



(10) **DE 10 2005 039 579 B4** 2022.06.30

(12)

Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2005 039 579.1**
(22) Anmeldetag: **19.08.2005**
(43) Offenlegungstag: **22.02.2007**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **30.06.2022**

(51) Int Cl.: **A61K 9/14 (2006.01)**
A61K 9/10 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

Innerhalb von neun Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:
MagForce AG, 12489 Berlin, DE

(74) Vertreter:
Simmons & Simmons LLP, 80538 München, DE

(72) Erfinder:
Scholz, Regina, Dr., 14050 Berlin, DE; Waldoefner, Norbert, Dr., 14050 Berlin, DE; Jordan, Andreas, Dr., 14167 Berlin, DE

(56) Ermittelte Stand der Technik:

US	2005 / 0 058 603	A1
US	5 411 730	A
EP	1 162 955	B1
WO	02/ 043 708	A2

Abstract zu Gneveckow, U. [u.a]: Description and characterization of the novel hyperthermia- and thermoablation-system MFH 300F for clinical magnetic fluid hyperthermia, In: Medical Physics, 2004, Vol. 31, No. 6, S. 1444-1451

Abstract zu Kohler, N. [u.]: Methotrexate-Modified Supermagnetic Nanoparticles and Their Intracellular Uptake into Human Cancer Cells, In: Langmuir, 2005, Vol. 21, No. 19, S. 8858-8864

Simeonova, M.; Antcheva, M. In vitro study of cytotoxic activity of vinblastine in a free form and associated with nanoparticles. Acta Physiol Pharmacol Bulg., Vol. 20, 1994, No. 2 , S. 31-35.

(54) Bezeichnung: **Verfahren zur Einschleusung von therapeutischen Substanzen in Zellen**

(57) Hauptanspruch: Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren zur Prophylaxe und/oder zur Behandlung von Krebs- oder Tumorerkrankungen, wobei die Nanopartikel mit einem Antikrebsmittel verabreicht werden, so dass die Nanopartikel und das Antikrebsmittel gleichzeitig in dem Patientenkörper anwesend sind, wobei die Nanopartikel eine positive Oberflächenladung aufweisen und wobei die Nanopartikel und das Antikrebsmittel getrennt verabreicht werden.



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Zusammensetzungen enthaltend Nanopartikel und Verwendungen dieser Zusammensetzung zur Einschleusung von Antikrebsmitteln in Zellen, Insbesondere Krebszellen. Die Partikel sind chemisch so gestaltet, dass eine hohe intrazelluläre Aufnahme in die Zellen stattfindet. Für die Einschleusung in die Zellen liegt keine direkte Bindung zwischen Nanopartikel und dem Antikrebsmittel vor. Die Nanopartikel und das Antikrebsmittel werden getrennt verabreicht. Die Nanopartikel führen zu einer gesteigerten Wirkung des Antikrebsmittels und zu verringerten Nebenwirkungen.

Stand der Technik

[0002] Es ist bekannt, dass Nanopartikel von Zellen (insbesondere Tumorzellen) durch Endozytose aufgenommen werden können. Ein Verfahren zur Herstellung von zellgängigen Nanopartikeln ist in DE 197 26 282.1 genannt. Die Aufnahme der Nanopartikel kann durch in-vitro Untersuchungen an hochreinem Zellmaterial untersucht werden. In der DE 199 12 798 C1 sind Methoden genannt, mit deren Hilfe man beliebige Zellen aus Gewebematerial in Kultur bringen kann. Durch diese Methoden ist es möglich, die Partikel chemisch so zu gestalten, dass eine hohe Aufnahme in bestimmte Tumorzellen stattfindet. Methoden zur Wirksamkeitssteigerung von therapeutischen Substanzen durch Ankopplung an Nanopartikel als Trägersysteme sind ebenfalls bekannt und auch Gegenstand der Forschung. So wird in DE 100 59 151 A eine Ankopplung der Substanzen durch Ionische Wechselwirkung verfolgt, wobei das Konjugat im Tumorgewebe angereichert werden soll. Die Freisetzung der therapeutischen Substanz erfolgt dann allerdings im Interstitium und nicht intrazellulär. Die Einschleusung von Nanopartikeln in Tumorzellen mit Hilfe von Antikörpern oder Peptiden (z.B. TAT-Peptide) ist ebenfalls bekannt. Diese Art der Einschleusung führt allerdings nur zu einer vergleichsweise geringen Anreicherung von Nanopartikeln in Tumorzellen und kann daher nicht für therapeutische Zwecke genutzt werden.

Aufgabenstellung

[0003] Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, Zusammensetzungen und Verwendungen dieser Zusammensetzungen zur Behandlung und Prophylaxe von Krebserkrankungen bereitzustellen.

[0004] Die Aufgabe wird durch Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren zur Prophylaxe und/ oder zur Behandlung von Krebs- oder Tumorerkrankungen gemäß Anspruch 1 gelöst.

[0005] Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen, den Beispielen sowie Figuren und der Beschreibung.

[0006] Dabei betrifft die vorliegende Erfindung pharmazeutische Zusammensetzungen, welche aus Nanopartikeln mit einer hohen Affinität zu entarteten Zellen, mindestens einem Antikrebsmittel und mindestens einem pharmakologisch verträglichen Träger, Hilfsstoff und/oder Lösungsmittel bestehen.

[0007] Als pharmakologisch verträgliche Träger, Hilfsstoffe und/oder Lösungsmittel können die in der Galenik (Pharmazeutische Technologie) üblichen Stoffe eingesetzt werden, wobei flüssige pharmazeutische Zusammensetzungen bevorzugt sind.

[0008] Als Lösungsmittel eignen sich Wasser oder physiologische Kochsalzlösung. Falls erforderlich, können auch Cosolventien wie beispielsweise Ethanol bis vorzugsweise zu einer Menge von 10 Vol.-% eingesetzt werden.

[0009] Bei diesen pharmazeutischen Zusammensetzungen handelt es sich insbesondere um Infusions- oder Injektionslösungen. Derartige Lösungen der Nanopartikel in beispielsweise physiologischer Kochsalzlösung sind für die interstitielle bzw. intratumorale Applikation geeignet. Eine intraarterielle oder intravenöse Applikation ermöglicht ferner eine systemische, den ganzen Körper betreffende Therapiemöglichkeit für nicht solide und/oder metastasenbildende Tumorarten.

[0010] Gemäß der Erfindung werden die Nanopartikel oder Nanoteilchen und das mindestens eine Antikrebsmittel getrennt verabreicht und sind nicht in einer einzigen vorzugsweise Injektionslösung oder Infusionslösung enthalten. Es ist durchaus möglich, dass die erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung aus zwei Lösungen besteht, wobei die eine die Nanopartikel und die andere das mindestens eine Antikrebsmittel enthält, und beide Lösungen gleichzeitig oder zeitgleich appliziert werden.

[0011] Erfindungswesentlich ist, dass sich überraschend herausgestellt hat, dass die hierin beschriebenen Nanopartikel die Fähigkeit besitzen, therapeutische Substanzen, insbesondere Antikrebsmittel, in entartete Zellen einzuschleusen. Unter entartete Zellen werden onkogene Zellen, Tumorzellen als auch Krebszellen verstanden, also Zellen, welche vollständig entartet sind oder sich auf dem Weg zur vollständigen Entartung befinden. Als entartete Zellen werden somit Zellen bezeichnet, welche eine unkontrollierte Proliferation besitzen. Dies bedeutet, dass therapeutische Substanzen, insbesondere Antikrebsmittel bei gleichzeitiger Anwesenheit der hierin beschriebenen Nanopartikel deutlich besser von den

entarteten Zellen aufgenommen werden als bei Abwesenheit der Nanopartikel. Durch die verbesserte Aufnahme der therapeutischen Substanzen in die entarteten Zellen erfolgt sowohl eine deutliche Steigerung der Aktivität dieser Substanzen insbesondere Antikrebsmittel als auch eine Reduktion der Nebenwirkungen dieser Substanzen.

[0012] Unter Steigerung der Aktivität wird verstanden, dass dieselbe Menge an therapeutisch wirksamer Substanz, insbesondere Antikrebsmittel, eine gesteigerte Wirksamkeit bei Anwesenheit der Nanopartikel als bei deren Abwesenheit zeigt. Unter Reduktion der Nebenwirkungen von therapeutischen Substanzen, insbesondere Antikrebsmitteln, soll verstanden werden, dass die Schädigung gesunder Zellen bei gleicher Wirksamkeit oder bei derselben Menge an Antikrebsmittel geringer ist bei gleichzeitiger Anwesenheit der Nanopartikel als bei deren Abwesenheit.

[0013] Somit ist Voraussetzung für die Wirksamkeitssteigerung, dass die therapeutische Substanz im Verlaufe der großvolumigen Einschleusung der Nanopartikel mit in die Zelle aufgenommen werden kann. Offensichtlich führt die Invaginaion der Zellmembran infolge der Partikelbindung zumindest zur teilweisen Aufhebung der transmembranären Passagekontrolle und damit zu einem vollkommen neuen Einschleusungskanal für therapeutisch wirksame Substanzen. Dabei ist es vorteilhaft, wenn eine lokale Konzentrationserhöhung von Nanopartikeln und therapeutischer Substanz, insbesondere Antikrebsmittel, im Interstitium erreicht werden kann. Dies kann z.B. durch interstitielle Gabe der Mischung erreicht werden oder durch geeignete Anreicherungsstrategien, wie der kontrollierten Freisetzung (controlled release), der Erkennung von Rezeptoren oder auch anderen Biomolekülen, die von Liganden an der Partikeloberfläche erkannt werden (Targeting). Ebenfalls ist es möglich, nach interstitieller Gabe der Nanopartikel, die therapeutische Substanz systemisch zu verabreichen. Die intrazelluläre Aufnahme der Nanopartikel vollzieht sich innerhalb von Stunden bis Tagen, so dass auch eine mehrfache Gabe der Substanz innerhalb der Endozytose-Phase möglich ist. Eine systemische Gabe der Substanz ist insbesondere dann notwendig, wenn eine Metabolisierung erfolgen muss.

[0014] Die Nanopartikel sollten eine positive Oberflächenladung aufweisen, da derartige Nanopartikel besonders gut in entartete Zellen, insbesondere Krebszellen, aufgenommen werden.

[0015] Eine unter physiologischen Bedingungen positive Oberflächenladung auf den Nanopartikeln lässt sich erreichen, indem man die Nanopartikel mit einer positiv polarisierbaren und/oder positiv ionisierbaren Beschichtung versieht.

[0016] Eine solche positiv polarisierbare und/oder positiv ionisierbaren Beschichtung kann erhalten werden, indem man die Nanopartikel mit positiv polarisierbaren und/oder positiv ionisierbaren Stoffen beschichtet. Solche Stoffe können beispielsweise Aminogruppen oder protonisierbare Stickstoffatome enthalten, welche beim entsprechenden pH-Wert In protonierter Form vorliegen.

[0017] Unter positiver Oberflächenladung soll eine positiv geladene Oberfläche oder eine positiv aufladbare Oberfläche oder eine positiv polarisierbare Oberfläche eines jeden Nanopartikels verstanden werden, wobei die Nanopartikel unter physiologischen Bedingungen diese positiv polarisierte oder positiv geladene Oberfläche aufweisen sollten.

[0018] Bei einer bevorzugten Ausführungsform wird die positiv geladene, positiv aufladbare oder positiv polarisierbare Oberfläche oder Beschichtung mit einer Schutzschicht überzogen, welche die positiven Ladungen kompensiert oder sogar überkompensiert, so dass sich insgesamt eine neutrale oder sogar negativ geladene äußere Oberfläche ergibt. Auf diese äußere, die positiven Ladungen kompensierende Schicht kann verzichtet werden, wenn die positiv geladene oder positiv polarisierbare Beschichtung eine ausreichende Stabilität gegen Abbau durch das Körpergewebe oder Tumorgewebe besitzt. Die Nanopartikel besitzen in einer bevorzugten Ausführungsform eine Beschichtung aus polykondensierten Aminosilanen und eventuell eine weitere die positiven Ladungen kompensierende Carboxylatgruppen aufweisende äußere Beschichtung.

[0019] Da die positiv geladene oder positiv polarisierbare oder positiv aufladbare Beschichtung nur langsam biologisch abgebaut werden sollte, besteht sie vorzugsweise aus biologisch stabilen oder biologisch inerten oder biostabilen Substanzen, beispielsweise aus Polymeren.

[0020] Als biostabile Polymere können eingesetzt werden: Polyacrylamid, Polyacrylonitrile, Polyamide, Polyetheramide, Polyethylenamin, Polyimide, Polycarbonate, Polycarbonateurethane, Polyvinylketone, Polyvinylhalogenide, Polyvinylidenhalogenide, Polyvinylether, Polyisobutylene, Polyvinylaromaten, Polyvinylester, Polyvinylpyrrolidone, Polyoxymethylene, Polytetramethylenoxid, Polyethylen, Polypropylen, Polytetrafluorethylen, Polyurethane, Polyetherurethane Silicon-Polyetherurethane, Silicon-Polyurethane, Silicon-Polycarbonat-Urethane, Polyolefin-Elastomere, Polyisobutylene, EPDM-Gummis, Fluorosilicone, Carboxymethylchitosane, Polyaryletheretherketone, Polyetheretherketone, Polyethylen-terephthalat, Polyvalerate, Carboxymethylcellulose, Cellulose, Rayon, Rayontriacetate, Cellulosenitrate, Celluloseacetate, Hydroxyethylcellulose, Cellulose-

butyrate, Celluloseacetatbutyrate, Ethylvinylacetat-copolymere, Polysulfone, Epoxyharze, ABS-Harze, EPDM-Gummis, Silicone wie Polysiloxane, Polydimethylsiloxane, Polyvinylhalogene und Copolymere, Celluloseether, Cellulosetriacetate, Chitosane und Copolymere und/oder Mischungen dieser Substanzen.

[0021] Die biologisch stabilen Polymere sollten eine genügende Anzahl positiver oder positiv polarisierbarer oder positiv aufladbarer Gruppen wie beispielsweise Aminogruppen oder Stickstoffatome aufweisen. Normalerweise verfügt die positiv geladene Beschichtung pro Nanopartikel im Durchschnitt über mindestens 50, bevorzugt mindestens 100 und insbesondere bevorzugt mindestens 500 kationische, positiv polarisierbare und/oder positiv aufladbare Gruppen wie beispielsweise Aminogruppen.

[0022] Bei bevorzugten Ausführungsformen besteht diese Beschichtung aus monomeren Aminosilanen wie z.B. 3-Aminopropyltriethoxysilan, 2-Aminoethyl-3-aminopropyltrimethoxysilan, Trimethoxysilylpropyldiethylentriamin oder N-(6-Aminoheptyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan, welche zur Erzielung der erforderlichen Stabilität nach bekannten Verfahren polykondensiert werden. Ein geeignetes Verfahren ist beispielsweise in DE 196 14 136 A oder DE 195 15 820 A beschrieben.

[0023] Die positiv geladene Schicht oder Beschichtung kann zur Kompensierung der Ladung als auch zur Steigerung der Zelldiskriminierung mit einer weiteren Beschichtung aus vorzugsweise biologisch abbaubaren Polymeren bzw. biodegradierbaren Stoffen überzogen werden.

[0024] Als bioabbaubare Polymere werden vorzugsweise verwendet: Polyvalerolactone, Poly-ε-Decalactone, Polylactonsäure, Polyglycolsäure Polylactide, Polyglycolide, Copolymere der Polylactide und Polyglycolide, Poly-ε-caprolacton, Polyhydroxybuttersäure, Polyhydroxybutyrate, Polyhydroxyvalerate, Polyhydroxybutyrate-covalerate, Poly(1,4-dioxan-2,3-dione), Poly(1,3-dioxan-2-one), Poly-paradioxanone, Polyanhydride wie Polymaleinsäureanhydride, Polyhydroxymethacrylate, Fibrin, Polycyanoacrylate, Polycaprolactondimethylacrylate, Poly-β-Maleinsäure Polycaprolactonbutylacrylate, Multiblockpolymere wie z.B. aus Oligocaprolactondiole und Oligodioxanondiole, Polyetherestermultiblockpolymere wie z.B. PEG und Poly(butylenterephthalat), Polypivotolactone, Polyglycolsäuretrimethylcarbonate Polycaprolactonglycolide, Poly(g-ethylglutamat), Poly(DTH-Iminocarbonat), Poly(DTE-co-DT-carbonat), Poly(bisphenol A-Iminocarbonat), Polyorthoester, Polyglycolsäuretrimethylcarbonate, Polytrimethylcarbonate Polyiminocarbonat, Poly(N-vinyl)-pyrrolidon, Polyvinylalkohole, Polyesteramide, glycolierte

Polyester, Polyphosphoester, Polyphosphazene, Poly[(p-carboxyphenoxy)propan] Polyhydroxypentansäure, Polyanhydride, Polyethylenoxidpropylenoxid, welche Polyurethane, Polyurethane mit Aminosäureresten im Backbone, Polyetherester wie das Polyethylenoxid, Polyalkenoxalate, Polyorthoester sowie deren Copolymere, Lipide, Carrageenane, Fibrinogen, Stärke, Kollagen, protein-basierende Polymere, Polyaminosäuren, synthetische Polyaminosäuren, Zein, modifiziertes Zein, Polyhydroxyalkanoate, Pectinsäure, Actinsäure, modifiziertes und unmodifiziertes Fibrin und Casein, Carboxymethylsulfat, Albumin, Hyaluronsäure, Chitosan und seine Derivate, Heparansulfate und seine Derivate, Heparine, Chondroitinsulfat, Dextran, β-Cyclodextrine, Alginate, Glycosaminoglycane, Saccharide, Polysaccharide, Proteoglykane, Glycoproteine, Copolymere mit PEG und Polypropylenglycol, Gummi arabicum, Guar, Gelatine, Collagen Collagen-N-Hydroxysuccinimid, Lipide, Phospholipide, Modifikationen und Copolymere und/oder Mischungen der vorgenannten Substanzen.

[0025] Insbesondere bevorzugt sind Polymere oder Copolymere auf Basis von α-Hydroxycarbonsäuren wie beispielsweise Polymilchsäure, Polylactide, Polyglycolsäure, Polyglycolide sowie Copolymere davon. Zudem bevorzugt sind Polyole (z.B. Polyethylen glycol) und Polysäure wie z.B. Polyacrylsäuren als auch Kohlenhydrate und Zucker, insbesondere Dextrane.

[0026] In weiteren bevorzugten Ausführungsformen werden die erfindungsgemäßen Nanopartikel ferner noch mit einer dritten Beschichtung versehen bzw. überzogen. Die Beschichtungen können als Schutzhülle, Barrierschicht oder zur Zelldiskriminierung dienen.

[0027] Eine zellspezifische Beschichtung erhöht die Affinität der Nanopartikel zu bestimmten Zellen, beispielsweise zu bestimmten Bakterienzellen oder zu bestimmten Tumorzellen und dient somit der Zelldiskriminierung. Solche zellspezifischen Nanopartikel reichern sich bevorzugt in solchen Zellen an, zu denen sie aufgrund der Funktionalität auf Ihrer Oberfläche eine erhöhte Affinität haben und sind somit tumorspezifisch. Mit dieser Technologie lassen sich beispielsweise tumorspezifische Nanopartikel für bestimmte Krebsarten entwickeln.

[0028] Zur weiteren Affinitätssteigerung bezüglich bestimmter Zellen können auf der Oberfläche der Nanopartikel bzw. auf der äußeren Schicht oder Hülle der Nanopartikel polyklonale, Antikörper, monoklonale Antikörper, humanifizierte Antikörper, humane Antikörper, chimere Antikörper, rekombinante Antikörper, bispezifische Antikörper, Antikörperfragmente, Aptamere, Fab-Fragmente, Fc-Fragmente, Peptide, Peptidomimetika, gap-Mere,

Ribozymes, CpG-Oligomere, DNA-Zyme, Riboswitches und/oder Lipide gekoppelt und/oder angelagert und/oder eingelagert werden. Die Verbindungen sind derart ausgestaltet, dass sie bestimmte Zellen beispielsweise Tumorzellen erkennen und die Zelldiskriminierung der Nanopartikel weiter steigern.

[0029] Die Nanopartikel selbst bestehen vorzugsweise aus einem magnetischen Material, einem ferromagnetischen, antiferromagnetischen, fernmagnetischen, antiferromagnetischen oder superparamagnetischen Material, weiter bevorzugt aus Eisenoxiden, insbesondere superparamagnetischen Eisenoxiden oder aus reinem Eisen, welches mit einer Oxidschicht versehen ist. Derartige Nanopartikel können durch ein magnetisches Wechselfeld erwärmt werden. Eine Erwärmung des die Nanopartikel enthaltenden Gewebes auf über 50°C ist möglich. Derartig hohe Temperaturen können erreicht werden, da bis zu 1000 pg und mehr Eisen in Form der Nanopartikel pro Tumorzelle aufgenommen werden können.

[0030] Die Nanopartikel bestehen vorzugsweise aus Eisenoxiden und insbesondere aus Magnetit (Fe_3O_4), Maghemit ($\text{Y-Fe}_2\text{O}_3$) oder Mischungen dieser beiden Oxide und sind vorzugsweise superparamagnetisch. Allgemein können die bevorzugten Nanopartikel durch die Formel FeO_x wiedergegeben werden, worin X eine Zahl von 1 bis 2 bedeutet. Es besteht aber auch die Möglichkeit, die Nanopartikel in ein nicht magnetisches Material wie beispielsweise Siliziumdioxid (SiO_2) einzulagern (s.u.). Die Nanopartikel weisen vorzugsweise einen Durchmesser von weniger als 500 nm auf. Vorzugsweise besitzen die Nanopartikel einen durchschnittlichen Durchmesser von 15 nm oder liegen vorzugsweise in dem Größenbereich von 1-100 nm und insbesondere bevorzugt im Bereich von 10-20 nm.

[0031] Neben den magnetischen Materialien der Formel FeO_x , worin X eine Zahl im Bereich von 1,0 bis 2,0 ist, sind erfindungsgemäß auch Materialien der allgemeinen Formel $\text{M(II)Fe}_2\text{O}_4$ mit $\text{M} = \text{Co, Ni, Mn, Zn, Cu, Cd, Ba}$ oder andere Ferrite ersetzbar. Der Gehalt an von Eisenatomen verschiedenen Metallatomen beträgt vorzugsweise nicht mehr als 70 Metallatom-%, insbesondere nicht mehr als 35 Metallatom-%. Bevorzugt bestehen die Nanopartikel jedoch zu über 98 Gew.-% aus Eisenoxid, welches sowohl Fe(III) als auch Fe(II) in einem Verhältnis von vorzugsweise 1 zu 1 bis 1 zu 3 enthält. Ferner eignen sich auch Silica- oder Polymerpartikel, in die magnetische Materialien wie beispielsweise die hierin genannten magnetischen Materialien eingelagert und/oder angebunden sind.

[0032] Die verwendeten Nanopartikel -Kerne können auch aus nichtmagnetischen Materialien bestehen. In Frage kommen z.B. Nanopartikel aus Poly-

meren (z.B. PLGA, Polyacrylamid, Polybutylcyanoacrylat), Metallen sowie aus sämtlichen oxidischen Materialien (z.B. $\text{MgO, CaO, TiO}_2, \text{ZrO}_2, \text{SiO}_2, \text{Al}_2\text{O}_3$). Erfindungsgemäß eignet sich jedes Material, dass sich mit den oben beschriebenen Methoden mit tumorspezifischen Hüllen beschichten lässt, da die Endozytosefähigkeit nicht vom Kern der Partikel, sondern von der Hülle abhängt.

[0033] Die Nanopartikel oder nanoskaligen Teilchen besitzen vorzugsweise einen durchschnittlichen Teilchendurchmesser von nicht mehr als 100 nm, bevorzugt nicht mehr als 50 nm und insbesondere bevorzugt nicht mehr als 30 nm. Der mittlere Teilchendurchmesser liegt vorzugsweise bei 1-40 nm, bevorzugt bei 3-30 nm und insbesondere bevorzugt bei 25 nm.

[0034] Derartige Nanopartikel eignen sich überraschenderweise sehr gut zur Einschleusung von therapeutischen Substanzen in bestimmte Zelltypen, wodurch die Wirksamkeit der therapeutischen Substanzen deutlich gesteigert wird. Bei diesen therapeutischen Substanzen handelt es sich erfindungsgemäß um Antikrebsmittel. Zytostatika, zytotoxische Wirkstoffe, antiproliferative Wirkstoffe, antiphlogistische Wirkstoffe, antimigrative Wirkstoffe, antiangiogene Wirkstoffe, antiinflammatorische Wirkstoffe, antibakterielle Wirkstoffe und/oder Mikrotubuli-Inhibitoren sind erfindungsgemäß eingeschlossen, sofern sie Antikrebsmittel sind, oder sie können zusätzlich enthalten sein

[0035] Als zytotoxische und/oder zytostatische Verbindungen, d.h. chemische Verbindungen mit zytotoxischen und/oder zytostatischen Eigenschaften können unter anderem Alkylierungsmittel, Antibiotika mit zytostatischen Eigenschaften, Antimetabolite, Mikrotubuli-Inhibitoren und Topoisomerase-Inhibitoren, Platinenthaltende Verbindungen und andere Zytostatika wie beispielsweise Asparaginase, Tretinoin, Alkaloide, Podophyllotoxine, Taxane und Miltefosin®, Hormone, Immunmodulatoren, monoklonale Antikörper, Signaltransduktoren (Signaltransduktionsmoleküle) und Zytokine eingesetzt werden, sofern sie als Antikrebsmittel wirken

[0036] Als Beispiele für Alkylierungsmittel können unter anderem Chlorethamin, Cyclophosphamid, Trofosfamide, Ifosfamid, Melphalan, Chlorambucil, Busulfan, Thiotepa, Carmustin, Lomustin, Dacarbazin, Procarbazine, Temozolomid, Treosulfan, Estramustin und Nimustin genannt werden.

[0037] Beispiele für Antibiotika mit zytostatischen Eigenschaften sind Daunorubicin als auch liposomales Daunorubicin, Doxorubicin (Adriamycin), Dactinomycin, Mitomycin C, Bleomycin, Epirubicin (4-

Epl-Adrlamycin), Dactinomycin, Mitoxantron und Amsacrin.

[0038] Methotrexat, 5-Fluorouracil, 6-Thioguanin, 6-Mercaptopurin, Fludarabin, Cladribin, Pentostatin, Gemcitabin, Cytarabin, Raltitrexed, Capecitabin, Cytosinarabinosid, Thioguanin und Mercaptopurin können als Beispiele für Antimetabolite (antimetabolische Wirkstoffe) angeführt werden.

[0039] Zu der Klasse der Alkaloide und Podophyllotoxine gehören unter anderem Vincristin, Vinblastin, Vindesin, Etoposid als auch Teniposid. Des Weiteren können Platinenthaltende Verbindungen erfindungsgemäß eingesetzt werden. Als Platinenthaltende Verbindungen seien beispielsweise Cisplatin, Carboplatin und Oxaliplatin genannt. Zu den Mikrotubuli-Inhibitoren zählen beispielsweise Alkaloide wie beispielsweise Vinca-Alkaloide (Vincristin, Vinblastin, Vindesin, Venorelbin) und Paclitaxel (Taxol®) sowie Derivate des Paclitaxel. Als Topoisomerase-Inhibitoren können beispielsweise Etoposid, Teniposid, Camptothecin, Topotecan und Irinotecan genannt werden.

[0040] Paclitaxel und Docetaxel sind Beispiele für die Verbindungsklasse der Taxane und zu den anderen zytostatischen Wirkstoffen (anderen Zytostatika) zählen beispielsweise Hydroxycarbamide (Hydroxyurea), Imatinib, Miltefosin®, Amsacrin, Topotecan (Topoisomerase-I-Inhibitor), Pentostatin, Bexaroten, Tretinoin und Asparaginase. Vertreter der Verbindungsklasse der monoklonalen Antikörper sind unter anderem Trastuzumab (auch bekannt als Herceptin®), Alemtuzumab (auch bekannt als MabCampath®) und Rituximab (auch bekannt als MabThera®).

[0041] Erfindungsgemäß können auch Hormone wie beispielsweise Glucocorticoide (Prednison), Oestrogene (Fosfestrol, Estramustin), LHRH (Buserelin, Goserelin, Leuprorelin, Triptorelin), Flutamid, Cyproteronacetat, Tamoxifen, Toremifen, Aminoglutethimid, Formestan, Exemestan, Letrozol und Anastrozol eingesetzt werden. Zu den Klassen der Immunmodulatoren, Zytokine, Antikörper und Signaltransduktoren zählen Interleukin-2, Interferon- α , Erythropoietin, G-CSF, Trastuzumab (Herceptin®), Rituximab (MabThera®), Efitinib (Iressa®), Ibritumomab (Zevalin®), Levamisol sowie Retinoide.

[0042] Als weitere mögliche therapeutische Substanzen sind zu nennen: Actinomycin D, Aminoglutethimid, Anthracycline, Aromatasehemmer, Antiöstrogene, Buserelin, Folsäureantagonisten, Goserelin, Hormonantagonisten, Hycamtin, Hydroxyharnstoff, Letrozol, Mitosehemmstoffe, Tamoxifen, Testolacton, Sirolimus (Rapamycin), Everolimus, Pimecrolimus, Somatostatin, Tacrolimus, Roxithromycin, Daunomycin, Ascomycin, Bafilomycin, Erythromycin,

Midecamycin, Josamycin, Concanamycin, Clarithromycin, Troleandomycin, Folimycin, Cerivastatin, Simvastatin, Lovastatin, Fluvastatin, Rosuvastatin, Atorvastatin, Pravastatin, Pitavastatin, 4-Hydroxyoxycyclophosphamid, Tropfosfamid, Bendamustin, Thymosin α -1, Aclarubicin, Fludarabin-5'-dihydrogenphosphat, Antagonisten von Purin- und Pyrimidin-Basen, Hydroxycarbamid, Aldesleukin, Pegasparsase, Letrozol, Aminoglutethimid, Adriamycin, Azithromycin, Spiramycin, Cepharantin, Epothilone A und B, Mitoxanthrone, Azathioprin, Mycophenolatmofetil, c-myc-Antisense, b-myc-Antisense, Betulin-säure, Camptothecin, Camptothecin-Derivate, Melanocytestimulating hormon (α -MSH), aktiviertes Protein C, IL1 β -Inhibitor, Fumarsäure und deren Ester, Dermicidin, Calcipotriol, Tacalcitol, Lapachol, β -Lapachon, Podophylotoxin, Betulin, Podophyllsäure-2-ethylhydrazid, Molgramostim (rhuGM-CSF), Peginterferon α -2b, Lanograstim (r-HuG-CSF), Filgrastim, Macrogol, Dacarbazin, Letrozol, Cephalomannin, Trastuzumab, Exemestan, Basiliximab, Daclizumab, Selectin (Cytokinantagonist), CETP-Inhibitor, Cadherine, Cytokininhibitoren, COX-2-Inhibitor, NF κ B, Angiopeptin, Ciprofloxacin, Camptothecin, Fluroblastin, bFGF-Antagonisten, Probuco, Prostaglandine, 1,11 - Dimethoxycanthin-6-on, 1-Hydroxy-11 -Methoxycanthin-6-on, Scoplectin, Colchicin, NO-Donoren, Pentaerythryltetranitrat, Syndnoeimine, S-Nitrosoderivate, Tamoxifen, Stauroporin, β -Estradiol, α -Estradiol, Estriol, Estron, Ethinylestradiol, Fosfestrol, Medroxyprogesteron, Estradiolcypionate, Estradiolbenzoate, Tranilast, Kamebakaurin, Verapamil, Tyrosin-Kinase-Inhibitoren (Tyrphostine), Cyclosporin A, Paclitaxel und dessen Derivate wie 6- α -Hydroxy-Paclitaxel, Baccatin, Taxotere, Mofebutazon, Acemetacin, Diclofenac, Lonazolac, Dapson, o-Carbamoylphenoxyessigsäure, Lidocain, Ketoprofen, Mefenaminsäure, Piroxicam, Meloxicam, Chloroquinphosphat, Penicillamin, Hydroxychloroquin, Auranofin, Natriumaurothiomalat, Oxaceprol, Celecoxib, β -Sitosterin, Ademetonin, Myrtecin, Polidocanol, Nonivamid, Levomenthol, Benzocain, Aescin, Ellipticin, D-24851 (Calbiochem), Colcemid, Cytochalasin A-E, Indanocine, Nocardazol, Bacitracin, Vitronectin-Rezeptor Antagonisten, Azelastin, freie Nukleinsäuren, Nukleinsäuren in Virenüberträger inkorporiert, DNA- und RNA-Fragmente, Plasminogen-Aktivator Inhibitor-1, Plasminogen-Aktivator Inhibitor-2, Antisense Oligonucleotide, VEGF-Inhibitoren, IGF-1, Wirkstoffe aus der Gruppe der Antibiotika wie Cefadroxil, Cefazolin, Cefaclor, Cefotixin, Tobramycin, Gentamycin, Penicilline, Dicloxacillin, Oxacillin, Sulfonamide, Metronidazol, Antithrombotika, Argatroban, Aspirin, Abciximab, synthetisches Antithrombin, Bivalirudin, Coumadin, Enoxoparin, GpIIb/IIIa-Plättchenmembranrezeptor, Faktor X $_a$ -Inhibitor Antikörper, Heparin, Hirudin, r-Hirudin, PPACK, Protamin, Prourokinase, Streptokinase, Warfarin, Urokinase, Vasodilatoren, Dipyridol, Trapidil, Nitroprusside,

PDGF-Antagonisten, Triazolopyrimidin, Seramin, ACE-Inhibitoren, Captopril, Cilazapril, Lisinopril, Enalapril, Losartan, Thioproteaseinhibitoren, Prosta-cyclin, Vapiprost, Interferon α , β und γ , Histaminan-tagonisten, Serotoninblocker, Apoptoseinhibitoren, Apoptoseregulatoren, NF- κ B oder Bcl-xL-Antisense-Oligonukleotide, Halofuginon, Nifedipin, Tocopherol Tranirast, Molsidomin, Teepolyphenole, Epicatechin-gallat, Epigallocatechingallat, Boswellinsäuren und ihre Derivate, Leflunomid, Anakinra, Etanercept, Sul-fasalazin, Etoposid, Dicloxacyllin, Tetracyclin, Triam-cinolon, Mutamycin, Procainimid, Retinolsäure, Qui-nidin, Disopyrimid, Flecainid, Propafenon, Sotolol, Amidoron., natürliche und synthetisch hergestellte Steroide wie Bryophyllin A, Inotodiol, Maquirosid A, Ghalakinosid, Mansonin, Streblosid, Hydrocortison, Betamethason, Dexamethason, Fenopofen, Ibupro-fen, Indomethacin, Naproxen, Phenylbutazon, Acyclovir, Ganciclovir, Zidovudin, Antimykotika, Clot-rimazol, Flucytosin, Griseofulvin, Ketoconazol, Mico-nazol, Nystatin, Terbinafin, Chloroquin, Mefloquin, Quinin, natürliche Terpene, Hippocaesculin, Bar-ringtogenol-C21-angelat, 14-Dehydroagrostistachin, Agroskerin, Agrostistachin, 17-Hydroxyagrostista-chin, Ovatodiolide, 4,7-Oxycycloanisomelsäure, Baccharinoide B1, B2, B3 und B7, Tubeimosid, Bru-ceanole A, B und C, Bruceantinoside C, Yadanzi- side N, und P, Isodeoxyelephantopin, Tomenphan-topin A und B, Coronarin A, B, C und D, Ursolsäure, Hyptatsäure A, Zeorin, Iso-Iridogermanal. Maytenfo-liol, Effusantin A, Excisanin A und B, Longikaurin B, Sculponeatin C, Kamebaunin, Leukamenin A und B, 13,18-Dehydro-6- α -Sene- cioyloxychaparrin, Taxamairin A und B, Regenilol, Triptolid, Cymarin, Apocymarin, Aristolochsäure, Anopterin, Hydroxya-nopterin, Anemonin, Protoanemonin, Berberin, Che-liburinchlorid, Cictoxin, Sinococulin, Combretastatin A und B, Cudraisoflavon A, Curcumin, Dihydronitidin, Nitidinchlorid, 12- β -Hydroxyp- regnadien-3,20-dion, Bilobol, Ginkgol, Ginkgolsäure, Helenalin, Indi-cin, Indicin-N-oxid, Lasiocarpin, , Glykosid 1a, Podo-phyllotoxin, Justicidin A und B, Larreatin, Malloterin, Mallotochromanol, Isobutyrylmallotochromanol, Maquirosid A, Marchantin A, Maytansin, Lycoridicin, Margetin, Pancratistatin, Liriodenin, Bisparthenolidin, Oxoushinsunin, Aristolactam-All, Bisparthenolidin, Periplocosid A, Ursolsäure, Deoxyyporospermin, Psycorubin, Ricin A, Sanguinarin, Manwuweizsäure, Methylsorbifolin, Sphatheliachromen, Stizophyllin, Mansonin, Streblosid, Akagerin, Dihydrousamba-raensin, Hydroxyusambarin, Strychnopentamin, Strychnophyllin, Usambarin, Usambarensin, Berbe-rin, Liriodenin, Oxoushinsunin, Daphnoretin, Laricire-sinol, Methoxylariciresinol, Syringaresinol, Umbelli-feron, Aframosin, , Acetylvismion B, Desacetylvismion A, Vismion A und B.

[0043] Erfindungswesentlich ist somit, dass die min-destens eine therapeutisch wirksame Substanz mit zellgängigen Nanopartikeln, die von Tumorzellen in

hohem Maße durch Endozytose aufgenommen wer-den, verabreicht wird. Nanopartikel, wie sie bei-spielsweise auch in der DE 197 26 282 A beschrie-ben sind, werden von Tumorzellen im Vergleich zu Normalzellen vermehrt aufgenommen. Wie durch in-vitro Untersuchungen mit Eisenoxid- Nanoparti-keln gezeigt werden konnte, werden in bestimmten Tumorzelllinien mehr als 1000 pg/Zelle Eisen in Form von Nanopartikeln aufgenommen. Dabei wer-den die Nanopartikel großvolumig in die Zellen ein-geschleust, wie durch Elektronenmikroskopieunter-suchungen gezeigt werden konnte. Überraschend wurde nun durch in-vitro-Untersuchungen festge-stellt, dass die Verabreichung von pharmazeutischen Zusammensetzungen aus diesen Nanopartikeln und mindestens einer therapeutisch wirksamen Sub-stanz, insbesondere eines Zytostatikums oder Anti-krebsmittels, zu einer Wirksamkeitssteigerung der verabreichten Substanz führt. Dieser Effekt wurde auch beobachtet, wenn keine Bindung (kovalent, ionisch oder adsorptiv) zwischen den Nanopartikeln und dem Zytostatikum vorliegt. Eine Bindung zwis-chen Zytostatikum und Nanopartikel beeinflusst diese Ergebnisse nur dann, wenn das Zytostatikum durch die Bindungsreaktion seine Wirksamkeit ver-liert, oder wenn die Bindung so fest ist, dass nach intrazellulärer Aufnahme keine Freisetzung des Zyo-statikums erfolgen kann.

[0044] Somit eignen sich die pharmazeutischen Zusammensetzungen aus den besagten Nanoparti-keln und mindestens einer therapeutisch wirksamen Substanz hervorragend zur Prophylaxe und Behand-lung von Krebserkrankungen, Geschwüren, Tumoren, Karzinomen sowie in der Proliferation gestörten Zellen.

[0045] Als Beispiele für Krebs- und Tumorarten, bei denen die erfindungsgemäßen Zusammensetzun-gen aus Nanopartikel und therapeutischer Substanz eingesetzt werden können, sind zu nennen: Adeno-karzinome, Aderhautmelanom, Akute Leukämie, Akustikusneurinom, Ampullenkarzinom, Analkarzi-nom, Astrozytome, Basaliom, Bauchspeicheldrüsen-krebs, Bindegewebstumour, Blasenkrebs, Bronchial-karzinom, Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom, Brustkrebs, Burkitt-Lymphom, Corpuskarzinom, CUP-Syndrom, Dickdarmkrebs, Dünndarmkrebs, Dünndarmtumore, Eierstockkrebs, Endometriumkar-zinom, Ependymom, Epithel-Krebsarten, Ewing-Tumoren, Gastrointestinale Tumoren, Gallenblasen-krebs, Gallenkarzinome, Gebärmutterkrebs, Gebär-mutterhalskrebs, Glioblastome, Gynäkologische Tumoren, Hals-, Nasen- und Ohrentumoren, Häma-tologische Neoplasien, Haarzell-Leukämie, Harnröh-renkrebs, Hautkrebs, Hirntumoren (Gliome), Hirnme-tastasen, Hodenkrebs, Hypophysentumor, Karzinoie, Kaposi-Sarkom, Kehlkopfkrebs, Keimzel-lentumor, Knochenkrebs, kolorektales Karzinom, Kopf-Hals-Tumore (Tumore des Hals- Nasen- und

Ohrenbereichs), Kolonkarzinom, Kraniopharyngeome, Krebs im Mundbereich und auf der Lippe, Leberkrebs, Lebermetastasen, Leukämie, Lidtumor, Lungenkrebs, Lymphdrüsenkrebs (Hodgkin/Non-Hodgkin), Lymphome, Magenkrebs, Malignes Melanom, malignes Neoplasma, Malignome des Magen-Darm-Traktes, Mammakarzinom, Mastdarmkrebs, Medulloblastome, Melanom, Meningeome, Morbus Hodgkin, Mycosis fungoides, Nasenkrebs, Neurinom, Neuroblastom, Nierenkrebs, Nierenzellkarzinome, Non-Hodgkin-Lymphome, Oligodendrogliom, Ösophaguskarzinom, osteolytische Karzinome, u. osteoplastische Karzinome, Osteosarkom, Ovarialkarzinom, Pankreaskarzinom, Peniskrebs, Plasmozytom, Plattenepithelkarzinome des Kopfes und Halses, Prostatakrebs, Rachenkrebs, Rektumkarzinom, Retinoblastom, Scheidenkrebs, Schilddrüsenkarzinom, Schneeberger Krankheit, Speiseröhrenkrebs, Spinaliom, T-Zell-Lymphom (Mycosisfungoides), Thymom, Tubenkarzinom, Tumoren des Auges, Urethrakrebs, Urologische Tumoren, Urothelkarzinom, Vulvakrebs, Warzenbeteiligung, Weichteiltumoren, Weichteilsarkom, Wilms Tumor, Zervixkarzinom und Zungenkrebs.

[0046] Bevorzugt sind insbesondere solide Tumoren. Ferner sind bevorzugt Prostatakarzinome, Gehirntumore, Sarkome, Zervix-Karzinome, Ovarialkarzinome, Mammakarzinome, Bronchialkarzinome, Melanome, Kopf-Hals Tumore, Ösophaguskarzinome, Rektumkarzinome, Pankreas-, Blasen- und Nierenkarzinome, Metastasen der Leber, des Gehirns und in Lymphknoten.

[0047] Insbesondere bevorzugt ist ferner die Anwendung und der Einsatz der pharmazeutischen Zusammensetzungen zusammen mit der konventionellen Hyperthermie, Magnetflüssigkeitshyperthermie bzw. Thermotherapie mit magnetischen Flüssigkeiten, Strahlentherapie und/oder zusammen mit der herkömmlichen Chemotherapie. Die Zusammensetzungen unterstützen somit vorzugsweise auch die konventionellen Krebsbehandlungsmethoden.

[0048] Demgemäß ist die vorliegende Erfindung auch auf Kombinationen pharmazeutischer Zusammensetzung und Hyperthermie, Thermotherapie, Strahlentherapie und/oder Chemotherapie gerichtet.

[0049] Als Beispiel für eine derartige Kombination sei die Verwendung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zusammen mit der Magnetflüssigkeitshyperthermie bzw. Thermotherapie mit magnetischen Flüssigkeiten genannt. Dabei wirkt ein wechselndes Magnetfeld als externe Anregung, die im Falle von superparamagnetischen Nanopartikeln verschiedene Relaxationsprozesse der Nanopartikel in Gang setzt. Diese Prozesse führen u.A. zu einer Erwärmung der Nanopartikel und ihrer Umgebung.

Diese durch das magnetische Wechselfeld in Gang gesetzte Prozesse werden erfindungsgemäß dazu benutzt, die entarteten Zellen zu erwärmen, wodurch die therapeutisch wirksame Substanz noch schneller zu einer Abtötung dieser Zelle führen kann.

[0050] Somit werden die pharmazeutischen Zusammensetzungen für die Behandlung als auch zur Prophylaxe von Krankheiten eingesetzt, welche sich durch entartete Zellspeziesauszeichnen und bei denen die Eigenschaften der erfindungsgemäßen Nanopartikel ausgenutzt werden können, zum einen zwischen entarteten Zellen und gesunden körpereigenen Zellen zu diskriminieren und zum anderen therapeutisch wirksame Substanzen in diese Zellen einzuschleusen. Als entartete Zellen gelten insbesondere Krebszellen bzw. in ihrer Proliferation gestörte Zellen.

[0051] Durch die Eigenschaft der Nanopartikel, Wirkstoffe in entartete Zellen einschleusen zu können, wird die Wirksamkeit dieser Wirkstoffe gesteigert. Kombiniert man zudem die Applikation der pharmazeutischen Zusammensetzung umfassend Nanopartikel und therapeutisch wirksame Substanz mit der Strahlentherapie oder Chemotherapie oder der Hyperthermie oder Hyperthermie und Chemotherapie oder Hyperthermie und Strahlentherapie, dann kann die Effektivität der Behandlung ein weiteres Mal gesteigert werden.

[0052] Erfindungsgemäß wird somit die Effektivität der Wirkstoffe infolge einer erhöhten lokalen, lokoregionalen oder intrazellulären Wirkstoffkonzentration gesteigert und die systemische Toxizität sowie Nebenwirkungen der therapeutisch wirksamen Substanz gemindert.

Figurenliste

Fig. 1 zeigt RUSIRS1 Zellen 3h nach Zugabe von Mitomycin in 0,9% NaCl

Fig. 2 zeigt RUSIRS1 Zellen 3h nach Zugabe von Mitomycin in 0,9% NaCl + Nanopartikel

Fig. 3 zeigt RUSIRS1 Zellen 24h nach Zugabe von Mitomycin in 0,9% NaCl

Fig. 4 zeigt RUSIRS1 Zellen 24h nach Zugabe von Mitomycin in 0,9% NaCl + Nanopartikel

Fig. 5 zeigt RUSIRS1 Zellen 48h nach Zugabe von Mitomycin in 0,9% NaCl

Fig. 6 zeigt RUSIRS1 Zellen 48h nach Zugabe von Mitomycin in 0,9% NaCl + Nanopartikel

Fig. 7 zeigt RUSIRS1 Zellen 48h (Kontrolle)

Ausführungsbeispiel

Beispiel 1:

Wirksamkeitssteigerung des Zytostatikums
Mitomycin (in-vitro)

[0053] Die Steigerung der Wirksamkeit von Mitomycin zur Bekämpfung von Tumorzellen ließ sich durch in-vitro Untersuchungen belegen. Die in-vitro Untersuchungen wurden mit der Glioblastom-Human-Zelllinie RUSIRS1 (Hirntumor) durchgeführt. Die Glioblastomzellen wurden wie in DE 199 12 798 C1 beschrieben aus dem Tumorgewebe eines Patienten entnommen und kultiviert. Zur Testung der Wirksamkeit des Mitomycin/Nanopartikel-Gemisches wurden jeweils 2×10^6 RUSIRS1 Zellen in einer 75 qcm Zellkulturflasche mit 25 ml Zellkulturmedium (D-MEM + 20% FBS + 1,2 ml Pyruvat) angesetzt. Zu dieser Zellsuspension wurden 136 μ l Magnetflüssigkeit MFL AS M01 (Eisenoxid-Nanopartikel mit einer Beschichtung aus polykondensiertem N-(2-Aminoethyl)-3-(trimethoxysilyl)propylamin, Hersteller: MagForce Nanotechnologies GmbH, Berlin) ($c_{Fe} = 2$ mol/l) und 390 μ l Mitomycin-Lsg. (1 mg/ml in 0.9% NaCl) gegeben. Die Proben wurden vor der Zugabe zu den Zellen für 15 Minuten auf 37°C erwärmt und 10 Minuten bei RT stehen gelassen. Eine Vergleichsprobe mit Mitomycin, aber ohne Nanopartikel wurde auf die gleiche Weise angesetzt.

[0054] Der Einfluss der Nanopartikel auf die Wirksamkeit des Mitomycins lässt sich anhand der **Abb. 1- Abb. 6** erläutern. Zellen, die nur mit einer Mitomycin-Lsg. versetzt worden sind, zeigen erst nach 48 Stunden Inkubationszeit eine deutliche Schädigung. Im Gegensatz dazu zeigen Zellen, die mit dem Zytostatikum und den Partikeln inkubiert wurden, eine deutliche Schädigung schon nach 3 Stunden. Die Aufnahme der Eisenoxid-Nanopartikel in die Zellen lässt sich anhand der Braunfärbung der Zelle belegen. Vergleichsversuche haben gezeigt, dass die Nanopartikel alleine (ohne Mitomycin) ebenfalls aufgenommen werden, aber nicht zu einer derart hohen Zellschädigung führen. Eine schnelle Zellschädigung (nach 3h) tritt also nur auf, wenn Partikel und Mitomycin gleichzeitig vorhanden sind. Durch die Endozytose der Partikel wurde also auch Mitomycin eingeschleust, was zu der signifikanten Zellschädigung führte.

Patentansprüche

1. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren zur Prophylaxe und/oder zur Behandlung von Krebs- oder Tumorerkrankungen, wobei die Nanopartikel mit einem Antikrebsmittel verabreicht werden, so dass die Nanopartikel und das Antikrebsmittel gleichzeitig in dem Patientenkörper anwesend sind, wobei die Nanopartikel eine positive Oberflä-

chenladung aufweisen und wobei die Nanopartikel und das Antikrebsmittel getrennt verabreicht werden.

2. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Nanopartikel eine Beschichtung aus positiv polarisierbaren und/oder positiv ionisierbaren Stoffen aufweisen.

3. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die positiv polarisierbaren und/oder positiv ionisierbaren Stoffe Aminogruppen und/oder Stickstoffatome aufweisen.

4. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, wobei die Beschichtung mit einer Schutzschicht überzogen ist, welche die positiven Ladungen kompensiert oder sogar überkompensiert.

5. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 4, wobei die Beschichtung aus biologisch stabilen oder biologisch inerten oder biostabilen Substanzen besteht, bevorzugt aus Polymeren, insbesondere aus polykondensierten Aminosilanen, bevorzugt aus 3-Aminopropyltriethoxysilan, 2-Aminoethyl-3-aminopropyltrimethoxysilan, Trimethoxysilylpropyldiethylentriamin oder N-(6-Aminohexyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan.

6. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 5, wobei die Nanopartikel eine Beschichtung aus polykondensierten Aminosilanen und optional eine weitere die positiven Ladungen kompensierende Carboxylatgruppen aufweisende äußere Beschichtung aufweisen.

7. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei die Nanopartikel aus einem magnetischen Material bestehen, bevorzugt aus einem ferromagnetischen, antiferromagnetischen, ferrimagnetischen, antiferrimagnetischen oder superparamagnetischen Material.

8. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei die Nanopartikel aus Eisenoxid, Magnetit, Maghemit oder $M(II)Fe_2O_4$ bestehen, worin M für Zn, Cu, Co, Ni, Cd, Ba oder Mn steht.

9. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei die Nanopartikel in einer zur Injektion oder Infusion geeigneten Formulierung vorliegen.

10. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche,

wobei die Nanopartikel im Rahmen einer Hyperthermie, Magnetflüssigkeitshyperthermie, Thermotherapie mit magnetischen Flüssigkeiten, Strahlentherapie und/oder Chemotherapie eingesetzt werden.

11. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei es sich bei dem Antikrebsmittel um ein Zytostatikum, zytotoxischen Wirkstoff, antiproliferativen Wirkstoff, antiphlogistischen Wirkstoff, antimigrativen Wirkstoff, antiangiogenen Wirkstoff, antiinflammatorischen Wirkstoff, antibakteriellen Wirkstoff oder um einen Mikrotubuli-Inhibitor handelt.

12. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei das Antikrebsmittel ausgewählt wird aus der Gruppe umfassend, Aminoglutethimid, Amsacrin, Anastrozol, Antagonisten von Purin- und Pyrimidin-Basen, Anthracycline, Aromatasehemmer, Asparaginase, Antiöstrogene, Bexaroten, Bleomycin, Buserelin, Busulfan, Camptothecin, Camptothecin-Derivate, Capecitabin, Carboplatin, Carmustin, Chlorambucil, Cisplatin, Cladribin, Cyclophosphamid, Cytarabin, Cytosinarabinosid, alkylierende Cytostatika, Dacarbazin, Dactinomycin, Daunorubicin, Docetaxel, Doxorubicin, Doxorubicin lipo, Epirubicin, Estramustin, Etoposid, Exemestan, Fludarabin, Fluorouracil, Folsäureantagonisten, Formestan, Gemcitabin, Goserelin, Hormone und Hormonantagonisten, Hycamtin, Hydroxyharnstoff, Idarubicin, Ifosfamid, Imatinib, Irinotecan, Letrozol, Leuprorelin, Lomustin, Melphalan, Mercaptopurin, Methotrexat, Mitomycine, Mitosehemmstoffe, Mitoxantron, Nimustin, Oxaliplatin, Pentostatin, Procarbazine, Tamoxifen, Temozolomid, Teniposid, Testolacton, Thiotepe, Thioguanin, Topoisomerase-Inhibitoren, Topotecan, Treosulfan, Tretinoin, Triptorelin, Trofosfamid, Vinblastin, Vincristin, Vindesin, Vinorelbin, zytostatisch wirksame Antibiotika, Somatostatin, Daunomycin, Bafilomycin, 4-Hydroxyoxycyclophosphamid, Bendamustin, Thymosin α -1, Aclarubicin, Fludarabin-5'-dihydrogenphosphat, Hydroxycarbamid, Aldesleukin, Pegasparase, Adriamycin, Cefarantin, Epothilone A und B, c-myc-Antisense, b-myc-Antisense, Betulinsäure, Melanocyte-stimulating hormon (α -MSH), Lapachol, β -Lapachon, Podophyllotoxin, Podophyllsäure-2-ethylhydrazid, Peginterferon α -2b, Lanograstim (r-HuG-CSF), Filgrastim, Chephalomannin, Trastuzumab, Daclizumab, Angiopeptin, Ciprofloxacin, Fluroblastin, bFGF-Antagonisten, 1,11-Dimethoxycanthin-6-on, 1-Hydroxy-11-Methoxycanthin-6-on, Scopolectin, Colchicin, Staurosporin, β -Estradiol, α -Estradiol, Estriol, Estron, Ethinyloestradiol, Fosfestrol, Medroxyprogesteron, Estradiolcypionate, Estradiolbenzoate, Kamebakaurin, Tyrosin-Kinase-Inhibitoren (Tyrphostine), Cyclosporin A, Paclitaxel und dessen Derivate wie 6- α -Hydroxy-Paclitaxel, Baccatin, Taxotere, Ellipticin, D-24851 (Calbiochem), Colce-

mid, Cytochalasin A-E, Indanocine, Nocadazol, Vironectin-Rezeptor Antagonisten, freie Nukleinsäuren, Nukleinsäuren in Virenüberträger inkorporiert, DNA- und RNA-Fragmente, Plasminogen-Aktivator Inhibitor-1, Plasminogen-Aktivator Inhibitor-2, Antisense Oligonucleotide, VEGF-Inhibitoren, IGF-1, Interferon α , β und γ , oder Bcl-xL-Antisense-Oligonukleotide, Halofuginon, Nifedipin, Tocopherol Tee-polyphenole, Epicatechingallat, Epigallocatechingallat, Boswellinsäuren und ihre Derivate, Mutamycin, Retinolsäure, natürliche und synthetisch hergestellte Steroide wie Bryophyllin A, Inotodiol, Maquirosid A, Ghalakinosid, Mansonin, Streblosid, Hippocaeuslin, Barringtogenol-C21-angelat, 14-Dehydroagrostistachin, Agroskerin, Agrostistachin, 17-Hydroxyagrostistachin, Ovatodiolide, 4,7-Oxycycloanisomelsäure, Baccharinoide B1, B2, B3 und B7, Tubeimosid, Bruceanole A, B und C, Bruceantinoside C, Yadanziösode N, und P, Isodeoxyelephantopin, Tomenphantopin A und B, Coronarin A, B, C und D, Ursolsäure, Hyptatsäure A, Zeorin, Iso-Iridogermanal. Maytenfoliol, Effusantin A, Longikaurin B, Sculponeatin C, Kamebaunin, Leukamenin A und B, 13,18-Dehydro-6- α -Seneciolyoxychapparrin, Taxamairin A und B, Regenilol, Triptolid, Anopterin, Hydroxyanopterin, Berberin, Cheliburinchlorid, Cictoxin, Sinococulin, Combretastatin A und B, Cudraisoflavon A, Dihydranonitidin, Nitidinchlorid, 12- β -Hydroxypregnadien-3,20-dion, Bilobol, Helenalin, Indicin, Indicin-N-oxid, Lasiocarpin, Justicidin A und B, Larreatin, Malloterin, Mallotochromanol, Isobutyrylmallotochromanol, Marchantin A, Maytansin, Lycoridicin, Margetin, Pancreatistatin, Liriodenin, Oxoushinsunin, Aristolactam-AII, Bisparthenolidin, Deoxyprospermin, Psycorubin, Ricin A, Sanguinarin, Manwuweizsäure, Methylsorbifolin, Sphatheliachromen, Stizophyllin, Akagerin, Dihydrousambarensin, Hydroxyusambarin, Strychnopentamin, Strychnophyllin, Usambarin, Usambarensin, Daphnoretin, Lariciresinol, Methoxyariciresinol, Syringaresinol, Afromosin, Acetylvismion B, Desacetylvismion A, Vismion A und B.

13. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei die Tumorerkrankung ein solider Tumor ist, bevorzugt Prostatakarzinome, Gehirntumore, Sarkome, Zervix-Karzinome, Ovariarkarzinome, Mammakarzinome, Bronchialkarzinome, Melanome, Kopf-Hals Tumore, Ösophaguskarzinome, Rektumkarzinome, Pankreas-, Blasen- und Nierenkarzinome, Metastasen der Leber, des Gehirns und in Lymphknoten.

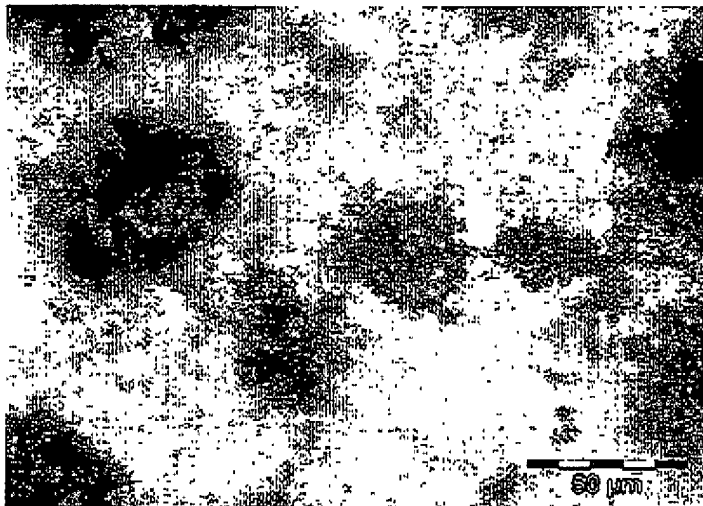
14. Nanopartikel zur Anwendung in einem Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei die Nanopartikel eine Affinität zu entarteten Zellen aufweisen.

Es folgen 4 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



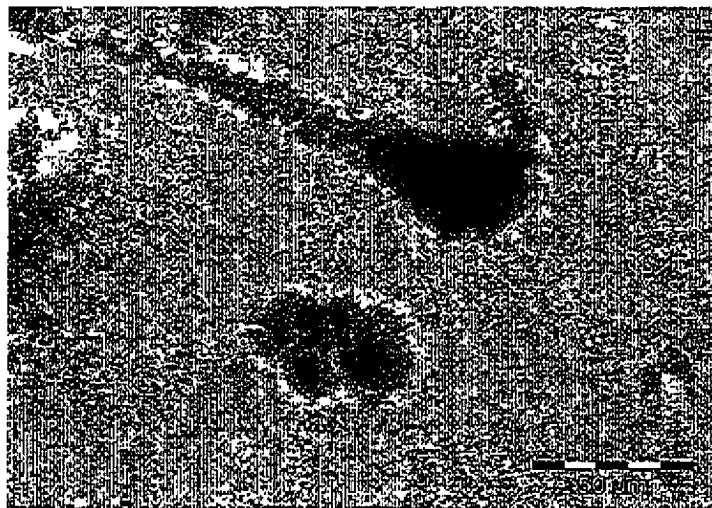
Figur 1



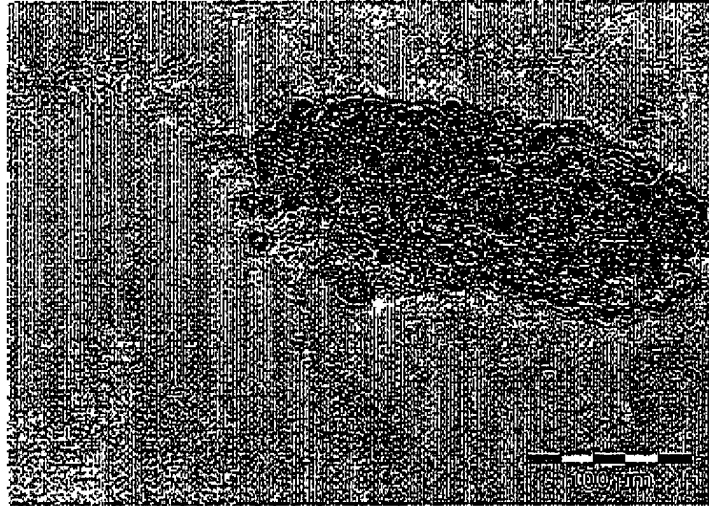
Figur 2



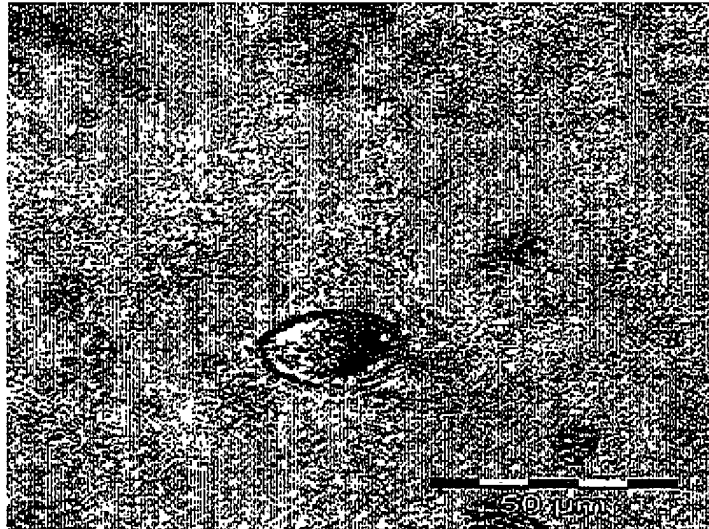
Figur 3



Figur 4



Figur 5



Figur 6



Figur 7