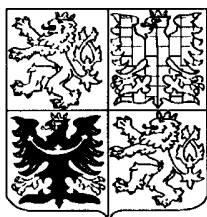


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 23.08.94
(32) 25.08.93
(31) 93/111680
(33) US
(40) 13.12.95

(21) 2042-94

(13) A3

6(51)

C 12 N 1/38
A 61 K 38/00

(71) ELI LILLY AND COMPANY, Indianapolis, IN, US;

(72) Peery Robert Brown, Brownsburg, IN, US;
Skatrud Paul Luther, Greenwood, IN, US;

(54) **Farmaceutický prostředek pro ošetřování
houbových infekcí a způsob posuzování
vhodnosti látek jakožto násobícího činidla
pro látku fungicidně účinnou**

(57) Farmaceutický prostředek pro ošetřování houbových infekcí obsahuje účinné množství (i) protihoubového činidla a (ii) činidla násobícího jeho účinek a farmaceuticky vhodné excipienty. Násobící účinek (ii) se posuzuje tak, že se nechává růst kultura houbové buňky v přítomnosti činidla (i), ke kterému je houbová buňka odolná a činidla (ii) a měří se násobící protihoubové působení (ii) na (i).

2042-94

057290	DOŠLO	14. IX. 95	URAD PRŮMYŠLOVÉHO VLASTNICTVÍ	Příl.
--------	-------	------------	-------------------------------------	-------

Farmaceutický prostředek pro ošetřování houbových infekcí a způsob posuzování vhodnosti látek jakožto násobícího činidla pro látku fungicidně účinnou

Oblast techniky

Vynález se týká farmaceutického prostředku pro ošetřování houbových infekcí, zvyšujícího citlivosti houbové buňky k protihoubovému činidlu a způsobu posuzování vhodnosti látek jakožto násobícího činidla pro látku fungicidně účinnou.

Dosavadní stav techniky

Výskyt vážných, život ohrožujících houbových infekcí vzrůstá alarmující měrou. Počet infekce krevního řečiště houbou *Candida albicans* mimo nemocnice vzrostl v letech 1980 až 1990 o 370 %. Ve stejné době výskyt infekcí krevního řečiště houbou *C. albicans* v nemocnicích vzrostl o 487 %. S výjimkou koagulase negativních staphylokoků je statisticky *C. albicans* nejrychleji rostoucí oblastí nemocničně ošetřovaných infekcí krevního řečiště (Banerjee a kol., 1991, American Journal of Medicine 91 (3B), str. 86S až 89S).

Rostoucí výskyt nosokomiálních houbových infekcí je podporován změnou lékařské praxe včetně invazních chirurgických procedur, týkajících se náhrady kloubů a otevřené chirurgie srdce, zvýšené chemoterapie rakoviny a epidemie AIDS. Všechny tyto procesy narušují imunitní systém a vytvářejí podmínky, za kterých se daří houbovým infekcím.

Přibližně 90 % nosokomiálních houbových infekcí je působeno třídou *Candida*. Zbylé houbové infekce jsou většinou působeny třídou *Aspergillus* species, *Cryptococcus* species a *Pneumocystis carinii*. Na neštěstí je diagnosa houbového onemocnění obtížná a náročná na čas. Spíše než na čekání výsledků diagnostických zkoušek se často musí nasazovat experimentální protihoubová terapie iniciovaná sloučeninou například amphotericinem B (vysoce toxickým)

nebo alespoň jedním z azolů (ke kterým si třídy hub rychle vytvářejí odolnost). Proto by byl velice žádoucí protihoubový prostředek se širokým spektrem účinnosti spojeným s nízkou toxicitou.

Objev a vývoj protihoubových sloučenin pro specifické druhy hub vykázal určitý úspěch. Jelikož třída *Candida* představuje hlavní houbové infekce, byl navržen screening pro nové protihoubové sloučeniny k objevení sloučenin účinných proti třídě *Candida*. V průběhu vývoje produktu se protihoubová aktivita obecně optimalizovala se zřetelem účinnosti proti *Candida albicans*. Následkem toho tyto sloučeniny proti *Candida* nemají často klinicky významnou účinnost proti jiným druhům hub. Je však zajímavé poznamenat, že při vyšších koncentracích jsou některé z těchto sloučenin schopny ničit jiné třídy hub za předpokladu, že protihoubový terč je v organismu přítomen. Zpětně takové výsledky naznačují, že tyto organismy mají nějaké přirozené mechanismy odolnosti, které jim umožňují přežít při klinicky závažných koncentracích některých protihoubových sloučenin. Takové obecné mechanismy odolnosti k protihoubově účinným sloučeninám zůstávaly nepopsané v případě hub po desetiletí.

Problém odolnosti proti působení několika drog (mdr - multiple drug resistance), zprostředkovávaný mdr genem, byl nejdříve zjištěn v průběhu vývoje režimu chemoterapie rakoviny. Rakovinové buňky s odolností k četným drogám vykazují odolnost i k vysokým koncentracím velkého množství cytotoxických sloučenin. Často tyto cytotoxické sloučeniny nemají společné strukturální charakteristiky ani nevykazují interakci s běžnými terči v buňce. Odolnost proti těmto cytotoxickým sloučeninám je zprostředkovávaná ven směřujícím čerpadlem, závislým na ATP. V důsledku tohoto mechanismu nevytvoří toxické koncentrace určité sloučeniny k akumulaci v buňce.

Kromě výtoku, je také zřejmé, že vtok se rovněž může snížit v buňkách vykazujících mdr (Gottesman a Pastan, 1993, Annual Review of Biochemistry 62, str. 385 až 427). Byla charakterizována zcela velká rodina mdr genů, zahrnující četné zcela odlišné organismy. K dnešnímu dni seznam organismů, které mají funkci jako

mdr, zahrnuje četné druhy bakterií, mušku *Drosophila melanogaster*, *Plasmodium falciparum*, homo sapiens, kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans*, *Leishmania donovani*, mořské houby a rostlinu *Arabidopsis thaliana*.

Desetiletí výzkumů vedlo k popisu odolnosti proti mnoha drogám fenotypu v buňkách lidské rakoviny. Extenzivní výzkum vedl ke skupinám sloučenin, které jsou schopny obrátit mdr fenotyp četných k drogám odolných linií rakovinových buněk a učinit je citlivými na působení cytotoxických sloučenin (například blokátory vápenných kanálků, antiarrhythmika, antihypertensiva, antibiotika, antihistaminy, látky potlačující imunitu, steroidové hormony, modifikované steroidy, lipofilní kationty, diterpeny, detergenty, antidepresanty, antipsychotika jakož také četné jiné hydrofobní amfipatické sloučeniny a jejich analogy (Gottesman a Pastan, 1983, Annual Review of Biochemistry 52, str. 385 až 427). Takové sloučeniny se označují jakožto inhibitory mdr. Klinická aplikace lidských mdr inhibitorů při chemoterapii rakoviny se stala oborem intenzivního výzkumu.

Nejnověji byla objevena existence od mdr odvozených genů v nepatogenních houbách jakož také v klíčové oportunistické patogenní houbě. Tyto geny se označují jako "podobné mdr", protože existuje homologie mezi proteiny kodovanými těmito geny a lidským mdr-1 genovým produktem.

S objevením mdr podobných genů v četných houbách včetně klíčové patogenní houby, jako je *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* a *Cryptococcus neoformans*, vyhlídka použití kombinované terapie, zahrnující protihoubové činidlo mající doložené spektrum účinnosti s houbovým mdr inhibitorem se stala skutečností.

Kombinovaná terapie umožňuje rozšíření spektra protihoubové účinnosti pro danou protihoubovou sloučeninu, která dříve vykazovala omezenou klinicky významnou protihoubovou účinnost. Podobně u sloučenin, které vykazují protihoubovou účinnost, se také může účinnost násobit houbovým mdr inhibitorem, takže protihoubová účinnost těchto sloučenin se rozšíří na dříve odolné druhy.

Podstata vynálezu

Podstata způsobu zvyšování citlivosti houbové buňky k protihoubovému činidlu spočívá podle vynálezu v tom, že se podává takové buňce účinné množství (i) protihoubového činidla a (ii) činidla násobícího jeho účinek.

Farmaceutický prostředek podle vynálezu obsahuje účinné množství (i) protihoubového činidla, (ii) činidla násobícího jeho účinek a farmaceuticky vhodné excipienty.

Vynález se také týká způsobu stanovení násobícího účinku sloučeniny na protihoubové činidlo působící na houbové buňky, přičemž

- a) se nechává růst kultura houbové buňky v přítomnosti (i) protihoubového sloučeniny, ke které je houbová buňka odolná a (ii) sloučeniny s možným násobícím účinkem protihoubového činidla a
- b) měří se násobící protihoubové působení sloučeniny na protihoubové činidlo.

Případně používaným výrazem "subjekt" se zde vždy míní organismus, orgán, orgánový systém nebo buněčná linie organismu, ve kterých žije linie houbových buněk nebo ve kterých žijí linie houbových buněk. Subjek jako takový může být ošetřován in vitro nebo in vivo. Především je subjektem savec včetně lidí, u kterých se provádí ošetření in vivo.

Výrazem "protihoubové činidlo" nebo "protihoubová sloučenina" se zde vždy míní sloučenina nebo prostředek, které jsou cytostatické nebo cytotoxické se zřetelem na houbové buňky.

Výrazem "násobící činidlo" ("potentiating agent") "násobení", "násobek" nebo "násobený" a podobně se zde vždy míní vlastnost sloučeniny, sloučenin nebo prostředků podporovat účinnost protihoubové působícího činidla nebo protihoubové působící sloučeniny na houbovou buňku

Výrazem "podpořená účinnost" a "podpora účinnosti" se míní schopnost protihoubové působícího činidla nebo protihoubové sloučeniny vykazovat cytostatické působení nebo cytostatické jevy buď v nižší koncentraci, než je cytostatická nebo cytotoxická účin-

nost v nepřítomnosti násobícího činidla nebo cytostatickou nebo cytotoxickou účinnost na houbové buňky jinak odolné příslušnému protihoubově působícímu činidlu nebo protihoubově sloučeniny v nepřítomnosti násobícího činidla.

Výrazem "odolný" nebo "odolnost" se míní schopnost organismu růst v přítomnosti činidla, které je cytotoxické na tento organismus.

Výrazem "protihoubová účinnost" nebo "protihoubový jev" se zde míní cytostatické nebo cytotoxické působení protihoubového činidla nebo protihoubově sloučeniny na houbovou buňku.

Výrazem "podání" se zde vždy míní vhodné podání množství protihoubového činidla nebo protihoubově sloučeniny in vitro nebo in vivo buňce, takže pak může dojít k profylaktickému nebo terapeutickému účinku. Podáním může být i jen uvedení do styku sloučeniny s linií buněk, nebo to může být o sobě známé podání savcům jakožto ošetřovanému subjektu. Jakožto běžné dávkovací formy se uvádějí formy podávané orálně nebo pod jazyk, jako jsou například prášky, kuličky, tablety, kapsle, sirup dále vstříkovací intravenózní roztoky nebo koloidní směsi, prostředky podávané transdermálně nebo jiné externální prostředky, jako jsou roztoky, krémy, gely nebo jiné masti a/nebo prostřednictvím implantátů s rychlým nebo pomalým uvolňováním účinné látky.

Protihoubové činidlo a násobící činidlo se mohou podávat buď (a) současně (popřípadě formulováním dvou látek ve společném nosiči) nebo (b) v různé chvíli v průběhu ošetřování. V tomto druhém případě se dvě sloučeniny podávají v dostatečně krátké době, aby násobící činidlo podpořilo protihoubovou účinnost protihoubového prostředku na houbové buňky. Kromě toho je možné, aby jedna nebo několik protihoubově působících sloučenin a jedno nebo několik násobících činidel bylo obsaženo v jediném farmaceutickém prostředku.

Násobící činidlo se podává v dostatečném množství ke snížení množství protihoubového činidla potřebného k dosažení citlivosti houbových buněk k množství podávaného protihoubového činidla. Používané množství protihoubového činidla podle vynálezu zá-

visí na příslušném ničeném houbovém organismu, na podmínkách ošetření, na zvoleném protihoubovém činidlo a na zvoleném násobícím činidlo.

Farmaceutické prostředky protihoubového činidla nebo protihoubových činidel a násobícího činidla nebo násobících činidel, buď samotných nebo ve směsi se mohou připravovat o sobě známým způsobem, přičemž se protihoubové činidlo nebo protihoubová činidla a násobící činidlo nebo násobící činidla, buď samotná nebo ve směsi zpracovávají spolu s farmaceuticky vhodným nosičem. Vhodné nosiče a jejich formulace včetně dalších lidských proteinů například lidského serového albuminu, jsou popsány například v publikaci Remington's Pharmaceutical Sciences, 16. vydání, 1980, Mack Publishing Co., Oslo. Farmaceutické prostředky obsahují účinné množství protihoubového činidla a násobícího činidla buď samotné nebo ve směsi se vhodným množstvím nosiče pro přípravu farmaceutického prostředku vhodného pro účinné podání hostiteli. Takové prostředky se mohou podávat orálně, topicky, parenterálně nebo nasálně nebo ophthalmickou cestou nebo jinak k zajištění uvolňování protihoubové účinné látky a násobícího činidla na místě infekce v účinné formě.

Následující příklady vynález blíže objasňují. Určité použité látky a podmínky nejsou však nijak míněny jako omezující nýbrž toliko jako objasňující.

Příklady provedení

Příklad 1

Klinický izolát *Aspergillus fumigatus*, kmen 10AF (společnost Eli Lilly and Company) se použije pro protihoubové zkoušky citlivosti a násobícího účinku. Spory *Aspergillus fumigatus*, kmen 10AF se připraví naočkováním bramborového dextrosového škrobu (Difco Laboratories, Detroit, MI) sporami dlouhodobě uloženými. Destičky se inkubují při teplotě 35 °C po dobu 24 hodin a pak ještě po dobu jednoho až dvou dní při teplotě místnosti až do chvíle zřejmé

sporulace. Spory se sklídí zaplavením destiček 0.05% roztokem Tweenu a jemným setřením povrchu destičky k suspensování spor. Spory se pak získají odstředěním a resuspendují se ve studeném úložném konzervovaném prostředí obsahujícím 50 g/l laktosy, 100 ml/l glycerolu a 850 ml vody. Suspenze spor, připravená tímto způsobem, zůstává živoucí po dobu několika měsíců, pokud se uloží při teplotě -70 °C.

Přibližně 1×10^6 /ml spor *Aspergillus fumigatus*, kmen 10AF se suspenduje v autoklávovaném sojovém agaru Trypticase (ochlazeném přibližně na teplotu 50 °C) a 15 ml suspenze se vnese na každou z petri destiček. Povrch agaru těchto petri destiček se nechá zaschnout v biologickém poklopu ("biohazard hood").

Protihoubová sloučenina R1061 se rozpustí ve 100% ethanolu v koncentraci buď 1 nebo 7 mg/ml. Tato protihoubová sloučenina R1061 je popsána v americkém patentovém spise číslo 5 057493. Vnese se 20 µl roztoku 1 mg/ml R1061 na zkušební kotouček s antibiotickou citlivostí (Difco Laboratories, Detroit MI). Po přidání antibiotického roztoku na kotouček se kotouček nechá zaschnout na vzduchu v biologickém poklopu. Po zaschnutí se kotoučky umístí na povrch petri destiček obsahujících spory *Aspergillus fumigatus*, kmen 10AF.

Sloučenina (například domnělé činidlo), jejíž násobící působení na R1061 proti *Aspergillus fumigatus* se zkouší, se rozpustí v dimethylsulfoxidu. Množství sloučeniny, přidávané do dimethylsulfoxidu, závisí na rozpustnosti jednotlivé zkoušené sloučeniny. Vnáší se 20 µl suspenze, obsahující zkoušenou sloučeninu, na zkušební kotouček s citlivostí k antibiotikům (Difco Laboratories, Detroit MI). Tyto kotoučky, obsahující zkoušenou sloučeninu, se nechají zaschnout na vzduchu v biologickém poklopu. Pak se položí na povrch zaschlých petri destiček, obsahujících spory *Aspergillus fumigatus*, přibližně 2 cm od kotoučku, obsahujícího protihoubové činidlo. Petri destičky, obsahující oba kotoučky, se inkubují při teplotě 35 °C přes noc. Příští ráno se petri destičky zkoumají se zřetelem na zóny inhibice růstu okolo kotoučků.

V tabulce I je seznam sloučenin (to je domnělých násobících

(cinidel) a výsledků, získaných s těmito sloučeninami při shora popsané zkoušce schopnosti násobit účinnost R106I proti *Aspergillus fumigatus*. Při shora uvedených koncentracích R106I se nepozoruje žádná významná zóna inhibice růstu okolo kotoučku obsahujícího R106I. V tabulce I výsledek "+" znamená, že je zóna inhibice růstu na zkušební misce, že tedy sloučenina, obsažená v kotoučku, přiléhajícím na kotouček s antibiotikem, násobí protihoubovou účinnost protihoubové sloučeniny R106I. Výsledek "-" znamená, že není zóna inhibice růstu na zkušební misce, že tedy sloučenina, obsažená v kotoučku, přiléhajícím na kotouček s antibiotikem, nenásobí protihoubovou účinnost protihoubové sloučeniny R106I. Tabulka I také obsahuje krátký popis četných zkoušených sloučenin se zřetelem na schopnost násobit protihoubovou účinnost R106I.

Tabulka I

Zkoušená sloučenina	Výsledek	Vysvětlení
verapamil ¹		blokátor Ca ⁺⁺ kanálku
300 mg/kotouček ²	+	lidský mdr inhibitor
vindolin		antineoplastové činidlo
400 mg/kotouček ²	-	lidský mdr inhibitor
660 mg/kotouček ³	+	
trifluoroperazin ¹		antipsychotické činidlo
440 mg/kotouček ¹	+	uklidňovací prostředek lidský mdr inhibitor

1 produkt společnosti Sigma Chemical Company, St. Louis MO

2 R106I koncentrace 20 mg/kotouček

3 R106I koncentrace 140 mg/kotouček

Příklad 2

Protoplasty *Penicillium chrysogenum* (společnost Eli Lilly and Company) se vytvoří s Novozyme 234 podstatně způsobem, který popsal pro *Cephalosporium acremonium* Queener a kol., 1985 Microbiology 1985, American Society for Microbiology, str. 468 až

472 a Skatrud a kol., 1987. Current Genetics 12, str. 337 až 348. V průběhu vytváření *Penicillium chrysogenum*, protoplastů a následné regenerace buněčné stěny se používá sacharosy jakožto osmotického stabilizátoru spíše než chloridu sodného, jak se popisuje ve shora uvedené literatuře. Připraví se petri destičky, které obsahují agarovou vrstvu, která má tyto složky: kvasničnou dusíkovou bazi bez aminokyselin a síranu amonného (1,7 g/l) (Difco Laboratories, Detroit MI); síran amonný (5 g/l); a sacharosa (125 g/l); trifluoroperazin (konečná koncentrace 250 mM; Sigma Chemical Co. Catalog # T-8516); a chlorid kademnatý (konečná koncentrace 3 mM/ml). Přibližně 3×10^7 protoplastů *Penicillium chrysogenum* se vnesou na povrch ztuhlého agaru do 4 ml měkké agarové horní vrstvy, která má tyto složky: kvasničnou dusíkovou bazi bez aminokyselin a síranu amonného (1,7 g/l) (Difco Laboratories, Detroit MI); síran amonný (5 g/l); a sacharosa (125 g/l); a agar (4 g/l). Destičky se inkubují přes noc při teplotě 15 °C.

Příští ráno se přidá hygromycin B (konečná koncentrace 250 mg/ml, Boehringer Mannheim Catalog # 843 555) na destičky do 4 ml měkké agarové horní vrstvy sestávající z kvasničné dusíkové baze bez aminokyselin a síranu amonného (1,7 g/l) (Difco Laboratories, Detroit MI); ze síranu amonného (5 g/l); a ze sacharosy (125 g/l); a z agaru (4 g/l). Destičky se inkubují po dobu 48 hodin při teplotě 28 °C. Provádějí se další zkoušky, při kterých se koncentrace trifluoroperazinu a hygromycinu B mění, jak uvedeno v tabulce II.

Výsledky této zkoušky jsou uvedeny v tabulce II. Z výsledků je zřejmé, že toxické působení hygromycinu B se v případě *Penicillium chrysogenum* násobí v přítomnosti trifluoroperazinu. V tabulce II výsledek "+" znamená růst buněk *Penicillium chrysogenum* a tudíž, že toxické působení hygromycinu B není násobeno trifluoroperazinem. Výsledek "-" znamená, že se nepozoruje růst kultury *Penicillium chrysogenum* a tudíž, že toxické působení hygromycinu B je násobeno trifluoroperazinem.

Tabulka II

Růst *Penicillium chrysogenum*

Hygromycin B	Trifluoroperazin	Růst
mg/ml	μM	
0	500	+
0,250	250	-
1,000	500	-
2,000	500	-
3,000	500	-
4,000	500	-
5,000	500	-
5,000	0	+

Průmyslová využitelnost

Způsob zvyšování citlivosti houbových buněk k protihoubové účinným látkám podáváním protihoubové účinných látek spolu s činidly, která jejich účinek násobí. Způsob zkoušení vhodnosti činidel k násobení účinnosti protihoubové působících látek.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Farmaceutický prostředek pro léčebné působení houbových infekcí, v y z n a š u j í c í s e t í m , že obsahuje účinné triš-
stí (i) protihoubového činidla a (ii) činidla násobícího jako č-
činek a farmaceuticky vhodné excipienty.

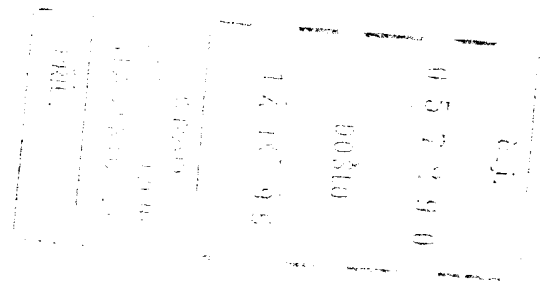
2. Farmaceutický prostředek podle nároku 1 , v y z n a š u j í c í s e t í m , že obsahuje jako protihoubové činidlo R-106I.

3. Farmaceutický prostředek podle nároku 1 nebo 2, v y z n a š u j í c í s e t í m , že obsahuje jako činidlo násobící účinek fungální nebo inhibitor.

4. Farmaceutický prostředek podle nároku 1, 2 nebo 3, v y z n a š u j í c í s e t í m , že obsahuje jako činidlo násobící účinek vorapamil, vindolin a trifluorperazin.

5. Přípravek obsahující násobícího čínek sloučeniny se protihoubové činidlo násobícího na houbové buňky podle nároku 1 až 4 , v y z n a š u j í c í s e t í m , že

- a) se nachází v kultuře houbové buňky v přítomnosti (i) protihoubového činidla, které je houbové buňky odolné a (ii) sloučeniny s možným násobícím účinkem na protihoubové činidlo.
- b) měří se násobící protihoubové působení sloučeniny na protihoubové činidlo.



Podstata vynálezu

Podstata farmaceutického prostředku pro léčivání houbových infekcí podle vynálezu spočívá v to, že obsahuje účinné množství (i) protihoubového činidla, (ii) činidla násobícího jeho účinek a farmaceuticky vhodné excipienty.

Farmaceutický prostředek podle vynálezu jako protihoubové činidlo obsahuje cykloště R-1061 a jako činidlo násobící účinek fungální mdr inhibitor, nystatin, nifedipin a trifluoroperazin.

Způsob stanovení násobícího účinku sloučeniny na protihoubové činidlo působící na houbové buňky podle vynálezu spočívá v tom, že

- a) se nechává růst kultura houbové buňky v přítomnosti (i) protihoubové sloučeniny, ke které je houbová buňka odolná a (ii) sloučeniny s možným násobícím účinkem na protihoubové činidlo a
- b) srovná se násobící protihoubový působení sloučeniny na protihoubové činidlo.

Případně používaným výrazem "subjekt" se zde vždy míní organismus, orgán, orgánový systém nebo buněčná linie organismu, ve kterých žijí linie houbových buněk nebo ve kterých žijí linie houbových buněk. Subjekt jako takový může být ošetřován in vitro nebo in vivo. Především je subjektem savae včetně lidí, v kterých se provádí ošetření in vivo.

Výrazem "protihoubové činidlo" nebo "protihoubové sloučenina" se zde vždy míní sloučenina nebo prostředek, které jsou cytostatické nebo cytotoxické se zřetelem na houbové buňky.

Výrazem "násobící činidlo" ("potentiating agent") "násobení", "násobek" nebo "násobený" a podobně se zde vždy míní vlastnost sloučeniny, sloučenin nebo prostředků podporovat účinnost protihoubové působícího činidla nebo protihoubové působící sloučeniny na houbovou buňku.

Výrazem "podpořená účinnost" a "podpora účinnosti" se míní schopnost protihoubové působícího činidla nebo protihoubové sloučeniny vykazovat cytostatické působení nebo cytotoxické jevy buď v nižší koncentraci, než je cytostatické nebo cytotoxické účin-