

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

**2003 - 1211**

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **31.10.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **31.10.2000 06.11.2000  
19.10.2001**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/244471 2000/246229  
2001/348449**

(33) Země priority: **US US US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17.09.2003**  
**(Věstník č. 9/2003)**

(86) PCT číslo: **PCT/GB01/04821**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO02/036145**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>:

**A 61 K 38/15**

**A 61 K 9/19**

(71) Přihlašovatel:

PHARMA MAR, S. A., Madrid, ES;

(72) Původce:

Faircloth Glynn Thomas, Cambridge, MA, US;

Nuyen Bastian, Amsterdam, NL;

Weitman Steve, San Antonio, TX, US;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1273, Praha 4,  
14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Prostředek kahalalid F, souprava a použití při  
léčbě karcinomů**

(57) Anotace:

Toto řešení se zabývá novým použitím kahalalidu F a  
prostředky s jeho obsahem.

Prostředek kahalalid F, souprava a použití při léčbě karcinomů

### Oblast techniky

Tento vynález se týká kahalalidu F, což je peptid izolovaný z býložravého druhu mořského měkkýše *Elysia rufescens*.

### Dosavadní stav techniky

Kahalalid F je předmětem evropské přihlášky vynálezu č. 610 078. V této přihlášce je uváděna aktivita in vitro proti buněčné kultuře lidského plicního karcinomu A-549 a lidského karcinomu tlustého střeva HT-29.

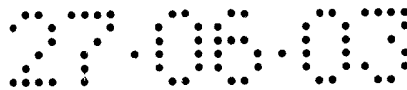
Více informací týkajících se kahalalidu F lze nalézt například v:

The absolute stereochemistry of kahalalid F, Goetz, Gilles; Yoshida, Wesley Y.; Scheur, Paul J. Dep. Chemistry, Univ. Hawaii, Honolulu, HI, USA. *Tetrahedron* (1999), 55(25), 7 739-7 746.

[Erratum to document cited in CA131:157 974]. *Tetrahedron* (1999), 55(40), 11 957.

Kahalalides: bioactive peptides from a marine mollusk *Elysia rufescens* and its algal diet *Bryopsis* sp. Hamann, Mark T.; Otto, Clifton S.; Scheuer, Paul J.; Dunbar, D. Chuck. Department of Chemistry, University of Hawaii of Manoa, Honolulu, HI, USA. *J. Org. Chem.* (1996), 61(19), 6 594-6 600. [Erratum to document cited in CA125:190 997]. *J. Org. Chem.* (1998), 63(14), 4 856.

The marine environment: A resource for prototype antimalarial agents. El Sayed, Khalid A.; D. Charles; Goins, D. Keith; Cordova, Cindy R.; Perry, Tony L.; Wesson, Keena J.; Sanders C.; Janus, Scot A.; Hamann, Mark T. Center the Development Natural Products, University Mississippi, University, MS, USA. *J. Nat. Toxins* (1996), 5(2), 261-285.



The antitumoral compound Kahalalide F acts on cell lysosomes. Garcia-Rocha, Mar; Bonay, Pedro; Avila, Jesus. 28 049-Madrid, Spain. Cancer Lett. (Shannon, Irel.) (1996), 99(1), 43-50.

Kahalalide F: a bioactive depsipeptide from the sacoglossan mollusk Elysia Rufescens and the green alga Bryopsis sp. Hamann, Mark T.; Scheuer, Paul J. Dep. Chem., Univ. Hawaii, Honolulu, HI, USA. J. Am. Chem. Soc. (1993), 115(13), 5 825-6.

### Podstata vynálezu

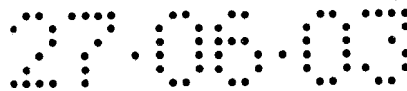
Předmětem vynálezu je zabezpečit nové prostředky a nová využití kahahalalidu F.

Kombinace neiontových povrchově aktivních látek a organických kyselin je vhodná pro použití s plnidlem za účelem získání lyofilizované formy kahahalalidu F vhodné pro rekonstituci (převedení zpět do kapalné formy). Rekonstituce se nejlépe provádí smícháním emulgačního rozpouštědla, alkoholu a vody.

Lyofilizovaná směs má přednostně obsahovat hlavně plnidlo, asi tak alespoň 90 % nebo alespoň 95 % plnidla. Příklady takových plnidel jsou dobře známé a zahrnují sacharózu a manitol. Mohou být použita též jiná plnidla.

Neiontovou povrchově aktivní látkou v lyofilizované směsi je sorbitan-ester, lépe polyethylensorbitanester, jako je polyoxyethylensorbitanalkanoát, zvláště pak polyoxyethylensorbitanmonooleat, například polysorbát 80. Neiontové povrchově aktivní látky tvoří jen malé procento směsi, asi tak do 5 % směsi, například 2 až 3 % směsi.

Organická kyselina v lyofilizované směsi je typická alifatická kyselina, nejlépe hydroxykarboxylová, nejvýznamnější je kyselina citronová. Organická kyselina tvoří typicky jen malé % směsi, asi tak do 5 % směsi, například 2 až 3 % směsi.



Typické množství kahalalidu F v lyofilizované směsi je méně než 1 % nebo častěji méně než 0,1 % směsi. Vhodné množství je v rozsahu 50 až 200  $\mu\text{g}$ , nejlépe okolo 100  $\mu\text{g}$  na 100 mg směsi.

Je vhodné, obsahuje-li emulgační rozpouštědlo pro rekonstituční činidlo ester polyethylenglykolu, zvláště ester mastné kyseliny, lépe PEG oleát, jako je PEG-35 oleát. Vhodné množství emulgačního rozpouštědla je 0 až 10 % rekonstitučního činidla, typicky okolo 3 až 7 %, nejlépe 5 %.

Alkoholem je obvykle ethanol a vhodné množství je 0 až 10 % rekonstitučního činidla, typicky okolo 3 až 7 %, nejlépe 5 %. Zbytek rekonstitučního činidla je voda a vytváří rekonstituovaný roztok vhodný pro intravenózní injekce.

Další zředění rekonstituovaného roztoku 0,9% ním roztokem chloridu sodného (fyziologický roztok) může být vhodné pro infuzi kahalalidu F.

Ve zvláště preferovaném provedení lyofilizovaná směs obsahuje 100  $\mu\text{g}$  kahalalidu F; 75 až 125 mg, nejlépe 100 mg plnidla; 1 až 3 mg, nejlépe okolo 2 mg kyseliny a 1 až 3 mg, nejlépe okolo 2 mg neiontové povrchově aktivní látky.

Vhodné rekonstituční činidlo pak obsahuje 2 až 7 %, nejlépe okolo 5 % emulgačního rozpouštědla; 2 až 7 %, nejlépe 5 % alkoholu a zbytek je voda.

Vynález navíc zabezpečuje dodávání souprav, obsahujících oddělené nádoby obsahující lyofilizovanou směs a rekonstituční činidlo. Jsou též zabezpečeny způsoby rekonstituce.

Dále tento vynález zajišťuje způsob ošetření savců, zvláště člověka, postižených karcinomem, které zahrnuje podávání farmaceutického prostředku, připraveného rekonstitucí lyofilizované směsi podle tohoto vynálezu, postiženým jedincům v terapeuticky účinném množství. Tento vynález může být použit zejména pro léčbu pacientů se vzdorujícími nádory, které úspěšně nereagují na jiné způsoby léčení. Prostředky podle tohoto

vynálezu mohou být použity zejména tam, kde byla zkoušena jiná chemoterapie, avšak bez výsledku.

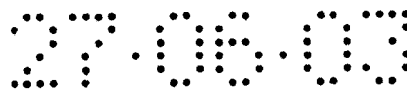
V jednom provedení je připraven roztok pro infuzi a podáván ve 3 hodinových intervalech při koncentraci do asi 20 nebo 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , nejlépe do 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Vhodné zařízení pro infuzi by mělo obsahovat skleněnou nádobku, raději než polyethylenovou. Nejvhodnějším materiálem pro hadičky je pak silikon.

Dalším aspektem tohoto vynálezu jsou nová použití pro kahalalid F. Zvláště počítáme s jeho použitím proti nádoru prostaty a to zejména u nádorů prostaty nezávislých na androgenech, nádorů prsu, nádorů tlustého střeva, některých plicních nádorů (nemalobuněčných karcinomů plic), nádorů vaječníků a pro léčbu neuroblastomu. Kahalalid F je též účinný proti nediferencovaným a mezenchymálním chondrosarkomům a osteosarkomům. Nové rekonstituované prostředky, které poskytuje tento vynález, mohou být využity pro nová použití, ačkoli je možné použít i jiné sloučeniny.

Příklady farmaceutických prostředků zahrnují jakékoli pevné (tablety, pilulky, kapsle, granule atd.) nebo kapalné (roztoky, suspenze nebo emulze) ve vhodné směsi nebo orální, lokální nebo pro podávání parenterální (mimo zažívací trakt, např. intravenózní) a mohou obsahovat buď čistou sloučeninu nebo v kombinaci s jakýmkoli nosičem nebo jinými farmaceuticky účinnými sloučeninami. Pokud mají být tyto prostředky podávány parenterálně, je nezbytné je sterilizovat.

Podávání sloučenin nebo prostředků podle tohoto vynálezu je možné jakýmkoli vhodným způsobem jako jsou intravenózní infuze, orální přípravky, intraperitoneální (do dutiny břišní) a intravenózní podávání. Je vhodné, aby čas průběhu infuze byl do 24 hodin, lépe 2 až 12 hodin, nejlépe 2 až 6 hodin. Obzvláště žádoucí jsou krátké časy infuze, které umožňují provést léčbu bez noční hospitalizace. Nicméně infuze může probíhat 12



až 24 hodin dokonce i déle, je-li potřeba. Infuze může být prováděna ve vhodných intervalech, a to 2 až 4 týdny. Podle jiného dávkovacího protokolu může být kahalalid F podáván například po dobu 1 hodiny vždy 5 po sobě následujících dní každé 3 týdny. Pro změnu mohou být navrženy jiné dávkovací protokoly.

Farmaceutické prostředky obsahující sloučeniny podle tohoto vynálezu mohou být dodávány pomocí lipozomové nebo nanosférové enkapsulace v trvale uvolňovaných prostředcích nebo jinými standardními způsoby podávání.

Správné dávkování sloučenin se bude měnit podle jednotlivých prostředků, techniky použití a podle konkrétního umístění, hostitele a tumoru, který je léčen. V úvahu by se měly vzít i další faktory, jako je věk, tělesná hmotnost, pohlaví, dieta, čas podávání, rychlost vylučování, stav hostitele, kombinace léčiv, reakční citlivost a vážnost choroby. Podávání může být provedeno kontinuálně nebo periodicky s respektováním maximální tolerované dávky.

Sloučeniny a směsi podle tohoto vynálezu mohou být použity s jinými léky za účelem kombinační léčby. Tyto další léky mohou být součástí stejné směsi nebo mohou být dodány v podobě samostatného prostředku pro podávání ve stejném čase nebo v odlišném čase. Totožnost jiných léků není speciálně limitována a vhodné kandidáty zahrnují:

- a) léky s antimitotickým účinkem, zvláště ty, které jsou cíleny na cytoskeletární elementy zahrnující mikrotubulární modulátory, tak jako taxanové léky (jako jsou taxol, paclitaxel, taxoter, docetaxel), podofilotoxiny nebo alkaloidy z barvínku (vinca alkaloids: vincritine, vinblastine);
- b) antimetabolity léků jako jsou 5-fluorouracil, cytarabin, gemcitabin, analogy purinu jako je pentostatin a methotrexat);
- c) alkylační činidla jako jsou dusíkaté yperity - "nitrogen mustards" (jako jsou cyklofosfamid nebo isosfamid);

- d) léky, které jsou cíleny na DNA jako jsou antracyklinová léčiva adriamycin, doxorubicin, farmorubicin nebo epirubicin;
- e) léky, které jsou cílené na topoisomerasy jako je etoposid;
- f) hormony a agonisté hormonů nebo antagonisté jako jsou estrogeny, antiestrogeny (tamoxifen a podobné sloučeniny) a androgeny, flutamid, leuprorelin goserelin, cyprotron nebo octreotid;
- g) cílené na signální transdukci v tumorových buňkách zahrnující deriváty protilátek jako je herceptin;
- h) alkylační léky jako jsou platinová léčiva (cis-platina, karboplatina, oxaliplatina, paraplatina) nebo nitrosomočoviny;
- i) léky potenciálně působící na metastázy tumorů jako jsou inhibitory matrice metaloproteinas;
- j) genová léčba a činidla ovlivňující vnímání;
- k) léčba protilátkami;
- l) jiné bioaktivní sloučeniny mořského původu, zvláště didemniny jako jsou aplidin nebo ecteinascidiny jako je Et 743.

### Příklady provedení vynálezu

Experimentální práce, která je podkladem tohoto vynálezu, je popsána v následujících příkladech.

#### **Příklad 1:**

Vývoj lyofilizovaného parenterálního farmaceutického prostředku ka-halalidu F, KF

Důvodem této studie bylo vyvinout stabilní parenterální prostředek KF, za účelem použití v časných klinických studiích.

*Způsoby:*

Rozpustnost a stabilita KF byly studovány jako funkce polysorbátu 80 (P80; 0,1 až 0,5 % hmotnostních) monohydrát kyseliny citronové (tj. CA; 5 až 15 mM) za použití koncentrací navržených experimentálně navrženého postupu. Byla studována stabilita lyofilizovaných produktů KF obsahujících krystalického (manitol) nebo amorfního (sacharóza) plnidla při +5 °C a +30 °C ve tmě. Lyofilizované produkty byly hodnoceny pomocí infračervené (IR) spektroskopie a diferenční skanovací kalorimetrie. Byly provedeny studie výtěžnosti po rekonstituci KP lyofilizovaného produktu a bylo provedeno další zředění do formy kapaliny pro infuzi za účelem výběru optimálního rekonstitučního ředidla.

*Výsledky:*

Bylo zjištěno, že kombinace P80 a CA je nutná pro rozpuštění KF. Lyofilizované produkty byly podstatně méně stabilní se zvýšenými koncentracemi P80 a CA, přičemž koncentrace P80 byla hlavním činitelem. Pro další výzkum byla vybrána kombinace 0,1 % (hmotnostních) P80 a 5 nM CA. Lyofilizované produkty obsahující jako plnidlo sacharózu byly stabilnější ve srovnání s produkty obsahujícími manitol. Teplota zesklotvení produktu na bázi sacharózy byla stanovena +46 °C. Amorfni stav produktu byl potvrzen IR analýzou. Roztokem složeným z Cremophor EL, ethanolu a vody pro injekční použití (5/5/90 % v/v/v CEW) byl uchován KF v roztoku po rekonstituci a dalším zředění pomocí 0,9% NaCl (normální fyziologický roztok až na koncentraci 0,5 µg/ml.

*Závěr:*

Stabilní lyofilizovaný prostředek představuje obsah 100 µg kahalalidu F, 100 mg sacharózy, 2,1 mg CA a 2,0 mg P80 pro rekonstituci ředidlem ná-

sledujícího složení: 5/5/90% v/v/v CEW a pro další zředění normálním fyziologickým roztokem.

### **Příklad 2:**

#### **Kompatibilita a stabilita kahalalidu F v zařízeních pro infuzi**

Kahalalid F je farmaceuticky definován jakožto lyofilizované produkty obsahující 50 až 150 µg aktivní substance na jednotku dávky. Před intravenózním podáváním je rekonstituován roztokem obsahujícím Cremophor EL, absolutní ethanol a vodu pro injekční použití (CEW, 5/5/90% v/v/v) s dalším ředěním v 0,9% (hmotnostních) chloridu sodného pro infuze. Cílem této studie bylo zkoumat kompatibilitu a stabilitu kahalalidu F s různými infuzními systémy před započítím klinických zkoušek. V závislosti na přítomnosti Cremophor El v infuzním roztoku, bylo objeveno uvolňování diethylhexylftalátu z polyvinylchloridových lahví pro infuzi (PVC, Add-a-Flex®). Úbytek kahalalidu F jako následek sorpce ke kontaktním povrchům se projevila u infuzní lahve složené z polyethylenu s nízkou hustotou (LD-PE, Miniflac®). Došli jsme k závěru, že kahalalid F je nutné podávat v 3 hodinových infuzích v koncentraci 0,5 µg/ml až 14,7 µg/ml za použití skleněných lahví a silikonových hadiček. Ampulka kahalalidu F se 150 µg KF prášku pro infuze rekonstituovaná s 5/5/90% v/v/v CEW je stabilní v původním obalu po dobu alespoň 24 hodin při teplotě místnosti (+20 až 25 °C) a světelných podmínkách okolí. Infuzní roztoky uchovávané ve skleněných infuzních lahvích buď při teplotě místnosti (+20 až 25 °C, ve tmě) nebo v ledničce (+2 až 8 °C, ve tmě) jsou stabilní podobu alespoň 5 dnů po přípravě.

**Příklad 3:****In vitro bezpečnost toxikologie kahalalidu F**

Hodnotili jsme možnost toxicity Kahalalidu F, sloučeniny získané z havajského měkkýše, *Ellysia rubefescens* vykazující potenciální chemotoxický účinek proti buňkám tumoru prostaty a tumoru prsu typu neu-1 (Hcr2 overexpressing).

Za použití metody stanovení toxicity in vitro CellTiter96 (MTS, Promega) projevuje kahalalid F malou toxicitu proti srdečním (H9 c2(2-1)) nebo kosterním svalovým (L8) buňkám ( $LD_{50} = 5$  mM, respektive 0,6 mM). Naproti tomu je kahalalid cytotoxický vůči jaterním (AML-12) a ledvinovým (NRX - 52E) buňkám ( $LD_{50} = 0,17$   $\mu$ M, respektive 1,6  $\mu$ M) a vykazuje střední toxicitu vůči myelogenním kmenovým buňkám (FDC-P1,  $LD_{50} = 14$   $\mu$ M). Tyto údaje jsou v těsné shodě s údaji toxicity in vivo.

Zjistili jsme též, že tento lék je ve vysokých koncentracích našeho systému stanovení neurotoxický, což je v souladu s údaji pokusů na zvířatech vykazujících neurtoxicitu nad maximální tolerovanou dávkou (MTD - maximum tolerated dose). Za použití fluorescenčního barviva pro živé tkáně (ethidium homodimer a calccin AM, Molecular Probes) spojeného s imunochemií, jsme určili, že ~10  $\mu$ M kahalalidu je toxických vůči neuronům centrálního nervového systému (CNS) (neurofilament pozitivní), ale šetří astrocyty (gliální fibrilární kyselý protein pozitivní) stejně jako senzorické (exprese substance P) motorické (cholinacetyltransferasa pozitivní) neurony v míše.

Usuzujeme, že kahalalid F je nadějným lékem pro léčení rakoviny prostaty, protože jeho neurotoxicita při nebo pod hladinami MTD je relativně mírná. Dále předběžné výsledky ukazují, že kahalalid F může být zkoušen jako ideální lék pro léčbu neuroblastomu, pokud by byl doručitelný, vzhle-

dem ke své CNS neuronální selektivitě.

#### **Příklad 4:**

##### Selektivní antitumorová aktivita kahalalidu F

KahalalidF je lysozomální jed se selektivitou in vitro pro tumory prostaty nezávislé na hormonální aktivitě, neu<sup>+</sup> (Her2 overexpressing) buňky tumoru prsu a neuroblastomů. Rozsáhlá MoA zahrnuje inhibici erbB2 a blokování EGF receptoru stejně jako inhibici TGF genové exprese. Předklinické modely in vivo potvrdily selektivitu na hormonálně nezávislé tumory prostaty (PC-3 a DU-145) s MTD (maximální tolerovanou dávkou) u hlodavců 300 µg/kg tělesné hmotnosti. Antiproliferativní (proti množení tumoru) studie in vitro ukazují shody hodnoty aktivit IC<sub>50</sub> mezi určitými tumory prostaty (0,27 µM PC-3; 0,25µM DU-145; 0,73 µM T-10; 0,24 µM DHM a 0,19 µM RB), avšak poněkud slabší aktivity IC<sub>50</sub> vůči neu<sup>+</sup> buňkám tumoru prsu (2,5 µM SK-BR-3; 2 µM BT-474) a vůči buněčné linii neuroblastomu (1 µM BE(2)c). Expoziční studie in vitro ukazují, že působení KF není závislé na přesném časovém rozpisu. Minimální expozice 1 hodiny je v mnoha případech stejně účinná jako 48 hodinová. Navíc, okamžitý i zpožděný účinek cytotoxicity mají stejnou farmakodynamiku a nezvyší se délkou léčby. Brzy bude vyhodnocena fáze 1 zkoušek KF jako působivého chemoterapeutického prostředku proti závažným tumorům, která zahrnuje pět denních časů a týdenní časový rozvrh.

#### **Příklad 5:**

Výzkum účinků kahalalidu F (PM92102) na vzorky lidských tumorů získaných odběrem přímo od pacientů.

Studie in vitro vykazují aktivitu KF způsobujícího bobtnání nádorových buněk a nakonec jejich smrt (Garcia-Rocha, et al., Can. Letters 99:43-50). V této studii byly čerstvé vzorky lidských tumorů ošetřeny KF za účelem určení aktivity použitím Human Tumor Cloning Assay (stanovení lidských tumorů klonováním). Tisíc pět set vzorků lidských tumorů bylo ošetřeno KF za nepřetržitě 14 denní expozice při koncentracích 0,01; 0,1 a 1,0  $\mu$ M. Vzorky byly inkubovány v měkkém agarovém klonovacím systému se dvěma vrstvami při 37 °C byly odebrány 14. den za účelem počítání kolonií. Kolonie vzniklé na ošetřených destičkách byly srovnány s počtem kolonií vytvořených na neošetřených kontrolních destičkách a bylo vypočteno procento přeživších kolonií při každé koncentraci. Pozitivní kontrolní destičky obsahovaly buněčný jed vanadičnan orthosodný (orthosodium vanadate) (200  $\mu$ g/ml). Mezi těmito vzorky bylo možné přibližně 30 % hodnotit s příslušnými negativními a pozitivními kontrolami. Byly sledovány odezvy in vitro (inhibiční účinek byl udáván při 50 % přežití) v 16 % (5/31), 19 % (6/31) a 81 % (25/31) vzorků při 0,01; 0,1 a 1,0  $\mu$ g/M. Byl nalezen pozitivní vztah mezi koncentrací a odezvou na KF, s významnou odezvou (81 %) při vyšší zkoušené koncentraci (1,0 > 0,1 > 0,01). Význačné odezvy byly patrné u vzorků karcinomu prsu (100 %), tlustého střeva (75 %), buněk plic (100 %) a vaječníků (91 %). KF je nadějným protirakovinným prostředkem, na nějž má odezvu široké spektrum tumorů.

#### **Příklad 6:**

Fáze I a farmakokinetická studie kahalalidu F u pacientů s pokročilým androgenní léčbě vzdorujícím karcinomu prostaty

KF vykazuje aktivitu proti tumorům jak *in vitro* tak i *in vivo* u různých modelů závažných tumorů zahrnujících karcinomy prsu, tlustého střeva, nemalobuněčné nádory plic a zejména karcinomu prostaty. Na základě své selektivity je KF dále vyvíjen jako nadějný protirakovinný prostředek působící na tumory prostaty nezávislé na androgenní léčbě.

*Cíl:*

V této fázi I klinické a farmakokinetické (PK- pharmacokinetic) studie jsou zkoumány PK profily toxicity a protitumorové aktivity KF.

*Způsoby:*

KF je podáván formou nitrožilní infuze po dobu jedné hodiny během pěti za sebou následujících dnů každé tři týdny pacientům s pokročilým nebo metastazujícím androgenní léčbě vzdorujícím karcinomem prostaty. Na základě hodnot MTD definovaných u myši byla zvolena startovací dávka 20  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{den}$ , která je ekvivalentní vůči celkové dávce 100  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ . Během prvního průběhu byla sledována farmakokinetika KF v plazmě. Bioanalytická stanovení byla provedena pomocí LC-MS/MS. U každého pacienta byly též stanovovány během studie hladiny LDH, AF a zejména PSA, za účelem určení aktivity KF.

*Výsledky a diskuse:*

V současné době je registrováno sedm pacientů. Pacienti měli střední věk 66 let (v rozmezí 54 až 75 let). Každý pacient vstoupil do experimentu při jedné hladině a to 20, 40, 80 a 160  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{den}$ . V závislosti na vyhodnocení transaminázy vstoupili 4 pacienti na běžnou hladinu dávky 320  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{den}$ . První pacient této studie byl převeden znovu na tuto hladinu dávkování. Pozorované nepříznivé reakce byly rychle ustupující mírné bolesti hlavy, únava, bolest a lokální edem. Toxicita spojená pouze s léčivem byla rychlého reverzibilního CTC stupně 3 ASAT, která se projevila při 320  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{den}$ . Farmakokinetika (PK) ukázala lineární vztah mezi dávkováním a AUC v celém rozsahu dávek. Úplná clearance plazmy byla 267 ml/

min ( $\pm 115$ ) a mezní poločas rozpadu intravenózního KF byl u těchto pacientů 0,46 h ( $\pm 0,13$ ). Maximální koncentrace v plazmě dosažené při běžné hladině dávkování (35 až 50 ng/ml) jsou potenciálně aktivní u karcinomu prostaty při klonogenní zkoušce tumoru (aktivita od 15 ng/ml). Potud je časový rozpis dobře tolerován. Jeden pacient vykazoval význačné snížení hladiny PSA ( $>50\%$ ) spojenému s klinickým zlepšením (pacientovi se ulevilo). U dvou pacientů došlo k menšímu snížení PSA, u jednoho stále pokračujícímu po dvou cyklech. Maximální tolerované dávky nebylo ještě dosaženo a studie dále pokračuje.

#### **Příklad 7:**

Kahalalid F je cytotoxický vůči nediferencovaným a mezenchymálním chondrosarkomům (CHSA) a osteosarkomům (OSA), stejně jako k buňkám karcinomu jater a prostaty. Neinhiboval význačně růst CHSA a OSA buněk a byl schopen vzbudit cytotoxický účinek dokonce působil-li na buňky po tak krátkou dobu jako je 10 minut.

## P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1. Prostředek kahalalid F vyznačující se tím, že obsahuje lyofilizovanou směs kahalalidu F a neiontovou povrchově aktivní látku, organickou kyselinu a plnidlo.
2. Souprava vyznačující se tím, že obsahuje prostředek podle nároku 1, spolu s návodem pro ředění s rekonstitučním roztokem směsi emulgačního rozpouštědla, alkoholu a vody.
3. Souprava podle nároku 2, vyznačující se tím, že je dodávána spolu s rekonstitučním roztokem.
4. Rekonstituovaný roztok vyznačující se tím, že je připravený z prostředku podle nároku 1 nebo soupravy podle nároku 2 nebo 3.
5. Rekonstituovaný roztok podle nároku 4 vyznačující se tím, že pro rekonstituci byl použit rekonstituční roztok směsi emulgačního rozpouštědla, alkoholu a vody.
6. Zředěný rekonstituovaný roztok vyznačující se tím, že obsahuje rekonstituovaný roztok podle nároku 4 nebo 5 zředěný 0,9% ním fyziologickým roztokem na koncentraci vhodnou pro infuzi kahalalidu F.
7. Použití zředěného rekonstituovaného roztoku podle nároku 6 při léčbě karcinomu.
8. Použití kahalalidu F proti karcinomu prostaty, karcinomu prsu, karcinomu tlustého střeva, nemalobuněčného karcinomu plic, karcinomu vaječníků, pro léčbu neuroblastomu nebo proti nediferencovaným nebo mezenchymálním chondrosarkomům nebo osteosarkomům.
9. Použití podle nároku 7 nebo 8, v němž je kahalalid F podáván pomocí asi 1 hodinové infuze po dobu 5 za sebou následujících dnů každé 3 týdny.
10. Použití podle nároku 7, 8 nebo 9, v němž je kahalalid F podáván v kombinaci s jiným lékem.

11. Použití podle nároků 7 až 10, v němž je kahalalid F podáván pacientům se vzdorujícími nádory.