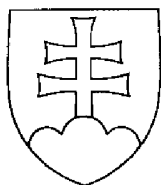


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

288524

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl. (2018.01):

A61K 31/00

A61P 35/00

- (21) Číslo prihlášky: **50003-2016**
(22) Dátum podania prihlášky: **18. 2. 2002**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **0124957.2, 0104072.4**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **17. 10. 2001, 19. 2. 2001**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **GB, GB**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **2.3.2004**
Vestník ÚPV SR č.: 3/2004
(45) Dátum oznámenia o udelení patentu: **4. 1. 2018**
Vestník ÚPV SR č.: 01/2018
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **20. 11. 2017**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky: **5011-2005**
(67) Číslo pôvodnej prihlášky úžitkového vzoru v prípade odbočenia:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT:
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT:
(96) Číslo podania európskej patentovej prihlášky:

(73) Majiteľ: **NOVARTIS AG, Basel, CH;**

(72) Pôvodca: **Lane Heidi, Basel, CH;**
O'Reilly Terence, Basel, CH;
Wood Jeanette Marjorie, Biel-Benken, CH;

(74) Zástupca: **inventa Patentová a známková kancelária s.r.o., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **40-O-(2-hydroxyetyl)rapamycín na použitie ako jediná aktívna zložka pri liečení pevných nádorov mozgu iných ako lymfatická rakovina**

(57) Anotácia:
40-O-(2-hydroxyetyl)rapamycín (everolimus) je navrhnutý na použitie ako jediná aktívna zložka pri liečení pevných nádorov mozgu iných ako lymfatická rakovina. Opísaná je antiproliferatívna a antiangiogénna aktivita 40-O-(2-hydroxyetyl)rapamycínu, keď je použitý v kombinácii s ďalšou účinnou látkou alebo samotný.

SK 288524 B6

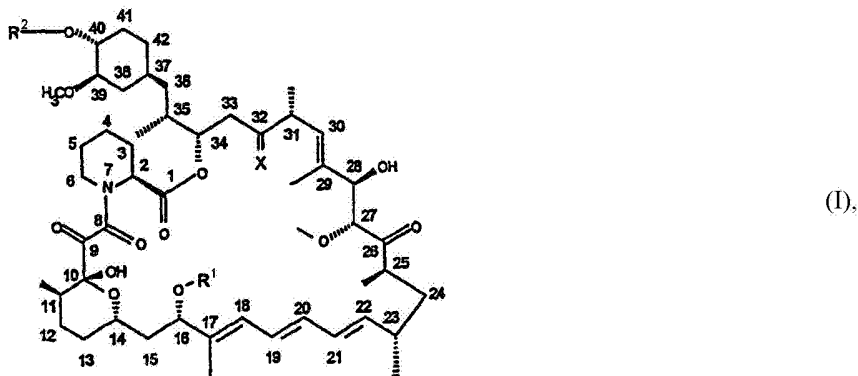
Oblasť techniky

Predložený vynález sa týka najmä nového použitia 40-O-(2-hydroxyetyl)rapamycínu.

5

Doterajší stav techniky

Rapamycín je známe makrolidové antibiotikum produkované organizmom *Streptomyces hygroscopicus*. Medzi vhodné deriváty rapamycínu patria napríklad zlúčeniny všeobecného vzorca (I)



v ktorom

R¹ znamená skupinu CH₃ alebo alkyllovú skupinu obsahujúcu 3 až 6 uhlíkových atómov,

R² znamená atóm vodíka alebo skupinu -CH₂-CH₂-OH a

X znamená skupinu =O, (H,H) alebo (H,OH),

s tou podmienkou, že symbol R² nadobúda iný význam ako atóm vodíka, ak X znamená skupinu =O a R¹ znamená skupinu CH₃.

Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) sú opísané napr. v dokumentoch WO 94/09010, WO 95/16691 alebo WO 96/41807. Je možné ich pripraviť spôsobmi opísanými v týchto dokumentoch alebo analogicky k nim.

Výhodnejšia zlúčenina 40-O-(2-hydroxyetyl)rapamycín (ďalej označovaný ako zlúčenina A) bola opísaná v príklade 8 vo WO 94/09010.

Zistilo sa, že zlúčeniny všeobecného vzorca (I), na základe pozorovanej aktivity, napr. väzby na makrofilín-12 (tiež známy ako FK-506 väzbový proteín alebo FKBP-12), napr. ako sa opisuje v dokumentoch WO 94/09010, WO 95/16691 alebo WO 96/41807, sú použiteľné napr. ako imunosupresíva, napr. pri liečení akútnej rejekcie aloštep. Teraz sa zistilo, že zlúčeniny všeobecného vzorca (I) majú silné antiproliferatívne účinky, ktoré ich robia použiteľnými pre rakovinovú chemoterapiu, najmä pevných nádorov, obzvlášť pokročilých pevných nádorov. Stále však existuje potreba rozšíriť nástroje rakovinovej terapie pevných nádorov, najmä v prípadoch, kedy nie je liečenie protirakovinovými zlúčeninami spojené s regresiou alebo stabilizáciou ochorení.

Podstata vynálezu

V súlade s konkrétnymi zisteniami predložený vynález poskytuje:

40-O-(2-hydroxyetyl)rapamycín na použitie ako jediná aktívna zložka pri liečení pevných nádorov mozgu iných ako lymfatická rakovina. Ďalšie uskutočnenie je opísané v závislom nároku.

Taktiež je opísaný:

1.2. Spôsob inhibície rastu pevných nádorov u jedinca, ktorý to vyžaduje, zahŕňajúci podávanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny všeobecného vzorca (I) uvedenému jedincovi.

1.3. Spôsob vyvolania regresie nádoru, napr. redukcie nádorovej hmoty, u jedinca, ktorý to vyžaduje, zahŕňajúci podávanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny všeobecného vzorca (I) uvedenému jedincovi.

1.4. Spôsob liečenia invazivity pevného nádoru alebo symptómov spojených s takým nádorovým rastom u jedinca, ktorý ho vyžaduje, zahŕňajúci podávanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny všeobecného vzorca (I) uvedenému jedincovi.

1.5. Spôsob prevencie metastatického šírenia nádorov alebo prevencie, alebo inhibície rastu mikrometastázy u jedinca, ktorý to vyžaduje, zahŕňajúci podávanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny všeobecného vzorca (I) uvedenému jedincovi.

Termín „pevné nádory“ sú myslené nádory a/alebo metastázy (umiestnené kdekoľvek), iné ako lymfatické karcinómy, napr. nádory mozgu a iné nádory centrálného nervového systému (napr. nádory meningy,

mozgové nádory, miechové nádory, nádory kraniaálnych nervov a iných častí centrálného nervového systému, napr. glioblastómy alebo meduloblastómy); karcinómy hlavy a/alebo krku; nádory hrudníka; nádory obehového systému (napr. srdca, mediastína a pleury, a ďalších vnútrohrudníkových orgánov, vaskulárne nádory a s nádorom súvisiace vaskulárne tkanivo); nádory vylučovacieho systému (napr. obličiek, obličkových panvíc, močovodov, močového mechúra, ďalších a nešpecifikovaných močových orgánov); nádory gastrointestinálneho traktu (napr. pažeráka, žalúdka, tenkého čreva, tračníka, kolorektálne nádory, nádory rektosigmoidného spojenia, rekta, anu a análneho kanála), nádory postihujúce pečeň a vnútropečeňové žľazové cesty, žľazník, ďalších a nešpecifikovaných častí žľazového traktu, pankreasu a ďalších orgánov zažívacieho traktu); hlavy a krku; dutiny ústnej (perí, jazyka, ďasna, spodiny dutiny ústnej, podnebia a ďalších častí úst, príušných žliaz a ďalších častí slinných žliaz, tonzíl, orofaryngu, nazofaryngu, pyriiformného sinu, hypofaryngu a ďalších miest pery, v ústnej dutine a hltane); nádory reprodukčného systému (napr. vulvy, vagíny, maternicového krčka, maternicového tela, maternice, vaječníkov a ďalších miest spojených so ženskými pohlavnými orgánmi, placenty, penisu, prostaty, semeníkov a ďalších miest spojených s mužskými pohlavnými orgánmi); nádory dýchacieho traktu (napr. dutiny nosnej a stredného ucha, akcesorných sínusov, hrtanu, trachey, bronchov a pľúc, napr. malobunkový karcinóm pľúc alebo nemalobunkový karcinóm pľúc); nádory kostrového systému (napr. kosti a kĺbovej chrupavky končatín, kostí a kĺbovej chrupavky a ďalších miest); nádory kože (napr. malígne melanóm kože, nemelanómové kožné karcinómy, karcinóm kože z bazálnych buniek, karcinóm kože zo skvamózných buniek, mezoteliom, Kaposiho sarkóm); a nádory postihujúce iné tkanivá, zahŕňajúce periférne nervy a autonómny nervový systém, spojivové a mäkké tkanivá, retroperitoneum a peritoneum, oko a adnexy, štítnu žľazu, nadobličku a ďalšie endokrinné žľazy a súvisiace štruktúry, sekundárne a nešpecifické malígne novotvary lymfatických uzlín, sekundárne a nešpecifické malígne novotvary dýchacieho a zažívacieho traktu a sekundárne malígne novotvary iných miest.

Ak sú skôr a ďalej uvedené nádor, nádorové ochorenie, karcinóm alebo rakovina, sú alternatívne alebo navyše myslené tiež metastázy v pôvodnom orgáne alebo tkanive, a/alebo v ľubovoľnom inom mieste, či už je umiestnenie nádoru a/alebo metastázy akékoľvek.

K príkladom ochorení súvisiacich s deregulovanou angiogenezou patria, bez obmedzenia, napr. neoplastické ochorenia, napr. pevné nádory. Angiogenéza sa považuje za predpoklad tých nádorov, ktoré vyrastajú nad určitý priemer, napr. asi 1 až 2 mm.

Ďalej sú opísané:

2.1. Zlúčenina všeobecného vzorca (I) na použitie v rámci ľubovoľného spôsobu definovaného v bodoch 1.1. až 1.5.

3.1. Zlúčenina všeobecného vzorca (I) na použitie na prípravu farmaceutickej kompozície na použitie v rámci ľubovoľného spôsobu definovaného v bodoch 1.1. až 1.5.

4.1. Farmaceutická kompozícia na použitie v rámci ľubovoľného spôsobu definovaného v bodoch 1.1. až 1.5. obsahujúca zlúčeninu všeobecného vzorca (I) spolu s jedným alebo viacerými z ich farmaceuticky prijateľných riedidiel alebo nosičov.

„Lymfatickým karcinómom“ sú myslené napr. nádory krvného a lymfatického systému (napr. Hodgkinova choroba, non-Hodgkinov lymfóm, Burkittov lymfóm, lymfómy súvisiace s AIDS, malígne imunoproliferatívne ochorenie, mnohonásobný myelóm a malígne neoplazmatá plazmatických buniek, lymfoidná leukémia, myeloidná leukémia, akútna alebo chronická lymfocytárna leukémia, monocytárna leukémia, ďalšie leukémie špecifikovaných typov buniek, leukémie nešpecifikovaných typov buniek, ďalšie a nešpecifikované malígne neoplazmy lymfoidných, hematopoetických a príbuzných tkanív, napríklad difúzny veľkobunkový lymfóm, T-bunkový lymfóm alebo kožný T-bunkový lymfóm).

Termínom „chemoterapeutické činidlo“ sa myslí najmä akékoľvek iné chemoterapeutické činidlo ako rapamycín alebo jeho derivát.

V každom prípade, keď sú uvedené citácie patentových prihlášok alebo vedeckých publikácií, podstata týkajúca sa zlúčenín zahŕňa tiež ich farmaceuticky prijateľné soli, príslušné racemáty, diastereoizoméry, enantioméry, tautoméry a tiež tak príslušné kryštálové modifikácie skôr uvedených zlúčenín, ak sa vyskytujú, napr. solváty, hydráty a polymorfy, ktoré sú tam opísané. Zlúčeniny používané ako účinné látky v kombináciách podľa predmetného riešenia je možné pripravovať, respektíve podávať, ako je opísané v uvedených dokumentoch.

Užitočnosť zlúčenín všeobecného vzorca (I) pri liečení pevných nádorov, ako je upresnené skôr, je možné ukázať pomocou živočíšnych testovacích metód, a tiež tak pomocou klinických metód, napríklad v súlade s ďalej opísanými metódami.

Príklady uskutočnenia vynálezu

A. *In vitro*

A.1 Antiproliferatívna aktivita v kombinácii s ďalšími činidlami

Bunková línia, A549 línia rezistentná proti zlúčenine A (IC_{50} v rozsahu nízkych hodnôt v nmol) proti komparatívnym KB-31 a HCT116 líniam rezistentným proti zlúčenine A (IC_{50} v rozsahu μM), sa vloží na 96-jamkové dosky (1 500 buniek/jamka v 100 μl média) a inkubujú sa počas 24 hodín. Následne sa v samostatných skúmavkách pripraví dvojnásobne riedený rad (so začiatkom na 8x IC_{50} každej zlúčeniny) každej zlúčeniny (zlúčeniny všeobecného vzorca (I) alebo známeho chemoterapeutického činidla), buď samotnej, alebo v párových kombináciách a roztoky sa pridávajú do jamiek. Bunky sa potom znova inkubujú počas 3 dní. V deň 4 sa uskutoční farbenie metylénovou modrou a stanoví sa množstvo naviazaného farbiva (proporcionálne k počtu prežijúcich buniek s naviazaným farbivom). Následne sa stanovia hodnoty IC_{50} pomocou programu Calcsyn, ktorý umožňuje meranie interakcie, menovite tzv. „non-exkluzívneho“ kombinačného indexu (CI), kde: $CI \sim 1$ = interakcia je takmer aditívna; 0,85 až 0,9 = ľahký synergizmus; < 0,85 = synergizmus. V rámci tejto analýzy má zlúčenina A v kombinácii s iným chemoterapeutickým činidlom zaujímavé antiproliferatívne účinky. Pri kombinácii zlúčeniny A a cisplatiny, paclitaxelu, gemcitabínu a doxorubicínu je možné napríklad získať nasledujúce hodnoty CI, ukazujúce synergické účinky.

CI				
Bunková línia	Cisplatina	Paclitaxel	Gemcitabin	Doxorubicín
KB-31	0,74	0,9	0,79	0,7
A549	0,47	0,74	0,76	0,64
HCT116	0,47	0,3	0,9	0,52

Ďalej v rámci tejto analýzy zlúčenina A, ak sa použije v kombinácii s gemcitabínom, zosilňuje úbytok životnosti A549 buniek a bunkovej smrti.

A.2 Antiangiogénna aktivita

In vitro analýza antiproliferatívnej aktivity zlúčeniny A, proti ľudským endotelovým bunkám umbilikálnej žily (HUVECs) ukazuje pri VEGF- a bFGF-, respektíve FBS-stimulovanej proliferácie hodnoty IC_{50} vo výške 120 ± 22 pmol a 841 ± 396 , a > 10 000 pmol. Ďalej sa v rámci rovnakého rozsahu koncentrácií nepozorujú významné účinky zlúčeniny A na bFGF-stimulovanú proliferáciu normálnych ľudských dermálnych fibroblastov (NHFD). Tieto výsledky ukazujú, že zlúčenina A inhibuje proliferáciu HUVECs, pričom je obzvlášť silná proti proliferácii vyvolanej VEGF, pričom VEGF je kľúčový proangiogénny faktor.

B. *In vivo*

V nasledujúcich analýzach sa protinádorová aktivita vyjadruje ako T/C % (stredné zvýšenie objemov nádorov ošetrovaných zvierat delené stredným zvýšením objemov nádorov kontrolných zvierat násobené 100) a % regresie (objem nádoru mínus počiatočný objem nádoru delený počiatočným objemom nádoru a násobené 100).

B.1 Aktivita pri A549 ľudských xenoštepoch nádoru pľúc

Fragmenty A549 nádorov (asi 25 mg; odvodené od bunkovej línie CCL 185, ATCC, Rockville MD, USA) sa subkutánne transplantujú do ľavého boku BALB/c holých myší. S ošetrovaním sa začne v deň 7 alebo v deň 12 po transplantácii nádoru. Testovaná zlúčenina sa podáva p.o. raz denne odo dňa 7/12 do dňa 38/55. V rámci tejto analýzy majú zlúčeniny všeobecného vzorca (I), ak sa podávajú v dennej dávke pohybujúcej sa od 0,1 mg/kg do 2,5 mg/kg, inhibíciu rastu nádoru závislú od dávky; napríklad v rámci jedného reprezentatívneho experimentu vedie zlúčenina A, ak sa podáva v dávke 2,5 mg/kg, k zotrúvajúcim regresiám (41 %); dávka 0,5 mg/kg vedie k prechodným regresiám (38 % v deň 17), s výslednou hodnotou T/C predstavujúcou 16 %, a dávka vo výške 0,1 mg/kg spomaľuje rast nádoru, čo vedie k výslednej hodnote T/C predstavujúcej 43 % (T/C pri kontrolných zvieratách predstavuje 100 %).

B.2 Aktivita pri KB-31 ľudských xenoštepoch epidermoidného nádoru

Fragmenty KB-31 nádorov (asi 25 mg; odvodené od bunkových líní získaných od Roswell Park Memorial Institute Buffalo, NY, USA) sa subkutánne transplantujú do ľavého boku BALB/c holých myší. S ošetrovaním sa začne v deň 7 alebo v deň 10 po transplantácii nádoru. Testovaná zlúčenina sa podáva p.o. raz denne odo dňa 7/10 do dňa 25/35. Protinádorová aktivita sa vyjadruje ako T/C %, ako je naznačené skôr. V rámci tejto analýzy inhibujú zlúčeniny všeobecného vzorca (I), ak sa podávajú v dennej dávke pohybujúcej sa od 0,5 mg/kg do 2,5 mg/kg, rast nádoru; napríklad v rámci jedného reprezentatívneho experimentu vedie zlúčenina A, ak sa podáva v dávke predstavujúcej 2,5 mg/kg/deň, k výslednej hodnote T/C predstavujúcej 25 % (T/C pri kontrolných zvieratách predstavuje 100 %).

B.3 Aktivita u CA20948 nádoroch pankreasu pri potkanoch

Nádory sa zavedú samčekom potkanov Lewis pomocou subkutánnej injekcie suspenzie CA20948 nádorových buniek pochádzajúcich od darcovských potkanov do ľavého boku. S ošetrovaním sa začne v deň 4 po inokulácii. Testovaná zlúčenina sa podáva p.o. raz denne (6 dní v týždni) odo dňa 4 do dňa 9 až 15 po inokulácii. Protinádorová aktivita sa vyjadruje ako T/C %, ako je naznačené skôr. V rámci tejto analýzy inhibujú zlúčeniny všeobecného vzorca (I), ak sa podávajú v dennej dávke 0,5 mg/kg až 2,5 mg/kg, rast nádoru; napríklad v rámci reprezentatívneho experimentu vedie zlúčenina A, ak sa podáva p.o. v dennej dávke 2,5 mg/kg k výslednej hodnote T/C predstavujúcej 23 %. V tom istom experimente vedie prerušované podávanie zlúčeniny A, 5 mg/kg dvakrát týždenne, k výslednej hodnote T/C predstavujúcej 32 %. Zlúčenina A v rámci týchto analýz významne a konzistentne znižuje mieru rastu CA20948 pankreatických nádorov, v porovnaní s kontrolami s vehikulom (T/C pri kontrolných zvieratách je definovaná ako 100 %).

Zlúčenina A sa testovala v ďalších nádorových modeloch v súlade s opísaným postupom. Napríklad výsledkom dennej dávky 2,5 mg/kg alebo 5 mg/kg zlúčeniny A, ak sa podávajú v rámci modelu ľudského NCI H-596 nádoru pľúc, respektíve nádorového modelu ľudského MEXF 989 melanómu, sú výsledné hodnoty T/C 18 % a 9 %; 5 mg/kg vedie k výsledným hodnotám T/C predstavujúcim 20 % (primárny nádor) a 36 % (metastázy v cervikálnej lymfatickej uzline), ak sa podávajú v ortotopickom myšom nádorovom modeli B16/BL6 melanómu, a 24 %, ak sa podávajú v modeli ľudského AR42J pankreatického nádoru; 2,5 mg/kg vedie k výslednej hodnote T/C 28 %, ak sa podáva v modeli ľudského KB-8511 epidermoidného nádoru rezistentného proti viacerým liečivám (MDR). Dobré protinádorové odpovede sa získajú tiež, ak sa zlúčenina A podáva prerušovane, napr. 2 následné dni za týždeň alebo dvakrát denne, myšiam s transplantovanými ľudskými AR42J pankreatickými nádormi.

B.4 Kombinácia s doxorubicínom

Myši s transplantovanými ľudskými KB-31 epidermoidnými nádormi sa ošetrujú počas 21 dní doxorubicínom v dávke predstavujúcej 5 mg/kg i.v. raz týždenne zlúčeninou A v dávke 2,5 mg/kg p.o. raz denne, alebo kombináciou oboch. Potom sa v kombinovanej skupine pokračuje v ošetrovaní zlúčeninou A samotnou s cieľom zistiť, či môže zlúčenina A potláčať rozrastanie nádorov, ktoré odpovedajú na konvenčné činidlá. Protinádorová aktivita sa vyjadří ako T/C % alebo % regresíí, ako je naznačené skôr. Napríklad kombinácia zlúčeniny A a doxorubicínu vedie k vyššiemu protinádorovému účinku (74 % regresíí) v porovnaní s každým z činidiel samotným (zlúčenina A, T/C 32 %; doxorubicín 44 % regresíí). Ak sa pridá ošetrovanie zlúčeninou A, nedochádza k žiadnemu zhoršeniu úbytkov telesnej hmotnosti spôsobeným doxorubicínom. Pokračovanie v ošetrovaní zlúčeninou A pri kombinovanej skupine po ukončení podávania doxorubicínu, inhibuje rozrastanie nádoru, takže objemy nádorov pri skupine s monoterapiou doxorubicínom sú významne vyššie ako pri kombinovanej skupine. Navyše sa zdá, že výsledkom kombinácie je vyššia miera vyliečenia (8/8 nádorov) po 14 dňoch po ukončení ošetrovania ako pri samotnom doxorubicíne (3/8 nádorov).

B.5 Kombinácia s cisplatinou

Myši s transplantovanými ľudskými NCI H-596 nádormi pľúc sa počas 21 dní ošetrujú cisplatinou v dávke 2,5 mg/kg i.v. raz týždenne zlúčeninou A v dávke 2,5 mg/kg p.o. raz denne, alebo kombináciou oboch. Protinádorová aktivita sa vyjadruje ako T/C % alebo % regresíí, ako sa uviedlo skôr. Kombinácia zlúčeniny A a cisplatiny vedie k vyššiemu protinádorovému účinku (5 % regresíí) v porovnaní s každým z činidiel samotným (zlúčenina A, T/C 26 %; cisplatina, T/C 26 %). Výsledkom kombinácie nie je zhoršenie znášanlivosti.

B.6 Antiangiogénna aktivita

B16/BL6 bunky (5×10^4) sa injekčne intradermálne podajú do ucha C57BL/6 myši. O sedem dní neskôr sa začne s ošetrovaním zlúčeninou A alebo vehikulom. Po dvoch týždňoch denného ošetrovania sa zhromaždia primárne nádory a cervikálne lymfatické uzliny na meranie hustoty ciev. Endotel ciev zásobujúcich krvou sa v nádoroch vizualizuje použitím farbiva sfarbujúceho jadro (Hoechst 33342, 20 mg/kg), ktoré sa injikuje i.v. krátko pred usmrtením myši. Nádory a metastázy sa momentovo zmrazia a rezy sa skúmajú pod svetelným mikroskopom vybaveným epifluorescenčným zdrojom. Fluorescenčné H33342-značené endotelové bunky sa používajú na stanovenie počtu a veľkosti ciev v celom nádorovom reze. Ciev sa rozdelia do skupín s rozsahom veľkosti 10 μ m. Distribúcia ciev sa hodnotí pomocou histogramovej frekvenčnej analýzy. V dávke 5 mg/kg p.o. znižuje zlúčenina A hustotu ciev tak pri primárnom nádore (napr. T/C 50 % pre zlúčeninu A), ako pri metastázach (napr. T/C 40 % pre zlúčeninu A), v porovnaní s kontrolami. Zlúčenina A tiež v metastázach mení distribúciu veľkosti ciev.

B.7 Kombinácia s antiangiogénnym činidlom

B16/BL6 bunky (5×10^4) sa intradermálne injikujú do ucha C57BL/6 myši. O sedem dní neskôr sa začne s ošetrovaním zlúčeninou A, inhibítorom VEGF receptorovej tyrozinkinázy, napr. 1-(4-chlóranilino)-4-(4-

-pyridylmetyl)ftalazínom alebo jeho soľou, napr. sukcinátom, alebo kombináciou oboch a monitorujú sa účinky na rast a hmotnosť primárneho nádoru, respektíve metastáz v cervikálnych lymfatických uzlinách. Denné podávanie antiangiogénneho činidla (100 mg/kg p.o.) alebo zlúčeniny A, (1 mg/kg p.o.) samotných, znižuje veľkosť primárneho nádoru (výsledná hodnota T/C: 65 %, respektíve 74 %), zatiaľ čo kombinácia týchto dvoch činidiel je synergická (T/C 12 %). Ošetrovanie zlúčeninou A a antiangiogénnym činidlom samotným znižuje hmotnosti cervikálnych lymfatických uzlín (vo vzťahu k regionálnym metastázam) (T/C: 75 %, respektíve 34 %), a kombinácia ďalej znižuje hmotnosti lymfatických uzlín (T/C 13 %). Ošetrovanie významne zvyšuje prírastky telesnej hmotnosti v porovnaní s kontrolami. Pri primárnych nádoroch ukazuje analýza možné interakcie synergií pre zlúčeninu A a antiangiogénneho činidla – antiangiogénne činidlo/kontroly = 0,66; zlúčenina A/kontroly = 0,77; zlúčenina A a antiangiogénne činidlo/kontroly = 0,135. Pretože zlúčenina A a antiangiogénne činidlo/kontroly < zlúčenina A/kontroly x antiangiogénne činidlo/kontroly (0,51), je toto definované ako synergia. Pri metastázach ukazuje analýza tiež synergiu pre zlúčeninu A a antiangiogénne činidlo – antiangiogénne činidlo/kontroly = 0,337; zlúčenina A/kontroly = 0,75; zlúčenina A a antiangiogénne činidlo/kontroly = 0,122. Pretože zlúčenina A a antiangiogénne činidlo/kontroly < zlúčenina A/kontroly x antiangiogénne činidlo/kontroly (0,252), je toto tiež definované ako synergia (Clark, Breast Cancer Research Treatment 1997; 46:255).

C. Klinická štúdia

C.1 Výskum klinického prínosu zlúčeniny A ako monoterapie pri pevných nádoroch

Cieľ štúdie: Identifikovať optimálnu dávku uvedenej zlúčeniny podávanej raz týždenne v rámci štúdie so zvyšujúcou sa dávkou a účinnosť optimálnej dávky pri pevných nádoroch.

Štúdia sa delí na 2 časti

Časť 1

Primárny cieľ: Identifikovať optimálnu dávku zlúčeniny A podávanej p.o. raz týždenne, za predpokladu, že touto by mala byť minimálna dávka spojená s predĺženou inhibíciou mTOR a krvnými hladinami uvedenej zlúčeniny aspoň ekvivalentnými hladinám dosahujúcim protinádorový účinok v *in vivo* preklinických štúdiách.

Sekundárny cieľ: Zhodnotiť bezpečnosť uvedenej zlúčeniny, ak sa podáva samotná pacientom s rakovinou, a zhodnotiť zmeny nádorovej metabolickej aktivity.

Plán: Po sebe idúce skupiny 4 pacientov s pokročilými malígnymi pevnými nádormi, refraktérnymi alebo rezistentnými proti štandardným terapiám užívajú zlúčeninu A každých 7 dní rôznej dávky (skupina 1 užíva 5 mg; skupina 2 užíva 10 mg; skupina 3 užíva 20 mg) počas 4 týždňov. V týždni 4 sa stanovuje farmakokinetický profil a profil inhibície mTOR, ako ukazuje inhibícia p70s6 kinázy v periférnych lymfocytoch. Uskutoční sa komparatívne 18-fluór-deoxyglukózový (FDG) pozitron-emisné tomografické (FDG-PET) zobrazenie (pred prvou dávkou, po tretej dávke) s cieľom vyšetriť zmenu nádorového metabolizmu.

Hlavné výberové kritériá pacientov: Dospelí s pokročilým štádiom (III až V) pevných nádorov, rezistentných alebo refraktérnych proti štandardným terapiám. Aspoň jedna nádorová lézia by mala byť merateľná (> 20 mm v jednom rozmere).

Hlavné premenné pre hodnotenie: Bezpečnosť (nepriaznivé javy), štandardné biochemické vyšetrenie séra a hematologické vyšetrenie, krvné hladiny testovanej zlúčeniny, lymfocytová p70-s6-kinázová aktivita, zmeny v nádorovom príjme glukózy pomocou FDG- PET.

Časť 2

Primárny cieľ: Vyšetriť účinnosť zlúčeniny A u pacientov s pokročilými pevnými nádormi, ak sa podáva raz týždenne v optimálnej dávke, ako sa identifikuje v časti 1, ako ukazuje nádorová odpoveď.

Sekundárny cieľ: Zhodnotiť bezpečnosť uvedenej zlúčeniny pri tejto dávke.

Plán: 20 pacientov s progredujúcim pevným nádorom v pokročilom štádiu, rezistentným alebo refraktérnym proti štandardným terapiám, užíva uvedenú zlúčeninu v dávke odporúčanej ako výsledok časti 1. Celkový klinický stav pacientov sa vyšetruje týždenne fyzikálnym a laboratórnym vyšetrením. Zmeny nádorovej záťaže sa hodnotia každé 2 mesiace pomocou rádiologického vyšetrenia. Spočiatku pacienti užívajú terapiu počas 2 mesiacov. Potom sa ponechávajú na terapii, pokiaľ ich ochorenie neprogreduje a liečivo je uspokojivo znášané.

Hlavné premenné pre hodnotenie: Bezpečnosť (nepriaznivé javy), štandardné biochemické vyšetrenie séra a hematologické vyšetrenie, rozmery nádoru pomocou snímokovania s použitím počítačovej tomografie (CT) alebo zobrazovanie magnetickou rezonanciou (MRI).

C.2 Kombinovaná terapia

Vhodnými klinickými štúdiami sú napríklad otvorené, značené, nerandomizované štúdie so zvyšujúcou sa dávkou u pacientov s pokročilými pevnými nádormi. Tieto štúdie slúžia najmä na vyšetrenie synergizmu

účinných látok kombinácie podľa vynálezu. Priaznivé účinky na proliferatívne ochorenie je možné stanoviť priamo pomocou výsledkov týchto štúdií alebo zmenou plánu štúdie, ktoré sú odborníkovi v odbore známe. Také štúdie sú obzvlášť vhodné na porovnanie účinkov monoterapie s použitím účinných látok a kombinácie podľa predmetného riešenia. Výhodne sa dávka činidla (a) zvyšuje až do dosiahnutia maximálnej tolerovanej dávky a spolučinidlo (b) sa podáva vo fixnej dávke. Alternatívne sa činidlo (a) podáva vo fixnej dávke a dávka spolučinidla (b) sa zvyšuje. Každý pacient užíva dávku činidla (a) buď denne, alebo prerušovane. Účinnosť liečenia je možné stanovovať v rámci týchto štúdií napr. po 12, 18 alebo 24 týždňoch pomocou rádiologického hodnotenia nádorov každých 6 týždňov.

Alternatívne je možné s cieľom overiť tu uvedené priaznivé účinky kombinácie podľa predmetného riešenia použiť placebo kontrolovanú, dvojito slepú štúdiu.

Denné dávky požadované pri uskutočňovaní spôsobu, ktorého sa predložený vynález týka, sa budú v prípade, ak sa zlučenie všeobecného vzorca (I) použije samotná, líšiť napríklad v závislosti od použitej zlučiny, hostiteľa, spôsobu podávania a závažnosti liečeného stavu. Výhodný rozsah denných dávok predstavuje asi od 0,1 do 25 mg v podobe jedinej dávky alebo v rozdelených dávkach. Vhodné denné dávky pre pacientov predstavujú napr. od 0,1 do 25 mg p.o. Zlučenie A je možné podávať akoukoľvek bežnou cestou, najmä enterálne, napr. orálne, napr. vo forme tabliet, kapsúl, nápojových roztokov, nazálne, pulmonárne (inhalačiou) alebo parenterálne, napr. vo forme injikovateľných roztokov alebo suspenzií. Vhodné jednotkové dávkové formy na orálne podávanie obsahujú asi od 0,05 do 12,5 mg, obvykle 0,25 až 10 mg zlučiny A, spolu s jedným alebo viacerými z ich farmaceuticky prijateľných riedidiel alebo nosičov.

Kombináciu podľa predmetného riešenia je možné tiež aplikovať v kombinácii s chirurgickým zákrokom, miernou prolongovanou celotelovou hypertermiou a/alebo radiačnou terapiou.

Podávanie farmaceutickej kombinácie podľa predmetného riešenia nevedie len k priaznivým účinkom, napr. k synergickému terapeutickému účinku, napr. s ohľadom na spomalenie, zastavenie alebo reverziu neoplazmatického útvaru alebo dlhší čas trvania nádorovej odpovede, ale tiež k ďalším prekvapujúcim priaznivým účinkom, napr. k menšiemu množstvu vedľajších účinkov, lepšej kvalite života alebo zníženej mortalite a morbidite, v porovnaní s monoterapiou použitím len jednej z farmaceuticky účinných látok použitých v kombinácii podľa predmetného riešenia, najmä pri liečení nádoru, ktorý je refraktérny proti iným chemoterapeutikám známym ako protinádorové činidlá. Najmä sa pri aplikácii v kombinácii s prvým činidlom (a) v nádorovom tkanive a nádorových bunkách pozoruje zvýšený príjem spolučinidla (b).

Ďalšou výhodou je to, že je možné použiť nižšie dávky účinných látok kombinácie podľa vynálezu, napríklad to, že dávky často nemusia byť len nižšie, ale aplikujú sa tiež menej často, alebo ich je možné použiť s cieľom znížiť výskyt vedľajších účinkov za kontroly rastu neoplazmatického útvaru. Toto je v súlade s prírakami a požiadavkami liečených pacientov.

Termíny „spoločné podávanie“ alebo „kombinované podávanie“, alebo podobne, ako sú tu použité, majú zahŕňať podávanie vybraných terapeutických činidiel jedinému pacientovi, a majú zahŕňať terapeutické režimy, v rámci ktorých sa činidlá nemusia nutne podávať rovnakou cestou podávania alebo v rovnakom okamihu.

Farmaceutické kompozície na oddelené podávanie prvého činidla (a) a spolučinidla (b) a na podávanie vo fixnej kombinácii, to znamená jediná galenická kompozícia obsahujúca aspoň dvoch kombinačných partnerov (a) a (b), podľa vynálezu, je možné pripravovať známym spôsobom a sú nimi kompozície vhodné na enterálne, ako je orálne alebo rektálne, a parenterálne podávanie cicavcom (teplokrvným živočíchom), vrátane ľudí, obsahujúce terapeuticky účinné množstvo aspoň jedného farmakologicky účinného kombinačného partnera samotného, napr. ako je uvedené skôr, alebo v kombinácii s jedným alebo viacerými farmaceuticky prijateľnými nosičmi alebo riedidlami, najmä vhodné na enterálne alebo parenterálne podávanie.

Vhodné farmaceutické kompozície obsahujú napríklad asi od 0,1 % do asi 99,9 %, výhodne asi od 1 % do asi 60 %, účinnej(ných) látky(tok). Farmaceutickými prípravkami pre kombinovanú terapiu na enterálne alebo parenterálne podávanie sú napríklad prípravky v jednotkových dávkových formách, ako sú cukrom potiahnuté tablety, tablety, kapsuly alebo čapíky, alebo ampuly. Ak nie je uvedené inak, sú tieto pripravené známym spôsobom, napríklad bežným miesením, granuláciou, potahovaním cukrom, rozpúšťaním alebo lyofilizáciou. Oceňuje sa, že jednotkový obsah kombinačného partnera obsiahnutý v jednotlivej dávke každej dávkovej formy nemusí samotný tvoriť účinné množstvo, lebo požadované účinné množstvo je možné dosiahnuť podávaním väčšieho počtu dávkových jednotiek.

Terapeuticky účinné množstvo každého z kombinačných partnerov kombinácie podľa predmetného riešenia je možné podávať súbežne alebo postupne a v ľubovoľnom poradí, a zložky je možné podávať oddelene alebo v podobe fixnej kombinácie. Napríklad spôsob oddialenia progresie alebo liečenie proliferatívneho malígneho ochorenia podľa predmetného riešenia môže zahŕňať (i) podávanie prvého činidla (a) vo voľnej forme alebo vo forme farmaceuticky prijateľnej soli a (ii) podávanie spolučinidla (b) vo voľnej forme alebo vo forme farmaceuticky prijateľnej soli, súbežne alebo postupne v ľubovoľnom poradí, v spoločne terapeuticky účinných množstvách, výhodne v synergicky účinných množstvách, napr. v denných alebo prerušovaných dávkach zodpovedajúcich tu opísaným množstvám. Jednotlivých kombinačných partnerov kombinácie podľa

predmetného riešenia je možné podávať oddelene v rôznych okamihoch v priebehu terapie alebo súčasne v rozdelených alebo jediných kombinačných formách. Termín podávania ďalej zahŕňa tiež použitie profarmaka kombinačného partnera, ktorý sa *in vivo* premení na kombinačného partnera samotného. Predložené riešenie zahŕňa všetky také režimy súbežnej alebo striedavej terapie a termín „podávanie“ sa má v súlade s tým interpretovať.

Účinná dávka každého z kombinačných partnerov použitých v kombinácii podľa predmetného riešenia sa môže líšiť v závislosti od konkrétne použitej zlúčeniny alebo farmaceutickej kompozície, spôsobu podávania, liečeného stavu, závažnosti liečeného stavu. Preto sa dávkovací režim kombinácie podľa predmetného riešenia zvolí podľa širokého spektra faktorov zahŕňajúcich cestu podávania a renálnej a hepatickej funkcie pacienta. Ošetrojúci lekár, klinik alebo veterinár s bežnou znalosťou môže ľahko stanoviť a predpísať účinné množstvo samotných účinných látok požadované na prevenciu, čelenie alebo zastavenie progresie stavu. Optimálna presnosť dosiahnutia koncentrácie účinných látok v rozsahu, ktorý vedie k účinnosti bez toxicity, vyžaduje režim založený na kinetike dostupnosti účinných látok do cieľových miest.

Denné dávky prvého činidla (a) sa budú samozrejme líšiť v závislosti od širokého spektra faktorov, napríklad od zvolenej zlúčeniny, konkrétneho liečeného stavu a požadovaného účinku. Všeobecne sa však uspokojivé výsledky dosiahnu podávaním rapamycínu alebo jeho derivátu v denných dávkach v rozsahu asi 0,1 až 25 mg v podobe jedinej dávky alebo v rozdelených dávkach. Rapamycín alebo jeho derivát, napr. zlúčeninu všeobecného vzorca (I), je možné podávať ľubovoľnou bežnou cestou, najmä enterálne, napr. orálne, napr. vo forme tabliet, kapsúl, nápojových roztokov, alebo parenterálne, napr. vo forme injikovateľných roztokov alebo suspenzií. Vhodné jednotkové dávkové formy na orálne podávanie obsahujú od asi 0,05 do 10 mg účinnej látky, napr. zlúčeniny A, spolu s jedným alebo viacerými z ich farmaceuticky prijateľných riedidiel alebo nosičov.

Zlúčenina A sa dobre znáša v dávkach požadovaných podľa predloženého vynálezu. Napríklad NTEL pre zlúčeninu A v rámci štvortýždňovej štúdie na toxicitu predstavuje 0,5 mg/kg/deň pri potkanoch a 1,5 mg/kg/deň pri opiciach.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. 40-O-(2-hydroxyetyl)rapamycín na použitie ako jediná aktívna zložka pri liečení pevných nádorov mozgu iných ako lymfatická rakovina.

2. 40-O-(2-hydroxyetyl)rapamycín na použitie pri liečení pevných nádorov mozgu iných ako lymfatická rakovina podľa nároku 1, pričom 40-O-(2-hydroxyetyl)rapamycín je podávaný orálne vo forme jednotkovej dávky zahrnujúcej od 0,25 do 10 mg spolu s jedným alebo viacerými farmaceuticky prijateľnými riedidlami alebo nosičmi.

Koniec dokumentu
