegebenenfalls verzögert abgeben, wobei als Einbettungsmassen zum Beispiel Polymersubstanzen und Wachse verwendet werden können.

Die Arzneimittel dieser Erfindung können bevorzugt zur
25 oralen Verabreichung in einer beliebigen oral verträglichen Dosierungsform verwendet werden, die Kapseln, Tabletten und wässrige Suspensionen und Lösungen einschließt, aber nicht darauf beschränkt ist. Im Fall von Tabletten zur oralen Verwendung schließen Träger, die häufig verwendet werden,
30 Lactose und Maisstärke ein. Gleitmittel, wie Magnesiumstearat, werden auch typischerweise zugesetzt. Zur oralen Verabreichung in Kapselform schließen verwendbare Verdünnungsmittel Lactose und getrocknete Maisstärke ein. Wenn wässrige Suspensionen oral verabreicht werden, wird der
35 Wirkstoff mit Emulgier- und Suspendiermitteln kombiniert.

Falls gewünscht, können bestimmte Süßmittel und/oder Geschmacksstoffe und/oder Farbmittel zugesetzt werden.

Der oder die Wirkstoffe können gegebenenfalls mit einem
5 oder mehreren der oben angegebenen Trägerstoffe auch in mikroverkapselter Form vorliegen.

Suppositorien können neben dem oder den Wirkstoffen die
üblichen wasserlöslichen oder wasserunlöslichen Träger-
10 stoffe enthalten, zum Beispiel Polyethylenglycole, Fette, zum Beispiel Kakaofett und höhere Ester (zum Beispiel C₁₄-Alkohol mit C₁₆-Fettsäure) oder Gemische dieser Stoffe).

Salben, Pasten, Cremes und Gele können neben dem oder den
15 Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe enthalten, zum Beispiel tierische und pflanzliche Fette, Wachse, Paraffine, Stärke, Tragant, Cellulosederivate, Polyethylenglycole, Silikone, Bentonite, Kieselsäure, Talkum und Zinkoxid oder Gemische dieser Stoffe.

20 Puder und Sprays können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe enthalten, zum Beispiel Milchzucker, Talkum, Kieselsäure, Aluminiumhydroxid, Calciumsilikat und Polyamidpulver oder Gemische dieser Stoffe. Sprays können
25 zusätzlich die üblichen Treibmittel, zum Beispiel Chlorfluorkohlenwasserstoffe, enthalten.

Lösungen und Emulsionen können neben den Wirkstoffen CHP und Gemcitabin die üblichen Trägerstoffe wie Lösungsmittel,
30 Lösungsvermittler und Emulgatoren, zum Beispiel Wasser, Ethylalkohol, Isopropylalkohol, Ethylcarbonat, Ethylacetat, Benzylalkohol, Benzylbenzoat, Propylenglykol, 1,3-Butylenglykol, Dimethylformamid, Öle, insbesondere Baumwollsaatöl, Erdnussöl, Maiskeimöl, Olivenöl, Ricinusöl und Sesamöl,
35 Glycerin, Glycerinformal, Tetrahydrofurfurylalkohol, Poly-

ethylenglycole und Fettsäureester des Sorbitans oder Gemische dieser Stoffe enthalten. Zur parenteralen Applikation können die Lösungen und Emulsionen auch in steriler und blutisotonischer Form vorliegen.

5

Suspensionen können neben den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe wie flüssige Verdünnungsmittel, zum Beispiel Wasser, Ethylalkohol, Propylenglykol, Suspendiermittel, zum Beispiel ethoxilierte Isostearylalkohole, Polyoxyethylen-
10 sorbit- und Sorbitan-Ester, mikrokristalline Cellulose, Aluminiummetahydroxid, Bentonit, Agar-Agar und Tragant oder Gemische dieser Stoffe enthalten.

Die Arzneimittel können in Form einer sterilen injizierbaren Zubereitung, zum Beispiel als sterile injizierbare wässrige oder ölige Suspension, vorliegen. Diese Suspension kann auch mit im Fachgebiet bekannten Verfahren unter Verwendung geeigneter Dispergier- oder Netzmittel (wie zum Beispiel Tween 80) und Suspendiermittel formuliert werden.
15 Die sterile injizierbare Zubereitung kann auch eine sterile injizierbare Lösung oder Suspension in einem ungiftigen parenteral verträglichen Verdünnungs- oder Lösungsmittel, zum Beispiel als Lösung in 1,3-Butandiol, sein. Zu den verträglichen Vehikeln und Lösungsmitteln, die verwendet
20 werden können, gehören Mannit, Wasser, Ringer-Lösung und isotonische Natriumchloridlösung. Außerdem werden üblicherweise sterile, nichtflüchtige Öle als Lösungsmittel oder Suspendiermedium verwendet. Zu diesem Zweck kann ein beliebiges mildes nichtflüchtiges Öl einschließlich syntheti-
25 scher Mono- oder Diglyceride verwendet werden. Fettsäuren, wie Ölsäure und ihre Glyceridderivate sind bei der Herstellung von Injektionsmitteln verwendbar, wie es natürliche pharmazeutisch verträgliche Öle, wie Olivenöl oder Rizinusöl, insbesondere in ihren polyoxyethylierten Formen
30 sind. Diese Öllösungen oder Suspensionen können auch einen
35

langkettigen Alkohol oder einen ähnlichen Alkohol enthalten als Verdünnungs- oder Dispergiermittel.

Die genannten Formulierungsformen können auch Färbemittel,
5 Konservierungsstoffe sowie geruchs- und geschmacksverbesserte Zusätze, zum Beispiel Pfefferminzöl und Eukalyptusöl und Süßmittel, zum Beispiel Saccharin, enthalten. Die Wirkstoffe CHP und/oder Gemcitabin sollen in den aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen vorzugsweise in einer Kon-
10 zentration von etwa 0,1 bis 99,5, vorzugsweise von etwa 0,5 bis 95 Gew.-% der Gesamtmischung vorhanden sein.

Die aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen können außer CHP und Gemcitabin weitere pharmazeutische Wirkstoffe
15 enthalten. Die Herstellung der oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen erfolgt in üblicher Weise nach bekannten Methoden, zum Beispiel durch Mischen des oder der Wirkstoffe mit dem oder den Trägerstoffen.

20 Die genannten Zubereitungen können bei Mensch und Tier entweder oral, rektal, parenteral (intravenös, intramuskulär, subkutan), intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, lokal (Puder, Salbe, Tropfen) und zur Therapie von Tumoren angewendet werden. Als geeignete Zubereitung kommen Injektionslösungen, Lösungen und Suspensionen für die orale
25 Therapie, Gele, Aufgussformulierungen, Emulsionen, Salben oder Tropfen in Frage. Zur lokalen Therapie können ophtalmologische und dermatologische Formulierungen, Silber- und andere Salze, Ohrentropfen, Augensalben, Puder oder Lösungen verwendet werden. Bei Tieren kann die Aufnahme auch
30 über das Futter oder Trinkwasser in geeigneten Formulierungen erfolgen. Ferner können die Arzneimittel oder die Kombinationsmittel in andere Trägermaterialien wie zum Beispiel Kunststoffe, (Kunststoffketten zur lokalen Therapie),
35 Kollagen oder Knochenzement eingearbeitet werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind CHP und/oder Gemcitabin in einer Konzentration von 0,1 bis 99,5, bevorzugt von 0,5 bis 95, besonders bevorzugt von 5 20 bis 80 Gew.-% in einer pharmazeutischen Zubereitung eingebracht. Das heißt, CHP und/oder Gemcitabin sind in den oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen, zum Beispiel Tabletten, Pillen, Granulaten und anderen, vorzugsweise in einer Konzentration von 0,1 bis 99,5 Gew.-% der 10 Gesamtmischung in einem bestimmten Verhältnis vorhanden. Die Wirkstoffmenge, das heißt die Menge einer erfindungsgemäßen Verbindung, die mit den Trägermaterialien kombiniert wird, um eine einzige Dosierungsform zu erzeugen, wird von dem Fachmann in Abhängigkeit von dem zu behandelnden Patienten und der besonderen Verabreichungsart variieren können. Nach Besserung des Zustandes des Patienten 15 kann der Anteil der wirksamen Verbindung in der Zubereitung so geändert werden, dass eine Erhaltungsdosis vorliegt, die ein weiteres Wachstum des Tumors inhibiert oder verhindert bzw. die Metastasierung und Infiltration unterdrückt. Anschließend kann die Dosis oder Frequenz der Verabreichung oder beides als Funktion der Symptome auf eine Höhe verringert werden, bei der der verbesserte Zustand beibehalten wird. Wenn die Symptome auf das gewünschte Niveau gelindert 25 worden sind, sollte die Behandlung aufhören. Patienten können jedoch eine Behandlung mit Unterbrechung auf Langzeitbasis nach beliebigem Wiederauftreten von Erkrankungssymptomen benötigen. Demgemäß ist der Anteil der Verbindungen, das heißt ihre Konzentration, in der Gesamtmischung der pharmazeutischen Zubereitung ebenso wie ihre Zusammensetzung oder Kombination variabel und kann vom Fachmann 30 aufgrund seines Fachwissens modifiziert und angepasst werden.

Dem Fachmann ist bekannt, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen mit einem Organismus, bevorzugt einem Menschen oder einem Tier, auf verschiedenen Wegen in Kontakt gebracht werden können. Weiterhin ist dem Fachmann bekannt, dass insbesondere die pharmazeutischen Mittel in verschiedenen Dosierungen appliziert werden können. Die Applikation sollte hierbei so erfolgen, dass die Erkrankung möglichst effektiv bekämpft wird bzw. der Ausbruch einer solchen Krankheit in einer prophylaktischen Gabe verhindert wird.

Die Konzentration und die Art der Applikation können vom Fachmann durch Routineversuche eruiert werden. Bevorzugte Applikationen der erfindungsgemäßen Verbindungen sind die orale Applikation in Form von Pulver, Tabletten, Saft, Tropfen, Kapseln oder ähnlichem, die rektale Applikation in Form von Zäpfchen, Lösungen und ähnlichem, parenteral in Form von Injektionen, Infusionen und Lösungen sowie lokal in Form von Salben, Pflastern, Umschlägen, Spülungen und ähnlichem. Bevorzugt erfolgt das In-Kontakt-Bringen der erfindungsgemäßen Verbindungen prophylaktisch oder therapeutisch.

Die Eignung der gewählten Applikationsformen wie auch der Dosis, des Applikationsschemas, der Adjuvantwahl und dergleichen kann beispielsweise durch Entnahme von Serum-Alliquoten aus dem Patienten, das heißt dem Mensch oder dem Tier, und dem Testen auf das Vorhandensein von Krebszellen im Verlauf des Behandlungsprotokolls bestimmt werden. Alternativ und begleitend hierzu kann der Zustand der Leber, aber auch die Menge von T-Zellen oder anderen Zellen des Immunsystems, auf herkömmliche Weise begleitend bestimmt werden, um einen Gesamtüberblick über die immunologische Konstitution des Patienten und insbesondere die Konstitution von stoffwechselwichtigen Organen, zu erhalten. Zusätzlich kann der klinische Zustand des Patienten auf die gewünschte Wirkung hin beobachtet werden. Wenn eine

unzureichende antitumorale Effektivität erzielt wird, kann der Patient mit erfindungsgemäßen Mitteln und anderen bekannten Medikamenten modifiziert und weiterbehandelt werden, von denen eine Verbesserung der Gesamtkonstitution
5 erwartet werden kann. Selbstverständlich ist es auch möglich, die Träger oder Vehikeln des pharmazeutischen Mittels zu modifizieren oder den Verabreichungsweg zu variieren. Neben der oralen Aufnahme kann es dann zum Beispiel vorgesehen sein, dass Injektionen beispielsweise intramuskulär
10 oder subkutan oder in die Blutgefäße ein weiterer bevorzugter Weg für die therapeutische Verabreichung der erfindungsgemäßen Verbindungen sind. Zeitgleich kann auch die Zufuhr über Katheter oder chirurgische Schläuche angewendet werden.

15 Neben den bereits ausgeführten Konzentrationen bei der Anwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen, können in einer bevorzugten Ausführungsform CHP und/oder Gemcitabin weiterhin in einer Gesamtmenge von bevorzugt 0,05 bis 500 mg/kg
20 Körpergewicht je 24 Stunden eingesetzt werden, bevorzugt von 5 bis 100 mg/kg Körpergewicht. Hierbei handelt es sich vorteilhafterweise um eine therapeutische Menge, die verwendet wird, um die Symptome einer Störung oder responsiven, pathologisch physiologischen Kondition zu verhindern
25 oder zu verbessern.

Selbstverständlich wird die Dosis vom Alter, der Gesundheit und dem Gewicht des Empfängers, dem Grad der Krankheit, der Art einer notwendigen gleichzeitigen Behandlung, der
30 Häufigkeit der Behandlung und der Art der gewünschten Wirkungen und der Nebenwirkungen abhängen. Die tägliche Dosis von 0,05 bis 500 mg/kg Körpergewicht kann einmalig oder mehrfach angewendet werden, um die gewünschten Ergebnisse zu erhalten. Typischerweise werden insbesondere pharmazeu-
35 tischen Mittel zur etwa 1- bis 10-maligen Verabreichung pro

Tag oder alternativ oder zusätzlich als kontinuierliche In-
fusion verwendet. Solche Verabreichungen können als
chronische oder akute Therapie angewendet werden. Die
Wirkstoffmengen, die mit den Trägermaterialien kombiniert
5 werden, um eine einzelne Dosierungsform zu erzeugen, können
in Abhängigkeit von dem zu behandelnden Wirt und der
besonderen Verabreichungsart selbstverständlich variieren.
Bevorzugt ist es, die Targetsdosis auf 2 bis 5 Appli-
kationen zu verteilen, wobei bei jeder Applikation 1 bis 2
10 Tabletten mit einem Wirkstoffgehalt von 0,05 bis 500 mg/kg
Körpergewicht verabreicht werden. Selbstverständlich ist es
möglich, den Wirkstoffgehalt auch höher zu wählen, bei-
spielsweise bis zu einer Konzentration bis 5000 mg/kg.
Beispielsweise können Tabletten auch retardiert sein, wo-
15 durch sich die Anzahl der Applikationen pro Tag auf 1 bis 3
vermindert. Der Wirkstoffgehalt der retardierten Tabletten
kann 3 bis 3000 mg betragen. Wenn der Wirkstoff - wie aus-
geführt - durch eine Injektion verabreicht wird, ist es
bevorzugt, 1- bis 10-mal pro Tag bzw. durch Dauerinfusion
20 den Wirt mit den erfindungsgemäßen Verbindungen in Kontakt
zu bringen, wobei Mengen von 4 bis 4000 mg pro Tag
bevorzugt sind. Die bevorzugten Gesamtmengen pro Tag haben
sich in der Humanmedizin und in der Veterinärmedizin als
vorteilhaft erwiesen. Es kann erforderlich sein, von den
25 genannten Dosierungen abzuweichen und zwar in Abhängigkeit
von der Art und dem Körpergewicht des zu behandelnden
Wirts, der Art und der Schwere der Erkrankung, der Art der
Zubereitung der Applikation des Arzneimittels sowie dem
Zeitraum bzw. dem Intervall, innerhalb welchem die Verab-
30 reichung erfolgt. So kann es in einigen Fällen bevorzugt
sein, den Organismus mit weniger als den genannten Mengen
in Kontakt zu bringen, während in anderen Fällen die an-
gegebene Wirkstoffmenge überschritten werden muss. Die
Festlegung der jeweils erforderlichen optimalen Dosierungen

und der Applikationsart der Wirkstoffe kann durch den Fachmann aufgrund seines Fachwissens leicht erfolgen.

In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird das pharmazeutische Mittel in einer Einzelgabe von 1 bis 100, insbesondere von 2 bis 50 mg/kg Körpergewicht eingesetzt. Wie auch die Gesamtmenge pro Tag kann auch die Menge der Einzelgabe pro Applikation von dem Fachmann aufgrund seines Fachwissens variiert werden. Die erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen können in den genannten Einzelkonzentrationen und Zubereitungen zusammen mit dem Futter bzw. mit Futterzubereitungen oder mit dem Trinkwasser auch in der Veterinärmedizin gegeben werden. Eine Einzeldosis enthält vorzugsweise die Menge Wirkstoff, die bei einer Applikation verabreicht wird, und die gewöhnlich einer ganzen, einer halben Tagesdosis oder einem Drittel oder einem Viertel einer Tagesdosis entspricht. Die Dosierungseinheiten können demgemäß bevorzugt 1, 2, 3 oder 4 oder mehrere Einzeldosen oder 0,5, 0,3 oder 0,25 einer Einzeldosis enthalten. Bevorzugt wird die Tagesdosis der erfindungsgemäßen Verbindungen auf 2 bis 10 Applikationen verteilt, bevorzugt auf 2 bis 7, besonders bevorzugt auf 3 bis 5 Applikationen. Selbstverständlich ist auch eine Dauerinfusion der erfindungsgemäßen Mittel möglich.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden bei jeder oralen Applikation der erfindungsgemäßen Verbindungen 1 bis 2 Tabletten gegeben. Die erfindungsgemäßen Tabletten können mit dem Fachmann bekannten Überzügen und Hüllen versehen sein und auch so zusammengesetzt werden, dass sie den oder die Wirkstoffe nur bei bevorzugten, in einem bestimmten Teil des Wirts freigegeben.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Krebserkrankung oder der Tumor, die/der behandelt, prophylaktisch ver-

hindert oder dessen Wiederauftreten verhindert wird, ausgewählt aus der Gruppe von Krebserkrankungen oder Tumorerkrankungen des Hals-Nasen-Ohren-Bereichs, der Lunge, des Mediastinums, des Gastrointestinaltraktes, des Urogenitalsystems, des gynäkologischen Systems, der Brust, des endokrinen Systems, der Haut, Knochen- und Weichteilsarkomen, Mesotheliomen, Melanomen, Neoplasmen des zentralen Nervensystems, Krebserkrankungen oder Tumorerkrankungen im Kindesalter, Lymphomen, Leukämien, paraneoplastischen Syndromen, Metastasen ohne bekannten Primärtumor (CUP-Syndrom), peritonealen Karzinomastosen, Immunsuppression-bezogenen Malignitäten und/oder Tumor-Metastasen.

Insbesondere kann es sich bei den Tumoren um folgende Krebsarten handeln: Adenokarzinom der Brust, der Prostata und des Dickdarms; alle Formen von Lungenkrebs, der von den Bronchien ausgeht; Knochenmarkkrebs, das Melanom, das Hepatom, das Neuroblastom; das Papillom; das Apudom, das Choristom, das Branchiom; das maligne Karzinoid-Syndrom; die Karzinoid-Herzerkrankung; das Karzinom (zum Beispiel Walker-Karzinom, Basalzellen-Karzinom, basosquamöses Karzinom, Brown-Pearce-Karzinom, duktales Karzinom, Ehrlich-Tumor, in situ-Karzinom, Krebs-2-Karzinom, Merkel-Zellen-Karzinom, Schleimkrebs, nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom, Haferzellen-Karzinom, papilläres Karzinom, szirrhöses Karzinom, bronchiolo-alveoläres Karzinom, Bronchiai-Karzinom, Plattenepithelkarzinom und Transitionalzell-Karzinom); histiocytische Funktionsstörung; Leukämie (zum Beispiel in Zusammenhang mit B-Zellen-Leukämie, Gemischt-Zellen-Leukämie, Nullzellen-Leukämie, T-Zellen-Leukämie, chronische T-Zellen-Leukämie, HTLV-II-assoziierte Leukämie, akut lymphozytische Leukämie, chronisch-lymphozythische Leukämie, Mastzell-Leukämie und myeloische Leukämie); maligne Histiocytose, Hodgkin-Krankheit, non-Hodgkin-Lymphom, solitärer Plasmazelltumor; Reticulo-

endotheliose, Chondroblastom; Chondrom, Chondrosarkom;
Fibrom; Fibrosarkom; Riesenzell-Tumore; Histiocytom; Lipom;
Liposarkom; Leukosarkom; Mesothelium; Myxom; Myxosarkom;
Osteom; Osteosarkom; Ewing-Sarkom; Synoviom; Adenofibrom;
5 Adenolymphom; Karzinosarkom, Chordom, Craniopharyngiom,
Dysgerminom, Hamartom; Mesenchymom; Mesonephrom, Myosarkom,
Ameloblastom, Cementom; Odontom; Teratom; Thymom,
Chorioblastom; Adenokarzinom, Adenom; Cholangiom;
Cholesteatom; Cylindrom; Cystadenocarcinom, Cystadenom;
10 Granulosazelltumor; Gynadroblastom; Hidradenom; Insel-
zelltumor; Leydig-Zelltumor; Papillom; Sertoli-Zell-Tumor,
Thekazelltumor, Leiomyom; Leiomyosarkom; Myoblastom; Myom;
Myosarkom; Rhabdomyom; Rhabdomyosarkom; Ependynom;
Ganglioneurom, Gliom; Medulloblastom, Meningiom;
15 Neurilemmom; Neuroblastom; Neuroepithelium, Neurofibrom,
Neurom, Paraganglium, nicht-chromaffines Paraganglium,
Angiokeratom, angiolymphoide Hyperplasie mit Eosinophilie;
sclerosierendes Angiom; Angiomatose; Glomangiom; Hemangio-
endothelium; Hemangiom; Hemangiopericytom, Hemangiosarkom;
20 Lymphangiom, Lymphangiomyom, Lymphangiosarkom; Pinealom;
Cystosarkom phyllodes; Hemangiosarkom; Lymphangiosarkom;
Myxosarkom, Ovarialkarzinom; Sarkom (zum Beispiel
Ewing-Sarkom, experimentell, Kaposi-Sarkom und
Mastzell-Sarkom); Neoplasmen (zum Beispiel Knochen-Neo-
25 plasmen, Brust-Neoplasmen, Neoplasmen des Verdauungs-
systems, colorektale Neoplasmen, Leber-Neoplasmen,
Pankreas-Neoplasmen, Hirnanhang-Neoplasmen, Hoden-Neo-
plasmen, Orbita-Neoplasmen, Neoplasmen des Kopfes und
Halses, des Zentralnervensystems, Neoplasmen des Hörorgans,
30 des Beckens, des Atmungstrakts und des Urogenitaltrakts);
Neurofibromatose und zervikale Plattenepitheldysplasie.

In einer weiter bevorzugten Ausführungsform ist die Krebs-
erkrankung oder der Tumor, die/der behandelt, prophy-
35 laktisch verhindert oder dessen Wiederauftreten verhindert

wird, ausgewählt aus der Gruppe von Krebserkrankungen oder Tumorerkrankungen, die Zellen umfassen, die das MUC1 in der erfindungsgemäßen Definition umfassen, ausgewählt aus der Gruppe: Tumoren des Hals-Nasen-Ohren-Bereichs umfassend
5 Tumoren der inneren Nase, der Nasennebenhöhlen, des Nasopharynx, der Lippen, der Mundhöhle, des Oropharynx, des Larynx, des Hypopharynx, des Ohres, der Speicheldrüsen und Paragangliome, Tumoren der Lunge umfassend nicht-kleinzellige Bronchialkarzinome, kleinzellige Bronchialkarzinome, Tumoren des Mediastinums, Tumoren des Gastrointestinaltraktes umfassend Tumoren des Ösophagus, des Magens, des Pankreas, der Leber, der Gallenblase und der Gallenwege, des Dünndarms, Kolon- und Rektumkarzinome und Analkarzinome, Urogenitaltumoren umfassend Tumoren der
10 Nieren, der Harnleiter, der Blase, der Prostata, der Harnröhre, des Penis und der Hoden, gynäkologische Tumoren umfassend Tumoren des Zervix, der Vagina, der Vulva, Korpuskarzinom, maligne Trophoblastenerkrankung, Ovarialkarzinom, Tumoren des Eileiters (Tuba Faloppii), Tumoren der Bauchhöhle, Mammakarzinome, Tumoren endokriner Organe umfassend Tumoren der Schilddrüse, der Nebenschilddrüse, der Nebennierenrinde, endokrine Pankreastumoren, Karzinoidtumoren und Karzinoidsyndrom, multiple endokrine Neoplasien, Knochen- und Weichteilsarkome, Mesotheliome, Hauttumoren, Melanome umfassend kutane und intraokulare
20 Melanome, Tumoren des zentralen Nervensystems, Tumoren im Kindesalter umfassend Retinoblastom, Wilms Tumor, Neurofibromatose, Neuroblastom, Ewing-Sarkom Tumorfamilie, Rhabdomyosarkom, Lymphome umfassend Non-Hodgkin-Lymphome, kutane T-Zell-Lymphome, primäre Lymphome des zentralen Nervensystems, Morbus Hodgkin, Leukämien umfassend akute Leukämien, chronische myeloische und lymphatische Leukämien, Plasmazell-Neoplasmen, myelodysplastische Syndrome, paraneoplastische Syndrome, Metastasen ohne bekannten Primärtumor (CUP-Syndrom), peritoneale Karzinomastose,
35

Immunsuppression-bezogene Malignität umfassend AIDS-bezogene Malignitäten wie Kaposi-Sarkom, AIDS-assoziierte Lymphome, AIDS-assoziierte Lymphome des zentralen Nervensystems, AIDS-assoziiierter Morbus Hodgkin und AIDS-assoziiierter anogenitale Tumoren, Transplantations-bezogene Malignitäten, metastasierte Tumoren umfassend Gehirnm
5 metastasen, Lungenmetastasen, Lebermetastasen, Knochenmetastasen, pleurale und perikardiale Metastasen und maligne Aszites.

10

In einer weiter bevorzugten Ausführungsform ist die Krebserkrankung oder der Tumor, die/der behandelt, prophylaktisch verhindert oder dessen Wiederauftreten verhindert wird, ausgewählt aus der Gruppe umfassend Krebserkrankungen
15 oder Tumorerkrankungen der Mammakarzinome, der Gastrointestinaltumore, einschließlich Kolonkarzinome, Magenkarzinome, Dickdarmkrebs und Dünndarmkrebs, der Pankreaskarzinome, der Ovarialkarzinome, Leberkarzinome, Lungenkrebs, Nierenzellkarzinome und Multiple Myelome.

20

Im Folgenden soll die Erfindung anhand eines Beispiels näher erläutert werden, ohne auf dieses Beispiel beschränkt zu sein.

25 **Material und Methoden:**

Sofern nichts anderes ausgeführt wurde, wurden Zelllinien von der American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD) verwendet und bis zur Konfluenz in einem Monolayer in
30 einem RPMI-1640 Bikarbonatmedium (Seromed, Berlin, Deutschland) in einem Inkubator (5 % H₂O, 37 °C) kultiviert. Die Zellen wurden nach Mycoplasmenkontaminationen untersucht. Das Medium wies 10 % Hitze-inaktiviertes fötales Kälberserum (Seromed) und 4 mM Glutamin auf. Die Zellen werden
35 nach den üblichen Verfahren kultiviert und passagiert

(0,03 % Trypsin enthaltend 0,02 % EDTA, 3-mal die Woche). Die Zellzahl wird mit einem TOA Sysmex Mikrozellzähler (TOA, Tokyo, Japan) bestimmt.

5 Chemikalien und Lösungen:

Sofern nichts anderes ausgeführt ist, stammen die Chemikalien von Sigma (St. Louis, MO). Die Komponenten zur Testung werden wie geliefert verwendet. CHP wird als
10 5 mg/ml Stock Solution in PBS (phosphatgepufferte Saline, Dulbecco) verwendet und in Aliquots bei -20 °C gefroren. Hiermit zusammenhängende Komponenten werden als 2 mg/ml Stock Solution verwendet und werden bei -20 °C eingefroren.

15 Zellzyklusanalyse und Chemosensitivitätsassay:

Die Zellen werden mittels Trypsinierung gewonnen, in PBS gewaschen, in 70%-igem Ethanol bei -20 °C für 20 min. fixiert. Anschließend werden die Zellen wieder in PBS ge-
20 waschen und in eine Färbelösung überführt, die 20 µg/ml Propidiumjodid (PI), 5 µg/ml RNase A in 0,05 % Monidet P40/PBS enthält und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert. Die gewaschenen Zellen werden mittels Durchflusszytometrie (Coulter XL-MLC, Coulter, Miami, Florida) analy-
25 siert unter Verwendung der Multicycle AV Software (Phoenix) für die Kalkulation der Zellzyklusverteilung von PI Histogrammen. Die prozentuale Anzahl der Zellen in der G1/0 (Ruhephase), S Phase (DNA Synthese) und G2M (mitotische Zellen) werden ermittelt. Apoptotische subG1 Zellen wurden
30 von P1-Histogrammen kalkuliert. Alle Experimente werden zweifach durchgeführt.

Der Chemosensitivitätsassay wird mit 10^4 Zellen pro Well in einer 96-Well Mikrotiterplatte mit 100 µl Medium durch-
35 geführt, wobei die zu testenden Komponenten in einem Vo-

lumen von 100 μ l zugeführt werden. Alle Komponenten werden an den Mikrotiterplatten verdünnt und die Platten werden unter Zellkulturenbedingungen für 4 Tage inkubiert, außer für die Tests, bei denen das Verhältnis zwischen Applikationszeit und Reaktion bestimmt werden soll. Die Lebensfähigkeit der Zellen wird mit einem MTT Assay bestimmt, einschließlich der mitochondrialen Aktivität, dem Verhältnis von Zellüberlebensrate und Zellzahl. Die Durchführung der Tests erfolgte nach den dem Fachmann bekannten Methoden.

Apoptose Assay:

Die apoptotischen bzw. nekrotischen Zellen wurden durch Annexin V/PI Färbungsexperimente gemäß den üblichen Labormethoden durchgeführt.

Ergebnisse: Bestimmung der CHP Aktivität in Tumorzelllinien

20 Tabelle 1

Zelllinien-Screening der CHP Antiproliferationsaktivität

Gewebe/Zellen	Name	Reaktion
Pankreas-Zelllinien	BxPC3	-41 %
	MIAPaCa2	-45,7 %
	ASPC1	-42 %
	PANC1	-54 %
	Capan1	-66 %
Osteosarkom-Gewebe	HOS	-68 %
Prostata-Gewebe	PC3	resistent
Colon-Zelllinien	HT29	-48 %
	Colo320DM	-11 %
	DLD1	-19,8 %
	SW620 (Ccl227)	-66,4 %

	SW480 (Ccl228)	-58 %
	HCT-15	-10 %
	Colo205	-66 %
Brust-Gewebe	MCF-7	-43 %
	T47D	-34 %
	MDA-MBA231	resistent
leukämische Zellen	K562	-11 %
Karzinomide	CRO1	-35 %
	CRO2	-13 %
Renale Zelllinien	A498	-6 %
	ACHN	resistent
Melanom	A518	resistent
	Mel28	resistent
	B607	-12 %
	JVSO	-15 %
Osteoblasten	Calc22	+8 %
Fibroblasten	WI38	resistent
	Fib2 (PPH)	resistent
	Fib3 (PPH)	-14 %

- Beim Einsatz von Gemcitabin oder anderen funktionsanalogen Verbindungen in Kombination mit CHP konnte gezeigt werden, dass die in Tabelle 1 ermittelten Werte bei ausgewählten Zelllinien signifikant und überraschend synergistisch verbessert werden können. Bei diesen Versuchen konnte auch gezeigt werden, dass die Wirkung der erfindungsgemäßen Kombinationsmittel von Zelllinie zu Zelllinie deutlich variiert.
- Beispielhaft erläutert werden soll dies anhand der Pankreaskarzinom-Zelllinien. Die Gabe des Kombinationsmittels, welches CHP und Gemcitabin in einem Verhältnis von 400 µg/ml : 4 µg/ml enthält und diese beiden Verbindungen zeitgleich freisetzt, zeigt eine antagonistische Wirkung. Das heißt, die Zellen leben länger. Die Variation der Kon-

zentration von Gemcitabin von 0,25, 0,05 oder 1 $\mu\text{g/ml}$ und die Variation der Konzentration von CHP in diesem Kombinationsmittel bestätigte die antagonistische Wirkung von zirka 15 bis 25 %. Diese Ergebnisse zeigten sich insbesondere bei Pankreaskarzinom-Zelllinien, wohingegen bei anderen Zelllinien die Gabe von Kombinationsmitteln, die GHP und Gemcitabin zeitgleich freisetzen, eine hemmende Wirkung auf das Wachstum der Zellen hatte.

10 Weiterhin wurden erfindungsgemäße Kombinationsmittel getestet, die CHP und Gemcitabin sequentiell freisetzen. Die Herstellung dieser Mittel erfolgte nach den dem Fachmann bekannten galenischen Methoden. Eingesetzt wurden Mittel in Zellkulturen, bei denen zunächst CHP und 24 Stunden bzw. 48
15 Stunden später Gemcitabin freigesetzt wird. Hierbei zeigte es sich, dass die zunächst mit CHP in Kontakt gebrachten Pankreas-Karzinom-Zellen, - die also CHP-vorbehandelt waren - bei dem nachfolgenden In-Kontakt-Bringen mit Gemcitabin eine Resistenz aufwiesen. So waren die Zellen
20 beispielsweise bei einer höheren Gemcitabin-Konzentration von mehr als 0,25 $\mu\text{g/ml}$ um zirka 5 % resistenter und bei niedrigerer Gemcitabin-Konzentration um bis zu 20 % resistenter. Das heißt, die Gabe von Kombinationsmitteln, die CHP und Gemcitabin sequentiell so freisetzen, dass die
25 Zellen zunächst mit CHP und folgend mit Gemcitabin in Kontakt gebracht werden, führte zu einer Verringerung der Gemcitabin-Sensitivität von Pankreas-Tumorzellen. Diese Ergebnisse ließen sich bei anderen Zelllinien wiederholen, wobei bei ausgewählten Zellen gezeigt werden konnte, dass
30 durch die Gabe der genannten Kombinationsmittel die Zellen eine geringere Resistenz gegenüber Gemcitabin aufwiesen. Ein deutlicher synergistischer Effekt zeigte sich, sofern Kombinationsmittel eingesetzt wurden, die zunächst Gemcitabin und anschließend CHP freisetzen. Überraschend war,
35 dass bei Pankreaskarzinom-Zelllinien ein synergistischer

Effekt auftrat, wenn die CHP-Konzentration in dem Kombinationsmittel sehr gering war, aber ein antagonistischer Effekt auftrat, wenn die CHP-Konzentration höher als 100 $\mu\text{g/ml}$ in dem Kombinationsmittel war. Eingesetzt wurden 5 Kombinationsmittel, die 1 $\mu\text{g/ml}$ Gemcitabin freigaben und 12, 24 und 48 Stunden später CHP freisetzten.

Tabelle 2 zeigt die Wirkung der Kombinationsmittel an PANC-1-Zellen.

10

CHP ($\mu\text{g/ml}$)	PANC-1 Kontrolle	PANC-1 behandelt mit einem zunächst Cemcitabin freisetzenden Mittel	BxPC3 Kontrolle	BxPC3 behandelt mit einem zunächst Gemcitabin freisetzenden Mittel
100	95.1 \pm 2.3	103 \pm 2.5	105.2 \pm 5.4	98.7 \pm 2.0
50	94.8 \pm 6.4	90.0 \pm 8.2	99.8 \pm 4.3	87.3 \pm 3.8
25	95.9 \pm 5.1	88.4 \pm 4.0	99.9 \pm 3.1	94.6 \pm 3.3
12,5	90.8 \pm 4.1	88.9 \pm 4.3	102.6 \pm 1.7	101.3 \pm 4.8
6,1	96.0 \pm 6.0	91.0 \pm 5.9	103.5 \pm 2.6	101.9 \pm 8.8
3	98.8 \pm 4.0	90.3 \pm 6.0	-	-

Das heißt, die sequentielle Behandlung von Pankreas-Tumoren ist besonders erfolgversprechend, wenn diese zunächst mit Gemcitabin und anschließend mit CHP in Kontakt gebracht werden, wobei die CHP-Konzentration entsprechend dem Vor- 15 genannten gering ausgewählt werden sollte. Bei den eingesetzten Mitteln handelte es sich um solche, die CHP und Gemcitabin in unterschiedlich auflösbaren Trägern und Vehi- 20 keln beinhalten. Weiterhin werden Kits verwendet, in denen Gemcitabin und CHP in separaten Lösungen bereitgestellt wurde, die gemäß einer Handlungsanweisung, die in dem Kit

enthalten war, sequentiell zum Einsatz kamen. Somit stehen Kombinationsmittel zur Verfügung, die je nach zeitversetzter Freigabe und nach den zuerst bzw. folgend freigesetzten Bestandteilen oder Verbindungen für unterschiedliche Tumorarten unterschiedliche Spezifitäten aufweisen. Weiterhin konnte überraschend gezeigt werden, dass das erfindungsgemäße Kombinationsmittel den jeweiligen Zellzyklus der Tumorzellen modifiziert. Je nach verwendetem Kombinationsmittel und verwendeten Zellen kam es zur Modifizierung bzw. zum Verlust der S-Phase bzw. des G2M- bzw. des G1/0-Zustandes. Außerdem konnte beobachtet werden, dass mehrere Zellen die Behandlung mit dem Kombinationsmittel in apoptotische/nekrotische Zellen übergegangen sind. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass unterschiedliche Spezifitäten des Kombinationsmittels erreicht werden, wenn neben Gemcitabin andere Chemotherapeutika, wie zum Beispiel Oxoplatin oder Doxorubicin, eingesetzt werden. Dies konnte auch beim Einsatz von Kombinationsmitteln gezeigt werden, bei denen der Gemcitabinanteil durch Oxoplatin oder Doxorubicin bzw. ein anderes Chemotherapeutikum vollständig ausgetauscht wurde. Eine weitere Modifikation der Spezifität der Kombinationsmittel war dadurch möglich, dass statt der cis-Form des CHP's trans-Hydroxy-Prolin verwendet wurde.

Weiterhin wurden die erfindungsgemäß offenbarten Kombinationsmittel klinisch auch im humanen Bereich getestet. So wurden mit dem CHP-Gemcitabin-Kombinationsmittel und dem CHP-Capecitabin-Kombinationsmittel gute Resultate erreicht. Gemcitabin wurde von der U.S. Food and Drug Administration 1996 für die Erstbehandlung von Patienten mit lokal fortgeschrittenem oder metastatischem Adenokarzinomen des Pancreas anerkannt. Die empfohlene Dosierung und der Behandlungszyklus umfasste 1 g/m² pro Woche für den Zeitraum von 7 Wochen gefolgt von

einer Woche als Ruheperiode. Die Anschlussbehandlungszyklen umfassen eine Dosis von 1 g/m² pro Woche für drei Wochen wiederum gefolgt von einer Woche als Erholungsphase. Diese empfohlene Behandlung ist jedoch nicht frei von starken
5 Nebenwirkungen. Eine typische Nebenwirkung der Gabe von Gemcitabin ist z. B. die Schädigung des Knochenmarks mit nachfolgender Beeinträchtigung der Blutbildung, so dass nur noch wenige Blutkörperchen heranreifen können. Die Folge hiervon sind Anämie, Neutropenie und eine allgemeine
10 Immunsuppression. Diese Nebenwirkungen, die durch die Schädigung des Knochenmarks hervorgerufen werden, werden als Myelosuppression bezeichnet. Weitere Nebenwirkungen sind starke Schweißausbrüche, Durchfall, Fieber oder Influenza-ähnliche Symptome, Brechreiz, Brechdurchfall,
15 Atemnot, periphere Ödeme, Hämaturie, Proteinurie, Haarausfall sowie Hautausschlag und Reaktionen an der Injektionsstelle.

Mit folgender Kombinationstherapiebehandlung von Gemcitabin
20 und CHP können diese Nachteile vermieden werden. Die Fortschritte bei der Behandlung des Tumors wurden einmal monatlich durch Computertomografie, durch klinische Laborchemie, durch die Bestimmung von Tumormarkern und der physischen Gesamtkonstitution einschließlich von
25 hämatologischen Untersuchungen bestimmt. Es zeigte sich hierbei, dass die Tumoren mit der Kombinationstherapie ohne das Auftreten der oben genannten Nebenwirkungen sehr gut behandelt werden können.

30 **Behandlungsschema mit dem CHP-Gemcitabin-Kombinationsmittel**

1. Behandlungstage 1 bis 7: 8 g täglich CHP (intravenös)
2. Behandlung weiterer 8 Tage: 8 g intravenöses CHP dreimal die Woche und 8 g orales CHP viermal die Woche

3. Wenn eine Tumorprogression festgestellt wird, auch bezüglich der Richtlinien gemäß RECIST, wird mit einer zusätzlichen Gemcitabin-Gabe begonnen
- 5 4. Die Gemcitabindosis beträgt 1000 mg/m^2 und wird intravenös am 1., 8 und 15. Tag gegeben
5. Dieser Zyklus wird wiederholt am Tag 29
- 10 6. Begleitend zur Gemcitabininfusion wird CHP oral gegeben, wobei die Dosis 4 g beträgt
7. Die begleitende Kombinationsgabe von CHP erfolgt an den Tagen 3 bis 6, 10 bis 13 und 17 bis 26 (dies führt zu einem 28-tägigen Behandlungszyklus)
- 15

Eine große Anzahl von Patienten, die an kolorektalen Adenokarzinomen und Lebermetastasen leiden, kann mit einer Kombinationstherapie von Capecitabin und CHP behandelt werden. Die Standardbehandlung für diese Tumoren ist die Gemcitabingabe während eines 21-Tage-Behandlungszyklus. Die Patienten werden 14 Tage, gefolgt von einer 7-tägigen Ruhephase, behandelt. Die empfohlene Dosis von Capecitabin beträgt 2.500 mg/m^2 pro Tag. Das Mittel wird oral in zwei separaten Dosen 30 Minuten nach einer Mahlzeit gegeben. Die Gabe von Capecitabin führt zu einer Vielzahl von Nebenwirkungen, die bereits für die Gabe von Gemcitabin (siehe oben) aufgeführt worden sind. Überraschenderweise führt die Kombination von Capecitabin und CHP zu einer guten Effizienz bei der Behandlung von Tumoren und der Verminderung der Nebenwirkungen im Vergleich zur Behandlung mit den einzelnen Medikamenten CHP und Capecitabin. So erlaubt die Kombinationstherapie den Einsatz einer geringeren Gabe von Capecitabin und kürzere Behandlungszyklen von nur 10 Tagen. Die

Kombinationstherapie wird von den Patienten sehr gut toleriert.

Die Patienten I-K (68 Jahre alt, männlich) und S-M (76
5 Jahre alt, männlich) litten an einem histologisch
bestimmten kolorektalem Adenokarzinom und an
Lebermetastasen, die mit einem Behandlungszyklus der
Kombinationstherapie von Capecitabin und CHP nach folgendem
Therapieschema behandelt wurden:

10

1. Gabe von Capecitabin für 10 fortlaufende Tage (2 x 3
Tabletten je 500 mg) gefolgt von einer sogenannten
wash-out-Periode für 10 Tage und
- 15 2. Gabe von CHP für 30 fortlaufende Tage als eine orale
Lösung (jeweilige Dosis 8 g)

Die Bestimmung des Therapieerfolges erfolgte wie bei der
CHP-Gemcitabin-Kombinationstherapie.

20 Sowohl bei der CHP-Gemcitabin- und der CHP-Capecitabin-
Kombinationstherapie zeigten sich gute therapeutische
Erfolge bei der Tumorbehandlung, wobei die
chemotherapeutischen Mittel Gemcitabin und Capecitabin in
Gegenwart von CHP in geringeren Dosen und kürzeren
25 Behandlungszyklen eingesetzt werden konnten (im Vergleich
zur isolierten Gabe der einzelnen pharmazeutischen Mittel).
Insbesondere die Nebenwirkungen, die im
Gastrointestinaltrakt auftreten, wie z. B. abdominale
Schmerzen, Durchfall einschließlich Brechdurchfall, das
30 Brechen an sich sowie die allgemeinen Erschöpfungssymptome
wie auch die Stomatitis, Anämie und andere wurden
erduziert.

Patentansprüche

- 5 1. Kombinationsmittel umfassend cis-Hydroxy-Prolin (CHP) und Gemcitabin.
2. Mittel nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, dass
- 10 es einen pharmazeutisch akzeptablen Träger, Adjuvants und/oder Vehikel umfasst.
3. Mittel nach Anspruch 2,
dadurch gekennzeichnet, dass
- 15 der Träger ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend Füllmittel, Streckmittel, Bindemittel, Feuchthaltemittel, Sprengmittel, Lösungsverzögerer, Resorptionsbeschleuniger, Netzmittel, Adsorptionsmittel und/oder Gleitmittel.
- 20 4. Mittel nach Anspruch 2,
dadurch gekennzeichnet, dass
- die Vehikel ausgewählt sind aus der Gruppe umfassend Liposomen, Siosomen und/oder Niosomen.
- 25 5. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet, dass
- es ein Gel, ein Puder, ein Pulver, eine Infusionslösung, eine Tablette, eine Retard-Tablette, ein
- 30 Premix, ein Prodrug, eine Emulsion, eine Aufgussformulierung, ein Tropfen, ein Konzentrat, ein

Granulat, ein Sirup, ein Pellet, ein Boli, eine Kapsel, ein Aerosol, ein Spray und/oder ein Inhalat ist.

6. Mittel nach Anspruch 5,
5 dadurch gekennzeichnet, dass
CHP und Gemcitabin in einer Konzentration von 0,1 bis 99,5, bevorzugt von 0,5 bis 95, besonders bevorzugt von 1 bis 80 Gew% in einer Zubereitung vorliegt.
- 10 7. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 6,
dadurch gekennzeichnet, dass
CHP und Gemcitabin in der Zubereitung in einem Verhältnis von 500 : 1 bis 1 : 500 vorliegt, bevorzugt von 100 : 1 bis 1 : 100 und besonders bevorzugt von 50 : 1
15 bis 1 : 50.
8. Antitumormittel,
dadurch gekennzeichnet, dass
es ein Kombinationsmittel nach einem der Ansprüche 1
20 bis 7 umfasst.
9. Verwendung des Mittels nach einem der Ansprüche 1 bis 8
zur Prophylaxe, Therapie, Verlaufskontrolle und/oder
Nachbehandlung von mit Zellwachstum, -differenzierung
25 und/oder -teilung im Zusammenhang stehenden Krankheiten.
10. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
30 die Krankheit ein Tumor ist.
11. Verwendung nach Anspruch 9 oder 10,

dadurch gekennzeichnet, dass
ein Tumorwachstum, eine Tumorausbreitung, eine
Tumor-Angiogenese, eine Tumor-Invasion, eine Tumor-In-
filtration und/oder eine Tumor-Metastasierung gehemmt
5 oder verhindert wird.

12. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Tumorerkrankungen ausgewählt sind aus der Gruppe
10 der neoplastischen Tumoren, der entzündlichen Tumoren
und/oder der Abszesse, Ergüsse und Ödeme.

13. Verwendung nach einem der Ansprüche 10 bis 12,
dadurch gekennzeichnet, dass
15 der Tumor ein solider Tumor oder eine Leukämie ist.

14. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
der solide Tumor ein Tumor des Urogenitaltraktes
20 und/oder des Gastrointestinaltraktes ist.

15. Verwendung nach einem der Ansprüche 10 bis 14,
dadurch gekennzeichnet, dass
der Tumor ein Kolonkarzinom, ein Magenkarzinom, ein
25 Pankreaskarzinom, ein Dünndarmkrebs, ein Ovarialkarzi-
nom, ein Zervikalkarzinom, ein Lungenkrebs, ein Prosta-
takrebs, ein Mammakarzinom, ein Nierenzellkarzinom, ein
Hirntumor, ein Kopf-Halstumor, ein Leberkarzinom
und/oder eine Metastase dieser Tumoren ist.

30

16. Verwendung nach Anspruch 13 oder 14,
dadurch gekennzeichnet, dass

der solide Tumor ein Mamma-, Bronchial-, Kolorektal- und/oder Prostatakarzinom und/oder eine Metastase dieser Tumoren ist.

- 5 17. Verwendung nach Anspruch 14,
dadurch gekennzeichnet, dass
der Tumor des Urogenitaltraktes ein Harnblasenkarzinom
und/oder eine Metastase dieser Tumoren ist.
- 10 18. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 17,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Verlaufskontrolle eine Überwachung der Wirksamkeit
einer Antitumorbehandlung ist.
- 15 19. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 18,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Mittel gemäß Anspruch 1 bis 8 zur Prophylaxe, Prä-
vention, Diagnose, Verminderung, Therapie, Verlaufs-
kontrolle und/oder Nachbehandlung einer Tumor-Metasta-
20 sierung, einer Tumor-Invasion, eines Tumorwachstums,
einer Tumorausbreitung, einer Tumor-Infiltration
und/oder einer Tumor-Angiogenese eingesetzt werden.
20. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 19,
25 dadurch gekennzeichnet, dass
die Verlaufskontrolle eine Überwachung der Wirksamkeit
einer Antitumorbehandlung ist.
21. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 20,
30 dadurch gekennzeichnet, dass
die Mittel gemäß Anspruch 1 bis 8 in einer Kombi-
nationstherapie verwendet werden.
22. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
35 dadurch gekennzeichnet, dass

die Kombinationstherapie eine Chemotherapie, eine Zytostatikabehandlung und/oder eine Strahlentherapie umfasst.

- 5 23. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch, dadurch gekennzeichnet, dass die Kombinationstherapie eine adjuvante biologisch-spezifizierte Therapieform umfasst.
- 10 24. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch, dadurch gekennzeichnet, dass die Therapieform eine Immuntherapie ist.
- 15 25. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 24 zur Erhöhung der Sensitivität von Tumorzellen gegenüber Zytostatika und/oder Strahlen.
- 20 26. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 25 zur Hemmung der Vitalität, der Proliferationsrate von Zellen, zur Induktion von Apoptose und/oder eines Zellzyklus-Arrests.
- 25 27. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass die Zubereitung oral, vaginal, rektal, nasal, subkutan, intravenös, intramuskulär, intraperitoneal, regional und/oder topisch eingesetzt wird.
- 30 28. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel gemäß Anspruch 1 bis 8 in Gesamtmengen von 0,05 bis 1000 mg pro kg, bevorzugt von 5 bis 450 mg pro kg Körpergewicht, je 24 Stunden eingesetzt werden.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/DE2004/002760
--

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 A61K31/401 A61K31/506 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, PAJ, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 6 066 665 A (HOERRMANN ET AL) 23 May 2000 (2000-05-23) column 1, line 23 - line 34 column 2, line 48 - line 60 -----	1-28
Y	US 6 153 643 A (HOERRMANN ET AL) 28 November 2000 (2000-11-28) claims 1,2 ----- -/--	1-28

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

1 June 2005

08/06/2005

Name and mailing address of the ISA
 European Patent Office, P. B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bonzano, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE2004/002760

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>WICHA M S ET AL: "BLOCKING BASEMENT MEMBRANE COLLAGEN DEPOSITION INHIBITS THE GROWTH OF 7 12 DI METHYL BENZ ANTHRACENE INDUCED RAT MAMMARY TUMORS" CANCER LETTERS, vol. 12, no. 1-2, 1981, pages 9-22, XP008047843 ISSN: 0304-3835 page 18; figure 4 page 19, line 15 - line 20</p>	1-28
A	<p>DE 35 38 619 A1 (HOERRMANN, WILHELM, DR; HOERRMANN, WILHELM, DR., 82393 IFFELDORF, DE) 7 May 1986 (1986-05-07) claims 1,2</p>	
Y	<p>EP 1 258 248 A (TAP PHARMACEUTICAL PRODUCTS, INC) 20 November 2002 (2002-11-20) claim 1</p>	1-28
Y	<p>WO 01/34134 A (ELI LILLY AND COMPANY; SAWYER, JASON, SCOTT; TEICHER, BEVERLY, ANN; BE) 17 May 2001 (2001-05-17) claims 1,2 page 24; example 1 page 31, paragraph 4 - page 32, paragraph 3</p>	1-28
Y	<p>WO 01/34198 A (ELI LILLY AND COMPANY; SAWYER, JASON, SCOTT; TEICHER, BEVERLY, ANN; BE) 17 May 2001 (2001-05-17) claims 1,6</p>	1-28
A	<p>BUCK TODD B ET AL: "cis-hydroxyproline stimulates the growth of rat mammary carcinoma cells" IN VIVO (ATTIKI), vol. 14, no. 1, January 2000 (2000-01), pages 7-12, XP008047847 ISSN: 0258-851X abstract</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE2004/002760

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 9-28 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No PCT/DE2004/002760

Patent document cited in search report	A	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6066665	A	23-05-2000	AU 2380097 A	01-10-1997
			CA 2248765 A1	18-09-1997
			WO 9733578 A1	18-09-1997
			DE 19780207 D2	11-03-1999
			DE 59702322 D1	12-10-2000
			EP 0912172 A1	06-05-1999
			ES 2152664 T3	01-02-2001
			JP 2000506174 T	23-05-2000
			<hr/>	
US 6153643	A	28-11-2000	CA 1281288 C	12-03-1991
			CH 667591 A5	31-10-1988
			DE 3538619 A1	07-05-1986
			GB 2171302 A ,B	28-08-1986
			JP 1992045 C	22-11-1995
			JP 7023309 B	15-03-1995
			JP 61155324 A	15-07-1986
<hr/>				
DE 3538619	A1	07-05-1986	CA 1281288 C	12-03-1991
			CH 667591 A5	31-10-1988
			GB 2171302 A ,B	28-08-1986
			JP 1992045 C	22-11-1995
			JP 7023309 B	15-03-1995
			JP 61155324 A	15-07-1986
			US 6153643 A	28-11-2000
<hr/>				
EP 1258248	A	20-11-2002	CA 2381829 A1	18-11-2002
			EP 1258248 A2	20-11-2002
			JP 2002363076 A	18-12-2002
			MX PA02003833 A	14-07-2003
<hr/>				
WO 0134134	A	17-05-2001	AU 1595101 A	06-06-2001
			WO 0134134 A2	17-05-2001
<hr/>				
WO 0134198	A	17-05-2001	AU 1916601 A	06-06-2001
			WO 0134198 A2	17-05-2001

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE2004/002760

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 A61K31/401 A61K31/506 A61P35/00				
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK				
B. RESEARCHIERTE GEBIETE				
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 A61K				
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen				
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, PAJ, WPI Data				
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN				
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.		
Y	US 6 066 665 A (HOERRMANN ET AL) 23. Mai 2000 (2000-05-23) Spalte 1, Zeile 23 - Zeile 34 Spalte 2, Zeile 48 - Zeile 60 -----	1-28		
Y	US 6 153 643 A (HOERRMANN ET AL) 28. November 2000 (2000-11-28) Ansprüche 1,2 ----- -/--	1-28		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; border: none;"><input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen</td> <td style="width: 50%; border: none;"><input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie</td> </tr> </table>			<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie			
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; border: none;"> * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist </td> <td style="width: 50%; border: none;"> *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist </td> </tr> </table>			* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist	*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist	*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist			
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts			
1. Juni 2005	08/06/2005			
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Bonzano, C			

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE2004/002760

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>WICHA M S ET AL: "BLOCKING BASEMENT MEMBRANE COLLAGEN DEPOSITION INHIBITS THE GROWTH OF 7 12 DI METHYL BENZ ANTHRACENE INDUCED RAT MAMMARY TUMORS" CANCER LETTERS, Bd. 12, Nr. 1-2, 1981, Seiten 9-22, XP008047843 ISSN: 0304-3835 Seite 18; Abbildung 4 Seite 19, Zeile 15 - Zeile 20 -----</p>	1-28
A	<p>DE 35 38 619 A1 (HOERRMANN,WILHELM,DR; HOERRMANN, WILHELM, DR., 82393 IFFELDORF, DE) 7. Mai 1986 (1986-05-07) Ansprüche 1,2 -----</p>	
Y	<p>EP 1 258 248 A (TAP PHARMACEUTICAL PRODUCTS, INC) 20. November 2002 (2002-11-20) Anspruch 1 -----</p>	1-28
Y	<p>WO 01/34134 A (ELI LILLY AND COMPANY; SAWYER, JASON, SCOTT; TEICHER, BEVERLY, ANN; BE) 17. Mai 2001 (2001-05-17) Ansprüche 1,2 Seite 24; Beispiel 1 Seite 31, Absatz 4 - Seite 32, Absatz 3 -----</p>	1-28
Y	<p>WO 01/34198 A (ELI LILLY AND COMPANY; SAWYER, JASON, SCOTT; TEICHER, BEVERLY, ANN; BE) 17. Mai 2001 (2001-05-17) Ansprüche 1,6 -----</p>	1-28
A	<p>BUCK TODD B ET AL: "cis-hydroxyproline stimulates the growth of rat mammary carcinoma cells" IN VIVO (ATTIKI), Bd. 14, Nr. 1, Januar 2000 (2000-01), Seiten 7-12, XP008047847 ISSN: 0258-851X Zusammenfassung -----</p>	

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 9–28 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2004/002760

Im Recherchenbericht angeführtes Patendokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 6066665	A	23-05-2000	AU 2380097 A	01-10-1997
			CA 2248765 A1	18-09-1997
			WO 9733578 A1	18-09-1997
			DE 19780207 D2	11-03-1999
			DE 59702322 D1	12-10-2000
			EP 0912172 A1	06-05-1999
			ES 2152664 T3	01-02-2001
			JP 2000506174 T	23-05-2000
US 6153643	A	28-11-2000	CA 1281288 C	12-03-1991
			CH 667591 A5	31-10-1988
			DE 3538619 A1	07-05-1986
			GB 2171302 A ,B	28-08-1986
			JP 1992045 C	22-11-1995
			JP 7023309 B	15-03-1995
			JP 61155324 A	15-07-1986
DE 3538619	A1	07-05-1986	CA 1281288 C	12-03-1991
			CH 667591 A5	31-10-1988
			GB 2171302 A ,B	28-08-1986
			JP 1992045 C	22-11-1995
			JP 7023309 B	15-03-1995
			JP 61155324 A	15-07-1986
			US 6153643 A	28-11-2000
EP 1258248	A	20-11-2002	CA 2381829 A1	18-11-2002
			EP 1258248 A2	20-11-2002
			JP 2002363076 A	18-12-2002
			MX PA02003833 A	14-07-2003
WO 0134134	A	17-05-2001	AU 1595101 A	06-06-2001
			WO 0134134 A2	17-05-2001
WO 0134198	A	17-05-2001	AU 1916601 A	06-06-2001
			WO 0134198 A2	17-05-2001