(19) Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2010 056 443 A1** 2012.06.28

(12) # Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2010 056 443.5**
(22) Anmeldetag: **28.12.2010**
(43) Offenlegungstag: **28.06.2012**

(51) Int Cl.: ***C07D 487/22*** (2006.01)
A61K 31/409 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(71) Anmelder:
Universität Bremen, 28359, Bremen, DE

(74) Vertreter:
BOEHMERT & BOEHMERT, 28209, Bremen, DE

(72) Erfinder:
Montfords, Franz-Peter, Prof. Dr., 28865, Lilienthal, DE; Bauer, Daniela, 28215, Bremen, DE

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:

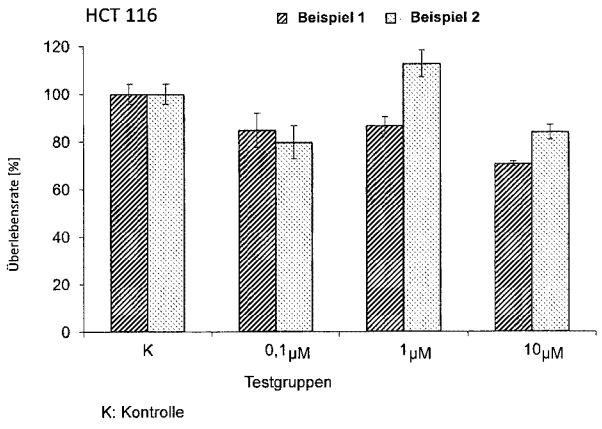
WO 02/ 096 366 A2
WO 2006/ 005 924 A1

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Chlorin-Derivate und deren Verwendung**

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft Chlorin-Derivate und deren Verwendung in der photodynamischen Tumortherapie.



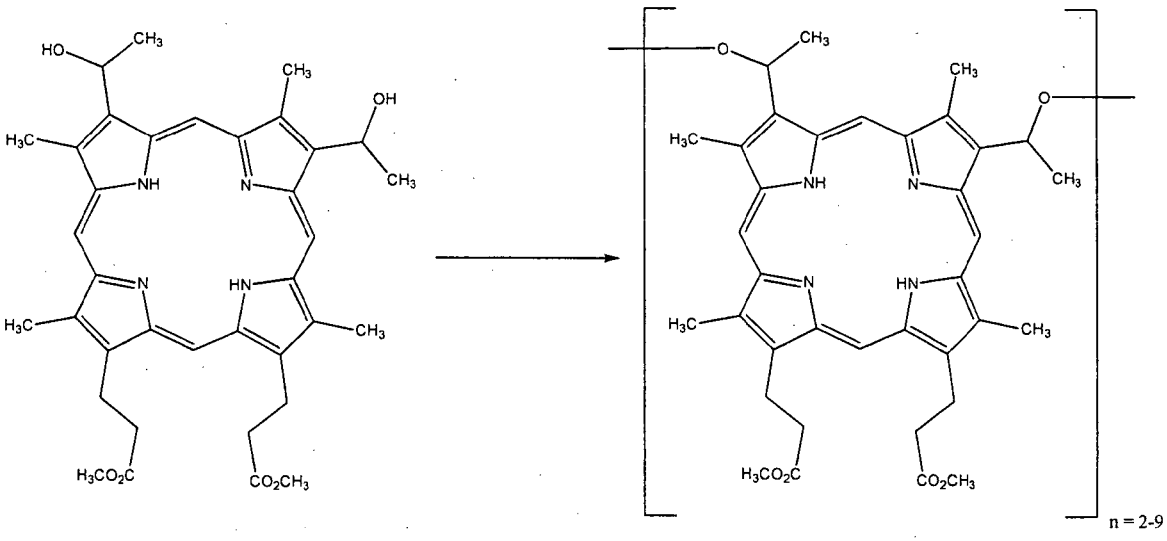
Beschreibung

[0001] Die photodynamische Tumortherapie (PDT) ist eine Photochemotherapie, die sowohl der Diagnostik als auch der Behandlung von Tumoren dient. Das Prinzip beruht auf der selektiven Anreicherung von Photosensibilisatoren (PS) – spezielle lichtabsorbierende Phototherapeutika – im Tumorgewebe, welche bei Bestrahlung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge in Gegenwart von Sauerstoff in einer photochemischen Reaktion zytotoxischen Singulett-Sauerstoff bilden. Dieser reagiert mit den Zellbestandteilen, was zur Zerstörung der Zelle führt. Der Wirkungsprozess ist folglich nur dann möglich, wenn die drei Faktoren Licht, Photosensibilisator und Sauerstoff zusammenkommen.

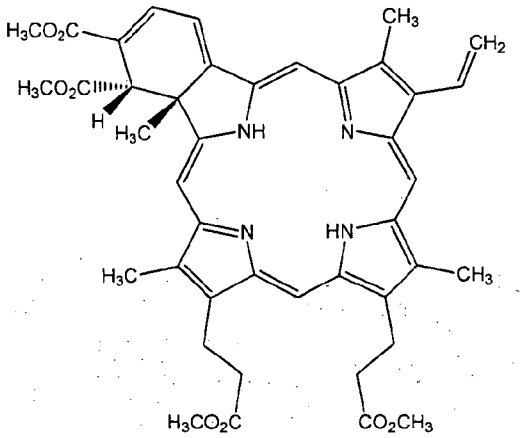
[0002] Photosensibilisatoren sind Moleküle, welche im sichtbaren Bereich des Lichtsprektrums absorbieren. Ihre photodynamische Aktivität ist nicht auf bestimmte Strukturen begrenzt, jedoch gibt es Chromophore, die sich im Stand der Technik bereits bewährt haben. Geeignete Mole kille sind beispielsweise Porphyrine und Chlorine.

[0003] EP 0 459 200 A2 und US 2003/0004334 A1 beschreiben als Photosensibilisatoren geeignete Chlorin-Derivate.

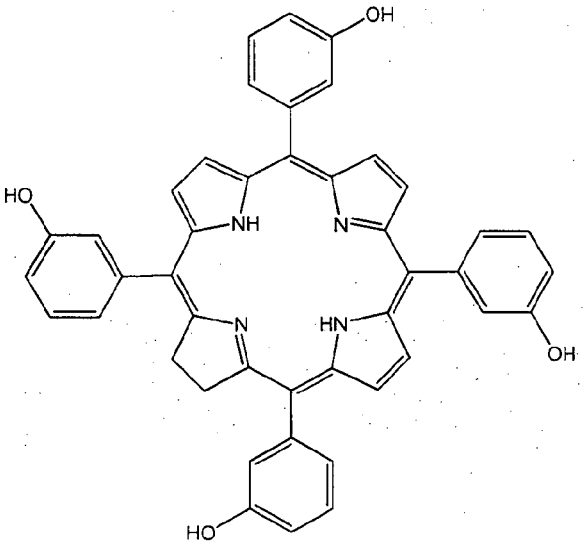
[0004] Die weiteren folgenden Chlorin-Derivate sind aus dem Stand der Technik bekannt:



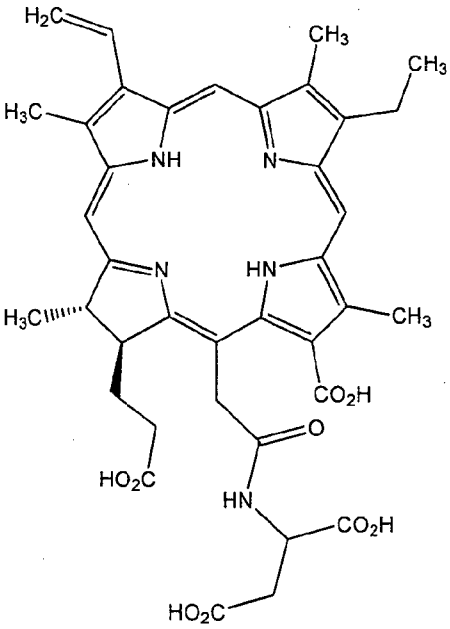
Photofrin®



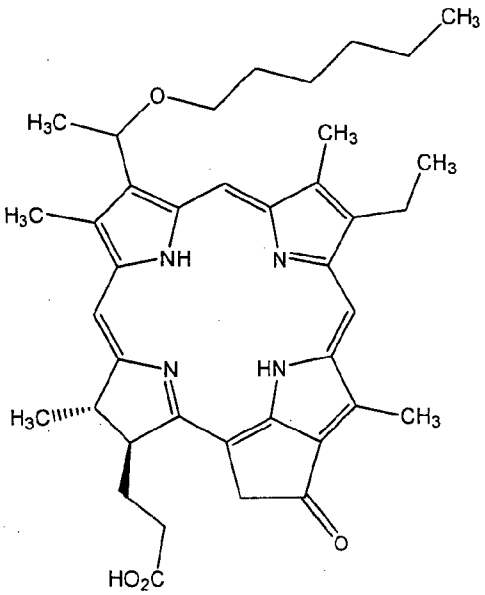
Benzoporphyrin Derivative Monoacid Ring A (BPDMA)



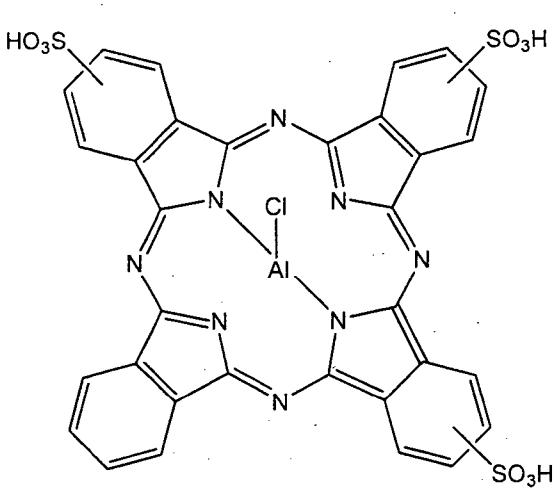
m-THPC



Mono-L-aspartylchlorin (MACE)



Hydroxyheptyl-devinyl-pyropheophorbid a (HPPH)



sulpohoniertes Al-Phthalocyanin ($AlPcS_x$)

[0005] Ein guter Photosensibilisator sollte folgende Eigenschaften aufweisen:
- Langwellige Absorption (> 630 nm) mit hoher molarer Extinktion
- Hohe Quantenausbeute für Intersystem-Crossing (60–80%)
- Quantenausbeute von 5–40% für die Fluoreszenz zur Diagnostik
- Vollständige Bildung von Singulett-Sauerstoff bei Triplettlöschung
- Anreicherung im Tumorgewebe (> 10:1)
- Gute Wasserlöslichkeit für einen guten Transport im Blutkreislauf
- Kurze Verweilzeit im gesunden Gewebe
- Geringe Toxizität des Photosensibilisators und seiner Metabolite

[0006] Photofrin® ist der bisher am besten erforschte Photosensibilisator und zeichnet sich durch seine gute Anreicherung im Turmorgewebe und eine geringe Phototoxizität aus. Zu den Nachteilen der Verwendung von Photofrin® gehört jedoch die niedrige Quantenausbeute der Singulett-Sauerstoff-Bildung, seine relativ kurzwellige Absorption mit geringer Eindringtiefe des Lichts, sein relativ geringer molarer Absorptionskoeffizient sowie eine langsame Anreicherung und lange Verweilzeit im Körper. Deswegen muss der Patient sich nach der Behandlung mit Photofrin® in Dunkelheit aufhalten. Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass Photofrin® aus vielen, zum Teil undefinierten Derivaten besteht, was ein Verständnis von Struktur-Wirkungs-Beziehungen erschwert.

[0007] Einige aus dem Stand der Technik bekannte Photosensibilisatoren weisen gegenüber Photofrin® den Vorteil auf, dass sie bei höheren Wellenlängen mit größerem Extinktionskoeffizienten absorbieren und somit die Eindringtiefe des Lichts und auch die Anzahl der absorbierten Photonen höher ist. Auch sind sie im Unterschied zu Photofrin® strukturell eindeutig definiert. Jedoch zeigt auch keiner dieser weiteren bekannten Photosensibilisatoren alle gewünschten Eigenschaften für eine optimale photodynamische Tumortherapie.

[0008] Aus dem Stand der Technik sind bislang jedoch keine Photosensibilisatoren auf Basis von Chlorin-Derivaten bekannt, die alle Anforderungen im wesentlichen erfüllen.

[0009] Es ist somit eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, Chlorin-Derivate bereitzustellen, die Nachteile des Stands der Technik überwinden und insbesondere mit vorteilhaften Eigenschaften in der photodynamischen Tumortherapie als Photosensibilisatoren eingesetzt werden können.

[0010] Diese Aufgabe wird gelöst durch Chlorin-Derivate nach Anspruch 1. Bevorzugte Ausführungsformen ergeben sich aus den Unteransprüchen.

[0011] Erfindungsgemäß ist auch die Verwendung der aufgeführten Chlorin-Derivate als Photosensibilisatoren in der photodynamischen Tumortherapie, die den Einsatz sowohl als diagnostisches Mittel als auch als therapeutisches Mittel einschließt.

[0012] Die Chlorin-Derivate der Formel 1a weisen an Ringpositionen 2 und 3, und Chlorin-Derivate der Formel 1b an den Ringpositionen 7 und 8 jeweils ein Chiralitätszentrum auf, das entweder R- oder S-Konfiguration besitzt, wobei alle diese Verbindungen von den Ansprüchen umfasst werden sollen (RR, SS, RS, SR).

[0013] Bei den in den Ansprüchen gezeigten Formeln 1a, 1b und 2 erfolgt bei Auswahl eines Polyols für die Reste R^4 bzw. R^8 und R^9 die Ausbildung einer Esterbindung, bei Auswahl eines Aminopolyols erfolgt die Bindung unter Ausbildung einer Amidbindung.

[0014] Unter dem Begriff „Alkyl" sollen erfindungsgemäß Alkylgruppen verstanden werden, die linear oder verzweigt sein können. Bevorzugt sind erfindungsgemäß C_1-C_{18}-Alkylgruppen.

[0015] Überraschenderweise wurde festgestellt, dass die erfindungsgemäßen Chlorin-Derivate die Anforderungen an einen Photosensibilisator in der photodynamischen Tumortherapie wesentlich besser erfüllen als die aus dem Stand der Technik bekannten Verbindungen. Die erfindungsgemäßen Chlorin-Derivate weisen eine langwellige Absorption mit hoher molarer Extinktion, einer hohen Quantenausbeute für die Singulett-Sauerstoffbildung und bislang keine Toxizität für gesundes Gewebe auf.

[0016] Während bisher eingesetzte Photosensibilisatoren entweder wasserlöslich sind, für den Transport über den Blutkreislauf, oder aber lipophile Eigenschaften aufweisen, welche maßgeblich für eine gute Anreicherung in Tumorgewebe gegenüber gesundem Gewebe sind, zeigen die erfindungsgemäßen Chlorin-Derivate ein amphiphiles Verhalten. Das heißt, sie tragen lipophile Substituenten auf der einen Seite und hydrophile Substituenten auf der anderen Seite. Daher sind die erfindungsgemäßen Verbindungen gut in Tumorzellen anreicherbar, sind jedoch trotzdem gut wasserlöslich. Auch haben die erfindungsgemäßen Derivate den Vorteil, dass sie in definierter und neutraler Form vorliegen. Die erfindungsgemäßen Derivate sind nicht salzförmig, so dass insbesondere keine Ladungen vorhanden sind, die für die Tumortherapie nachteilig sein können. Die Verknüpfung der Chlorin-Sensibilisatoren mit den Polyolaminen über Amidbindungen ist unter physiologischen Bedingungen besonders stabil, insbesondere im Vergleich mit Verknüpfungen über Esterbindungen. Die sehr gute Eignung der erfindungsgemäßen Chlorin-Derivate in der photodynamischen Tumortherapie wird durch photophysikalische und biomedizinische Tests bestätigt, die unten beschrieben werden.

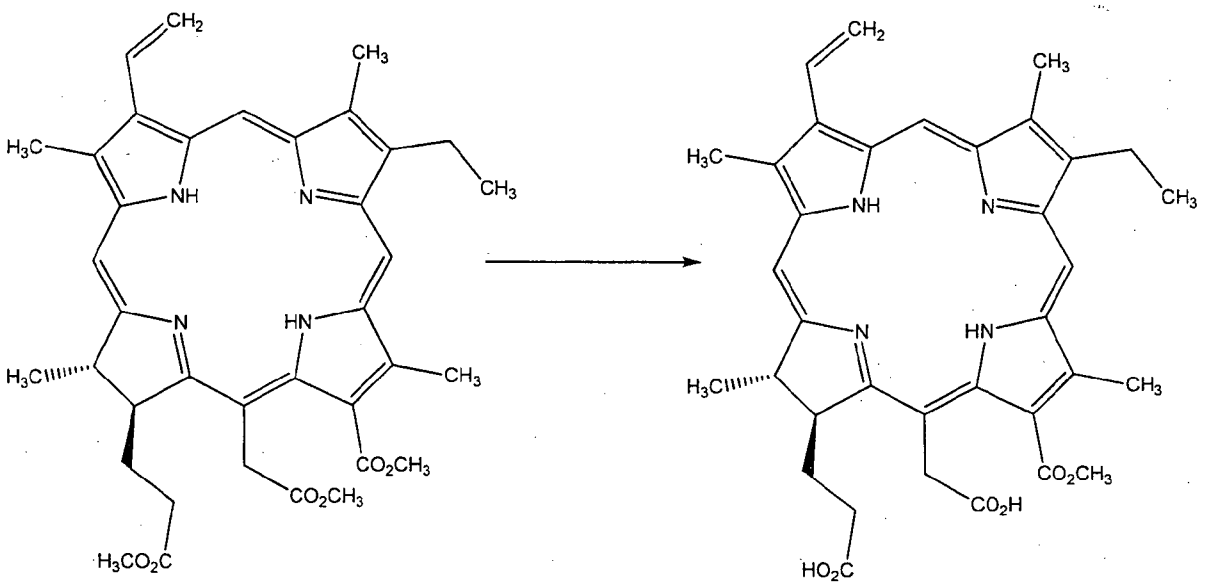
[0017] Weitere Merkmale und Vorteile der erfindungsgemäßen Chlorin-Derivate sowie deren Verwendung ergeben sich aus der folgenden detaillierten Beschreibung von Ausführungsbeispielen in Verbindung mit den Figuren, wobei

[0018] Fig. 1 eine Zytotoxizitätsuntersuchung von Chlorin-Derivaten an HCT-Zellen zeigt;

[0019] Fig. 2 eine PDT-Aktivität an HCT-Zellen der Chlorin-Derivate sowie eine Dunkeltoxizität zeigt.

Darstellung von Chlorin-e_6-α-monomethylester

[0020] Chlorin-e_6-alpha-monomethylester wird erfindungsgemäß als ein Ausgangsmaterial für die Herstellung der erfindungsgemäßen Chlorinderivate eingesetzt. Chlorin-e_6-α-monomethylester kann nach literaturbekannter Vorschrift hergestellt werden, wie beispielsweise gemäß J. B. Conant, K. F. Armstrong, J. Am. Chem. Soc. 1933, 55, 829.



$C_{37}H_{42}N_4O_6$

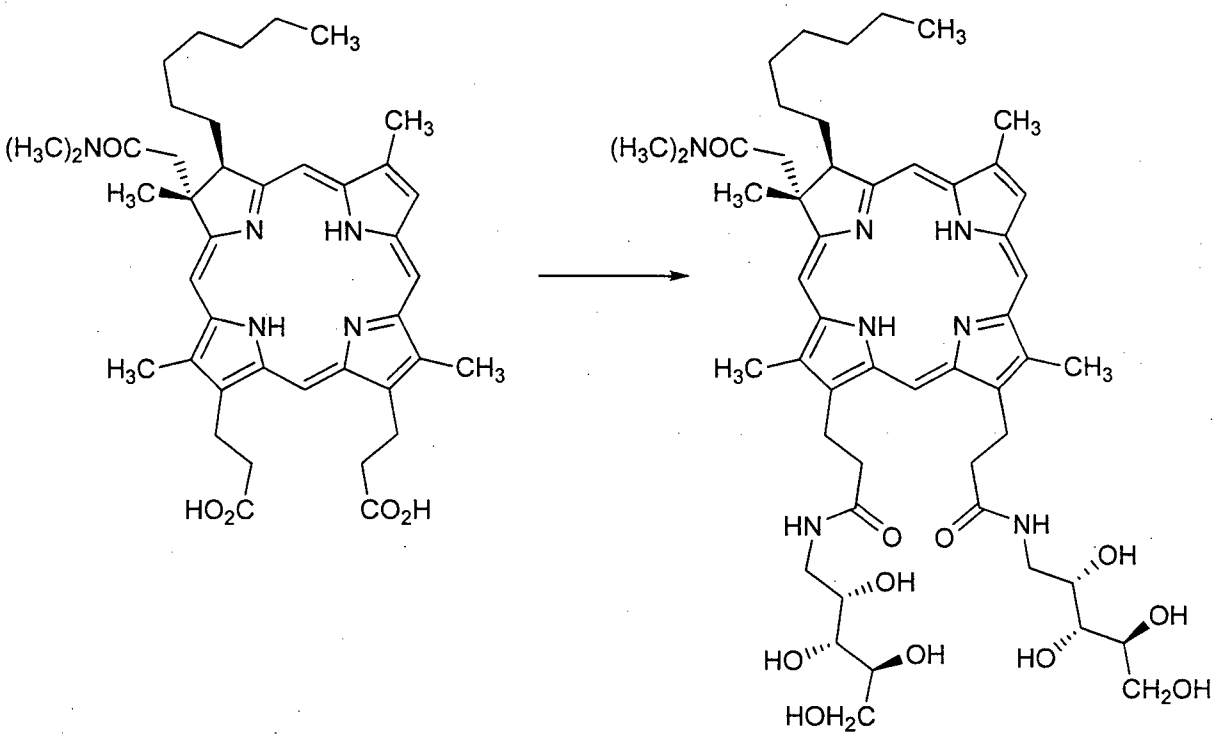
638,75

$C_{35}H_{38}N_4O_6$

610,70

Ausbeute: 45%;
Schmelzpunkt ($CHCl_3$/PE): > 230°C;
IR (KBr): v = 3420 (s), 2960 (m, C-H), 2920 (s, C-H), 2860 (m, C-H), 1720 (s), 1600 (s), 1440 (m), 1380 (m), 1255 (m), 1215 (m), 800 (w), 730 (w), 670 (w) cm^{-1};
UV/VIS (MeOH): λ_{max} (rel. Absorption) = 410 (31.3), 503 (1.1), 530 (1.5), 560 (1), 600 (1.1), 648 (5.3) nm;
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$ + Pydridin-d_5): δ = 1.53 (t, ^{3}J = 7.2 Hz, 3H, 8-CH_3), 1.61 (s, 3H, 18-CH_3), 1.67 (s, 1H, 17-CH_2), 2.16 (m, 1H, 17-CO-CH_2), 2.21 (m, H, 17-CH_3), 2.50 (m, 1H, 17-CO-CH_2), 3.10 (s, 3H, 7-CH_3), 3.26 (s, 3H, 2-CH_3), 3.39 (s, 3H, 12-CH_3), 3.59 (q, 2H, 8-CH_2), 4.07 (s, 3H, 13-COO-CH_3), 4.36 (q, ^{3}J = 8.0 Hz, 1H, 18-CH), 4.50 (d, 1H, 17-CH), 5.24/5.31 (q, ^{3}J = 7.8 Hz, 2H, 15-CH_2), 5.94/6.16 (dd, 2H, 3-CH_2), 7.89 (dd, 1H, 3-CH), 8.62 (s, 1H, 20-CH), 9.41 (s, 1H, 5-CH), 9.51 (s, 1H, 10-CH) ppm;
^{13}C-NMR (90 MHz, $CDCl_3$ + Pydridin-d_5): δ = 10.5 (7-CH_3), 11.4 (2-CH_3), 11.5 (12-CH_3), 16.8 (8-CH_3), 18.9 (8-CH_2), 22.5 (18-CH_3), 29.4 (17-CH_2), 31.1 (17-CO-CH_2), 38.4 (15-CH_2), 48.8 (18-CH), 52.3 (13-OCH_3), 52.5 (17-CH), 93.2 (20-CH), 97.8 (5-CH), 101.1 (10-CH), 103.2 (15-C), 121.0 (3-CH_2), 123. 3 (13-C), 128.9 (11-N=C), 129.0 (3-CH), 129.8 (2-C), 133.9 (3-C), 134.4 (4-N=C), 135.2 (14-N=C), 135.3 (7-C), 135.8 (12-C), 138.5 (1-N=C), 144.5 (8-C), 148.2 (9-N=C), 153.9 (6-N=C), 167.6 (16-N=C), 169.2 (13-C=0), 169.2 (19-N=C), 174.7 (15-COOH), 175.4 (17-COOH) ppm;
MS (ESI, positiv, CH_2Cl_2/MeOH 1:10): m/z = 611 $[M+H]^+$;
Beilstein Registry Number (BRN): 75359.

Beispiel 1



$C_{41}H_{53}N_5O_5$
695.89

$C_{51}H_{75}N_7O_{11}$
962.18

[0021] 40 mg (0,057 mmol) 3-Heptylchlorin-dicarbonsäure wurden in 2 mL trockenem THF gelöst und mit 0, 35 mL trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf –15°C wurden 0.4 mL (30,7 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 10 mL trockenem THF dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde für 1 h bei –15°C gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 250 mg (1,65 mmol) 1-Amino-Ideoxyarabinitol (1,65 mmol) in 0,8 mL Ethanol, 0,5 mL Triethylamin und 0,6 mL dest. Wasser tropfenweise dazugegeben und 4 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase mit Gradienten chromatographiert (8 g RP-18 SiO_2, MeOH/H_2O 1 + 1, MeOH/H_2O 2 + 1, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 39 mg (0,041 mmol, 72% d. Th.) amidiertes Heptylchlorin als grünen Feststoff.

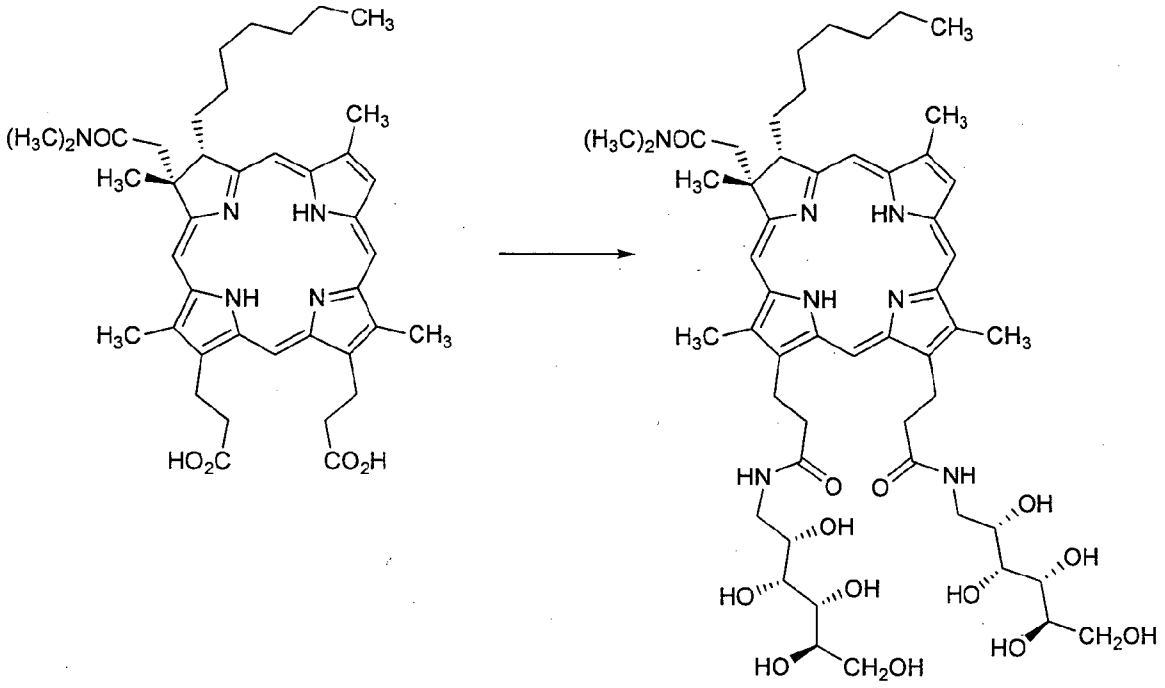
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3435 (s, br, O-H), 2951 (m, v C-H), 2925 (m, v C-H), 2854 (m), 1620 (s), 1550 (w), 1453 (w), 1386 (w), 1192 (sh), 1103 (s) cm^{-1};

UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ε): 389 (137500), 494 (9275), 523 (3020), 593 (3950), 643 (32060) nm.

^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6,): δ = –2.72 (s, 2H, Chl-NH), 0.73 (t, ^{3}J = 7.3 Hz, 3H, 3^7-CH_3), 1.10 (m, 4H, 3^3-CH_2, 3^4-CH_2), 1.18 (m, 4H, 3^6-CH_2, 3^2-CH_2), 1.87 (s, 3H, 2-CH_3), 2.15 (x, 2H/2H, 3^1-CH_2), 2.71, 2.84 (2s, 6H, 2^3-N-$(CH_3)_2$), 3.03 (t, 2H, 13^2-CH_2), 3.16 (t, 2H, 17^2-CH_2), 3.19 (m, 4H, 13^5-CH_2, 17^5-CH_2), 3.52/3.97 (2m, 2H, 2^1-CH_2), 3.38 (s, 3H, 12-CH_3), 3.49 (s, 3H, 18-CH_3), 3.52 (x, 3H, 7-CH_3), 3.61 (m, 4H, 13^{10}-O-CH_2, 17^{10}-O-CH_2), 3.71-3..79 (m, 6H, 13^7-13^8-O-CH, 17^7-17^8-O-CH), 3.90-3.97 (m, 2H, 13^6-O-CH, 17^6-O-CH), 4.45 (m, 4H, 13^2-CH_2, 17^2-CH_2), 4.72 (t, 1H, 3-CH), 8.09 (s, br, 2H, 13^4-NH, 17^4-NH), 9.02 (s, 1H, 20-CH), 9.09 b (s, 1H, 5-CH), 9.15 (s, 1H, 8-CH), 9.84 (s, 1H, 10-CH), 9.88(s, 1H, 15-CH) ppm;

MS (ESI, positiv, MeOH): m/z = 962 $[M+H]^+$, 984 $[M+H]^+$, 1000 $[M+K]^+$; (ESI, negativ, MeOH): m/z = 960 $[M-H]^-$, 996 $[M+Cl]^-$;

Beispiel 2 Amidierung von Heptylchlorin mit Glucamin



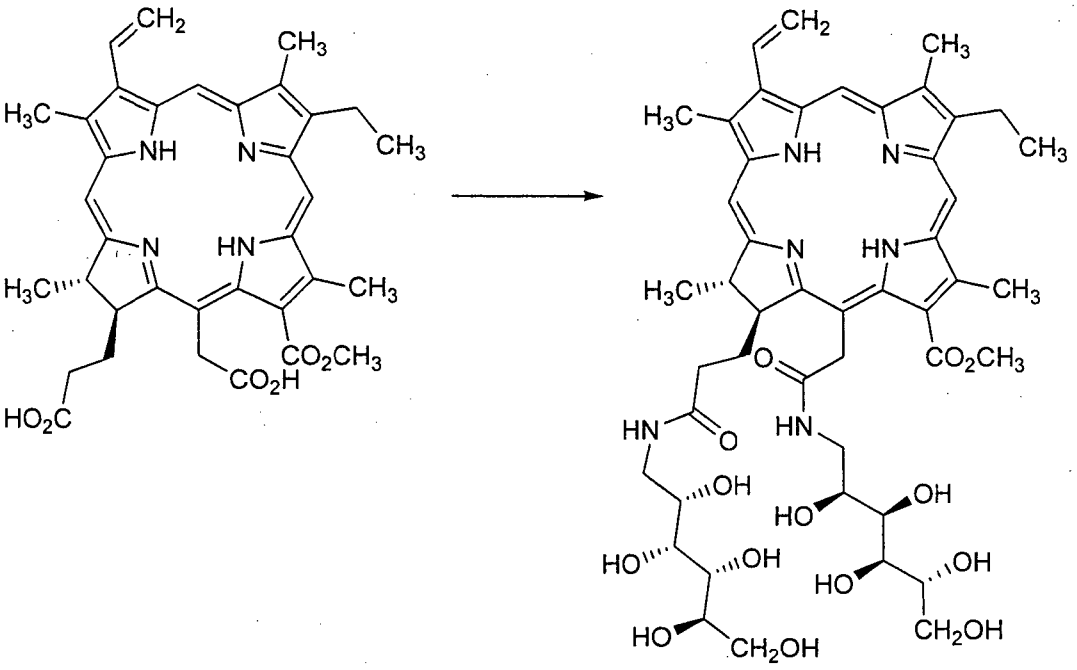
$C_{41}H_{53}N_5O_5$
695.89

$C_{53}H_{79}N_7O_{13}$
1022.23

[0022] 0,181 mg (0,26 mmol) 3-Heptylchlorin-dicarbonsäure wurden in 55 mL trockenen THF gelöst und mit 12 mL trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf –15°C wurden 1,45 mL (11,2 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 20 mL trockenem THF dazugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 1,5 h bei –15°C gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 0,92 g (5, 08 mmol) Glucamin 5 mL Ethanol, 5 mL Triethylamin und 5 mL dest. Wasser tropfenweise dazugegeben und 4 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase mit Gradrienten chromatographiert (7 g RP-18 SiO_2, MeOH/H_2O 1 + 1, MeOH/H_2O 2 + 1, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 218 mg Produkt (0,21 mmol) als grünen Feststoff (82% d. Th).
DC (RP-8, MeOH/H_2O): R_f = 0,17;
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3490 (s, br, O-H), 2974 (s, sh, v C-H), 2929 (s, v C-H), 2738 (m, v C-H), 2671 (s, C-H), 2597 (s, C-H), 2487 (s, C-H), 1694 (m,), 1635 (s, sh, C=O, Amid), 1616 (s, C=O,Amid), 1546 (m,), 1476 (s, δ C-H), 1395 (s,), 1266 (m, br, C-O), 1170 (m, C-O), 1074 (m,), 1034 (s,), 849 (m,), 805 (m,), 705 (m,), 669 (m), 455 (m) cm^{-1};
UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ε) = 644 (43200), 594 (3400), 523 (3400), 492 (11900), 389 (177000) nm;
HPLC (LiChrosorb RP-18, MeOH/H_2O 85:15, 1 mL/min, UV 405 nm): t_{R1} = 16,3 (trans-Isomere), t_{R2} = 19,0 (cis-Isomere);
^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6 + Pydridin-d_5, a: cis-Isomer, b: trans-Isomer, Verhältnis a:b 2:1): δ = –2.64 ab (2s, 2H, Chl-NH), 0.70 a/0.75 b (t, ^{3}J = 7.3 Hz, 3H/3H, 3^7-CH_3), 1.04-1.26 ab (m, 4H, 3^3-CH_2, 3^4-CH_2), 1.08 a/ 1.14 b (m, 2H/2H, 3^6-CH_2), 1.21/1.38 a, 1.43/1.59 b (m, 2H/2H, 3^2-CH_2), 1.90 a/2.18 b (s, 3H/3H, 2-CH_3), 1.96/ 2.21 a, 2.31 b (m, 2H/2H, 3^1-CH_2), 2.71/2.84 a, 2.54/2.63 b (m, 6H/6H, 2^3-N-$(CH_3)_2$), 3.01 ab (t, 2H, 13^2-CH_2), 3.07 ab (t, 2H, 17^2-CH_2), 3.12/3.38 ab (m, 4H, 13^5-CH_2, 17^5-CH_2), 3.48/3.93 a, 3.18/3.27 b (m, 2H/2H, 21-CH_2), 3.36 ab (s, 3H, 12-CH_3), 3.49 a/3.46 b (s, 3H/3H, 18-CH_3), 3.52 a/3.51 b (s, 3H/3H, 7-CH_3), 3.46/3.64 ab (m, 4H, 13^{10}-O-CH_2, 17^{10}-O-CH_2), 3.49-3.68 ab (m, 6H, 13^7-13^9-O-CH, 17^7-17^9-O-CH), 3.71 ab (m, 2H, 13^6-O-CH, 17^6-O-CH), 4.12 ab (m, 2H, 13^2-CH_2), 4.30 ab (m, 2H, 17^2-CH_2), 4.76 a/5.06 b (dt, 1H, 3-CH), 8.09 ab (s, 1H, 17^4-NH), 8.10 ab (s, 1H, 13^4-NH), 9.04 a/9.00 b (s, 1H, 20-CH), 9.12 a/9.09 b (s, 1H, 5-CH), 9.16 a/9.15 b (s, 1H, 8-CH), 9.86 a/9.85 b (s, 1H, 10-CH), 9.93 a/9.92 b (s, 1H, 15-CH);
^{13}C-NMR (90 MHz, DMSO-d_6 + Pydridin-d_5, a: cis-Isomer, b: trans-Isomer): δ = 10.6 ab (18-CH_3), 10.9 ab (12-CH_3), 12.6 ab (7-CH_3), 13.5 ab (3^7-CH_3), 21.6 ab (3^6-CH_2), 21.6 ab (17^1-CH_2), 21.9 ab (13^1-CH_2), 28.7 a/22.0 b (2-CH_3), 26.4 a/27.2 b (3^2-CH_2), 28.0-29.0 ab (3^3-CH_2, 3^4-CH_2), 30.8 a/31.0 b (3^5-CH_2), 31.0 a/31.6 b (3^1-CH_2), 34.6/ 36.7 a, 34.4/36.4 b (2^4-N-$(CH_3)_2$), 37.4 a/43.5 b (2^1-CH_2), 37.9 ab (17^2-CH_2), 38.5 ab (13^2-CH_2), 42.0 ab (13^5-N-CH_2, 17^5-N-CH_2), 52.0 a/51.8 b (2-CH), 57.1 a/54.2 b (3-CH), 61.5-72.0 ab (13^7-13^9-C-OH, 17^7-17^9-C-OH), 63.2 ab (13^{10}-CH_2-OH, 17^{10}-CH_2-OH), 71.7 ab (13^6-C-OH, 17^6-C-OH), 91.4 ab (20-CH), 93.7 a/93.6 b (5-

CH), 98.7 ab (15-CH), 101.8 ab (10-CH), 125.9 ab (8-CH), 170.9 a/170.1 b (2^2-C=O), 172.2 ab (17^3-C=O), 172.6 ab (13^3-C=O) ppm;
MS (MALDI, cca) positiv: m/z = 1022 $[M]^+$; negativ: m/z = 1021 $[M-H]^-$
(ESI, MeOH + CH_2Cl_2, 10 + 1) positiv: m/z = 1022 $[M+H]^+$, 1044 $[M+Na]^+$, 1060 $[M+K]^+$; negativ: m/z = 1020 $[M-H]^-$ 1056 $[M+Cl]^-$.

Beispiel 3 Amidierung von Chlorin e6-α-monomethylester mit Glucamin



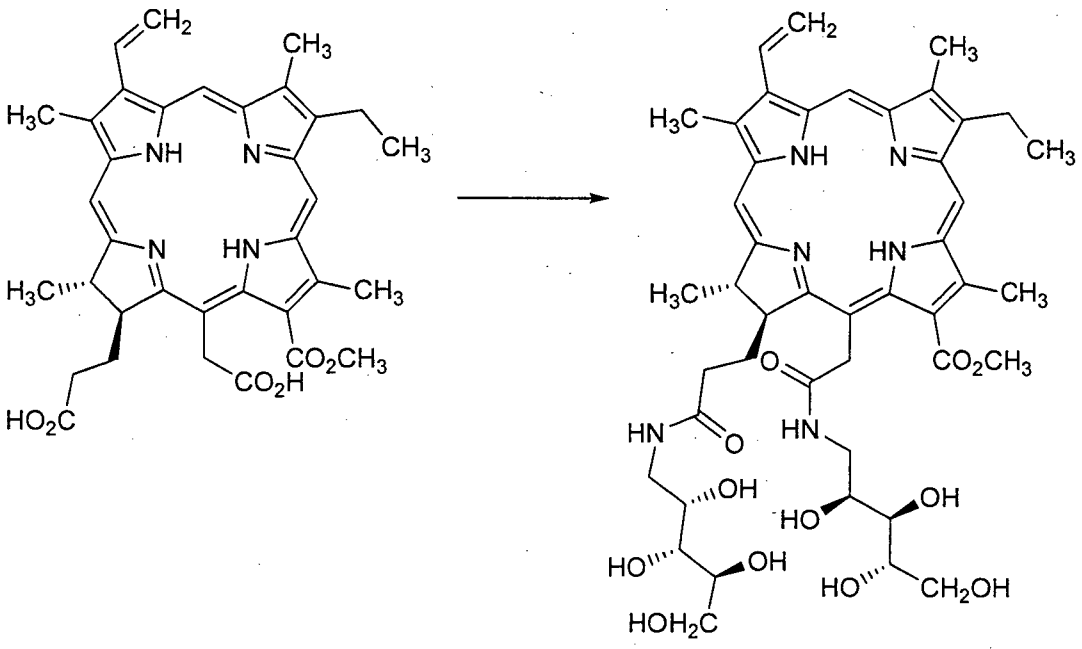
$C_{35}H_{38}N_4O_6$
610.70

$C_{47}H_{64}N_6O_{14}$
937.04

[0023] 20 mg (0,033 mmol) Chlorin e_6-α-monomethylester wurden in 5 mL trockenem THF gelöst und mit 0, 12 ml trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf –15°C wurden 0,2 mL (1,5 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 5 mL trockenem THF dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde für 1 h bei –15°C gerührt bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 60 mg (0.33 mmol) Glucamin in 0,5 mL Ethanol, 0,5 mL Triethylamin und 0,5 mL dest. Wasser tropfenweise dazugegeben und 15 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase mit Gradrienten chromatographiert (RP-18 SiO_2, MeOH/H_2O 1 + 1, MeOH/H_2O 2 + 1, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 18 mg amidierten Chlorin e_6-α-monomethylester (0,019 mmol, 59% d. Th.) als grünen Feststoff.
Schmelzpunkt (MeOH/$CHCl_3$): 132–133°C;
IR (KBr): v = 3395 (s, br, v O-H, N-H), 2945 (m, v C-H), 2910 (m, v C-H), 2850 (m, v C-H), 1710 (m, v C=O Ester), 1670 (s, v C=C), 1540 (m, v C=C), 1440 (6 C-H), 1385 (m), 1240 (m, C-O), 1070 (s), 725 (m) cm^{-1};
UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ε) = 401 (102000), 500 (9300), 531 (5800), 606 (5100), 663 (28000) nm;
^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6): δ = –1.58/-1.81 (2s, 2H, Chl-NH), 1.58/2.11 (t, 2H, 17^1-CH_2), 1.67 (t, 6H, 18-CH_3, 8-CH_3), 2.08/2.42 (m, 2H, 17^2-CH_2), 3.02/3.24 (m, 2H, 15^4-N-CH_2), 3.09/3.40 (m, 2H, 17^5-N-CH_2), 3.30 (s, 3H, 7-CH_3), 3.35/3.53 (m, 4H, 15^9-O-CH_2, 17^{10}-O-CH_2), 3.40-3.70 (m, 8H, 15^5-15^8-O-CH, 17^5-17^9-O-CH), 3.52 (s, 3H, 2-CH_3), 3.54 (s, 3H, 12-CH_3), 3.81 (q, 2H, 8-CH_2), 4.19 (s, 3H, 13-O-CH_3), 4.20-4.70 (m, 10 H, 15^5-15^9-OH, 17^6-17^{10}-OH), 4.35 (d, 1H, 17-CH), 4.57 (d, 1H, 18-CH), 5.08 (s, 2H, 15^1-CH_2), 6.19/6.46 (2d, 2H, 3^1=CH_2), 7.71 (t, 1H, 15^3-NH), 7.79 (t, 1H, 17^4-NH), 8.31 (dd, 1H, 3^2=CH_2), 9.08 (s, 1H, 20-CH), 9.69 (s, 1H, 5-CH), 9.77 (s, 1H, 10-CH) ppm;
^{13}C-NMR (90 MHz, DMSO-d_6): δ = 10.8 (7-CH_3), 11.7 (12-CH_3), 11.9 (2-CH_3), 17. 6 (8-CH_3), 18.6 (8-CH_2), 22.8 (18-CH_3), 30.4 (17^1-CH_2), 32.5 (17^2-CH_2), 39.0 (15^1-CH_2), 41.8 (15^4-N-CH_2), 42.4 (17^5-N-CH_2), 48.3 (18-CH),

52.7 (17-CH), 53.1 (13-O-CH_3), 63.1 (15^{10}-O-CH_2, 17^{10}-O-CH_2), 69.4-74-4 (15^5-15^8-O-CH, 17^6-17^9-O-CH), 94.1 (20-CH), 98.2(5-CH), 101.4 (10-CH), 122.2 (3^2=CH_2), 129.3 (3^1=CH) ppm;
MS (ESI, positiv, MeOH): m/z = 959 $[M+Na]^+$, 975 $[M+K]^+$; (ESI, negativ, MeOH): m/z = 971 $[M+Cl]^-$.

Beispiel 4 Amidierung von Chlorin e6-α-monomethylester mit Arabinose

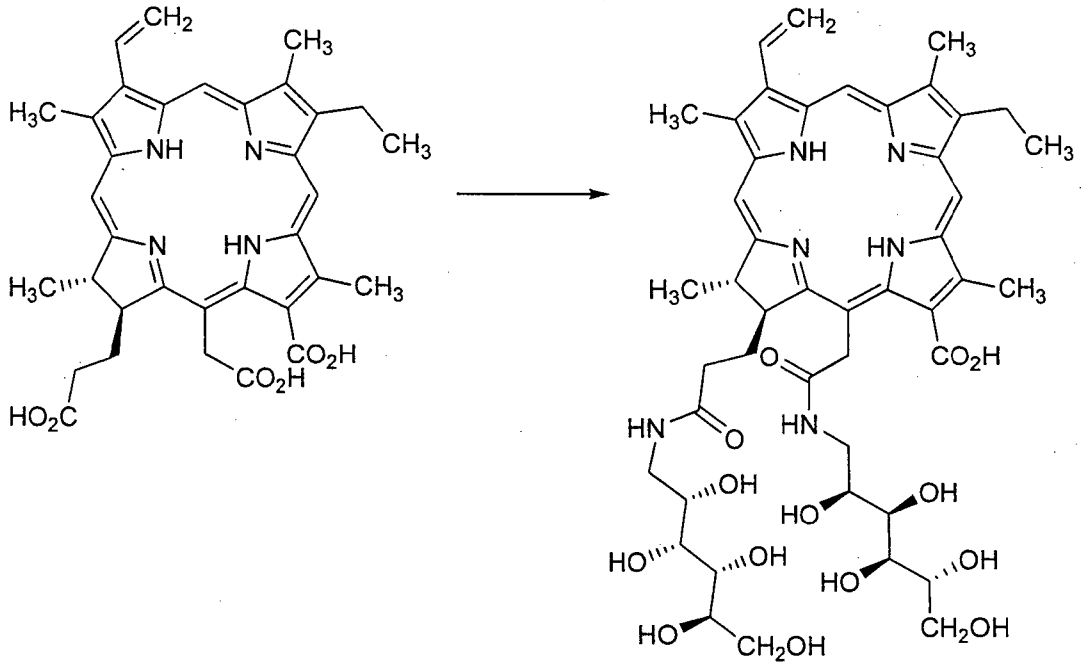


$C_{35}H_{38}N_4O_6$
610.70

$C_{45}H_{60}N_6O_{12}$
876.99

[0024] 39 mg (0,063 mmol) Chlorin e_6-α-monomethylester wurden in 10 mL trockenen THF gelöst und mit 0,35 mL trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf –15°C wurden 0,25 mL (1,9 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 5 mL trockenem THF dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde für 30 min bei –15°C gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 200 mg (1,3 mmol) 1-Amino-Ideoxyarabinitol in 0,8 mL Ethanol, 0,5 mL Triethylamin und 0,6 mL dest. Wasser tropfenweise dazugegeben und 15 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase-Säule mit Gradienten chromatographiert (RP-18 SiO_2, MeOH/H_2O 1 + 1, MeOH/H_2O 2 + 1, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 34 mg (0,039 mmol, 61% d. Th.) amidierter Chlorin e_6-α-monomethylester als grünen Feststoff.
Schmelzpunkt (MeOH/$CHCl_3$): > 230°C;
IR (KBr): v = 3395 (s, br, v O-H, N-H), 2945 (m, v C-H), 2910 (m, v C-H), 2850 (m, v C-H), 1710 (m, v C=O Ester), 160 (s, v C=C), 1540 (m, v C=C), 1440 (6 C-H), 1385 (m), 1240 (m, C-O), 1070 (s), 725 (m) cm^{-1};
UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ε) = 400 (103000), 501 (9400), 532 (5700), 607 (5000), 663 (29000) nm;
^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6): δ = –1.59/–1.83 (2s, 2H, Chl-NH), 1.65/2.14 (t, 2H, 17^1-CH_2), 1.65 (t, 6H, 18-CH_3, 8-CH_3), 2.84 (t, 2H, 17^2-CH_2), 3.03 (m, 2H, 15^4-N-CH_2), 3.16 (m, 2H, 17^5-N-CH_2), 3.19 (s, 3H, 7-CH_3), 3.47 (m, 4H, 15^8-O-CH_2, 17^9-O-CH_2), 3.40-3.60 (m, 6H, 15^5-15^7-O-CH, 17^5-17^8-O-CH), 3.49 (s, 3H, 2-CH_3), 3.52 (s, 3H, 12-CH_3), 3.75 (q, 2H, 8-CH_2), 4.09 (s, 3H, 13-O-CH_3), 4.20-4.50 (m, 8 H, 15^5-15^8-OH, 17^6-17^9-OH), 4.35 (d, 1H, 17-CH), 4.45 (d, 1H, 18-CH), 5.02 (m, 2H, 15^1-CH_2), 6.20/6.49 (2d, 2H, 3^1=CH_2), 7.77 (t, 1H, 15^3-NH), 7.83 (t, 1H, 17^4-NH), 8.31 (dd, 1H, 3^2=CH_2), 9.06 (s, 1H, 20=CH), 9.69 (s, 1H, 5=CH), 9.75 (s, 1H, 10=CH) ppm;
MS (ESI, positiv, MeOH): m/z = 872 $[M+H]^+$, 899 $[M+H]^+$, 915 $[M+K]^+$; (ESI, negativ, MeOH): m/z = 911 $[M+Cl]^-$.

Beispiel 5 Amidierung von Chlorin e_6 mit Glucamin



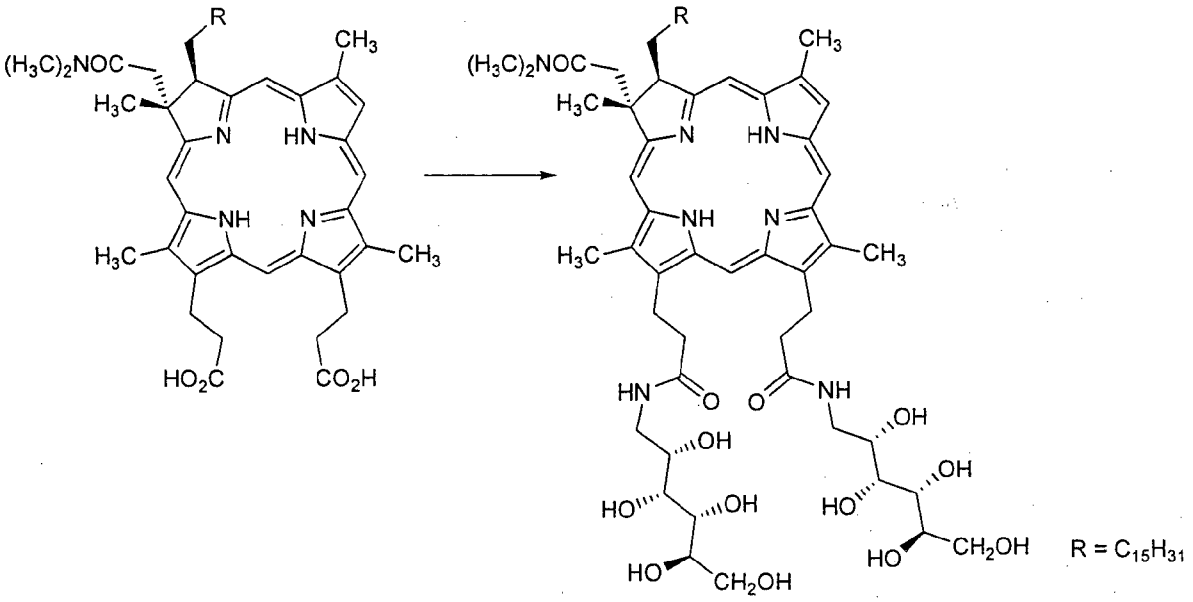
$C_{34}H_{36}N_4O_6$
596.67

$C_{46}H_{62}N_6O_{14}$
922.02

[0025] 45 mg (0,075 mmol) Chlorin e_6 wurden in 20 mL trockenen THF gelöst und mit 0,36 mL trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf –15°C wurden 0,3 mL (2,3 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 5 mL trockenem THF dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde für 15 min bei –15°C gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 150 mg (0,83 mmol) Glucamin in 1,6 mL Ethanol, 1.0 mL Triethylamin und 1.0 mL dest. Wasser tropfenweise dazugegeben und 15 h bei RT gerührt.

[0026] Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase-Säule mit Gradienten chromatographiert (RP-18 SiO_2, MeOH/H_2O 4 + 3, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 61 mg (0,066 mmol, 88% d. Th.) amidierte Chlorin e_6-α-monocarbonsäure als grünen Feststoff.
Schmelzpunkt (MeOH/$CHCl_3$): > 230°C;
IR (KBr): v = 3410 (s, br, v O-H, N-H), 2965 (m, v C-H), 2935 (m, v C-H), 2850 (m, v C-H), 1690 (m, v C=O Säure), 1620 (s, v C=C), 1540 (m, v C=C), 1470 (m, δ C-H), 1430 (m), 1265 (m, C-O), 1160 (w), 1080 (m), 1030 (w), 725 (m) cm^{-1};
UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ε) = 400 (102000), 499 (9200), 530 (5500), 607 (4800), 662 (29300) nm;
MS (ESI, positiv, MeOH): m/z = 872 $[M+H]^+$, 899 $[M+H]^+$, 915 $[M+K]^+$; (ESI, negativ, MeOH): m/z = 911 $[M+Cl]^-$.

Beispiel 6 Amidierung mit Glucamin



$C_{50}H_{71}N_5O_5$
822.13

$C_{62}H_{97}N_7O_{13}$
1148.47

[0027] 23 mg (0,027 mmol) 3-Palmitylchlorin-dicarbonsäure wurden in 6 mL trockenen THF gelöst und mit 0, 3 mL trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf –15°C wurden 0,3 mL (2,3 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 2 mL trockenem THF dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde für 1,5 h bei –15°C gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 90 mg (0,49 mmol) Glucamin 0,8 mL dest. Wasser, 0,4 mL Triethylamin und 0,4 mL Ethanol tropfenweise dazugegeben und 16 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase chromatographiert (7 g RP-18 SiO_2, MeOH/ H_2O 1 + 1, MeOH/H_2O 2 + 1, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 18 mg (0,21 mmol) XX als grünen Feststoff (82% d. Th).
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3435 (s, br, O-H), 2951 (m, v C-H), 2925 (m, v C-H), 2854 (m), 1620 (s), 1550 (w), 1453 (w), 1386 (w), 1192 (sh), 1103 (s) cm^{-1};
UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ε) = 389 (170000), 494 (11000), 592 (4300), 642 (36500) nm;
MS (ESI, MeOH + CH_2Cl_2, 10 + 1) positiv: m/z = 1022 $[M+H]^+$, 1044 $[M+Na]^+$, 1060 $[M+K]^+$; negativ: m/z = 1020 $[M-H]^-$ 1056 $[M+Cl]^-$.

Zytotoxizität und PDT-Effizienz

Materialien und Methoden:

[0028] Human colon carcinoma cultured cells HCT (HCT 116 +/+) wurden in 30-mm Petrischalen (der Firma Nunc) überimpft und für 24 Std. unter Standardkulturbedingungen inkubiert.

[0029] Eine Kontrollgruppe wurde weder bestrahlt noch mit Photosensibilisator inkubiert. Zur Bestimmung der Zytotoxizität diente eine Gruppe, welche mit verschiedenen Konzentrationen an Photosensibilisator inkubiert, jedoch nicht bestrahlt wurde (Dunkeltoxizität). Die anderen Kulturen wurden einer photodynamischen Behandlung unterzogen. Dafür wurde nach dem Spülen mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS, pH 7,2) das Kulturmedium der letzten Gruppe mit Lösungen verschiedener Konzentration an Sensibilisator für 4–12 h inkubiert. Vor der Bestrahlung wurde das Medium durch DMEM-Nährmedium (Dulbecco's modified eagle medium ohne Phenolrot) ersetzt. Die Bestrahlung erfolgte mittels einer Halogenlampe der Firma Optel mit einem 630 nm-Longpassfilter im Abstand von 3 cm. Die Lichtdosis betrug 15J/cm^2. Eine 2. Gruppe wurde ohne Sensibilisator bestrahlt, um den Effekt von Licht auf das Zellwachstum zu untersuchen. Dafür wurde vor der Bestrahlung frische Nährlösung hinzugegeben und die Zellen unter Standardbedingungen für 24 h gehalten.

[0030] Die Anzahl an lebensfähigen Zellen wurde mit dem MTS-tetrazolium Reduktions-assay (Promega) ermittelt. Diese kolorimetrische Methode basiert auf der Reduktion des farblosen MTS-Reagenz [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium] zu farbigem Formazanderivat durch Enzyme in lebenden Zellen. Die Menge an gebildetem Formazan, welche proportional zu den lebensfähigen Zellen ist, wurde spektroskopisch über die Absorption bei 490 nm in einem 96-well plate reader bestimmt. Als Background wurde eine Lösung von DMEM-Medium mit MTS-Reagenz subtrahiert. Der Teil an überlebenden Zellen wurde als Anteil der lebensfähigen Zellen zu der Anzahl im Kontroll-Sample (ohne PS, ohne Bestrahlung) kalkuliert.

[0031] Es wurden zwei Chlorin-Derivate untersucht, nämlich das in Beispiel 1 hergestellte Chlorin-Derivat und das in Beispiel 2 hergestellte Derivat.

Ergebnisse:

[0032] Beide untersuchten Chlorinderivate zeigen in den Experimenten, wie in Fig. 1 zu sehen ist, keinen zytotoxischen Effekt bei Konzentrationen bis 10 µM.

[0033] Fig. 2 zeigt die PDT-Aktivität mit unterschiedlich langen Inkubationszeiten der Chlorinlösungen und mit steigenden Konzentrationen oben für das Chlorinderivat mit Arabinoseresten, unten mit Glucoseresten. Ab 2.5 µM Lösungen ist eine Überlebensrate von nur noch maximal 20% für das Arabinose-Derivat respektive 15% für das Glucose-Derivat bei einer Konzentration von 1 µM zu beobachten. Eine Steigerung der verabreichten Konzentration bewirkt keine Verbesserung der PDT-Effizienz. Eine maximale PDT-Aktivität ist also schon bei sehr niedrigen Konzentrationen möglich. In der Fig. 2 (rechts) ist noch einmal die Dunkeltoxizität der beiden Derivate bei einer Konzentration von 7.5 µM zu sehen, also im selben Konzentrationsbereich wie bei den Effizienzmessungen. Dies zeigt deutlich, dass die Substanzen eine gute Effektivität für die PDT-Behandlung in vitro zeigen, während sie selbst bei größeren Konzentrationen noch keine Dunkeltoxizität aufweisen.

Photophysikalische Messungen

Materialien und Methoden

[0034] Die UV/Vis Absorptionsspektren wurden mit einem Spektrometer mit Diodenarray-Detektor der Firma HP (8453) durchgeführt. Die Fluoreszenz-Spektren wurden mit einem Spektrofluorimeter der Firma Varian Cary (eclipse) aufgenommen. Die Fluoreszenz-Kinetik wurde mittels eines Spektrafluorimeters F900 der Firma Edinburgh gemessen.

[0035] Die Flash-Photolyse wurde bei λ_{exc} = 410–690 nm durch einen Nd-YAG-Laser + OPO angeregt, die Absorptionssignale mi einem Luzchem-System gemessen. Die Phosphoreszenz des Singulett-Sauerstoffs wurde nach einem Puls mit einem gekühlten Ge-Detektors der Firma North Coast (EO 817FP) bei 1269 nm detektiert. Dabei wurde ein Silikon-Filter, ein Interferenz-Filter und ein Amplifier der Firma Comlinear (CLC-103), wie in der Literatur beschrieben genutzt, siehe G. Martinez, S. G. Bertolotti, O. E. Zimermann, D. O. Mrtire, S. E. Braslavsky, N. A. Garcia, J. Photochem. Photobiol. B. Biol. 1993, 17, 247. Die Signale wurden am Ende des 20 ns-Puls extrapoliert (I_Δ). Bei einer gegeben Laserintensität wurde ein linearer Zusammenhang zwischen der absorbierten Energie und I_Δ gefunden, während der Zusammenhang zu I_L zu einer Krümmung bei höheren Intensitäten führt. Die Quantenausbeute Φ_Δ wurde aus den I_Δ-Werten und optisch passenden Lösungen bestimmt mit 2-Acetonaphthon in Benzol als Referenz mit einer Quantenausbeute von Φ_Δ = 0.81. Dabei musste ein Korrektur-Faktor verwendet werden, da aus anderen Lösungsmitteln als Benzol gemessen wurde. Dieser berechnet sich als Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten der radiativen Desaktivierung des anderen Lösungsmittels zu der Konstanten in Benzol und beträgt 2 für Dichlormethan respektive 3 für Acetonitril. Die Messungen wurden, wenn nicht anders vermerkt, bei einer Temperatur von 24°C mit Luft-gesättigten wässrigen Lösungen durchgeführt. Die Fluoreszenzmessungen ergaben für Luft- oder Argon-gesättigte wässrige Lösungen dieselben Resultate im Gegensatz zu der steady-state- und time-resolved-Photolyse.

Ergebnisse

[0036] Tabelle 1 zeigt die für die PDT relevanten Absorptionseigenschaften der verschiedenen amphiphilen Chlorinderivate. Sie erfüllen allesamt die Anforderungen bezüglich der langwelligen Absorption mit hohem molaren Extinktionskoeffizienten. Das bedeutet, dass sie für Anwendungen in tieferen Gewebeschichten in Frage kommen, da bei längeren Wellenlängen die Gewebedurchlässigkeit für Licht größer ist. Sie bieten demnach

gegenüber dem am bisher häufigsten medizinisch angewendeten PS Photofrin® einen erheblichen Vorteil, da dieser bei 630 nm mit einem molaren Absorptionskoeffizienten von 3000 absorbiert.

Tabelle 1: Wellenlänge und molarer Extinktionskoeffizient der langwelligsten Absorptionsbande Q_I.

Substanz	Lösungsmittel	Q_I-Bande	ε [cm^2 $mmol^{-1}$]
Beispiel 1	MeOH	643	32000
Beispiel 2	MeOH	644	43000
Beispiel 3	MeOH	663	28000
Beispiel 4	MeOH	663	29000
Beispiel 5	MeOH	663	29300
Beispiel 6	MeOH	642	36500

[0037] Tabelle 2 zeigt die Absorptions- und Fluoreszenzdaten einiger ausgewählter Derivate. Die Fluoreszenzquantenausbeute liegt bei 5% und kann damit für die Tumordiagnostik genutzt werden.

Tabelle 2: Absorptions- und Fluoreszenzdaten der Chlorinderivate.

Substanz	Lösungsmittel	λ_f^{ex} [nm]	λ_f^{em} [nm]	Φ_f
Che_6-MME (Edukt)	CH_2Cl_2	664	667	-
	Acetonitril	660	663	0.05
Beispiel 2	CH_2Cl_2	648	651	-
	Acetonitril	645	648	0.05
Beispiel 3	CH_2Cl_2	665	668	-
	Acetonitril	660	663	0.05

[0038] In Tabelle 3 sind die photophysikalischen Daten der Triplettanregung dieser Chlorinderivate zu sehen. Die Quantenausbeuten für Intersystem-Crossing und für die Singulett-Sauerstoffbildung liegen zwischen 50–60% und sind damit vergleichbar mit den Quantenausbeuten von Chlorin e_6 von 0,61–0,65 je nach Lösungsmittel. Die synthetisierten Chlorinderivate erfüllen also ideal die photophysikalischen Anforderungen, um als PS eingesetzt zu werden.

Tabelle 3: Triplettdaten der Chlorinderivate.

Substanz	Lösungsmittel	Φ_Δ	Φ_{ISC}	τ_T [ns]
Che_6-MME (Edukt)	CE_2Cl_2	0.6	-	30
	Acetonitril	-	0.6	30
Beispiel 2	CH_2Cl_2	0.5	-	20
	Acetonitril	-	0.6	20
Beispiel 3	CH_2Cl_2	0.5	-	25
	Acetonitril	-	0.6	30

[0039] Die in der vorstehenden Beschreibung, den Ansprüchen und den Zeichnungen offenbarten Merkmale der Erfindung können sowohl einzeln als auch in jeder beliebigen Kombination für die Verwirklichung der Erfindung in ihren verschiedenen Ausführungsformen wesentlich sein.

ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Patentliteratur

- EP 0459200 A2 [0003]
- US 2003/0004334 A1 [0003]

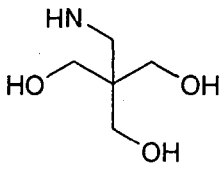
Zitierte Nicht-Patentliteratur

- J. B. Conant, K. F. Armstrong, J. Am. Chem. Soc. 1933, 55, 829 [0020]
- G. Martinez, S. G. Bertolotti, O. E. Zimermann, D. O. Mrtire, S. E. Braslavsky, N. A. Garcia, J. Photochem. Photobiol. B. Biol. 1993, 17, 247 [0035]

Patentansprüche

1. Chlorin-Derivate der Formeln 1a oder 1b
R^{10} ausgewählt ist aus OH, Alkoxy, Monoalkylamino und Dialkylamino; und
M entweder 2 Wasserstoffatome darstellt, wobei jeweils ein entsprechendes Wasserstoff an ein N-Atom des Chlorin-Derivats angebunden ist, oder Metall ist.

2. Chlorin-Derivate nach Anspruch 1, wobei Polyole und Aminopolyole ausgewählt sind aus $NH\text{-}CH_2[CH(OH)]_nCH_2OH$ mit n = 0–10, vorzugsweise n = 2–6, oder



3. Chlorin-Derivate nach Anspruch 1 oder 2, wobei M ausgewählt ist aus Magnesium, Zink, Zinn, Palladium und Platin.

4. Chlorin-Derivate nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass R^2 in Formeln 1a und 1b ausgewählt ist aus Dimethylamino, Diethylamino und Dipropylamino.

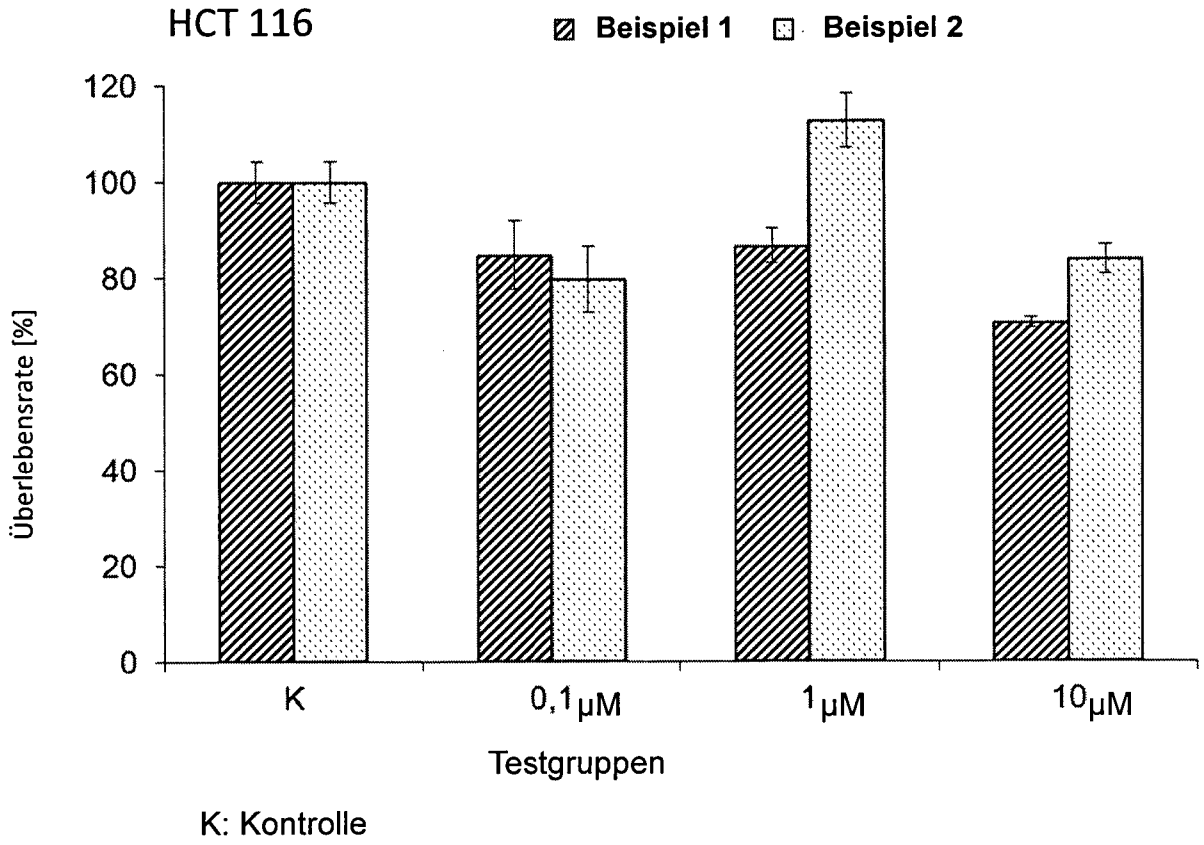
5. Chlorin-Derivate nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass R^3 in Formeln 1a und 1b ausgewählt ist aus Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl und Isobutyl.

6. Chlorin-Derivate nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass R^7 in Formel 2 Ethyl ist.

7. Verwendung der Chlorin-Derivate nach einem der vorangehenden Ansprüche als Photosensibilisator in der photodynamischen Tumortherapie.

Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



K: Kontrolle

Fig. 1

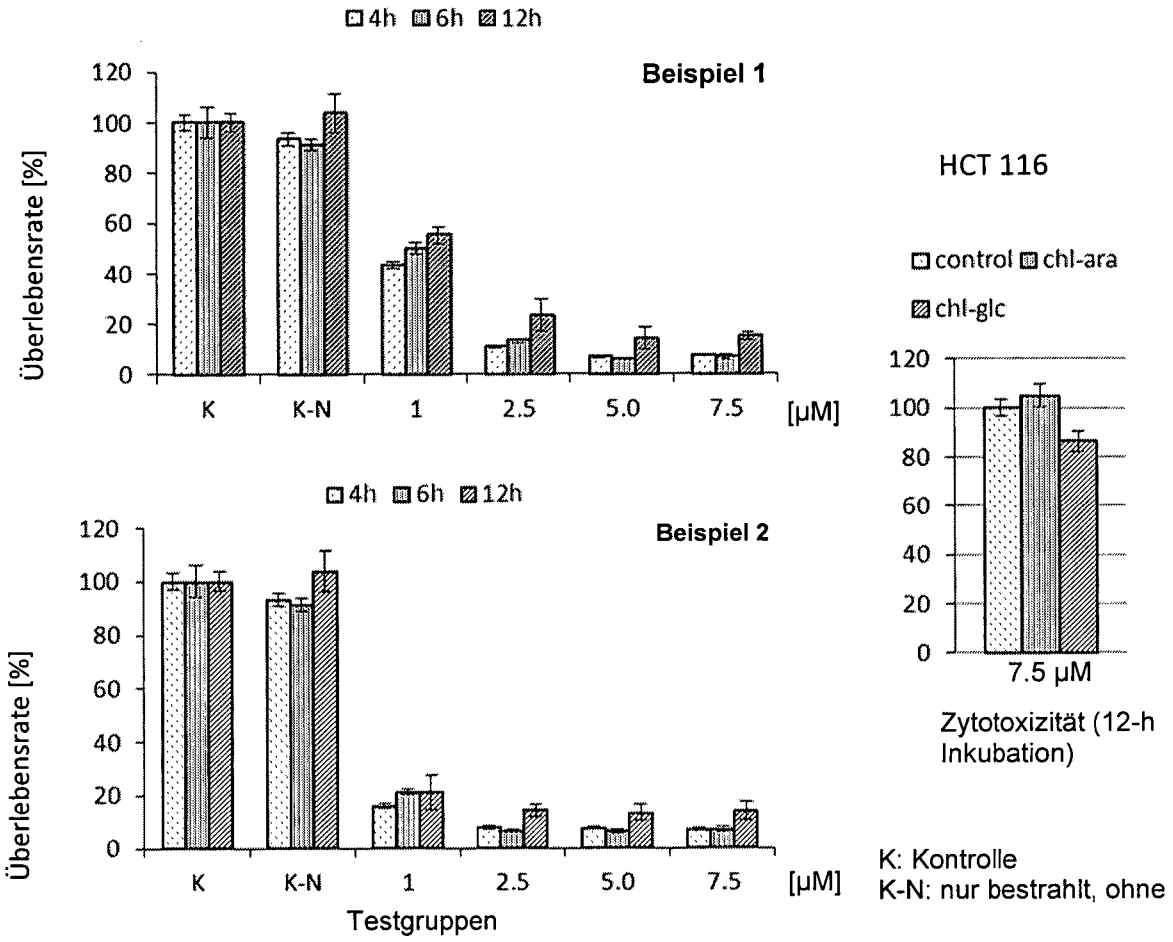

4h 6h 12h
Beispiel 1
Überlebensrate [%]
120
100
80
60
40
20
0
K
K-N
1
2.5
5.0
7.5
[µM]
4h 6h 12h
Beispiel 2
Überlebensrate [%]
Testgruppen
HCT 116
control chl-ara
chl-glc
7.5 µM
Zytotoxizität (12-h Inkubation)
K: Kontrolle
K-N: nur bestrahlt, ohne

Fig. 2