



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20030674 A2

HR P20030674 A2

(12) PRIJAVA PATENTA

(51) Int. Cl.⁷: A 61 K 31/425
A 61 K 47/12
A 61 K 47/02
A 61 P 35/00

(21) Broj prijave u HR: P20030674A
(22) Datum podnošenja prijave patenta u HR: 25.08.2003.
(43) Datum objave prijave patenta u HR: 30.06.2005.
(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US02/02518
Datum podnošenja međunarodne prijave: 25.01.2002.
(87) Broj međunarodne objave: WO 02/058701
Datum međunarodne objave: 01.08.2002.

(31) Broj prve prijave: 60/264,228
60/290,019

(32) Datum podnošenja prve prijave: 25.01.2001.
11.05.2001.

(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US
US

(71) Podnositelj prijave:

Bristol-Myers Squibb Company, P.O.Box 4000, Lawrenceville-Princeton Rd., Princeton, 08543-4000 NJ, US

(72) Izumitelji:

Rebanta Bandyopadhyay, 7492 Capri St., Portage, 49002 MI, US

Timothy, M. Malloy, 1902 Makefield Road, Yardley, 19067 PA, US

Andrea Panaggio, 5 Tindall Trail, West Windsor, 08550 NJ, US

Krishnaswamy, Srinivas Raghavan, 3 Hickory Ct., Cranbury, 08512 NJ, US

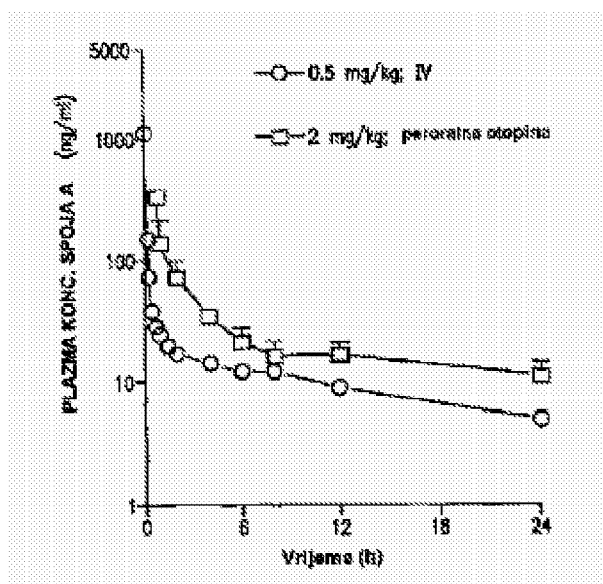
Sailesh, Amilal Varia, 10 Claredon Ct., Princeton Junction, 08550 NJ, US

(74) Punomoćnik:

Mladen Vukmir, Zagreb, HR

(54) Naziv izuma: FARMACEUTSKI PRIPRAVCI, OBLICI ZA DOZIRANJE I POSTUPCI ZA PERORALNU PRIMJENU EPOTILONA

(57) Sažetak: Predmetni izum odnosi se na postupke za povećanje bio-dostupnosti peroralno primijenjenih epotilona. Epotiloni primijenjeni postupcima prema predmetnom izumu su dovoljno bio-dostupani za postizanje farmakološkog učinka. Predmetni izum se nadalje odnosi na farmaceutske pripravke, farmaceutske oblike za doziranje i pribor za uporabu u postupcima prema predmetnom izumu.



HR P20030674 A2

OPIS IZUMA

Reference na srodne prijave

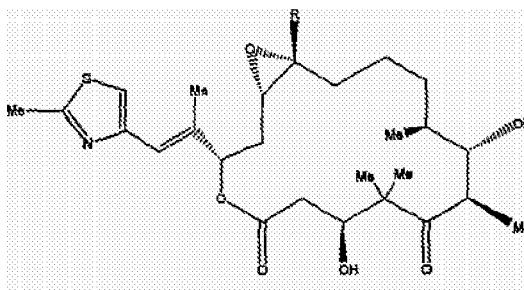
- 5 Ova prijava ima pravo prvenstva od privremenih prijava serijskih brojeva 60/264,228, koja je podnešena 25. siječnja 2001. i 60/290,019, koja je podnešena 11. svibnja 2001., a koje su ovdje u cijelosti uključene referencom.

Područje izuma

- 10 Predmetni izum odnosi se na postupke peroralne primjene epotilona na bolesnika na način kojim se povećava biodostupnost. Predmetni izum se nadalje odnosi na farmaceutske pripravke, farmaceutske oblike za doziranje, te pribor za uporabu u postupcima prema predmetnom izumu. Posebice se predmetni izum odnosi na kruti peroralni oblik za doziranje epotilona.

15 Stanje tehnike

Epotiloni su 16-eročlani ciklički makrolidni molekuli koji su korisni u farmaciji. Na primjer, Epotilon A i B su prirodno stvoreni spojevi koji se mogu izolirati iz izvjesnih mikroorganizama; ta dva spoja imaju sljedeće strukture:



Epotilon A R = H

Epotilon B R = Me

- 25 Otkada su epotiloni uvedeni u područje farmacije, mnogi istraživači su koncipirali, sintetizirali i testirali analoge prirodnih epotilona s namjerom razvijanja korisnih farmaceutskih preparata. (Vidi, npr., D. Schinzer i dr., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1997, 36, No. 3, 523-524; K. C. Nikolaou, i dr., *J. Amer. Chem. Soc.*, 1997, 119, 7974-7991; K. C. Nicaloau i dr., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1996, 35, No. 20, 2399-2401; A. Balog i dr., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1996, 35, No. 23/24, 2801-2803).

- 30 Poznati epotiloni imaju učinke stabilizacije mikrotubula, slično Taxol-u[®] i stoga imaju citotoksično djelovanje protiv brzo bujajućih stanica, poput onih koje se pojavljuju kod karcinoma i drugih hiperproliferacijskih oboljenja stanice (Vidi *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, Vol. 35, Nr. 13/14, 1996 i D.M. Bollag, *Exp. Opin. Invest. Drugs*, 6(7): 867-873, 1997).

- 35 Međutim, prije no što se epotiloni mogu koristiti za liječenje oboljenja kod bolesnika, moraju se formulirati u farmaceutski pripravak koji se može primjenjivati na bolesnika; na primjer, u oblik za doziranje koji je prikladan za peroralnu, mukozalnu (npr. nazalnu, podjezičnu, vaginalnu, bukalnu ili rektalnu), parenteralnu (npr. subkutanu, intravensku, bolus injekcijom, intramuskularnu ili intra-arterijsku) ili transdermalnu primjenu. Formulacije za peroralnu primjenu su posebice poželjne budući su prikladnije i jednostavnije za primjenu u usporedbi s drugim formulacijama. Također, peroralnom rutom primjene se izbjegavaju bol i neugoda koji su povezani sa parenteralnim načinom primjene.
- 40 Prema tome, formulacije za peroralnu primjenu su bolje prihvaćene od bolesnika, što rezultira i boljim pridržavanjem rasporeda doziranja od strane bolesnika.

- Korisnost peroralnog oblika formulacije, međutim zahtijeva da djelatno sredstvo bude biodostupno. Na biodostupnost peroralno primijenjenih lijekova utječu različiti čimbenici, primjerice apsorpcija lijeka duž cijelog probavnog trakta, stabilnosti lijeka u probavnom traktu i učinku prvog prolaza (engl. *first pass effect*). Prema tome, učinkovita peroralna isporuka djelatnog sredstva zahtijeva da djelatno sredstvo ima dovoljnu stabilnost u želucu i crijevnom lumenu kako bi prošli kroz stijenku crijeva. Međutim, mnogi lijekovi imaju tendenciju brze degradacije u crijevnom traktu ili imaju slabu apsorpciju u crijevnom traktu, tako da peroralna primjena nije učinkovit postupak primjene rečenih lijekova.

- 50 Farmaceutski pripravci namijenjeni peroralnoj primjeni tipično se pojavljuju u krutim oblicima za doziranje (npr., tablete) ili kao tekući pripravci (npr., otopine, suspenzije ili eliksiri). Međutim, kruti oblici za doziranje mogu stvarati poteškoće u farmaceutskoj uporabi djelatnog sredstva budući neke populacije bolesnika imaju poteškoća, u fizičkom ili psihološkom pogledu, progutati krute oblike za peroralno doziranje. Kada bi tekući oblik za doziranje bio dostupan,

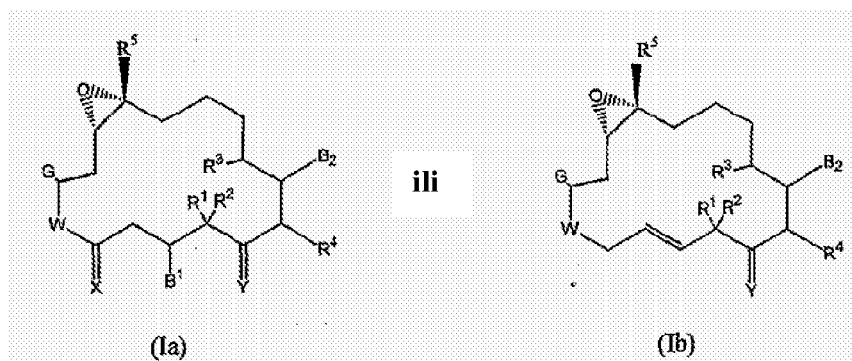
rečeni bolesnici bi mogli lakše uzimati potrebnu dozu djelatnog sastojka primjenom u obliku peroralnog tekućeg pripravka koji bi rečeni bolesnici mogli popiti ili primjenom, na primjer, putem nazogastrične cjevčice. Prema tome, poželjni su tekući peroralni oblici za doziranje.

- 5 Tekući peroralni farmaceutski pripravci zahtijevaju prikladno otapalo ili sustav nosača kako bi se postiglo otapanje ili raspršivanje djelatnog sredstva i time omogućila primjena pripravka bolesniku. Sustav otapala mora biti kompatibilan s djelatnim sredstvom, kao i ne-toksičan za bolesnika. Obično je otapalo za tekuće peroralne pripravke otapalo koje se temelji na vodi.
- 10 Formulacije izvjesnih epotilona stvaraju dodatne poteškoće pored uobičajenih problema, budući su izvjesni epotiloni ili nestabilni na kiselinu i/ili slabo topljivi u vodenim sredinama, a vodena sredina je prvi izbor za peroralne otopine. Predmetni izum, međutim, rješava rečene poteškoće i omogućava postupke i farmaceutske formulacije za peroralnu primjenu epotilona, pri čemu su epotiloni u dovoljnoj mjeri biodostupni kako bi postigli farmakološki učinak.

15 Kratak opis izuma

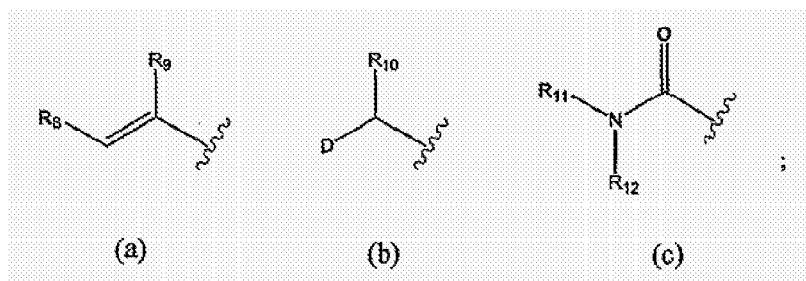
- Predmetni izum obuhvaća postupak peroralne isporuke epotilona sisavcu, a pri tom smanjuje ili izbjegava degradaciju, raspadanje ili deaktivaciju epotilona od strane probavnog sustava, posebice od strane želučanih sokova u želucu. U jednom utjelovljenju, postupak obuhvaća primjenu epotilona u, ili sa, farmaceutski prihvatljivim puferom za neutralizaciju kiseline. U poželjnom utjelovljenju, primjena obuhvaća uporabu dvije otopine, od kojih jedna sadrži samo djelatni epotilon, ili epotilon u farmaceutski prihvatljivom nosaču, a druga otopina sadrži farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju. Prema tome, predmetni izum uključuje farmaceutske pripravke koji sadržavaju epotilon bilo u krutom obliku koji je prikladan za konstituciju, ili se rekonstituira ako je u liofiliziranom obliku u farmaceutski prihvatljivu otopinu, bilo kao već pripravljenu otopinu. Predmetni izum također obuhvaća farmaceutske pripravke koji sadržavaju farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju bilo u krutom obliku prikladnom za konstituciju, ili rekonstituciju ako je u liofiliziranom obliku, u farmaceutski prihvatljivu otopinu ili kao već pripravljenu otopinu.

- U preciznijem utjelovljenju, predmetni izum se odnosi na postupke povećavanja biodostupnosti peroralno primijenjenog epotilona. Rečeni postupci uključuju peroralnu primjenu jednog ili više epotilona formule:



pri čemu:

- 35 G je odabran iz skupine koja se sastoji od alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, heterociklo,



W je O ili NR₁₆;

X je O; S; CHR₁₇ ili H, R₁₈;

- 40 Y je odabran iz skupine koja se sastoji od O; H, H; H, OR₂₂; OR₂₃; OR₂₃; NOR₂₄; H, NOR₂₅; H, HNR₂₆R₂₇; NHNR₂₈R₂₉; H, NHNR₃₀R₃₁ ili CHR₃₂, pri čemu

OR₂₃, OR₂₃ može biti ciklički ketal;

B₁ i B₂ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, OR₃₃, OCOR₃₄, OCONR₃₅R₃₅, NR₃₇R₃₈ ili NR₃₉CONR₄₀R₄₁;

D je odabran iz skupine koja se sastoji od $NR_{42}R_{43}$ ili hetero-ciklo;

R_1, R_2, R_3, R_4 i R_5 su odabrani iz H, nižeg alkila;

R_8, R_9, R_{10} i R_{11} su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo ili supstituiranog heterociklo;

5 R_{17}, R_{18}, R_{22} i R_{23} su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila i supstituiranog alkila;

$R_{24}, R_{25}, R_{26}, R_{28}, R_{30}, R_{32}, R_{33}, R_{34}, R_{35}, R_{36}, R_{37}, R_{39}, R_{40}, R_{41}, R_{42}, R_{51}, R_{52}, R_{53}$ i R_{61} su odabrani iz skupine koju sačinjavaju H, alkil, supstituirani alkil, aril ili supstituirani aril;

10 $R_{12}, R_{16}, R_{27}, R_{29}, R_{31}, R_{38}$ i R_{41} su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo, $R_{51}C=O$, $R_{52}OC=O$, $R_{53}SO_2$, hidroksi i O-alkil ili O-supstituirani alkil, ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, hidrat, klatrat ili prolijeak istih; te peroralna primjena jednog ili više farmaceutski prihvatljivih pufera za neutralizaciju kiseline.

15 Farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline može se primijeniti zajedno sa, prije, nakon, ili bilo prije bilo nakon primjene jednog ili više epotilona od interesa. Kada se primjenjuje prije djelatnog epotilona, farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline se primjenjuje ne više od oko 1 sat prije primjene epotilona. Kad se primjenjuje nakon, farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline se primjenjuje ne više od oko 1 sat nakon primjene epotilona.

20 Otopina s farmaceutski prihvatljivim puferom za neutralizaciju kiseline, koji može biti tekuća formulacija i koji se može konstituirati neposredno prije primjene, sadrži jednu ili više komponenti koje imaju sposobnost neutraliziranja kiseline otopine, a posebice želučanih sokova, unutar nekog vremenskog perioda. Komponente pufera uključuju, bez ograničavanja na, farmaceutski prihvatljive slabe kiseline, slabe lužine ili smjese istih. Poželjne komponente pufera su tvari topljive u vodi, poput primjerice fosforne kiseline, vinske kiseline, mliječne kiseline, sukcininske kiseline, limunske kiseline, octene kiseline, askorbinske kiseline, asparaginske kiseline, klorovodične kiseline, sumporne kiseline, glutaminske kiseline i soli istih.

25 Farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline se primjenjuje u količini koja je dovoljna za neutralizaciju želučanih sokova u želucu i povećanje količine epotilona kojeg apsorbira probavni sustav. Farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline može se primijeniti kao vodena otopina koja ima pH faktor između oko 5 do 9. Farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline može se primijeniti kao vodena otopina bezvodnog dibazičnog natrijevog fosfata, natrij citrat dihidrata i bezvodne limunske kiseline.

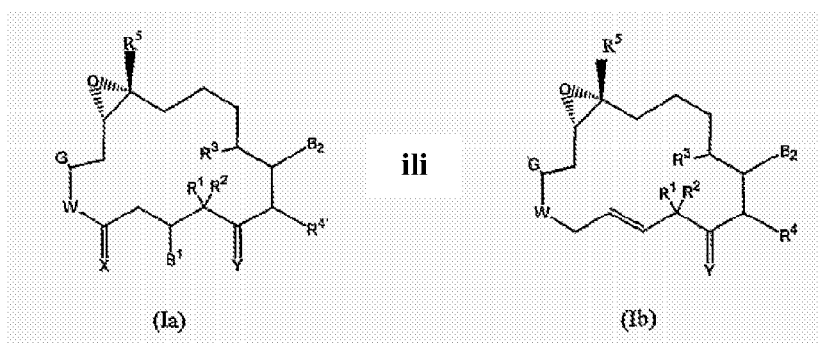
35 Predmetni izum znatno povećava biodostupnost epotilona koji se primjenjuje peroralno u usporedbi s epotilonom koji je bio peroralno primijenjen, ali bez pufera za neutralizaciju. U jednom utjelovljenju biodostupnost jednog ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeaka istih je najmanje 20 posto. Jedan ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeaka istih može se primjenjivati peroralno kao otopina u propilen glikolu i etanolu, na primjer, kada je omjer propilen glikol:etanol oko 80:20.

40 Poželjni epotilon je [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,16S*]]-7,11-dihidroksi 8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etnil-17-oksa-4-azabicyklo[14.1.0]heptadekan-5,9-dion.

45 Predmetni izum također obuhvaća pribor koji uključuje traženi epotilon i topljivi puferski pripravak. Predmetni izum obuhvaća pribor koji uključuje (a) farmaceutski pripravak koji sadrži epotilon koji je prikladan za peroralnu primjenu i (b) farmaceutski pripravak koji sadrži pufer za neutralizaciju kiseline koji je prikladan za peroralnu primjenu.

U jednom utjelovljenju pribor uključuje:

(i) prvu komponentu koja sadrži jedan ili više epotilona formule:



pri čemu G, W, X, Y, B₁, B₂, D, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₆, R₁₇, R₁₈, R₂₂, R₂₃, R₂₄, R₂₅, R₂₆, R₂₇, R₂₈, R₂₉, R₃₀, R₃₁, R₃₂, R₃₃, R₃₄, R₃₅, R₃₆, R₃₇, R₃₈, R₃₉, R₄₀, R₄₁, R₄₂, R₄₃, R₅₁, R₅₂, R₅₃ i R₆₁ su definirani gore; i

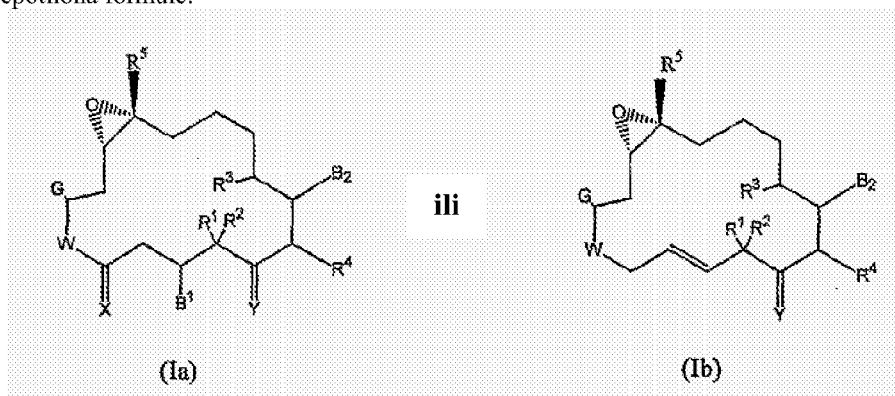
(ii) drugu komponentu koja sadrži farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline,

pri čemu se prva komponenta i druga komponenta dobavljaju kao tekući peroralni oblik za doziranje ili kao kruti farmaceutski pripravak koji se može konstituirati ili rekonstituirati s otapalom kako bi se omogućilo tekuće peroralno doziranje.

Farmaceutski pripravak koji se rekonstituira s otapalom može biti dobavljen u obliku tablete. Prva komponenta ili druga komponenta mogu biti bezvodne. Pribor može po izboru sadržavati otapala za rekonstituiranje prve ili druge komponente. Otapalo za rekonstituiranje prve komponente može biti smjesa propilen glikola i etanola, pri čemu je omjer propilen glikol:etanol oko 80:20.

Predmetni izum se nadalje bavi farmaceutskim pripravcima koji uključuju:

(i) jedan ili više epotilona formule:



pri čemu su G, W, X, Y, B₁, B₂, D, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₆, R₁₇, R₁₈, R₂₂, R₂₃, R₂₄, R₂₅, R₂₆, R₂₇, R₂₈, R₂₉, R₃₀, R₃₁, R₃₂, R₃₃, R₃₄, R₃₅, R₃₆, R₃₇, R₃₈, R₃₉, R₄₀, R₄₁, R₄₂, R₄₃, R₅₁, R₅₂, R₅₃ i R₆₁ definirani gore, ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijevak istih u krutom obliku; te

(ii) kruti farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline u količini koja je dovoljna da smanji rastvaranje jednog ili više epotilona, ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeva istih, kada se farmaceutski pripravak rekonstituira s otapalom kako bi se dobio tekući peroralni oblik za doziranje.

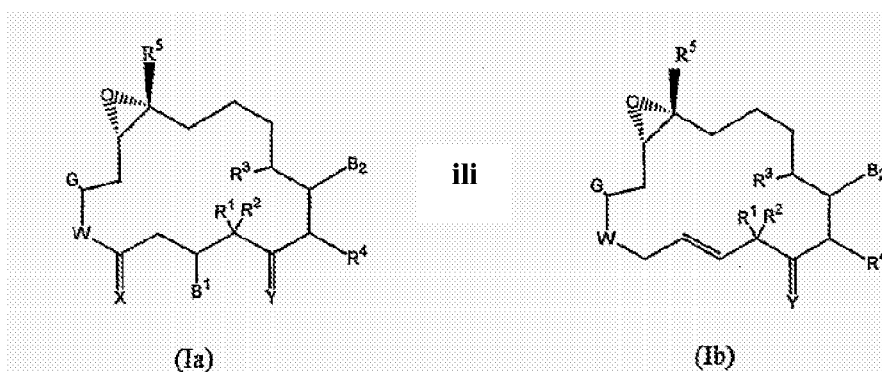
Kratak opis slika

SLIKA 1. Prosječni profili koncentracije plazme za Spoj (A) u odnosu na vrijeme kod pasa nakon IV primjene od 0,5 mg/kg (-±-), te peroralne primjene otopine od 2 mg/kg (-□-). Okomiti stupci predstavljaju standardne devijacije i prikazani su kada su veći od veličine simbola.

SLIKA 2. Prosječni profili koncentracije plazme za Spoj (B) u odnosu na vrijeme kod pasa nakon IV primjene od 0,5 mg/kg (-±-), te peroralne primjene otopine od 2 mg/kg (-□-). Okomiti stupci predstavljaju standardne devijacije i prikazani su kada su veći od veličine simbola.

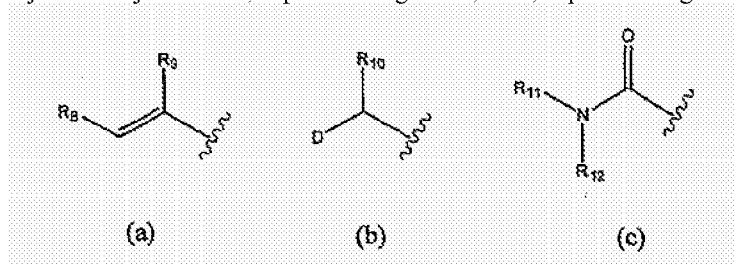
Detaljan opis predmetnog izuma

Temeljeno na farmakološkim koristima od epotilona, postoji potreba za oblicima za doziranje i postupcima primjene rečenih spojeva tako da posjeduju dovoljnu biodostupnost za postizanje farmakološkog učinka. Osobito postoji potreba za peroralnim oblicima doziranja, a još više za tekućim peroralnim oblicima za doziranje koji su sposobni isporučiti količinu epotilona koja je dovoljna za liječenje oboljenja. Predmetni izum se temelji, jednim dijelom, na otkriću kako epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib):



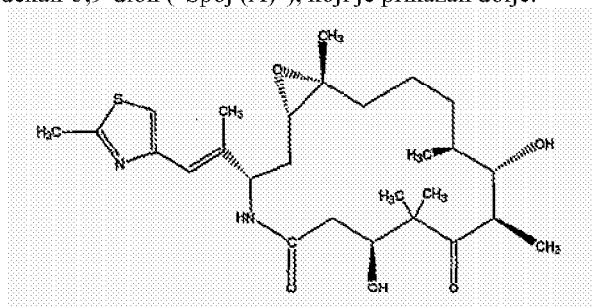
pri čemu:

G je odabran iz skupine koja se sastoji od alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, heterociklo,



- 5 W je O ili NR₁₆;
 X je O; S; CHR₁₇; ili H, R₁₈
 Y je odabran iz skupine koja se sastoji od O; H, H; H, OR₂₂; OR₂₃, OR₂₃; NOR₂₄; H, NOR₂₅; H, HNR₂₆R₂₇; NHNR₂₈R₂₉;
 H, NHNR₃₀R₃₁ ili CHR₃₂, pri čemu OR₂₃, OR₂₃ može biti ciklički ketal;
 B₁ i B₂ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, OR₃₃, OCOR₃₄, OCONR₃₅R₃₆, NR₃₇R₃₈ ili NR₃₉CONR₄₀R₄₁
 10 D je odabran iz skupine koja se sastoji od NR₄₂R₄₃ ili heterociklo;
 R₁, R₂, R₃, R₄ i R₅ su odabrani iz H, nižeg alkila;
 R₈, R₉, R₁₀ i R₁₁ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila,
 cikloalkila, heterociklo ili supstituiranog heterociklo;
 R₁₇, R₁₈, R₂₂ i R₂₃ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H,
 15 alkila i supstituiranog alkila;
 R₂₄, R₂₅, R₂₆, R₂₈, R₃₀, R₃₂, R₃₃, R₃₄, R₃₅, R₃₆, R₃₇, R₃₉, R₄₀, R₄₁, R₄₂, R₅₁, R₅₂, R₅₃ i R₆₁ su odabrani iz skupine koju
 sačinjavaju H, alkil, supstituirani alkil, aril ili supstituirani aril;
 R₁₂, R₁₆, R₂₇, R₂₉, R₃₁, R₃₈ i R₄₃ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, supstituiranog
 arila, cikloalkila, heterociklo, R₅₁C=O, R₅₂OC=O, R₅₃SO₂, hidroksi i O-alkila ili O-supstituiranog alkila;
 20 i farmaceutski prihvatljive soli, solvati, hidrati, klatrati ili prolijeckovi istih, kada se primjenjuju peroralno u kombinaciji
 s farmaceutski prihvatljivim puferom za neutralizaciju kiseline, su dovoljno biodostupne za postizanje farmakološkog
 učinka. Prema tome, predmetni izum se odnosi na postupke za povećavanje biodostupnosti peroralno primijenjenih
 epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili pro-lijeka istih,
 putem peroralne primjene jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli,
 25 solvata, klatrata, hidrata ili prolijecka istih, te peroralne primjene farma-ceutski prihvatljivog pufera za neutralizaciju
 kiseline u kombinaciji s gore spomenutim tvarima. Predmetni izum također se odnosi na farma-ceutске pripravke,
 farmaceutske oblike za doziranje i pribor za uporabu u postupcima prema predmetnom izumu.

Poželjni epotilon za uporabu u postupcima, pripremcima i oblicima za doziranje prema predmetnom izumu je [1S-
 30 [1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,16S*]-7,11-dihidroksi 8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil-17-
 oksa-4-azabicyklo[14.1.0]heptadekan-5,9-dion ("Spoj (A)"), koji je prikazan dolje:



DEFINICIJE

U tekstu što slijedi navedene su definicije različitih određenja koja su korištena u opisu predmetnog izuma. Te definicije primjenjive su na određenja kako se koriste u ovoj specifikaciji, osim ako nije drugačije navedeno u konkretnim primjerima.

Kako se ovdje rabi, određenje "alkil" se odnosi na nesupstituirane ugljikovodične skupine ravnog ili razgranalog lanca koje imaju od 1 do 20 atoma ugljika, poželjno je 1 do 7 atoma ugljika.

Kako se ovdje rabi, određenje "supstituirani alkil" se odnosi na alkilnu skupinu supstituiranu sa, na primjer, jednim do četiri supsti-tuenata, kao što su halo, trifluorometil, trifluorometoksi, hidroksi, alkoksi, cikloalkiloksi, heterociklooksi, okso, alkanoil, ariloksi, alkanoiloksi, amino, alkilamino, arilamino, aralkilamino, cikloalkil-amino, heterocikloamino, disupstituirani amini kod kojih su 2 amino supstituenta odabrana iz sljedećeg: alkil, aril ili aralkil, alkanoil-amino, aroilamino, aralkanoilamino, supstituirani alkanoilamino, supstituirani arilamino, supstituirani aralkanoilamino, tiol, alkiltio, ariltio, aralkiltio, cikloalkiltio, heterociklotio, alkiltiono, ariltiono, aralkiltiono, alkilsulfonil, arilsulfonil, aralkilsulfonil, sulfonamido (npr. SO_2NH_2), supstituirani sulfonamido, nitro, cijano, karboksi, karbamil (npr. CONH_2), supstituirani karbamil (npr. CONH alkil, CONH aril, CONH aralkil ili slučajevi kada postoje dva supstituenta na atomu dušika koji su odabrani iz sljedećeg: alkil, aril ili aralkil, alkoksikarbonil, aril, supstituirani aril, gvanidino i heterocikli, kao što su indolil, imidazolil, furil, tienil, tiazolil, pirolidil, piridil i pirimidil. Kada je posebno navedeno gore, kada je supstituent dalje supstituiran, (bit će supstituiran) s halogenom, alkilom, alkoksi, arilom ili aralkilom.

Kako se ovdje rabi, određenje "halogen" ili "halo" odnosi se na fluor, klor, brom i jod.

Kako se ovdje rabi, određenje "aril" odnosi se na monocikličke ili bicikličke aromatske ugljikovodične skupine koje imaju od 6 do 12 atoma ugljika u prstenastom dijelu, kao što su fenilne, naftilne, bifenilne i difenilne skupine, od kojih svaka može biti supstituirana.

Kako se ovdje rabi, određenje "aralkil" odnosi se na arilnu sku-pinu koja je spojena izravno preko alkilne skupine, kao što je benzil.

Kako se ovdje rabi, određenje "supstituirani aril" odnosi se na arilnu skupinu koja je supstituirana, na primjer, s jednim do četiri supstituenata kao što su alkil; supstituirani alkil, fenil, supstituirani fenil, heterociklo, halo, trifluorometoksi, trifluoro-metil, hidroksi, alkoksi, cikloalkiloksi, heterociklooksi, alkanoil, alkanoiloksi, amino, alkilamino, aralkilamino, cikloalkilamino, heterocikloamino, dialkilamino, alkanoilamino, tiol, alkiltio, cikloalkiltio, heterociklotio, ureido, nitro, cijano, karboksi, karboksialkil, karbamil, alkoksikarbonil, alkiltiono, ariltiono, alkilsulfonil, sulfonamido i ariloksi. Supstituent može biti nadalje supstituiran sa halo, hidroksi, alkilom, alkoksi, arilom, supstituiranim arilom, supstituiranim alkilom ili aralkilom.

Kako se ovdje rabi, određenje "cikloalkil" odnosi se na po izboru supstituirane, zasićene cikličke ugljikovodične prstenaste sustave, koji poželjno sadrže od 1 do 3 prstena i od 3 do 7 atoma ugljika po prstenu, koji nadalje može biti stopljen s nezasićenim C3-C7 karbocikličkim prstenom. Primjerične skupine uključuje ciklopropil, ciklobutil, ciklopentil, cikloheksil, cikloheptil, ciklooktil, ciklodecil, ciklododecil i adamantil. Primjerični supstituenti uključuju jednu ili više alkilnih skupina kako su opisane gore, ili jednu ili više skupina koje su gore opisane kao supstituenti alkila.

Kako se ovdje rabi, određenja "heterocikl", "heterociklički" i "heterociklo" odnose se na po izboru supstituiranu, potpuno zasićenu ili nezasićenu, aromatsku ili nearomatsku cikličku skupinu, na prim-er, 4 do 15-eročlani sustav ili 4 do 7-eročlani monociklički, 7 do 11-eročlani biciklički, ili 10 do 15-eročlani triciklički prstenasti sustav, koji ima najmanje jedan heteroatom u najmanje jednom prstenu koji sadrži ugljik. Svaki prsten heterocikličke skupine koji sadrži heteroatom može imati 1, 2 ili 3 heteroatoma koji su odabrani iz atoma dušika, atoma kisika i atoma sumpora, pri čemu se heteroatomi dušika i sumpora također mogu po izboru biti oksidirani, a heteroatomi dušika također mogu biti po izboru kvarternizirani. Heterociklička skupina može biti vezana na bilo koji heteroatom ili atom ugljika.

Primjerične monocikličke heterocikličke skupine uključuju, ali se ne ograničavaju na sljedeće: pirolidinil, pirolil, indolil, pirazolil, oksetanil, pirazolinil, imidazolil, imidazolinil, imidazolidinil, oksazolil, oksazolidinil, isoksazolinil, isoksazolil, tiazolil, tiadiazolil, tiazolidinil, isotiazolil, isotiazolidinil, furil, tetrahidrofuril, tienil, oksadiazolil, piperidinil, piperazinil, 2-oksopipera-zinil, 2-oksopiperidinil, 2-oksopirolidinil, 2-oksazepinil, azepinil, 4-piperidonil, piridil, N-okso-piridil, pirazinil, pirimidinil, piri-dazinil, tetrahidropiranil, tetrahidro-tiopiranil, tetrahidrotiopiranil sulfon, morfolinil, tiomorfolinil, tiomorfolinil sulfoksid, tiomorfolinil sulfon, 1,3-dioksolan i tetrahidro-1,1-dioksotienil, dioksanil, isotiazolidinil, tietanil, tiiranil, triazinil i triazolil.

Primjerične bicikličke heterocikličke skupine uključuju, ali se ne ograničavaju na sljedeće: benzotiazolil, benzoksazolil, benzo-tienil, kinuklidinil, kinolinil, kinolinil-N-oksid, tetrahidroizo-kinolinil, izokinolinil, benzimidazolil, benzopiranil,

indoliznil, benzofuril, kromonil, kumarinil, cinolinil, kinoksalinil, indazolil, pirolopiridil, furopiridinil (kao što su primjerice furo[2,3-c]piridinil, furo [3,1-b]piridinil ili furo[2,3-b]piridinil), dihidro-izoindolil, dihidrokinazolinil (kao što je 3,4-dihidro-4-oksokinazo-linil), benzizotiazolil, benzisoksazolil, benzodiazinil, benzofuraza-nil, benzotiopiranil, benzotriazolil, benzpirazolil, dihidrobenzofu-ril, dihidrobenzotienil, dihidrobenzotiopiranil, dihidrobenzotiopira-nil sulfon, dihidrobenzopiranil, indolinil, izokromanil, izoindolinil, naftiridinil, ftalazinil, piperonil, purinil, piridopiridil, kinazolinil, tetrahidrokinolinil, tienofuril, tienopiridil i tienotienil.

Primjerični supstituenti uključuju, ali se ne ograničavaju na, jednu ili više alkilnih skupina na gore opisani način ili jednu ili više skupina koje su gore opisane kao supstituenti alkila. Također su uključeni manji heterocikli, kao što su epoksidi i aziridini.

Kako se ovdje rabi, određenje "heteroatomi" uključuje atome kisika, sumpora i dušika.

Kako se ovdje rabi, prefiks "niži" označava dio koja ima do i uključujući 7, a poželjno je do i uključujući 4 atoma ugljika.

Kako se ovdje rabi, određenje "biodostupan" označava stupanj u kojem se neki lijek apsorbira u živi sustav i učini dostupnim u krvi koja kola u živom sustavu. Postupci kojima se određuje biodostupnost lijekova dobro su poznati i osobama prosječne stručnosti u rečenom području.

Kako se ovdje rabi, oznaka "u dovoljnoj mjeri biodostupan kako bi imao farmakološki učinak" znači da su epotiloni biodostupni više od 20 posto, poželjno je biodostupni više od 30 posto, a još poželjnije biodostupni više od 50 posto.

Kako se ovdje rabi, određenje "farmaceutski prihvatljiva sol" odnosi se na soli pripravljene iz epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib) koje imaju bazičnu funkcionalnu skupinu, kao što je primjerice amin, s farmaceutski prihvatljivom ne-toksičnom neorganskom ili organskom kiselinom. Prikladne ne-toksične kiseline uključuju, ali se ne ograničavaju na sljedeće: octena, benzensulfonska, benzojeva, kamforsulfonska, limunska, etensulfonska, fumarna, glukonska, gluta-minska, bromovodična, klorovodična, isationska, mliječna, maleinska, jabučna, bademova, metansulfonska, mucinska, dušična, pamoična, panto-tenska, fosforna, sukcijska, sumporna, vinska i p-toluensulfonska kiselina. Soli koje se tvore s kiselinama mogu se dobiti, na primjer, od epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib) koji ima bazičnu funkcio-nalnu skupinu i ekvivalentne količine ne-toksične kiseline čime se dobiva sol dodane kiseline. Reakcija se tipično izvodi u sredini u kojoj se sol dodane kiseline taloži ili u vodenoj sredini, nakon čega slijedi isparavanje. Određenje "farmaceutski prihvatljiva sol" također se odnosi se sol pripravljenu iz epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib) koji imaju kiselinsku funkcionalnu skupinu, kao što je primjerice funkcionalna skupina karboksilne kiseline i farmaceutski prihvatljive ne-toksične neorganske ili organske baze. Prikladne ne-toksične baze uključuju hidrokside alkalijskih metala, kao što su primjerice natrij, kalij i litij; hidrokside zemnoalkalijskih metala, kao što su primjerice kalcij i magnezij; hidrokside drugih metala, kao što su primjerice aluminij i cink; amonij i organski amini, kao što su primjerice nesupstituirani ili hidroksi-supstituirani mono-, di- ili trialkilamini; dicikloheksilamin; tributil amin; piridin; N-metil,N-etilamin; dietilamin; trietilamin; mono-, bis- ili tris-(2-hidroksi-niži alkil amini), kao što su primjerice mono-, bis- ili tris-(2-hidroksietil) amin, 2-hidroksi-terc-butilamin ili tris-(hidroksimetil)metilamin, N,N,-di-niži alkil-N-(hidroksi niži alkil)-amini, kao što su primjerice N,N,-dimetil-N-(2-hidroksietil)amin, ili tri-(2-hidroksietil)amin; N-metil-D-glucamin; te amino kiseline, kao što su primjerice arginin, lizin i slično. Soli nastale s bazama mogu se dobiti, na primjer, s epotilonom prema formulama (Ia) ili (Ib) koje imaju kiselinsku funkcionalnu skupinu i ekvivalentnom koli-činom ne-toksične baze. Reakcija se tipično izvodi u sredini u kojoj se sol taloži ili u vodenoj sredini, nakon čega slijedi isparavanje.

Predmetni izum također uključuje *zwitterione*.

Kako se ovdje rabi, određenje "farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline" odnosi se na kombinaciju farmaceutski prihvatljive ne-toksične kiseline i farmaceutski prihvatljive ne-toksične soli kiseline koja, kada se doda u neku otopinu, omogućava otopinu koja je otpornija na promjenu u pH faktoru u usporedbi s otopinom bez pufera, tada kada se kiselina ili alkali dodaju u rečenu otopinu. Određenje "farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline" također uključuje spojeve, kao što su primjerice bazični spojevi, takvi da kada se dodaju u kiselinsku otopinu neutraliziraju kiselinu i povećavaju pH faktor otopine.

Kako se ovdje rabi, određenje "klatrat" označava uključeni spoj koji je nastao obmatanjem molekula spoja "gosta" u praznom prostoru nalik kavezu koji nastaje kombinacijom nekoliko molekula spoja "domaćina".

Kako se ovdje rabi, određenje "pro-lijek" označava derivat nekog spoja koji se može hidrolizirati, oksidirati ili na neki drugi način reagirati pod biološkim uvjetima (*in vitro* ili *in vivo*) kako bi se dobio epotilonski spoj prema formulama (Ia) ili (Ib). Na primjer, karboksilni esteri tvore se prikladno esterifikacijom funkcionalnih skupina karboksilne kiseline; ako epotilon prema formulama (Ia) ili (Ib) uključuje kiselinsku funkcionalnu skupinu, može se esterificirati kako bi se dobio

pro-lijek. Različiti pro-lijekovi su dobro poznati u stanju tehnike (Za primjere pro-lijekova, vidi: Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard, Elsevier, 1985; Methods in Enzymology, vol. 42, p. 309-396, edited by K. Widder et al., Academic Press, 1985; A Textbook of Drug Design and Development, edited by Krosgaard-Larsen and H. Bundgaard, chapter 5, "Design and Application of Prodrugs," by H. Bundgaard, p. 113-191, 1991; H. Bundgaard, "Advanced Drug Delivery Reviews," 8, 1-38, 1992; H. Bundgaard et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285, 1988; te, N. Kakeya et al., Chem. Phar. Bull., 32, 692, 1984).

Kako se ovdje rabi, oznaka "sposobnost za neutralizaciju kiseline," znači količinu od 1 N HCl (izraženo u miliekvivalentima) koja se može dovesti do pH faktora 3.5, kako je definirano u U.S. Pharmacopeia, 301.

Kako se ovdje rabi, određenje "otopina" označava tekući pripravak koji sadrži jedan ili više topljivih djelatnih sastojaka koji su otopljeni u otapalu.

Kako se ovdje rabi, određenje "suspenzija" označava fino usitnjene, netopljive djelatne sastojke koji su suspendirani u otapalu.

Kako se ovdje rabi, određenje "eliksir" označava otopinu djelatnog sastojka u otapalu koje sadržava vodu i alkohol.

Kako se ovdje rabi, određenje "sirup" označava koncentriranu otopinu šećera, kao što je primjerice saharoza, u vodi ili drugoj vodenastoj tekućini, koje po izboru mogu sadržavati poliole, kao što su primjerice glicerol ili sorbitol, kako bi se usporila kristalizacija šećera ili za povećanje topljivosti dodanih sastojaka.

EPOTILONI KOJI SU KORISNI U POSTUPCIMA, PRIPRAVCIMA I OBLICIMA ZA DOZIRANJE PREMA PREDMETNOM IZUMU

Bilo koji epotilon može se koristiti u postupcima, pripravcima i oblicima za doziranje prema predmetnom izumu. Poželjno su epotiloni labilni u kiselinama i slabo topljivi u vodi, tako da nisu lako bi-odostupni kada se primjenjuju na peroralan način. U jednom konkretnom utjelovljenju epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib) se rabe u postupcima, pripravcima i oblicima za doziranje prema predmetnom izumu. Epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib) mogu se pripremiti postupcima koji su opisani u našoj prijavi br. 09/280,191, podnešenoj 29. ožujka 1999. čiji je postupak za priznanje još u tijeku, te našoj prijavi br. 09/170,482, podnešenoj 13. listopada 1998. čiji je postupak za priznanje još u tijeku, sadržaj kojih je ovdje izričito uključen. Osoba prosječne stručnosti u rečenom području također bi razumjela kako bi se epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib) mogli pripremiti prikladnom preinakom metodologija koje su opisane u, primjerice, K.C. Nikolau i dr., "An Approach to Epothilones Based on Olefin Metathesis" Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 35(20): 2399-2401 (1996); K.C. Nikolau i dr., "The Total Synthesis of Epothilone A: Macrolactonization Approach," Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 36(5): 525-527 (1997); K.C. Nikolau i dr., "Designed Epothilones: Combinatorial Synthesis, Tubulin Assembly Properties, and Cytotoxic Action Against Taxol Resistant Tumor Cells," Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 36(19): 2097-2103 (1997); K.C. Nikolaou i dr., "Olefin Metathesis Approach to Epothilone A and its Analogues", J. Am. Chem. Soc., 119(34): 7960-7973 (1997); K.C. Nikolaou i dr., "Total Syntheses of Epothilones A and B via a Macrolactonization-Based Strategy", J. Am. Chem. Soc., 119(34): 7974-7991 (1997); K.C. Nikolaou i dr., "Synthesis of Epothilones A and B in Solid and Solution Phase" Nature, 387: 268-272 (1997); i D. Meng i dr., "Remote Effects in Macrolide Formation Through Ring-Forming Olefin Metathesis: An Application to the Synthesis of Fully Active Epothilone Congeners," J. Am. Chem. Soc., Vol. 119, Nr. 11, 2733-2734 (1997).

Poželjno je da su epotiloni u kristalnom obliku i bezvodni. Po izboru, epotiloni se steriliziraju prije uporabe u pripravcima prema predmetnom izumu.

KORISNOST I OBLICI UPORABE EPOTILONA ILI PRIPRAVAKA ISTIH

Epotiloni prema predmetnom izumu su sredstva koja imaju učinke stabilizacije mikrotubula, pa se prema tome mogu rabiti u liječenju različitih oblika karcinoma ili drugih oboljenja povezanih s abnormalnim bujanjem stanica. Postupci prema predmetnom izumu su posebice korisni za primjenu jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih, na bolesnika koji boluje od karcinoma ili drugog hiperproliferacijskog oboljenja stanice. Kako se ovdje rabi, određenje "karcinom" uključuje, ali nije ograničeno na, čvrste tumore i u krvi nastale tumore. Određenje karcinom odnosi se na oboljenja kože, tkiva, organa, kostiju, hrskavice, krvi i ožilja. Određenje "karcinom" nadalje obuhvaća primarne i metastatske oblike karcinoma. Primjeri karcinoma koji se mogu liječiti postupcima prema predmetnom izumu uključuju, ali se ne ograničavaju na, karcinom, koji uključuje karcinom mjehura, dojke, debelog crijeva, bubrega, pluća, jajnika, gušterače, želuca, grla maternice, žlijezde štitnjače i kože, uključujući karcinom skvamatičnih stanica; hematopoietične tumore limfnog tkiva, uključujući, ali bez ograničavanja na, leukemiju, akutnu leukemiju limfocita, akutnu leukemiju limfoblasta, limfom B-stanica, limfom T-stanica, Hodgkinsov limfom, ne-Hodgkinsov limfom, leukemičnu retikuloepoteliozu, i Burkettov limfom; hematopoietične tumore mišićnog tkiva uključujući, ali bez ograničavanja na, akutne i kronične mijelogene leukemije i promijelocitnu leukemiju; tumore mezenhima uključujući, ali bez ograničavanja na, fibrosarkom, rabdo-miosarkom i osteosarkom; druge tumore uključujući melanom, seminom, tetratokarcinom, neuroblastom, i gliom; tumore središnjeg i perifernog živčanog sustava uključujući, ali bez ograničavanja na, astrocitom, neuroblastom, gliom i švanom; te druge oblike tumora koji uključuju, ali se ne ograničavaju na, *xenoderma*, *pigmentosum*, *keratoactanthoma*, rak folikula štitnjače i teratokarcinom.

Postupci prema predmetnom izumu su korisni za liječenje bolesnika koji su već liječeni od karcinoma, kao i za liječenje onih bolesnika koji nisu prije bili liječeni od karcinoma. Dapače, postupci i pripravci prema predmetnom izumu mogu se koristiti u tretmanima protiv karcinoma prvog i drugog reda.

Postupci prema predmetnom izumu su također korisni u kombinaciji s poznatim tretmanima protiv karcinoma, uključujući radijaciju. Postupci prema predmetnom izumu su posebice korisni u kombinaciji s tretmanima protiv karcinoma koji uključuju primjenu i drugog lijeka koji djeluje na različitu fazu staničnog ciklusa, npr., S fazu, u usporedbi s epotilonima prema formulama (Ia) ili (Ib), koji svoj učinak postižu u G₂-M fazi.

Epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib) također mogu inhibirati angiogenezu tumora, pa prema tome utječu na abnormalnu staničnu proliferaciju. Prema tome, postupci prema predmetnom izumu također mogu biti korisni u liječenju izvjesnih oblika sljepila koje je povezano s vaskularizacijom mrežnice oka, artritisa, posebice upalnog artritisa, multipla skleroze, restenoze i psorijaze.

Epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib) također mogu potaknuti ili inhibirati apoptozu, proces fiziološke smrti stanice koji je kritičan za normalan razvoj i homeostazu. Izmjene apoptotičnih putova doprinose patogenezi čitavog niza humanih oboljenja. Prema tome, postupci prema predmetnom izumu bit će korisni u liječenju čitavog niza oboljenja ljudi koja uključuju aberacije apoptoze, uključujući karcinom (posebice, ali bez ograničenja na, folikularne limfome, karcinome s p53 mutacijama, hormon ovisne tumore dojke, prostate i jajnika, te pretkancerone lezije, kao što su primjerice obiteljska adenomatozna polipoza), virusne infekcije (koje uključuju, ali se ne ograničavaju na, virus herpesa, virus boginja, Epstein-Barrov virus, Sindbis virus i adenovirus), autoimuna oboljenja (koja uključuju, ali se ne ograničavaju na, sustavni eritematoidni lupus, imuno posredovani glomerulonefritis, reumatoidni artritis, psorijazu, upalne bolesti crijeva i autoimuni diabetes mellitus), neurodegenerativni poremećaji (koji uključuju, ali se ne ograničavaju na, Alzheimerovu bolest, demenciju povezanu s AIDS-om, Parkinsonovu bolest, amiotrofnu lateralnu sklerozu, *retinitis pigmentosa*, atrofiju mišića kralježnice i cerebelarnu degeneraciju), AIDS, mijelodisplastične sindrome, aplastičnu anemiju, ishemičnu povredu povezanu s infarktom miokarda, kap i reperfuzijsku povredu, aritmiju, aterosklerozu, toksinom ili alkoholom izazvana oboljenja jetre, hematološka oboljenja (uključujući, ali bez ograničavanja na kroničnu anemiju i aplastičnu anemiju), degenerativne bolesti mišićno-skeletnog sustava (uključujući, ali bez ograničavanja na, osteoporozu i artritis), rino-sinuzitis izazvan osjetljivošću na aspirin, cističnu fibrozu, multipla sklerozu, bubrežne bolesti i bol izazvana kancerom.

Epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib) mogu se također formulirati ili primjenjivati zajedno s drugim terapijskim sredstvima koja su odabrana zbog svoje osobite korisnosti u primjeni terapija koje su povezane sa gore spomenutim stanjima. Na primjer, svaki od spojeva prema formulama I i II može biti formuliran sa sredstvima za sprječavanje mučnine, preosjetljivosti i nadražaja želuca, kao što su primjerice antiemetici i H₁ i H₂ antihistaminici. Gore spomenuta terapijska sredstva, kada se rabe u kombinaciji s epotilonima prema formulama (Ia) ili (Ib), mogu se rabiti u onim količinama koje su navedene u *Physicians' Desk Reference* (PDR) ili kako drugačije odredi osoba prosječne stručnosti u rečenom području.

PUFERI KOJI SU KORISNI U POSTUPCIMA, PRIPRAVCIMA I OBLICIMA ZA DOZIRANJE PREMA PREDMETNOM IZUMU

Svrha pufera u postupcima prema predmetnom izumu je da privremeno neutralizira želučane sokove i tako oslabi degradaciju epotilona u želucu bolesnika. Osim toga, u vodenim i djelomično vodenim tekućim peroralnim formulacijama koje sadrže jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvate, klatrate, hidrate ili prolijeke istih, pufer smanjuje raspadanje epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib). Podnositelji predmetne prijave su neočekivano otkrili kako su tekući peroralni oblici za doziranje koji sadrže jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvate, klatrate, hidrate ili prolijeke istih, i pufer stabilniji od tekućeg peroralnog oblika za doziranje bez pufera.

Puferi koji su korisni u postupcima, pripravcima i oblicima za doziranje prema predmetnom izumu mogu se brzo pripremiti kombiniranjem jedne ili više kiselina i soli jedne ili više kiselina u takvom omjeru da kombinacija, kada se otopi u vodenoj otopini, omogućava otopinu koja ima pH faktor između oko 5 i 9. Tipično, jedna ili više kiselina će imati pKa između oko 4 i 10. Osoba prosječne stručnosti u predmetnom području lako će uočiti kako pripremiti pufere koji omogućavaju otopinu koja ima tražene vrijednosti pH faktora. Osim toga, predmetni izum podrazumijeva uporabu kao puferskih spojeva (spojeve) kao što su primjerice bazični spojevi, koji, kada se dodaju u kiselinsku otopinu, povećavaju pH vrijednosti otopine.

Stručne osobe će brzo uočiti čitav niz pufera koji bi se mogli koristiti u postupcima, pripravcima i oblicima za doziranje prema predmetnom izumu. Tipični puferi uključuju, ali se ne ograničavaju na, farmaceutski prihvatljive slabe kiseline, slabe baze ili smjese istih. Poželjno, puferske komponente su tvari koje su topljive u vodi, kao što su primjerice fosforna kiselina, vinska kiselina, mliječna kiselina, sukcinska kiselina, limunska kiselina, octena kiselina, askorbinska kiselina, asparaginska kiselina, glutaminska kiselina i soli istih. Poželjno, farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline je dibazični fosfat-monobazični fosfatni pufer ili dibazični fosfatni pufer-limunska kiselina-citrat pufer. Ti puferi su komercijalno dostupni ili ih mogu brzo pripremiti osobe prosječne stručnosti u predmetnom području uporabom komercijalno dostupnih puferskih sredstava, kao što su primjerice ona koja su već spomenuta gore.

POSTUPCI PERORALNE PRIMJENE U KISELINI NEPOSTOJANIH EPOTILONA PREMA FORMULAMA (Ia) ili (Ib)

Predmetni izum obuhvaća postupke za povećanje biodostupnosti peroralno primijenjenih epotilona putem peroralne primjene epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivih soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih, te peroralne primjene farmaceutski prihvatljivog pufera za neutralizaciju kiseline. Predmetni izum je posebice prikladan za epotilone koji su kiselinski ne-postojani, ali se također može koristiti s epotilonima koji su osjetljivi na hidrolizu pod alkalnim uvjetima i s epotilonima koji nisu osjetljivi na hidrolizu. Nadalje, predmetni izum može se koristiti s epotilonima koji imaju slabu topljivost u vodenim sredinama.

Treba napomenuti kako se epotiloni prema predmetnom izumu mogu primjenjivati parenteralno, čime bi se izbjegao probavni sustav i riješili svi problemi vezani uz biodostupnost. Međutim, takva primjena je neprikladna i neugodna za bolesnika i ima druge potencijalno štetne učinke.

Pripravci i postupci prema predmetnom izumu omogućavaju uporabu peroralne rute primjene, što je znatna prednost, posebice kod humanih bolesnika.

Primjena jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih, u kombinaciji s farmaceutski prihvatljivim puferom za neutralizaciju kiseline omogućava povećanu biodostupnost jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib). Bez ograničenja koja bi mogla nametati teorija, smatra se kako je povećana bio-dostupnost posljedica, ili barem znatnim dijelom, djelovanja pufera koji smanjuje brzinu raspadanja epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih, u kiseljoj okolini želuca. Izvjesni epotiloni, koji uključuju i poželjni epotilon, Spoj (A), su nestabilni u kiselinskim vodenim okolinama i raspadaju se, pretpostavlja se kiselinom kataliziranim hidrolitičkim otvaranjem epoksidnog prstena. Na primjer, vrijeme za 5%-tni gubitak lijeka (t_{95}) na 37°C za vodenu otopinu Spoja (A) je otprilike 38 minuta pri pH faktoru od 7.4, ali samo oko 0,2 minute pri pH faktoru od 2.5. Prema tome, kada se epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvati, klatrati, hidrati ili prolijeke istih, primjenjuju peroralno, oni se raspadaju u želucu bolesnika tako da se ili minimalno apsorbiraju ili se uopće ne apsorbiraju u probavnom traktu.

Međutim, kada se jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih, primjenjuje na bolesnika u kombinaciji s farmaceutski prihvatljivim puferom za neutralizaciju kiseline, pufer neutralizira kiselinu u želucu bolesnika tako da se brzina raspadanja jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih dovoljno smanji kako

bi se jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih zadržali u probavnom traktu dovoljno dugo vremena za apsorpciju.

U sljedećem utjelovljenju prema predmetnom izumu mogu se rabiti protu-kiseline, kao što su primjerice hidroksidi aluminijska i magnezij; karbonati, kao što su primjerice natrijev karbonat i kalcijev karbonat; silikati i fosfati za neutraliziranje kiseline u želucu prije, za vrijeme ili nakon primjene epotilona.

Kod peroralne primjene u skladu s postupcima predmetnog izuma, epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvati, klatrati, hidrati ili prolijeke istih, imaju najmanje 20%-tnu biodostupnost, poželjno je najmanje oko 40% biodostupnosti, a još poželjnije najmanje oko 50% biodostupnosti.

U jednom utjelovljenju predmetnog izuma, jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih i farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline su omogućeni kao samo-stalni peroralni oblik za doziranje i primjenjuju se istodobno. Samostalni pripravak koji sadrži kombinaciju jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih, i farmaceutski prihvatljivog pufera za neutralizaciju kiseline, može se primijeniti kao čvrsti peroralni oblik za doziranje (npr., tablete, kapsule ili prašak) ili kao tekući peroralni oblik za doziranje (npr., otopina, suspenzija ili eliksir). Otopina ili suspenzija se može konstituirati neposredno prije primjene uporabom prikladnih otapala ili ko-otapala kako bi se otopio epotilon i puferske komponente.

Na primjer, jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih, i farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline mogu se primijeniti istodobno kao otopina epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib) otopljenih u tekućini koja sadržava pufer propilen glikol:etanol:fosfat (na primjer pri 1M, oko pH 8) u omjeru od oko 58:12:30.

U sljedećem utjelovljenju predmetnog izuma, epotilon prema formulama (Ia) ili (Ib) i farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline su omogućeni kao posebni odjeliti farmaceutski pripravci i primjenjuju se odvojeno, a svaki od njih se primjenjuje kao čvrsti peroralni oblik za doziranje ili kao tekući peroralni oblik za doziranje.

Kada se jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih i farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuju odvojeno, farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline može se primijeniti peroralno prije, nakon, ili i prije i nakon primjene željenog epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib). Poželjno, farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline se primjenjuje i prije i nakon peroralne primjene željenog epotilona prema Formulama (Ia) ili (Ib), u količini koja je dovoljna za neutralizaciju želučane kiseline. Kada se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje prije jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih, (isti) se primjenjuje unutar perioda od oko 5 sati, poželjno unutar oko 3 sati, a još poželjnije unutar oko 1 sata, a najpoželjnije unutar oko 10 minuta prije primjene traženog epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib). Kada se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje nakon traženog epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih, isti se primjenjuje unutar oko 5 sati, poželjno unutar oko 3 sati, još poželjnije unutar oko 1 sat, a najpoželjnije je unutar oko 10 minuta prije primjene traženog epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib).

U sljedećem utjelovljenju, epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih, primjenjuju se u obliku enterički obloženih pilula ili kapsula kako bi se odgodilo oslobađanje epotilona sve do momenta primjene farmaceutski učinkovitog pufera za neutralizaciju kiseline. Enterički obložene tablete i kapsule su kapsule koje su obložene tvarima koje su otporne na želučane sokove, ali se raspadaju u crijevima.

U jednom utjelovljenju pufer se primjenjuje kao raspršiva tableta.

Opseg terapijske doze željenog epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih, tipično će se mijenjati ovisno o konkretnom oboljenju i težini oboljenja koje se liječi. Doza, a vjerojatno i učestalost doziranja, mogu se također mijenjati ovisno o dobi, tjelesnoj težini, odgovoru na i prijašnjoj povijesti bolesti bolesnika. Prikladne režime doziranja stručna će osoba brzo odabrati uz nužno poštivanje rečenih čimbenika. Tipično, epotilon prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih, primjenjuje se peroralno u ukupnoj količini od oko 0,05 do oko 200 mg/kg/dan, poželjno od oko 5 do oko 100 mg/kg/danu, a još poželjnije manje od 100 mg/kg/dan u jednokratnoj dozi ili u oko 2 do 4 podijeljne doze. Predmetni izum obuhvaća pojedinačne farmaceutske oblike za doziranje traženog epotilona koji obuhvaćaju 5 mg/jedinici, 10 mg/jedinici, 15 mg/jedinici, 20 mg/jedinici, 25 mg/jedinici, 50 mg/jedinici i 100 mg/jedinici. Slično tome, tekuće pojedinačne doze koje su obuhvaćene predmetnim izumom uključuju, ali se ne ograničavaju na, 2,5 mg/mL i 10 mg/mL.

Određenje "ukupna količina," kako se ovdje rabi, označava cjelokupnu količinu epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivih soli, solvata, klatrata, hidrata ili proljeka istih, ako je više od jednog epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivih soli, solvata, klatrata, hidrata ili proljekova, nazočno u pojedinačnom obliku doziranja ili primijenjeno na bolesnika.

Zatim, farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline se primjenjuje u količini koja je dovoljna za isporuku najmanje oko 20 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline, poželjno najmanje oko 30 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kise-line, poželjnije najmanje oko 40 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline, a najpoželjnije najmanje oko 50 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline.

Predmetni izum također obuhvaća pojedinačne farmaceutske oblike za doziranje traženog pufera koji sadrže oko 5 do 100 mg/jedinici, poželjno je oko 22,5 mg/jedinici, još poželjnije oko 22,5 mg/jedinici. Slično tome, pojedinačne tekuće doze pufera obuhvaćene predmetnim izumom sadržavaju oko 5 do 100 mg/jedinici, poželjno je oko 22,5 mg/jedinici, a još poželjnije oko 22,5 mg/jedinici otopljeno u oko 50 do 300 mL otapala, poželjno je oko 100 do 200 mL otapala, a još poželjnije oko 150 mL otapala.

Tipično, farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kise-line se primjenjuje kao vodena otopina koja ima pH faktor između oko 5 do 9, poželjno je oko 6 do 8.5, a još poželjnije oko 7 do 8. Bilo koji farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline koji omogućuje otopinu koja ima pH faktor u željenom rasponu može se koristiti u postupcima prema predmetnom izumu. Poželjno, farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline je dibazični fosfat-monobazični fosfat pufer ili dibazični fosfat pufer-limunska kiselina-citrat pufer.

U jednom utjelovljenju predmetnog izuma, bolesniku se prvo daje farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline u obliku oko 150 mL vodene otopine koja sadrži bezvodni dibazični natrijev fosfat (oko 0,2 M), natrijev citrat dihidrat (oko 0,07 M) i bezvodnu limunsku kiselinu (oko 0,008 M) s pH faktorom od oko 7.4; potom slijedi peroralna primjena jednog ili više epotilona prema Formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili proljeka istih u tekućem obliku za doziranje u sustavu propilen glikol:etanol, koji ima omjer od oko 80:20; potom slijedi peroralna primjena drugog pufera od oko 150 mL vodene otopine koja sadrži bezvodni dibazični natrijev fosfat (oko 0,2 M), natrijev citrat dihidrat (oko 0,07 M) i bezvodnu limunsku kiselinu (oko 0,008 M) s pH faktorom od oko 7.4.

PRIPRAVCI, JEDINIČNI OBLICI ZA DOZIRANJE I PRIBORI

Predmetni izum se također odnosi na pribor koji sadrži prvu komponentu koja sadrži jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih, i drugu komponentu koja sadrži farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline. Prva komponenta i druga komponenta su omogućene kao odjeliti posebni farmaceutski pripravci koji su namijenjeni za odvojenu primjenu. Prva i druga komponenta su omogućene kao farmaceutski oblik za doziranje prikladan za peroralnu primjenu ili kao kruti farmaceutski pripravak koji se može konstituirati ili rekonstituirati s tekućinom, čime se dobiva tekući peroralni oblik za doziranje. Poželjno, epotiloni prema formulama (Ia) ili (Ib) su pakirani u bočicama koje su zaštićene od svjetla.

Farmaceutski pripravci i oblici za doziranje koji su prikladni za peroralnu primjenu mogu se pripremiti kao odjeliti oblici za doziranje, kao što su, ali bez ograničavanja na, tablete (npr., tablete koje se mogu žvakati), kaplete, kapsule, prašak u vrećici, enterički obložene tablete, enterički obložena zrnca, enterički obložene kapsule od mekog gela i tekućine (npr., sirupi s dodatkom arome). Takovi oblici za doziranje sadrže unaprijed određene količine djelatnog sastojka i mogu se pripremiti farmaceutskim postupcima koji su dobro poznati stručnim osobama u rečenom području (Vidi, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th ed., Mack Publishing, Easton, PA(1990)).

Tipični peroralni oblici za doziranje se pripremaju kombi-niranjem djelatnih sastojaka u fino izmiješanoj smjesi s barem jednim ekscipijensom u skladu s uobičajenim farmaceutskim tehnikama pripreme. Ekscipijensi se mogu pojavljivati u čitavom nizu oblika, ovisno o obliku pripravka koji se traži za određenu primjenu. Na primjer, ekscipijensi prikladni za uporabu kod krutih peroralnih oblika za doziranje (npr., prašaka, tableta, kapsula i kapleta) uključuju, ali se ne ograničavaju na, škrob, šećere, mikrokristalnu celulozu, razrjeđivače, sredstva za granuliranje, podmazivače, vezivna sredstva i sredstva za raspršivanje. Primjeri ekscipijensa prikladnih za uporabu kod peroralnih tekućih oblika za doziranje uključuju, ali se ne ograničavaju na, vodu, glikole, ulja, alkohole, sredstva za poboljšavanje okusa, konzervanse i sredstva za bojanje.

Tablete i kapsule predstavljaju prikladne oblike farmaceutskih pripravaka i peroralnog doziranja, u kojem slučaju se rabe kruti ekscipijensi. Ako je potrebno, tablete se mogu obložiti standardnim vodenim ili ne-vodenim tehnikama. Takovi oblici za doziranje mogu se pripremiti bilo kojim od farmaceutskih postupaka. Općenito, farmaceutski pripravci i oblici za doziranje se pripremaju jednoličnim i finim miješanjem djelatnih sastojaka s tekućim nosačima, fino usitnjenim krutim nosačima, ili oboje, a zatim, ako je to potrebno, oblikovanjem produkta u željeni oblik.

Na primjer, tableta se može pripremiti stlačenjem ili lijevanjem. Stlačene tablete mogu se pripremiti stlačenjem u prikladnoj napravi djelatnih sastojaka, u sipkom obliku, kao što su primjerice prašak ili granule, koji se po izboru miješaju sa ekscipijensom. Lijevene tablete mogu se izraditi lijevanjem u prikladnoj napravi smjese spoja u obliku praška koji je navlažen inertnim tekućim razrjeđivačem.

Primjeri ekscipijensa koji se mogu koristiti u peroralnim oblicima za doziranje prema predmetnom izumu uključuju, ali se ne ograničavaju na, vezivna sredstva, punila, raspršivače i podmazivače. Vezivna sredstva koja su prikladna za uporabu u farmaceutskim pripravcima i oblicima za doziranje uključuju, ali se ne ograničavaju na, kukuruzni škrob, krumpirov škrob ili druge vrste škroba, želatin, prirodne i sintetičke gume, kao što su primjerice akacija, natrijev alginat, alginska kiselina, drugi alginati, praškasta biljna smola, guar guma, celuloza i njezini derivati (npr., etil celuloza, celulozni acetat, kalcijeva karboksimetil celuloza, natrijeva karboksimetil celuloza), polivinil pirolidon, metil celuloza, pre-želatinizirani škrob, hidroksipropil metil celuloza, (npr., Br. 2208, 2906, 2910), mikrokristalna celuloza i smjesa istih.

Prikladni oblici mikrokristalne celuloze uključuju, ali se ne ograničavaju na, tvari koji se prodaju kao: AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103, AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (dobavljač FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA) i smjese istih. Konkretno vezivno sredstvo je smjesa mikrokristalne celuloze i natrij karboksimetil celuloze koja se prodaje kao AVICEL RC-581. Prikladni bezvodni ekscipijensi ili ekscipijensi s niskom vlagom ili aditivi uključuju AVICEL-PH-103™ i Škrob 1500 LM.

Primjeri punila koji su prikladni za uporabu u farmaceutskim pripravcima i oblicima za doziranje koji su ovdje opisani uključuju, ali se ne ograničavaju na, talk, kalcijev karbonat (npr., granule ili prašak), mikrokristalnu celulozu, praškastu celulozu, dekstrate, kaolin, manitol, kremenu kiselinu, sorbitol, škrob, pre-želatinizirani škrob i smjese istih. Vezivno sredstvo ili punilo u farmaceutskim pripravcima i oblicima za doziranje prema predmetnom izumu tipično predstavlja od oko 50 do oko 99 težinskih postotaka farmaceutskog pripravka ili oblika za doziranje.

Raspršivači se rabe kod farmaceutskih pripravaka i oblika za doziranje prema predmetnom izumu kako bi se dobile tablete koje se rasprše kada su izložene vodenoj okolini. Tablete koje sadrže preveliku količinu raspršivača se mogu raspasti za vrijeme skladištenja, a tablete koje ih sadrže premalo se možda neće razlagati željenom brzinom ili pod željenim uvjetima. Prema tome, treba se koristiti dovoljna količina raspršivača koja nije ni premalena niti prevelika da bi na štetan način mijenjala oslobađanje djelatnih sastojaka u izradi farmaceutskih pripravaka i krutim peroralnim oblicima za doziranje prema predmetnom izumu. Količina raspršivača koja se rabi se mijenja ovisno o vrsti formulacije, a lako je mogu odrediti i osobe prosječne stručnosti u rečenom području. Tipični farmaceutski pripravci i oblici za doziranje sadrže od oko 0,5 do oko 15 težinskih postotaka raspršivača, poželjno je od oko 1 do oko 5 težinskih postotaka raspršivača.

aspršivači koji se mogu rabiti u farmaceutskim pripravcima i oblicima za doziranje prema predmetnom izumu uključuju, ali se ne ograničavaju na, agar-agar, alginsku kiselinu, kalcijev karbonat, mikrokristalnu celulozu, kroskarmeloza natrij, *crospovidone*, polakrilin kalij, natrij škrob glikolat, krumpirov škrob ili škrob tapioke, druge vrste škroba, pre-želatinizirani škrob, druge vrste škroba, ilovače, druge algine, druge vrste celuloze, gume i smjese istih.

Podmazivači koji se mogu rabiti u farmaceutskim pripravcima i oblicima za doziranje prema predmetnom izumu uključuju, ali se ne ograničavaju na, kalcijev stearat, magnezijev stearat, mineralno ulje, lako mineralno ulje, glicerol, sorbitol, manitol, polietilen glikol, druge glikole, stearinsku kiselinu, natrij lauril sulfat, talk, hidrogenizirano biljno ulje (npr., ulje kikirikija, ulje pamučnih sjemenki, suncokretovo ulje, sezamovo ulje, maslinovo ulje, kukuruzno ulje i sojino ulje), cinkov stearat, etil oleat, etil laureat, agar-agar i mješavine istih. Dodatni podmazivači uključuju, na primjer, *syloid* silika gel (AEROSIL 200, proizvodi W.R. Grace Co., Baltimore, MD), koagulirani aerosol sintetičkog silicij dioksida (prodaje Degussa Co., Piano, TX), CAB-O-SIL (pirogeni silicijev dioksid, prodaje Cabot Co., Boston, MA) i mješavine istih. Ako se uopće koriste, podmazivači se tipično rabe u količini od manje od oko 1 posto težine farmaceutskog pripravka ili oblika za doziranje u kojem su uključeni.

Farmaceutski pripravci i oblici za doziranje mogu zatim sadržavati jedan ili više spojeva koji smanjuju brzinu kojom će se djelatni sastojak razložiti. Takovi spojevi, koje se ovdje naziva "stabilizatorima," uključuju, ali se ne ograničavaju na, antioksidanse, kao što su primjerice askorbinska kiselina i slani puferi.

Otopine za peroralnu primjenu predstavljaju drugi prikladni per-oralni oblik za doziranje, u kojem slučaju se rabi otapalo. Tekući peroralni oblici za doziranje se pripremaju kombiniranjem djelatnog sastojka u prikladnom otapalu čime se dobiva otopina, suspenzija, sirup ili eliksir djelatnog sastojka u tekućini.

Otopine, suspenzije, sirupi i eliksiri mogu po izboru sadržavati druge aditive uključujući, ali bez ograničavanja na, glicerol, sorbitol, propilen glikol, šećere, sredstva za poboljšavanje okusa i stabilizatore.

Pribor prema predmetnom izumu može sadržavati prvu i/ili drugu komponentu kao prethodno pripravljen tekući peroralni oblik za doziranje pripravan za primjenu ili, alternativno, može sadržavati prvu i/ili drugu komponentu kao kruti farmaceutski pripravak koji se može rekonstituirati s otapalom, čime se dobiva tekući peroralni oblik za doziranje. Kada pribor uključuje prvu i/ili drugu komponentu kao kruti farmaceutski pripravak koji se može rekonstituirati s otapalom, čime se dobiva tekući peroralni oblik za doziranje, pribor može po izboru uključivati otapalo za rekonstituciju.

Otapalo za konstituiranje ili rekonstituiranje se kombinira s djelatnim sastojkom čime se dobiva tekući peroralni oblik za doziranje djelatnog sastojka. Poželjno, djelatni sastojak je topljiv u otapalu i tvori otopinu. Otapalo može biti voda, ne-vodena tekućina ili kombinacija ne-vodene komponente i vodene komponente. Prikladna ne-vodena komponenta uključuje, ali se ne ograničava na, ulja; alkohole, kao što je primjerice etanol; glicerol i glikoli, kao što su primjerice polietilen glikol i propilen glikol.

Farmaceutski prihvatljivi puferi za neutralizaciju kiseline prema predmetnom izumu su poželjno topljivi u vodi. Prema tome, poželjno otapalo za farmaceutski prihvatljive puferi za neutralizaciju kiseline je voda ili sustavi koji se temelje na vodi, uključujući fiziološke otopine ili otopine dekstroze.

Epotilone prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih su razmjerno netopljivi u vodi. Prema tome, za epotilone prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih, ne-vodene tekućine ili tekućine koje su kombinacija vodenih komponenti koje se mogu miješati i ne-vodnih komponenti su poželjni, a ne-vodne tekućine su najpoželjnije.

Poželjna ne-vodena tekućina za epotilone prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih je surfaktant, kao što su primjerice propilen glikol i etanol, poželjno u omjeru od oko 80:20. Prikladne ne-vodne tekućine ili surfaktanti uključuju, ali se ne ograničavaju na, poli-etilen glikol, polisorbate, propilen glikol, glicercil estere, Cremophor, estere masnih kiselina i alkohole, polioxietilen i estere masnih alkohola i etere.

Kada otapalo za epotilone prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih, uključuje vodenu komponentu, poželjno je da ta vodena komponenta bude puferirana kako bi se umanjilo raspadanje epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib). Tekući peroralni oblici za doziranje koji sadrže jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih, u vodenom ili djelomično vodenom otapalu omogućavaju tekuće peroralne oblike za doziranje koji su stabilniji od tekućih peroralnih oblika za doziranje bez pufera. Konkretno, otkriveno je kako je brzina raspadanja jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih, u puferiranoj tekućoj peroralnoj formulaciji manja od brzine raspadanja u nepuferiranoj tekućoj peroralnoj formulaciji. Bez namjere za teorijskim ograničenjem, smatra se kako su epotilone prema formulama (Ia) ili (Ib) nestabilni u kiselinskim i bazičnim sredinama, pretpostavlja se kao posljedica kiselinske ili bazne kataliziranog hidrolitičkog otvaranja epoksidnog prstena. Međutim, puferiranjem tekuće peroralne formulacije, omogućeno je održavanje pH faktora tekuće peroralne formulacije na vrijednosti kojom brzina raspadanja epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib) ostaje dovoljno niska da se epotilon prema formulama (Ia) ili (Ib) ne raspadne prije primjene na bolesnika. Vodeni ili djelomično vodeni tekući peroralni oblici za doziranje su poželjno puferirani do pH između oko 5 do 9, poželjno oko 6 do 8.5, a još poželjnije oko 7 do 8.

Kada je djelatni sastojak omogućen kao kruti farmaceutski pripravak koji se konstituira ili rekonstituira s otapalom kako bi se dobio tekući peroralni oblik za doziranje, isti je tipično omogućen u praškastom obliku i konstituira se s tekućinom neposredno prije davanja bolesniku. Praškasti farmaceutski pripravak može biti pakiran, na primjer, u bočici u koju je dodano otapalo. Alternativno, sadržaj bočice može se dodati u otapalo u odjelitoj posudi. Praškasti djelatni sastojak prema predmetnom izumu može se također pakirati u vrećici, kao što je primjerice pakiranje u foliji, koja se može otvoriti i njezin sadržaj dodati u otapalo. Praškasti djelatni sastojak prema predmetnom izumu može se također formulirati kao tableta koja se otapa kad se dodaje u otapalo. Tableta često uključuje raspršivač kako bi se olakšalo otapanje tablete.

Predmetni izum se također odnosi na farmaceutske pripravke koji sadrže jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih, u krutom obliku i kruti farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline u količini koja je dovoljna da smanji raspadanje jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili proljeka istih, kada se farmaceutski pripravak rekonstituira s tekućinom čime se dobiva tekući peroralni oblik za doziranje.

Osim što omogućuje stabilniji tekući peroralni oblik za doziranje, farmaceutski pripravci prema predmetnom izumu također omogućuju tekući peroralni oblik za doziranje kod kojeg epotilon ima veću bio-dostupnost pri peroralnoj primjeni na bolesnika. Prema tome, predmetni izum se također odnosi na tekući peroralni oblik za doziranje koji sadrži jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih.

istih, i kruti farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline otopljene u ili raspršene u otapalu. Poželjno, jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih, i čvrsti farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline su otopljeni u tekućini čime se dobiva otopina.

Poželjno, pufer je prisutan u farmaceutskom pripravku tako da omogućuje tekuću peroralnu formulaciju koja ima pH faktor između oko 5 do 9, poželjno oko 6 do 8.5, a još poželjnije oko 7 do 8. Tipično, farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline je nazočan u količini koja je dovoljna za isporuku najmanje oko 20 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline, poželjno najmanje oko 30 mili-ekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline, još poželjnije najmanje oko 40 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline, a najpoželjnije najmanje oko 50 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline kada se rekonstituira s tekućinom kako bi se dobio tekući peroralni oblik za doziranje. Bilo koja farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline koji omogućava pH faktor unutar rečenog raspona može se rabiti u pripravcima prema predmetnom izumu. Poželjno, farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline je dibazični fosfatni-monobazični fosfatni pufer ili dibazični fosfatni pufer-limunska kiselina-citrat pufer.

Tipično, farmaceutski pripravci prema predmetnom izumu sadrže jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih, u ukupnoj količini od oko 0,05 do oko 200 mg, poželjno od oko 5 do oko 100 mg, a još poželjnije oko 10 do 50 mg.

Predmetni izum se nadalje odnosi na pribor koji sadrži farmaceutski pripravak koji sadrži (i) kombinaciju jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih, u krutom obliku i kruti farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline, i (ii) otapalo za rekonstituiranje farmaceutskog pripravka, čime se dobiva tekući peroralni oblik za doziranje, pri čemu je farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline prisutan u količini koja je dovoljna da smanji raspadanje jednog ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili proljeka istih, kada se kombinacija rekonstituira s otapalom kako bi se dobio tekući peroralni oblik za doziranje.

Otapalo za rekonstituiranje se kombinira s djelatnim sastojkom čime se omogućuje tekući peroralni oblik za doziranje djelatnog sastojka. Oblik za tekuće peroralno doziranje može biti otopina ili suspenzija. Poželjno, djelatni sastojak je topljiv u otapalu i tvori otopinu. Otapalo može biti voda, ne-vodene tekućina ili tekućina koja je kombinacija ne-vodene komponente i vodene komponente. Prikladne ne-vodene komponente uključuju, ali se ne ograničavaju na ulja; alkohole, kao što je primjerice etanol; glicerini; i glikole, kao što su primjerice polietilen glikol i propilen glikol. Prikladno otapalo za uporabu u priboru prema predmetnom izumu je propilen glikol:etanol:fosfat pufer (1M, pH 8) u omjeru od oko 58:12:30.

Otapalo zatim sadrži jedan ili više dodatnih aditiva kao što su, ali bez ograničavanja na, glicerini, sorbitol, propilen glikol, sredstva za poboljšavanje okusa i konzervansi kako bi se poboljšao ukus tekućeg peroralnog oblika za doziranje.

Predmetni izum nadalje obuhvaća bezvodne farmaceutske pripravke i oblike za doziranje koji sadrže djelatne sastojke, tj. jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih i/ili farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline. Bezvodni farmaceutski pripravci i oblici za doziranje su povoljni budući voda može olakšati degradaciju nekih spojeva. Na primjer, dodavanje vode (npr., 5%) je naširoko prihvaćeno u farmaciji kao sredstvo simulacije dugotrajnog skladištenja kako bi se odredila svojstva kao što su, primjerice, rok trajanja ili stabilnost formulacije tijekom vremena (Vidi, npr., Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80). Voda i toplina zapravo ubrzavaju raspadanje nekih spojeva. Prema tome, učinak vode na formulaciju može biti od velikog značaja budući vlaga i vlažnost koji se uobičajeno sreću tijekom proizvodnog procesa, manipulacije, pakiranja, skladištenja, transporta i uporabe tijekom formulacije. Bezvodni farmaceutski pripravci i oblici za doziranje su posebice povoljni za farmaceutske pripravke i oblike za doziranje koji sadrže jedan ili više epotilona prema formulama (Ia) ili (Ib), ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili proljek istih, budući su ti spojevi osjetljivi na vlažnost.

Bezvodni farmaceutski pripravci i oblici za doziranje trebaju se pripremljati i skladištiti tako da se održe njihova bezvodna svojstva. Bezvodni farmaceutski pripravci i oblici za doziranje prema predmetnom izumu mogu se pripremiti uporabom bezvodnih sastojaka ili sastojaka s niskom razinom vlažnosti i uvjeta s niskom vlažnosti ili niskom vlagom.

Bezvodni farmaceutski pripravci i oblici za doziranje se poželjno pakiraju u materijalima za koje je poznato da sprječavaju dodir s vodom, a na takav način da se mogu uključiti u prikladan pribor za formuliranje. Primjeri prikladnih materijala za pakiranje uključuju, ali se ne ograničavaju na, hermetički zatvorene folije, plastiku, posude za pojedinačno doziranje (npr., bočice), blister pakovanja i strip pakovanja.

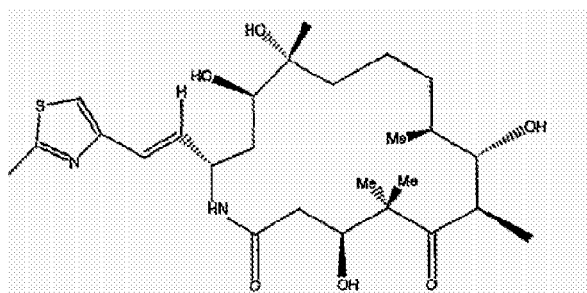
PRIMJERI

Izvjesna utjelovljenja predmetnog izuma, kao i izvjesne prednosti predmetnog izuma, ilustrirani su sljedećim primjerima koji ne ograničavaju predmetni izum.

Primjer 1:

Farmakokinetička i farmakodinamička ispitivanja spoja (A) na miševima, štakorima i psima

1.1 Analiza uzoraka: Uzorci plazme iz farmakokinetičkih/ farmakodinamičkih ispitivanja analizirani su za koncentraciju spoja (A) uporabom LC/MS/MS testa (tekuća kromatografija/masena spektrometrija/masena spektrometrija) sa rasponom standardne krivulje od 5 do 20,000 ng/mL (10 do 40,000 nM) kod ispitivanja na miševima i 2 do 1000 ng/mL (4 do 2000 nM) kod ispitivanja na štakorima i psima. Kod farmakodinamičkih ispitivanja, koncentracije spoja (A) su određene uporabom LC/MS/MS testa sa rasponom standardne krivulje od 5 do 20,000 ng/mL (10 do 40,000 nM) kod mišje plazme. Također je korišten LC/MS/MS test kako bi se odredile koncentracije spoja (B), koji je produkt degradacije spoja (A) koji nastaje u otopini za skladištenje/doziranje ili *in vivo*, u plazmi štakora i pasa. Struktura spoja (B) je:



Spoj (B)

Uzorci su analizirani dodavanjem internog standarda u 0,2 mL uzorka, taloženjem s acetonom i zatim ekstrakcijom supernatanta s 1-klorobutanom. Organski sloj se ukloni i ispari do suhoće. Ostatak se rekonstituiru i injicira u LC/MS/MS sustav. Kod ljudske plazme, kromatografska separacija se izvodi, izokratski, na YMC ODS-AQ stupcu (4,6 x 50 mm, 3 mm) s mobilnom fazom acetonitril:0,01M amonijev acetat, pH faktor 5.0 (65:35). Kod pseće plazme, kromatografska separacija se izvodi, izokratski, na Zorbax Stable Bond C18 stupcu (2,1 x 150 mm, 5 mm) koji se održava na 40 °C s mobilnom fazom od 0,1M amonijevog acetata pH faktora 5 i acetonitrila. Kod štakorske plazme, kromatografska separacija se izvodi, izokratski, na Stable Bond C18 stupcu (2,1 x 150 mm, 5 mm) koji se održava na 40°C s mobilnom fazom acetonitril:0,1M amonijev acetat, pH faktor 5.0 (1:1). Detekcija se izvodi negativnom elektrosprej tandem masenom spektrometrijom. Standardna krivulja, u rasponu od 2 do 500 ng/mL za sve analite, izračunata je modelom 1/x ponderirane kvadratne regresije.

Utvrđeno je kako su Spoj (A) i Spoj (B) stabilni na sobnoj temperaturi najmanje 4 h u štakorskoj i psećoj EDTA (etilendiamin-tetraoctena kiselina) plazmi prije procesiranja za analizu i najmanje 24 h na 4 °C u autosampleru nakon procesiranja, te najmanje 5 tjedana na -20 °C ili niže za štakorsku i pseću plazmu, kroz najmanje 3 ciklusa zaleđivanja-odleđivanja. Osim toga, utvrđeno je kako su oba analita također stabilna u svježoj štakorskoj i psećoj EDTA čitavoj krvi na sobnoj temperaturi najmanje 0,5 h.

1.2 Farmakokinetika kod miševa: Spoj (A) je primijenjen intravenski (5 mg/kg) i peroralno (48 mg/kg) ženka CDF₁ miševa. Kod IV rute, Spoj (A) je otopljen u 20%-tnoj etanolskoj otopini i dan u bolus dozi. Kod peroralne rute, otopine spoja (A) pripravljene su kao 3:7 smjesa etanol-fosfat puferirane fiziološke otopine (0,25 M, pH 8.0) i davane gavažom (*gavage*). Uzorci plazme za određivanje koncentracija spoja (A) uzeti su od 3 različita miša na 5, 15 i 45 min, te 2, 4 i 6 h nakon IV doze, kao i na 15 i 45 min, te 2, 4 i 6 h nakon peroralne doze.

Nakon IV primjene, potpuno čišćenje organizma (CLT) spoja (A) bilo je 68 mL/min/kg i predstavljalo je 76% protoka krvi u jetri (90 mL/min/kg), a zapremina distribucije u stabilnom stanju (VSS) od 6,3 L/kg upućuje na znatnu ekstravaskularnu distribuciju, budući cjelokupna količina tjelesne vode kod miševa iznosi otprilike 0,7 L/kg (Vidi, B. Davies and T. Morris, "Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans," *Pharmaceutical Research*, 1993, 10(7), 1093-1095). Poluvijek terminalne eliminacije (T-HALF) iznosio je otprilike 3 h.

Nakon peroralne primjene spoja (A), vršna koncentracija plazme (C_{MAX}) bila je 5983 ng/mL, a vrijeme u kojem je dosegnuta C_{MAX} (T_{MAX}) je 0,25 h nakon doze, što upućuje kako je apsorpcija spoja (A) bila brza. Apsolutna peroralna biodostupnost spoja (A) bila je 31%.

1.3 Farmakokinetika kod štakora: Spoj (A) se daje kao jedno-kratna intraarterijska (2 mg/kg; 10 min infuzija), peroralna (8 mg/kg) i intraduodenumska (8 mg/kg) doza natašte mužjacima Sprague Dawley štakora (n = 3-6 po skupini). Sve otopine za doziranje su pripravljene u 20%-tnom etanolu. Uzorci plazme prikupljeni su tijekom perioda od 24 h nakon doziranja, a koncentracija spoja (A) je određena uporabom testa LC/MS/MS.

Nakon intraarterijske primjene, profili plazma koncentracija - vrijeme pokazivali su bifaznu sklonost sa brzim opadanjem sve do 2 h nakon doze i sporu terminalnu fazu. CLT (prosječna vrijednost = 56 mL/min/kg) spoja (A) predstavlja 100% protoka krvi u jetri (56 mL/min/kg), a VSS (prosječna vrijednost = 23 L/kg) upućuje na znatnu ekstravaskularnu distribuciju, budući cjelokupna količina tjelesne vode kod štakora iznosi otprilike oko 0,7 L/kg (Vidi, B. Davies i T. Morris, "Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans," *Pharmaceutical Research*, 1993; 10 (7), 1093-1095). Prosječna T-HALF vrijednost bila je 9,6 h.

Nakon peroralne i intraduodenumske primjene, prosječne CMAX vrijednosti su bile 228, odnosno 642 ng/mL; TMAX vrijednosti bile su 0,17 h, odnosno 0,08 h, što upućuje kako je apsorpcija spoja (A) bila brza. Apsolutna peroralna biodostupnost spoja (A) nakon peroralne i intraduodenumske primjene kod štakora je bila 7,5%, odnosno 27%.

U drugom ispitivanju, s cjevčicama u žučnom kanalu Sprague Dawley štakori (n = 2 po skupini) primili su jednokratnu intra-arterijsku (10 mg/kg) ili peroralnu (20 mg/kg) dozu spoja (A), a žuč, urin i uzorci plazme su prikupljeni tijekom perioda od 9 h nakon doze. Uočeno je neznatno izlučivanje nedirnutoz spoja (A) u žuči (C 1% doze). Bila je nazočna stanovitva detektabilna količina spoja (A) u urinu, ali aktualne koncentracije nisu bile kvantificirane zbog nedostatka podataka o stabilnosti za spoj (A) u urinu. Nekoliko spojeva povezanih s lijekom u urinu i plazmi su provizorno identificirani putem LC/MS i sadržavali su izomer (M+0), te produkt hidrolize (M+18). Osim toga, u plazmi je detektiran i metabolit (M-2).

1.4 Farmakokinetika kod pasa: Mužjacima pseće vrste bigl (n = 3) je dana 10 min IV infuzija 0,5 mg/kg spoja (A) (kao 10%-tna otopina etanola). Uzorci plazme su prikupljeni tijekom perioda od 32 h nakon doziranja kako bi se utvrdile koncentracije plazme spoja (A). Krivulje koncentracije plazme-vremena pokazivale su multifazni profil, s početnim brzim opadanjem koncentracije unutar 2 sata nakon doze i polaganu fazu terminalne eliminacije. CLT (prosječna vrijednost = 17,3 mL/min/kg) spoja (A) predstavljalo je oko 56% protoka krvi u jetri (30,9 mL/min/kg), a prosječna vrijednost VSS od 25,2 L/kg upućivala je na znatnu ekstravaskularnu distribuciju temeljeno na ukupnoj tjelesnoj količini vode kod pasa od 0,6 L/kg. T-HALF (T-POLA) je procijenjen na otprilike 24 h.

Kinetika spoja (A) također je ocijenjena kao dio toksikološkog istraživanja jednokratne IV doze. Spoj (A) se daje kao IV infuzija (cca. 15 min) u dozama od 0,5 i 5 mg/kg do 2 psu/spolu/dozi. Otopine za doziranje spoja (A) pripravljene su u 40% propilen glikola, 5% Cremophora EL[®], 5% etanola i 50% fosfatnog pufera (50 mM, pH 7.4) jedan dan prije doziranja. Uzorci krvi uzimani su tijekom perioda od 48 h nakon doziranja, a koncentracije plazme spoja (A) i spoja (B) su određene uporabom LC/MS/MS testa sa rasponom standardne krivulje od 2 - 500 ng/mL za oba analita. Za doze od 0,5 i 5 mg/kg spoja (A), prosječne CMAX vrijednosti za Spoj (A), kombinirane za čitav rod, iznosile su 218, odnosno 5118 ng/mL, a prosječne AUC vrijednosti su bile 316, odnosno 6925 h.ng/mL. Za doze u omjeru od 1:10, prosječne CMAX i AUC vrijednosti za spoj (A) bile su u omjeru od 1:23, odnosno 1:27, što upućuje kako je kinetika spoja (A) nelinearna između doza od 0,5 i 5 mg/kg. T-HALF, MRT(TNF), CLT i VSS nisu određene zbog ograničenja uzoraka koji su korišteni u ovom istraživanju.

Za spoj (B), prosječne CMAX vrijednosti iznosile su 95,6 i 984 ng/mL za dozne skupine od 0,5 i 5 mg/kg, a prosječne AUC vrijednosti su bile 55,0, odnosno 1109 h.ng/mL. Prosječne CMAX i AUC vrijednosti za spoj (B) bile su u omjeru od 1:10 i 1:20. Učinak spola na kinetiku spoja (A) nije se mogao nedvosmisleno odrediti zbog male veličine uzorka, ali se čini kako je razmjerno slična između spolova.

Ovo istraživanje utvrdilo je doza ovisno povećanje u sustavnom izlaganju spoju (A), a povećanje je više od proporcionalnog povećanja doze. Osim toga, također je utvrđeno doza ovisno povećanje u sustavnom izlaganju spoju (B).

Primjer 2:

Toksikokinetika kod štakora

Toksikokinetika spoja (A) ocijenjena kroz toksikološko istraživanje jednokratne IV doze na štakorima. Otopine za doziranje spoja (A) pripravljene su u 50% propilen glikola, 10% Cremophora EL, 10% etanola i 30% fosfatnog pufera (50 mM, pH 7.4) jedan dan prije doziranja. Spoj (A) se primjenjuje IV infuzijom (cca. 3 min) u dozama od 10, 25 i 30 mg/kg na 3 štakora/rod/dozi. Serijski uzorci krvi prikupljeni su tijekom perioda od 24 h nakon doziranja, a koncentracije plazme spoja (A) i spoja (B) su određene uporabom LC/MS/MS testa sa standardnom krivuljom u rasponu od 2 - 500 ng/mL za oba analita. Kod doze od 10, 25 i 30 mg/kg, prosječne CMAX vrijednosti spoja (A) kod mužjaka štakora su bile 6422, 19066, odnosno 24414 ng/mL; kod ženki štakora, prosječne CMAX vrijednosti su iznosile 8384, 20524 i

25054 ng/mL. Prosječne vrijednosti za područje ispod krivulje koncentracija – vrijeme (AUC) za dozu skupinu od 10, 25 i 30 mg/kg su iznosile 3864, 11980 i 19269 h.ng/mL kod mužjaka štakora; kod ženki štakora, vrijednosti su iznosile 8156, 28476 i 34563 h.ng/mL. Za doze u omjeru 1:2,5:3, prosječne CMAX vrijednosti spoja (A) za mužjake i ženke su bile u omjeru 1:3,0:3,8 i 1:2,5:3,0, a AUC vrijednosti su bile u omjeru 1:3,1:4,9 i 1:3,5:4,2. T-HALF, prosječno vrijeme zadržavanja (*mean residence time*) prema vremenskom intervalu nula do beskonačno MRT(INF), čišćenje čitavog organizma (CLT) i VSS nisu utvrđene zbog ograničenja uzoraka koji su korišteni u ovom istraživanju.

Za spoj (B), vrijednosti CMAX i AUC za jedan spol i dozne skupine bio je u rasponu od 499 do 1787 ng/nt, odnosno 222 do 2003 h.ng/mL. Vrijednosti CMAX vrijednosti za spoj (B) kod mužjaka i ženki bile su omjeru 1:2,6:3,6, odnosno 1:3,0:2,8, a vrijednosti AUC su bile u omjeru 1:3,4:7,0, odnosno 1:4,3:5,5. Vrijednosti AUC spoja (A) i spoja (B) su bile više 1,8 do 2,4 puta, odnosno 1,3 do 2,0 puta, kod ženki štakora u usporedbi s mužjacima štakora.

Ovo istraživanje utvrdilo kako je doza ovisno povećanje kod sustavnog izlaganja spoju (A), a povećanje je više od proporcionalnog povećanja doze, a izlaganje kod ženki je više od onoga kod mužjaka štakora. Osim toga, također je utvrđeno doza ovisno povećanje u sustavnom izlaganju spoju (B).

Primjer 3:

Farmakodinamička istraživanja spoja (A).

Izvedena je serija pokusa kako bi se ocijenilo djelovanje protiv karcinoma spoja (A) koji se primjenjuje kao IV infuzija unutar perioda od 10 h na ženke golih miševa koje nose subkutano implantirani ljudski karcinom jajnika (Pat-7 tumor). Spoj (A), kao otopina u 10% etanola, se primjenjuje u dozama od 3 do 150 mg/kg. Rezultati ovih pokusa upućuju kako je doza između 3 do 6 mg/kg spoja (A) minimalna učinkovita doza (koja se definira kao doza koja je potrebna za proizvodnju djelovanja jednakom 0,5 log ubijanja stanica). U seriji paralelnih pokusa, prividne koncentracije u stabilnom stanju spoja (A) utvrđene su kod miševa nakon 10 h IV infuzijskih doza od 3 do 150 mg/kg. Koncentracije plazme spoja (A) određene su nakon 2, 4 i 6 h od početka infuzije i bile su usporedive za svaku razinu doziranja na vremenskim točkama, što upućuje kako je stabilno stanje dosegnuto za 2 h. Prema tome, koncentracije na 2, 4 i 6 h su svedene na prosječne vrijednosti kako bi se odredila prividna koncentracija u stabilnom stanju. Uočena su doza ovisna povećanja prividnih koncentracija u stabilnom stanju po čitavom rasponu doziranja od 3 do 150 mg/kg. Utvrđena je minimalna učinkovita koncentracija, koja se definira kao prividna koncentracija u stabilnom stanju koja se postiže najmanjom učinkovitom dozom IV infuzije između 3 do 6 mg/kg, a iznosi između 15 do 45 ng/mL (cca. 30 do 90 nM).

Primjer 4:

In Vitro istraživanja metabolizma spoja (A)

Nakon inkubacije spoja (A) (40 :M) kod miševa, štakora, pasa i mikrosoma ljudske jetre pojačanih s nikotinamid adenin dinukleotid fosfatom (NADPH), brzina oksidacijskog metabolizma spoja (A) je bila 2,1, 0,7, 1,2 i 1,3 nmol/min/mg bjelancevine. Štoviše, distribucija metabolita je bila slična kod svih vrsta (mase metabolita sadržavale su nekoliko M+6 i M-2 spojeva). Kvalitativno, čini se da je postojala slična proizvodnja metabolita spoja (A) nakon inkubacije sa štakorskim ili humanim hepatocitima u usporedbi s mikrosomskim inkubacijama. Čini se kako su produkti slični onima koji nastaju kemijskim raspadanjem spoja (A) bili glavni produkti u inkubacijama hepatocita.

Sposobnost spoja (A) da inhibira glavne humane citokrom P450-ove (CYP-ove), koji su odgovorni za metabolizam lijekova, ocijenjena je *in vitro* uporabom rekombinantnih humanih CYP izoforma. Utvrđene su vrijednosti IC₅₀ za inhibiciju deetilacije 3-cijano-7-etoksikumarina (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 i CYP2D6) i za inhibiciju dealkilacije benzoilrezorufina (CYP3A4). Spoj (A) je bio slab inhibitor humanog CYP3A4 s prosječnom vrijednosti IC₅₀ od 7,3 p.M (3,7 p.g/mL). Spoj nije inhibirao CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 i CYP2D6. Ovi *in vitro* rezultati upućuju kako spoj (A) možda ima minimalan potencijal za promjenu metaboličkog čišćenja lijekova koji su visoko metabolizirani putem CYP3A4, a vjerojatno nije sposoban znatno promijeniti metaboličko čišćenje lijekova koji su metabolizirani putem CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, i CYP2D6.

Spoj (A) se inkubira s mikrosomima ljudske jetre zajedno sa spojevima koji su specifični za inhibiciju pojedinačnih citokroma P450 koji su uobičajeno povezani s metabolizmom lijekova. Inhibitori koji su korišteni su bili: furafilin (CYP1A2), 8-metoksiporsoralen (CYP2A6), orfenadrin (CYP2B6), sulfafenazol (CYP2C9), tranilcipromin (CYP2C19), kinidin (CYP2D6), troleandomicin (CYP3A4) i ketokonazol (CYP3A4). Znatna inhibicija je uočena jedino s CYP3A4 inhibitorima, od kojih su oba potpuno inhibirala biotransformaciju spoja (A). Prema tome, kod ljudi, spoj (A) može biti supstrat za CYP3A4.

Koeficijent propustljivosti (Pc) spoja (A) istraživao je u Caco-2 sustavu stanične kulture, koji je *in vitro* model za humanu crijevenu apsorpciju. Pc spoja (A) na 10, 30 i 100 pM (cca. 5, 15 i 50 pg/mL) koncentracije bio je 94, 105 i 128 nm/sec. Pc nekih standardnih spojeva, za koje je biodostupnost kod ljudi poznata, također je utvrđena u istom pokusu. Ti spojevi uključuju salicilnu kiselinu, acetaminofen, ibuprofen i propranolol, a svi su imali Pc > 200 nm/sec. i bili su

apsorbirani najmanje 90%. Pc vrijednosti od 94 - 128 nm/sek. za spoj (A) upućuje kako spoj (A) ima potencijal za dobru apsorpciju kod ljudi.

Primjer 5:

- 5 Farmakokinetika i apsolutna peroralna biodostupnost različitih formulacija spoja (A) kod pasa bigla.

Ocijenjena je apsolutna peroralna biodostupnost različitih for-mulacija spoja (A) kod odraslog mužjaka psa bigla (n = 4). Spoj (A) je davan kao 10 minutna intravenska (IV) infuzija (0,5 mg/kg), puferirana peroralna otopina (2 mg/kg) i puferirana peroralna suspenzija (1 mg/kg).

- 10 5.1 Plan pokusa: Plan pokusa za rečeno istraživanje je prikazan u Tabeli 1.

Tabela 1. Plan pokusa

Period	Tretman	Ruta	Doza (mg/kg)	Formulacija	Br. pasa
1	A	IV	0,5	Otopina u 40% propilen glikola, 5% etanola i 55% fosfatnog pufera (50 mM, pH 7.4)	4
2	B	Per-oralna	2	Otopina u 58% propilen glikola, 12% etanola i 30% fosfatnog pufera (1 M, pH 8.0)	4
3	C	Per-oralna	2 ^a	Puferirana suspenzija u 1% Avicel [®] RC591 koja sadrži fosfatni pufer (2 M, pH 8.0) i limunsku kiselinu (85 mM).	4
4	D	Per-oralna	2	n.a. ^d	n.a. ^d

^a Zbog toksičnosti ova doza je smanjena na 1 mg/kg.

- 15 ^b Tretman pentagastrinom 15 min prije doziranja (6 :g/kg; intramuskularno).

^c Ovaj tretman nije primijenjen zbog nedostatka ocjenjive formulacije.

^d n.a. = Nije primjenjivo.

- 20 Koncept pokusa je bio jednokratna doza, četiri tretmana, četiri perioda, ne-slučajni, hibridni koncept. Spoj (A) je davan četirima odraslim mužjacima bigla kao 10 min IV infuzija (0,5 mg/kg), puferirana peroralna otopina (2 mg/kg) ili puferirana peroralna suspenzija (2 mg/kg). Za IV primjenu, spoj (A) se formulira kao otopina (jačine oko 0,375 mg/mL) u 40% propilen glikola, 5% etanola i 55% fosfatnog pufera (50 mM, pH 7.4). Peroralna otopina spoja (A) (jačine oko oko 1,5 mg/mL) se pripravi u 58% propilen glikola, 12% etanola i 30% fosfatnog pufera (1 M, pH 8.0) kao vehikul. Za peroralnu suspenziju, spoj (A) se suspendira u 1% Avicel[®] RCS91 koji sadrži fosfatni pufer (2 M) i limunsku kiselinu (85 mM). Nakon rekonstitucije, pH faktor puferirane suspenzije je bio oko 8.0, a jačina je bila otprilike 0,75 mg/mL. Zbog kumulativne toksičnosti, doza za peroralnu suspenziju planirana za treći period tretmana je smanjena od 2 mg/kg do 1 mg/kg. Osim toga, četvrti tretman nije primijenjen zbog nedostatka ocjenjive formulacije. Period ispiranja između tretmana bio je najmanje 7 dana. Serijski uzorci krvi su prikupljeni tijekom 24 h nakon primjene doze, a koncentracije spoja (A) i spoja(B) su utvrđene uporabom LC/MS/MS testa, uz raspon standardne krivulje od 2 - 500 ng/mL za oba analita. Test LC/MS/MS je identičan onom koji je korišten u Primjeru 1.

- 35 Analitičke serije sadržavale su standardne uzorke, uzorke za kontrolu kvalitete (QC) i uzorke za istraživanje. Zapremina plazme koji se koristi za analizu bila je 0,2 mL, uz raspon standardne krivulje od 2 - 500 ng/mL za oba analita, koji određuje donju granicu kvantifikacije (LLQ), odnosno gornju granicu kvantifikacije (ULQ). Ako je predviđena koncentracija uzorka za istraživanje manja od one kod najnižeg standarda, vrijednost predviđene koncentracije je zabilježena kao <LLQ. Ako je predviđena koncentracija bila veća od one kod najvišeg standarda, rezultat te analize je zabilježen kao >ULQ, te je prikladna zapremina tog uzorka razrijeđena s čistom plazmom i ponovno analizirana.

- 40 5.2 Priprava životinja, manipulacija i primjena doze: Za istraživanje su odabrana četiri odrasla mužjaka psa s dostupnom venama za primjenu lijeka i prikupljanje krvi. Psi su aklimatizirani najmanje jedan tjedan prije početka istraživanja i smješteni su u odvojene čelične kaveze. Životinje su identificirane jedinstvenim brojem i oznakom pričvršćenom na kavez. Psima je ostavljena pitka voda *ad libitum*, a hranjeni su jednom dnevno standardnom prehranom za pse osim noć prije (oko 12 h) doziranja, što se nastavlja do 4 h nakon doziranja. Petnaest (15) minuta prije davanja puferirane peroralne suspenzije, psi su pred-tretirani s pentagastrinom (6 :g/kg; intramuskularno). Pred-tretman pentagastrinom se rabi samo za korak sa peroralnom suspenzijom. IV doza se primjenjuje kao infuzija s konstantnom brzinom tijekom perioda od 10 min uporabom kalibrirane crpke za infuziju. Doze u obliku peroralne otopine i suspenzije su davane gavažom (*by gavage*), a cijevi za gavažu su isprane s 20 mL vode.

5.3 Prikupljanje uzoraka i manipulacija: Serijski uzorci krvi (3 mL) prikupljeni su prije doziranja, nakon 10 min (samo IV; kraj infuzije), 15 min, 20 min (samo IV), 30 min i 45 min, te 1 h, 1,5 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h i 24 h nakon doziranja. Uzorci krvi su prikupljeni u Vacutainer® epruvete koje sadrže K₃-EDTA kao anti-koagulant, a sadržaj svake epruvete miješan je polaganim okretanjem epruvete. Uzorci krvi se odmah zatim postavljaju na drobljeni led. Plazma se dobiva unutar 30 min od prikupljanja centrifugiranjem epruveta na otprilike 4°C i 2000 x g tijekom 5 min. Uzorci plazme su uskladišteni na ili ispod -20°C sve do analize koncentracije spoja (A) i spoja (B).

Sljedeći kriteriji prihvaćanja su primijenjeni *a priori* na svaku analitičku seriju za analizu spoja (A) i spoja (B) u plazmi. Pred-videne koncentracije najmanje tri četvrtine svih kalibracijskih standarda biti će unutar 15% svojih individualnih nominalnih koncentracija (20% za LLQ); najmanje jedna replika najniže koncentracije u standardnoj krivulji biti će unutar 20% svoje nominalne koncentracije za rečenu razinu da bi se mogla kvalificirati kao LLQ; a predviđene koncentracije najmanje tri četvrtine svih QC uzoraka biti će unutar 15% svojih individualnih nominalnih koncentracija.

5.4 Farmakokinetička analiza: Vršna koncentracija plazme (C_{MAX}) i vrijeme u kojem dosegne vršnu koncentraciju (T_{MAX}) zabilježeni su izravno iz rezultata pokusa. Područje ispod krivulje koncentracija plazme - vrijeme od vremena nula do T (AUC(0-T)), pri čemu T je vrijeme posljednje mjerljive koncentracije plazme, izračunato je uporabom pravila trapeza (Vidi, M. Gibaldi, i dr., Pharmacokinetics, 2nd ed., New York, NY, Marcel Decker, p. 445-91982). T-HALF nije utvrđen zbog ograničenja uzoraka konačne faze koji su korišteni u istraživanju.

Podaci prosječnih vrijednosti koncentracije plazme – vrijeme spoja (A) i spoja (B) prikazani su u Tabeli 2. Odgovarajući grafički prikazi za spoj (A) i spoj (B) nalaze se u Slikama 1 i 2.

Tabela 2. Prosječne (standardna devijacija (SD)) koncentracije plazme spoja (A) i spoja (B) kod pasa.

Vrijeme ^a (h)	Prosječne (SD) koncentracije plazme (ng/mL)			
	Spoj (A)		Spoj (B)	
	IV ^c	Peroralna Otopina ^d	IV ^c	Peroralna Otopina ^d
Prije doze	0	0	0	0
0,17	1120(189)	--- ^e	0	--- ^e
0,25	152 (9,9)	251 (150)	3,8 (0,4)	4,1 (3,9)
0,33	73,0 (4,2)	--- ^e	2,3 (0,2)	--- ^e
0,5	38,2 (2,8)	335 (73,7)	1,4 (1,2)	21,3 (6,6)
0,75	28,6 (1,6)	141 (75,8)	0	27,2 (3,6)
1	24,7 (3,9)	74,1 (26,4)	0	23,8 (1,7)
1,5	20,1 (2,3)	n.s. ^f	0	n.s. ^f
2	17,4 (1,8)	35,5 (7,9)	0	8,4 (2,7)
4	14,5 (1,4)	21,8 (6,9)	0	2,8 (0,3)
6	12,6 (0,9)	17,2 (4,7)	0	0,8 (1,3)
8	12,6 (1,7)	17,6 (4,4)	0	0
12	9,5 (1,4)	12,8 (4,1)	0	0
24	5,7 (1,3)	7,5 (1,9)	0	0

^a Predstavlja nominalno vrijeme prikupljanja. Pretpostavlja se kako manje varijacije od nominalnog vremena prikupljanja ne utječu značajno na ukupno tumačenje rezultata.

^b Sve koncentracije za puferiranu peroralnu suspenziju bile su <LLQ (2 ng/mL) i nisu prikazane u ovoj tabeli. Za vrijednosti <LLQ uzima se nula kod izračuna prosjeka (SD). Ako je koncentracija kod svih pasa u određenom vremenu bila <LLQ, prosjek se predstavlja kao nula.

^c n = 3. Profil plazma koncentracije - vrijeme za jednog psa je bio nekonzistentan s dozom 10 minutne IV infuzije, budući je uočena T_{MAX} bila 1,0 h; ovaj pas je ispušten kod izračuna prosjeka.

^d n = 3. Jedan pas je povratio ubrzo nakon doziranja i zato je ispušten kod izračuna prosjeka.

^e Uzorci nisu bili namijenjeni prikupljanju.

^f Uzorci nepažnjom nisu prikupljeni; ne smatra se kako to odstupanje utječe na konačne zaključke istraživanja.

Prosječni farmakokinetički parametri za spoj (A) i spoj (B) su prikazani u Tabelama 3, odnosno 4.

Tabela 3. Prosječni(SD) farmakokinetički parametri spoja (A) kod pasa

Parametri (jedinice)	IV ^a	Peroralna Otopina ^b
C _{MAX} (ng/mL)	1120(189)	365 (40,9)
T _{MAX} (h) ^c	0,17 (0,17, 0,17)	0,50 (0,25, 0,50)
AUC(0-T) (h.ng/nt) ^d	420 (36,8)	560 (159)

^a n = 3. Profil koncentracije plazme - vrijeme kod jednog psa nije bio konzistentan s dozom 10 minutne IV infuzije, budući je uočena T_{MAX} bila 1,0 h; ovaj pas nije se mogao ocijeniti u farmakokinetičkom testu.

^b n = 3. Jedan pas povratio je ubrzo nakon doziranja i nije se mogao ocijeniti u farmakokinetičkom testu.

^c Srednjak (minimum, maksimum).

^d T = 24h.

Tabela 4. Prosječni(SD) farmakokinetički parametri spoja (B) kod pasa

Parametri (jedinice)	IV ^a	Peroralna Otopina ^b
C _{MAX} (ng/mL)	3,8 (0,42)	27,2 (3,6)
T _{MAX} (h) ^c	0,17 (0,17, 0,17)	0,75 (0,75, 0,75)
AUC(0-T) (h.ng/nt) ^d	0,69 (0,15)	45,2 (4,7)

^a n = 3. Profil koncentracije plazme - vrijeme kod jednog psa nije bio konzistentan s dozom 10 minutne IV infuzije, budući je uočena T_{MAX} bila 1,0 h; ovaj pas nije se mogao ocijeniti u farmakokinetičkom testu spoja (A) i spoja (B).

^b n = 3. Jedan pas povratio je kratko nakon doziranja i nije se mogao ocijeniti u farmakokinetičkom testu spoja (A) i Spoj (B).

^c Srednjak (minimum, maksimum).

^d T = 24h.

Profil koncentracije plazme kroz vrijeme kod jednog psa nakon IV primjene bio je nekonzistentan s dozom od 10 min infuzije, budući je uočena T_{MAX} bila 1,0 h; ovaj pas nije se mogao ocijeniti glede farmakokinetike. Prosječne (SD) [n = 3] C_{MAX} i AUC(0-T) vrijednosti nakon IV primjene spoja (A) bile su 1120 (189) ng/mL, odnosno 420 (36,8) h.ng/nt. AUC vrijednost koja je dobivena u ovom istraživanju nakon IV primjene je razmjerno usporediva s vrijednostima AUC koje su dobivene u preliminarnim istraživanjima IV farmakokinetike (prosjeke (SD); 483 (34) h.ng/mL) nakon doze od 0,5 mg/kg koda pasa.

Nakon primjene peroralne puferirane otopine, jedan pas je povratio ubrzo nakon doziranja, pa stoga podatke koji su dobiveni za tog psa nije moguće ocijeniti glede farmakokinetike. Prosječne (SD) [n=3] C_{MAX}, i AUC(0-T) vrijednosti nakon primjene puferirane peroralne otopine spoja (A) bile su 365 (40,9) ng/mL, odnosno 560 (159) h.ng/mL. Prosječna AUC vrijednost koja je dobivena u ovom istraživanju nakon peroralne otopine je otprilike 2 puta viša u usporedbi s doza normaliziranom prosječnom AUC vrijednosti (257 h.ng/mL) koja je dobivena kod ispitivanja toksičnosti kod jednokratne peroralne doze kod pasa. Iako je peroralna formulacija kod oba istraživanja bila jednaka, ukupna zapremina peroralne otopine koja je primijenjena u predmetnom istraživanju je bila oko 1,3 mL/kg, dočim je (ukupna zapremina) kod istraživanja toksičnosti bila 0,4 mL/kg. Prema tome, miliekvivalent pufera isporučenog u predmetnom istraživanju je oko 3 puta veći od onoga koji je primijenjen u istraživanju toksičnosti, što je možda omogućilo bolju neutralizaciju želučane pH u predmetnom istraživanju. Spoj (A) je lijek koji je nestabilan prema kiselinu, pa je stoga veća izloženost nakon peroralne otopine u predmetnom istraživanju u usporedbi sa istraživanjem toksičnosti vjerojatno povezano s boljom zaštitom od raspadanja uzrokovanog želučanom kiselinom. Kod dva psa kod kojih su postojali podaci o farmakokinetičkim parametrima nakon primjene obje doze, IV i peroralne otopine, apsolutna peroralna biodostupnost bila je 48,3%, odnosno 30,6%, (prosječna vrijednost = 39,5%).

C_{MAX} i AUC(0-T) vrijednosti za spoj (B) upućuju da su psi bili izloženi djelovanju spoja (B) nakon primjene IV doze i doze peroralne otopine; životinje nisu bile izložene spoju (B) nakon doziranja s peroralnom suspenzijom. Sustavno izlaganje spoju (B) nakon peroralne primjene bilo je osjetno više od onog nakon IV primjene.

Ti rezultati pokazuju da je kod dva psa, za koje su dobiveni podaci farmakokinetičkih parametara za IV i peroralno, apsolutna peroralna biodostupnost iznosila 48,3%, odnosno 30,6% (prosječna vrijednost = 39,5%).

Primjer 6:

Tekuća peroralna formulacija farmaceutski prihvatljivog pufera za neutralizaciju kiseline.

Puferi su formulirani sa sljedećim sastavom:

	Sastav pufera #1	Sastav pufera #2
Sastojak	Količina (g)	Količina (g)
Dibazični natrijev fosfat bezvodni, USP	4,258	5,688
Natrijev citrat dihidrat, USP	2,941	2,942
Limunska kiselina bezvodna, USP	0,232	0,256
Saharoza, NF (po izboru)	15,00	15,00
Okus višnje (po izboru)	0,075	0,075
Ukupno	22,5	24,0

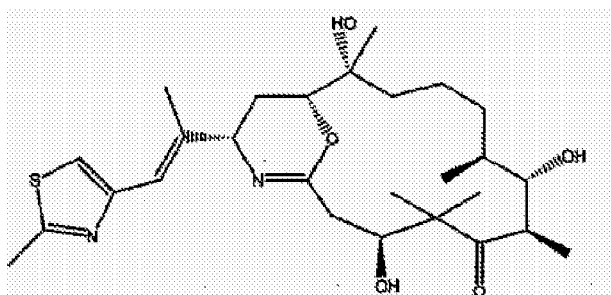
Pufer se konstituira sa 140 mL vode čime se dobiva 150 mL tekućeg peroralnog oblika za doziranje. Tekući peroralni oblik za doziranje ima pH faktor od 7.43 ± 0.07 (6 mjerenja). Prosječna sposobnost za neutralizaciju kiseline pet oblika za tekuće peroralno doziranje bila je 49,7 (standardna devijacija 0,17, relativna standardna devijacija 0,34%).

Primjer 7:

Stabilnost tekuće formulacije spoja (A)

Stabilnost spoja (A) u 80:20 propilen glikol:etanolu ocijenjena je rekonstituiranjem 25 mg spoja (A) s 80:20 propilen glikol:etanola čime se dobiva tekući peroralni oblik za doziranje s koncentracijama od 2,5 mg/mL do 12,5 mg/mL. Dobiveni tekući peroralni oblik za doziranje se potom pohrani do 20 sati na sobnoj temperaturi (20 °C do 25 °C) i sobnoj svjetlosti i na nižoj temperaturi (2 °C do 8 °C).

Nisu uočene nikakve promjene od početnog (stanja) u izgledu tekućeg peroralnog oblika za doziranje kod bilo kojeg uvjeta pohrane. Povećanje ukupnih nečistoća/degradanata i smanjenje potentnosti uočeni su nakon pohrane na sobnoj temperaturi i sobnom svjetlu 20 sati. Lagano povećanje ukupnih nečistoća/degradanata uočeno je nakon 20 sati pohrane na sniženoj temperaturi. Promjena ukupnih nečistoća pripisana je povećanju oksazinskih nečistoće/degradanata, čija struktura je prikazana dolje:



Uzorci su analizirani uporabom HPLC sa 75 mm x 4,6 mm i.d., 3,5 µm veličina čestice, Waters Symmetry Shield RP8 stupac i UV detekcija na 240 nm. Korištene su 10 :L zapremine uštrcavanja, stupac je održavan na sobnoj temperaturi, a brzina protoka iznosila je 1 mL/min. Vremena analize su bila 1 sat, a uzorci su eluirani uporabom gradijenta elucije s pokretnom fazom vode (0,05% octena kiselina) (pokretna faza A) i pokretne faze acetonitrila (0,05% octena kiselina). Profil elucije je opisan u tabeli dolje.

	Sastav pokretne faze		
Vrijeme (minute)	%A	% B	Profil gradijenta
0	90	10	izokratski
3	90	10	izokratski
43	40	60	linerni
45	40	60	izokratski
50	90	10	linerni
60	90	10	izokratski

Ovi rezultati pokazuju kako se peroralni oblik za doziranje, pri koncentracijama od 2,5 mg/mL do 12,5 mg/mL, može pohraniti na sobnoj temperaturi do 6 sati, a pri sniženim temperaturama sve do 20 sati.

Primjer 8:

Sinteza spoja A.

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihidroksi-8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-4-aza-17-oksabicyklo[14.1.0]heptadekan-5,9-dion.

Spoj 1: (3S, 6R, 7S, 8S, 12R, 13S, 15S)-15-Azido-12,13-epoksi-4,4,6,8,12,16-heksametil-7-hidroksi-1 7-(2-metil-4-tiazolil)-5-okso-16-heptadekanska kiselina.

Otopina epotilona B (0,35 g, 0,69 mmol) u otplinjenom THF-u (4,5 mL) se tretira katalitičkom količinom (80 mg, 69 mmol) tetrakis (trifenilfosfin) paladija(0) i suspenzija se miješa na 25°C, pod Ar 30 min. Dobivena svijetlo žuta, homogena otopina tretira se cijela odjednom s otopinom natrijevog azida (54 mg, 0,83 mmol) u otplinjenoj H₂O (2,2 mL). Reakcijska smjesa se zagrijava do 45°C tijekom 1 sata, razrijedi s H₂O (5 mL) i ekstrahira s EtOAc (4x7 mL). Organski ekstrakti se operu sa zasićenim vodenim NaCl (15 mL), osuše (Na₂SO₄) i koncentriraju *in vacuo*. Ostatak se pročisti flash kromatografijom (SiO₂, 3,0 x 15 cm, 95:5,0:0,5 CHCl₃-MeOH-AcOH), čime se dobiva Spoj 1 (0,23 g, 61 %) kao bezbojno ulje. MS (ESI⁺): 551 (M+H)⁺; MS (ESI⁻): 549 (M-H)⁻.

Spoj 2: (3S, 6R, 7S, 8S, 12R, 13S, 15S)-15-Amino-12,13-epoksi-4,4,6, 8,12,16-heksametil-7-hidroksi-1 7-(2-metil-4-tiazolil)-5-okso-16-heptadekanska kiselina.

Otopina spoja 1 (0,23 g, 0,42 mmol) u THF (4,0 mL) se tretira s H₂O (23 mL, 1,25 mmol) i trifenilfosfinom na polimerskom nosaču (Aldrich, polistiren polimeriziran s 2 % DVB, 0,28 g, 0,84 mmol) na 25°C. Dobivena suspenzija se miješa na 25°C pod Ar (32 h), filtrira kroz čep od Celite-a i koncentrira *in vacuo*. Ostatak se pročisti flash kromatografijom (SiO₂, 1,5 x 10 cm, 95:5,0:0,5 do 90:10:1,0 CHCl₃-MeOH-AcOH gradijent elucija) čime se dobiva Spoj 2 (96 mg, 44 %) kao bezbojno ulje. MS (ESI⁺): 525.2 (M+H)⁺; MS (ESI⁻): 523.4 (M-H)⁻.

Alternativno, u reakcijsku posudu s okruglim dnom od 25 mL napunjenu sa Spojem 1 (0,26 g, 0,47 mmol) i PtO₂ (0,13 g, 50 tež. %) dodaje se apsolutni EtOH pod Ar.

Dobivena crna smjesa se miješa pod jednom atmosferom H₂O tijekom 10 h, nakon čega se sustav pročisti s N₂ i dodaje dodatni obrok PtO₂ (65 mg, 25 tež. %). Još jednom se reakcijska smjesa miješa pod pokrovom od H₂O tijekom 10 h. Sustav se zatim pročisti s N₂, a reakcijska smjesa se filtrira kroz filter od Celite-a i eluira s CH₂Cl₂ (3 x 25 mL). Otapala se uklanjaju *in vacuo* i ostatak se pročisti kako je gore opisano, čime se dobiva Spoj 2 (0,19 g, 75 %).

Alternativno, otopina spoja 1 (20 mg, 36 mmol) u THF (0,4 mL) se tretira s trifenilfosfinom (19 mg, 73 mmol) pod Ar. Reakcijska smjesa se zagrije do 45°C, miješa 14 h i ohladi do 25 °C. Dobiveni imino-fosforan se tretira s amonijevim hidroksidom (28 %, 0,1 mL), a reakcijska smjesa se još jedanput zagrije do 45°C. Nakon 4 h, hlapljive tvari se uklone *in vacuo*, a ostatak se pročisti kako je opisano gore čime se dobiva Spoj 2 (13 mg, 70 %).

Spoj A: [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihidroksi-8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-4-aza-17-oksabicyklo[14.1.0] heptadekan-5,9-dion.

Otopina spoja 2 (0,33 g, 0,63 mmol) u otplinjenom DMF-u (250 mL) se tretira s krutim NaHCO₃ (0,42 g, 5,0 mmol) i difenilfosforil azidom (0,54 mL, 2,5 mmol) na 0 °C pod Ar. Dobivena suspenzija se miješa na 4 °C tijekom 24 h, razrijedi s fosfatnim puferom (250 mL, pH = 7) na 0 °C i ekstrahira s EtOAc (5 x 100 mL). Organski ekstrakti se isperu s 10%-tnim vodenim LiCl (2 x 125 mL), osuše (Na₂SO₄) i koncentriraju *in vacuo*. Ostatak se prvo pročisti flash kromatografijom (SiO₂, 2,0 x 10 cm, 2-5 % MeOH-CHCl₃ gradijent elucije) i zatim ponovno pročisti uporabom Chromatotron-a (2 mm SiO₂, GF rotor, 2 - 5% MeOH-CHCl₃ gradijent elucije) čime se dobiva naslovni spoj (0,13 g, 40%) kao bezbojno ulje: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) * 6.98 (s, 1 H), 6.71 (d, 1H, NH, J=8.1 Hz), 6.56 (s, 1 H), 4.69 - 4.62 (m, 1 H), 4.18 - 4.12 (m, 1 H), 4.01 - 3.96 (m, 1 H), 3.86 (s, 1 H), 3.38 - 3.34 (m, 1 H), 2.82 (dd, 1 H; J 5.6, 6.0 Hz), 2.71 (s, 3 H), 2.58 (s, 1 H), 2.43 (dd, 1 H, J=9.0, 14.5 Hz), 3.34 (dd, 1 H, J=3.0, 14.5 Hz), 2.14 (s, 3 H), 2.05 - 1.92 (m, 2 H), 1.82 - 1.41 (serija multipleta, 7 H), 1.35 (s, 3 H), 1.28 (s, 3 H), 1.18 (d, 3 H, J=6.8 Hz), 1.14 (s, 3 H), 1.00 (d, 3 H, J=6.8 Hz); MS (ESI⁺): 507.2 (M+H)⁺; MS (ESI⁻): 505.4 (M-H)⁻.

Primjer 9:**Farmakokinetika spoja A koji je peroralno primijenjen na bolesnike od karcinoma**

Bolesnici s uznapredovalim malignim tumorima su dobivali spoj A tjedno kao 30-minutnu infuziju (kurs = 3 intravenske tjedne primjene). Bolesnici su primili doze od 1, 2,5, 5, 10, 20, 25 ili 30 mg/m². Počevši od razine doze na 20 mg/m², jednokratna peroralna doza spoja A se daje na dan 6 u vehikulu od 80% propilen glikola i 20% etanola (v/v), nakon čega slijedi primjena citrat/fosfat pufera (22,5 gm) prije terapije 1 kako bi se ocijenila apsolutna biodostupnost spoja A. Doza spoja A u peroralnom obliku koja je primijenjena na dan 6 bila je jednaka IV dozi spoja A koja je primijenjena na dan 1. Serijski uzorci plazme prikupljeni su na dan 6 i dan 1 terapije 1 kako bi se ocijenila farmakokinetika putem LC/MS/MS. Test putem LC/MS/MS je isti kao onaj koji se rabi u Primjeru 1.

Spoj A za peroralnu primjenu, 25 mg/bočica, je isporučen kao "liječ u bočici." Vehikul (pufer) za konstituciju spoja A, 25 mg/bočica, je smjesa 80% propilen glikola i 20% etanola (v/v). Smjesa propilen glikol/etanol je pripravljena miješanjem 80 zapreminskih dijelova propilen glikola i 20 zapreminskih dijelova etanola u prikladnoj posudi, te laganim kružnim miješanjem posude sve dok se otopina potpuno izmiješa.

Citrat/fosfat pufer za peroralnu primjenu nakon spoja A dobavljen je u odvojenoj bočici. Pufer za uporabu sa spojem A se konstituirao s vodom za injektiranje (WFI).

Spoj A je pripravljen za davanje bolesnicima uporabom prikladne štrcaljke za polagano uštrcavanje 2,5, 5 ili 10 mL smjese propilen glikol/etanol u 20 cc bočicu koja sadrži 25 mg/bočici spoja A, čime se dobivaju koncentracije od 10, 5 ili 2,5 mg/mL, ovisno o dozi koja se treba dati bolesniku. Štrcaljka se ukloni i bočica snažno protrese 10 sekundi. Bočica se postavi u sonikacijsku kupku i podvrgne sonokaciji sve dok otopina ne postane prozirna. Bočice se grupiraju ovisno o dozi.

Pufer za primjenu sa spojem A je dobavljen u 8 oz. (8 tekućih unca, 1 tekuća unca = cca 29,57 mL, *op. prev.*) bočici od prozirnog stakla i konstituiran s vodom za injektiranje (WFI). Poklopac koji ne mogu otvoriti djeca se ukloni sa boce u kojoj se nalazi pufer i doda se oko 140 mL vode za injektiranje (WFI). Bočica se snažno protrese ili podvrgne sonokaciji uz povremeno mućkanje sve dok se ne dobije prozirna otopina.

Nakon peroralne primjene na dan 6, prikupljeno je 7 mL uzoraka krvi u Becton Dickinson Vacutainer epruvete s K₃EDTA kao anti-koagulansom (poklopac boje lavande) prema sljedećem rasporedu (izraženo kao sati:minute od početka peroralne primjene): prije doze, 00:15, 00:30, 00:45, 1:00, 1:30, 2:00, 3:00, 4:00, 6:00, 8:00, 24:00, 48:00 i 72:00. Nakon IV primjene na dan 1, prikupljeno je 7 mL uzoraka krvi u Becton Dickinson Vacutainer epruvete s K₃EDTA kao anti-koagulansom (poklopac boje lavande) prema sljedećem rasporedu (izraženo kao sati:minute od početka IV infuzije): prije doze, 00:15, 00:30 (završetak infuzije), 00:45, 1:00, 1:30, 2:00, 3:00, 4:00, 6:00, 8:00, 24:00, 48:00 i 72:00.

Odmah nakon prikupljanja krvi, Vacutainer epruvete se nekoliko puta preokrenu kako bi se osiguralo miješanje s antikoagulansom i zatim odmah postave na zdrobljeni led. Unutar 30 minuta od prikupljanja, uzorci se centrifugiraju 5 minuta na otprilike 2000 x g i 0 do 5 EC. Plazma se potom prenosi u odvojene prethodno označene polipropilenske epruvete s poklopcima na navoj i pohrani na -70 °C do bioanalize. Koncentracije plazme spoja A analizirane su uporabom LC/MS/MS testa koji je opisan u Primjeru 1.

Podaci plazma koncentracija u odnosu na vrijeme analizirani su uporabom ne-kompartmentalnih postupaka. Farmakokinetički parametri koji su utvrđeni za spoj A uključuju maksimalnu uočenu koncentraciju plazme (C_{max}), vrijeme za koje se dostigne C_{max} (T_{max}), površina pod krivuljom plazma koncentracija – vrijeme od nultog vremena do vremena uzimanja uzorka T(AUC (0-T)).

Ukupno 18 bolesnika je dobilo peroralni spoj A kao otopinu na dan 6 i putem IV na dan 1. Sažetak farmakokinetičkih rezultata koji su dobiveni kod tih bolesnika je prikazan u Tabeli 5.

Tabela 5. Sažetak farmakokinetike kod bolesnika kojima je Spoj A davan peroralno i intravenski

Doza (mg/m ²)	20		25		30	
N	3		11		4	
Ruta	IV	Peroralna	IV	Peroralna	IV	Peroralna
Formulacija	IV	Otopina peroralnu primjenu	IV	Otopina peroralnu primjenu	IV	Otopina peroralnu primjenu
C _{MAX} ^a (ng/mL)	251 (108)	142 (106)	447 (189)	180 (110)	711 (530)	274 (104)
T _{MAX} ^b (h)	0,25 (0,25, 0,25)	1,0 (0,25, 1,50)	0,50 (0,25, 0,50)	0,50 (0,25, 3,00)	0,50 (0,25, 0,50)	0,50 (0,25, 0,75)
AUC(0-T) ^{a,c} (h.ng/mL)	796 (587)	404 (381)	848 (284)	533 (284)	1155 (292)	708 (291)
%F ^a	NA	43,5 (16,1)	NA	55,6 (18,4)	NA	62,2 (25,1)

^a Prosjek (SD)

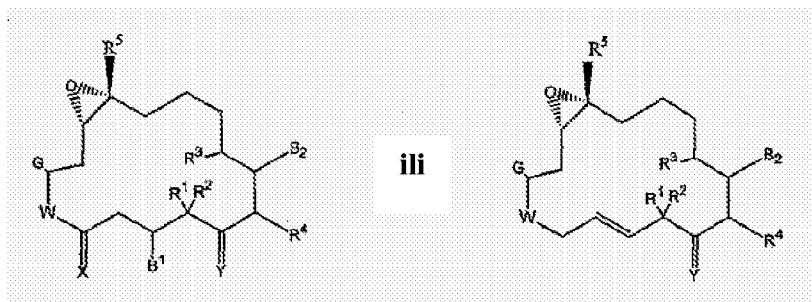
^b Srednjak (min, maks.)

^c Predstavlja AUC(0-T)

Utjelovljenja prema predmetnom izumu koja su gore opisana su samo primjerična, a stručne osobe u predmetnom području će prepoznati, ili će biti u mogućnosti, uporabom samo rutinskih pokusa, utvrditi brojne ekvivalente konkretnih spojeva, tvari i postupaka. Svi takovi ekvivalenti smatraju se unutar opsega predmetnog izuma i obuhvaćeni su patentnim zahtjevima što slijede.

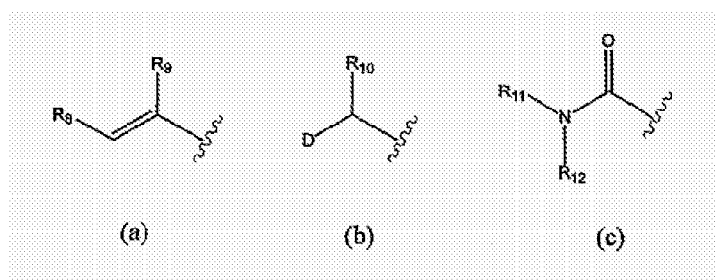
PATENTNI ZAHTEJEVI

- Postupak povećanja biodostupnosti peroralno primijenjenog epotilona, **naznačen time** da obuhvaća peroralnu primjenu na čovjeka jednog ili više epotilona prema formulama:



pri čemu:

G je odabran iz skupine koja se sastoji od alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, heterociklo,



W je O ili NR₁₆;

X je O; S; CHR₁₇; ili H, R₁₈;

Y je odabran iz skupine koja se sastoji od O; H; H; H, OR₂₂; OR₂₃, OR₂₃; NOR₂₄; H, NOR₂₅; H, HNR₂₆, R₂₇; NHNR₂₈, R₂₉; H, NHNR₃₀, R₃₁ ili CHR₃₂, pri čemu OR₂₃, OR₂₃ može biti ciklički ketal;

B₁ i B₂ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, OR₃₃, OCOR₃₄, OCONR₃₅, R₃₆, NR₃₇, R₃₈ ili NR₃₉, CONR₄₀, R₄₁;

D je odabran iz skupine koja se sastoji od NR₄₂, R₄₃ ili heterociklo;

R₁, R₂, R₃, R₄ i R₅ su odabrani iz H, nižeg alkila;

R₈, R₉, R₁₀ i R₁₁ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo ili supstituiranog heterociklo;

R₁₇, R₁₈, R₂₂ i R₂₃ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila i supstituiranog alkila;

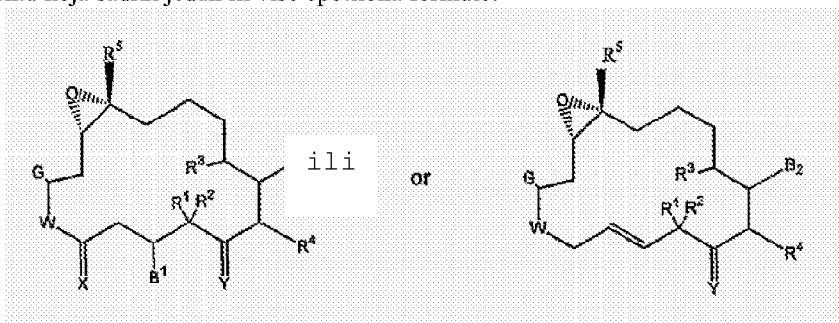
R₂₄, R₂₅, R₂₆, R₂₈, R₃₀, R₃₂, R₃₃, R₃₄, R₃₅, R₃₆, R₃₇, R₃₉, R₄₀, R₄₁, R₄₂, R₅₁, R₅₂, R₅₃ i R₆₁ su odabrani iz skupine koju čine H, alkil, supstituirani alkil, aril ili supstituirani aril;

R₁₂, R₁₆, R₂₇, R₂₉, R₃₁, R₃₈ i R₄₃ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo, R₅₁C=O, R₅₂OC=O, R₅₃SO₂, hidroksi i O-alkila ili O-supstituiranog alkila,

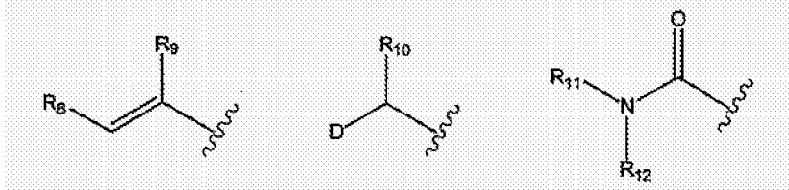
ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih, i peroralne primjene jednog ili više farmaceutski prihvatljivih pufera za neutralizaciju kiseline.

- Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje istodobno s epotilonom.
- Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje prije epotilona.
- Postupak prema Zahtjevu 3, **naznačen time** da se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje ne dulje od oko 1 sata prije epotilona.
- Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje nakon epotilona.
- Postupak prema Zahtjevu 5, **naznačen time** da se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje ne dulje od oko 1 sata nakon epotilona.

7. Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje prije i nakon epotilona.
8. Postupak prema Zahtjevu 7, **naznačen time** da se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje ne dulje od oko 1 sata prije i ne dulje od oko 1 sata nakon epotilona.
- 5 9. Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje u količini koja je dovoljna za isporuku najmanje oko 20 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline.
10. Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje kao vodena otopina koja ima pH faktor između oko 5 do 9.
- 10 11. Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da se farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline primjenjuje kao vodena otopina koja sadrži bezvodni dibazični natrijev fosfat, natrij citrat dihidrat i bezvodnu limunsku kiselinu.
12. Postupak prema Zahtjevu 11, **naznačen time** da je pH faktor vodene otopine oko 7.
13. Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da je bio-dostupnost jednog ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih najmanje oko 20 posto.
- 15 14. Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da se jedan ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih peroralno primjenjuje kao otopina u propilen glikolu i etanolu, pri čemu je omjer propilen glikol:etanol oko 80:20.
15. Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da se jedan ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih primjenjuje u ukupnoj količini od oko 0,05 do oko 200 mg/kg/dan.
- 20 16. Postupak prema Zahtjevu 15, **naznačen time** da se jedan ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih primjenjuje u oko 2 do 4 odjelite doze.
17. Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da je rečeni epotilon [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,16S*]]-7,11-dihidroksi 8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-17-oksa-4-azabicyklo [14.1.0]heptadekan-5,9-dion.
- 25 18. Postupak prema Zahtjevu 1, **naznačen time** da uključuje:
- a) peroralnu primjenu vodene otopine farmaceutski prihvatljivog pufera za neutralizaciju kiseline koji sadrži bezvodni dibazični natrijev fosfat, natrij citrat dihidrat i bezvodnu limunsku kiselinu;
- b) peroralnu primjenu jednog ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih kao otopine propilen glikola; i
- 30 c) peroralnu primjenu vodene otopine farmaceutski prihvatljivog pufera za neutralizaciju kiseline koji sadrži bezvodni dibazični natrijev fosfat, natrij citrat dihidrat i bezvodnu limunsku kiselinu.
19. Postupak prema Zahtjevu 18, **naznačen time** da je rečeni epotilon [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,16S*]]-7,11-dihidroksi 8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-17-oksa-4-azabicyklo [14.1.0]heptadekan-5,9-dion.
- 35 20. Pribor za uporabu u postupku povećanja biodostupnosti per-oralno primijenjenog epotilona, **naznačen time** da sadrži:
- (i) prvu komponentu koja sadrži jedan ili više epotilona formule:



40 G je odabran iz skupine koja se sastoji od alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, heterociklo,



W je O ili NR₁₆;

X je O; S; CHR₁₇; ili H, R₁₈

Y je odabran iz skupine koja se sastoji od O; H, H; H, OR₂₂; OR₂₂, OR₂₃; NOR₂₄; H, NOR₂₅; H, HNR₂₆, R₂₇; NHNR₂₈, R₂₉; H, NHNR₃₀, R₃₁ ili CHR₃₂, pri čemu OR₂₃, OR₂₃ može biti ciklički ketal;

B₁ i B₂ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, OR₃₃, OCOR₃₄, OCONR₃₅, R₃₆, NR₃₇, R₃₈ ili NR₃₉, CONR₄₀, R₄₁

D je odabran iz skupine koja se sastoji od $\text{NR}_{42}\text{R}_{43}$ ili heterociklo;

$\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3, \text{R}_4$ i R_5 su odabrani iz H, nižeg alkila;

$\text{R}_8, \text{R}_9, \text{R}_{10}$ i R_{11} su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo ili supstituiranog heterociklo;

$\text{R}_{17}, \text{R}_{18}, \text{R}_{22}$ i R_{23} su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila i supstituiranog alkila;

$\text{R}_{24}, \text{R}_{25}, \text{R}_{26}, \text{R}_{28}, \text{R}_{30}, \text{R}_{32}, \text{R}_{33}, \text{R}_{34}, \text{R}_{35}, \text{R}_{36}, \text{R}_{37}, \text{R}_{39}, \text{R}_{40}, \text{R}_{41}, \text{R}_{42}, \text{R}_{51}, \text{R}_{52}, \text{R}_{53}$ i R_{61} su odabrani iz skupine koju čine H, alkil, supstituirani alkil, aril ili supstituirani aril;

$\text{R}_{12}, \text{R}_{16}, \text{R}_{27}, \text{R}_{29}, \text{R}_{31}, \text{R}_{38}$ i R_{43} su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo, $\text{R}_{51}\text{C}=\text{O}$, $\text{R}_{52}\text{OC}=\text{O}$, R_{53}SO_2 , hidroksi i O-alkila ili O-supstituiranog alkila; ili

farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih; te

(ii) druge komponente, koja sadrži farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline, pri čemu su prva komponenta i druga komponenta omogućene kao peroralni oblik za doziranje ili kao farmaceutski pripravak koji se može rekonstituirati s otapalom kako bi se omogućilo tekuće peroralno doziranje.

21. Pribor iz Zahtjeva 20, **naznačen time** da je najmanje jedna od prve i druge komponente omogućena kao kruti peroralni oblik za doziranje.

22. Pribor iz Zahtjeva 21, **naznačen time** da je najmanje jedna od prve i druge komponente bezvodna.

23. Pribor iz Zahtjeva 20, **naznačen time** da je najmanje jedna od prve i druge komponente omogućena kao farmaceutski pripravak koji se može rekonstituirati s otapalom kako bi se dobio tekući peroralni oblik za doziranje.

24. Pribor iz Zahtjeva 23, **naznačen time** da je najmanje jedna od prve i druge komponente omogućena kao tableta.

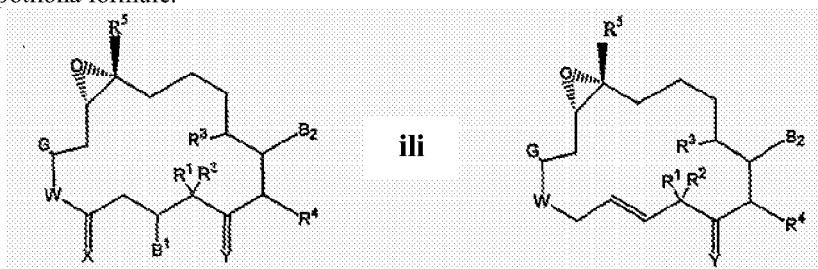
25. Pribor iz Zahtjeva 23, **naznačen time** da je najmanje jedna od prve i druge komponente bezvodna.

26. Pribor iz Zahtjeva 23, **naznačen time** da nadalje sadrži otapala za rekonstituiranje prve ili druge komponente.

27. Pribor iz Zahtjeva 26, **naznačen time** da je otapalo za rekonstituiranje prve komponenta smjesa propilen glikola i etanola.

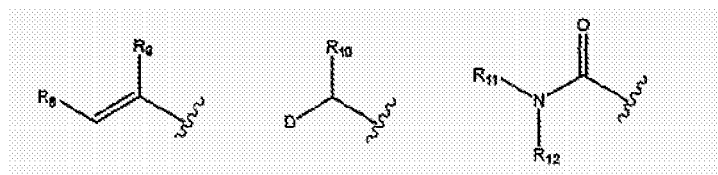
28. Farmaceutski pripravak prikladan za peroralnu primjenu na sisavca **naznačen time** da sadrži:

(i) jedan ili više epotilona formule:



pri čemu:

G je odabran iz skupine koja se sastoji od alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, heterociklo,



W je O ili NR_{16} ;

X je O; S; CHR_{17} ; ili H, R_{18} ;

Y je odabran iz skupine koja se sastoji od O; H, H; H,OR_{22} ; $\text{OR}_{23}, \text{OR}_{23}$; NOR_{24} ; H, NOR_{25} ; H, $\text{HNR}_{26}\text{R}_{27}$; $\text{NHNHR}_{28}\text{R}_{29}$; H, $\text{NHNHR}_{30}\text{R}_{31}$ ili CHR_{32} , pri čemu $\text{OR}_{23}, \text{OR}_{23}$ može biti ciklički ketal;

B_1 i B_2 su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, OR_{33} , OCOR_{34} , $\text{OCONR}_{35}\text{R}_{36}$, $\text{NR}_{37}\text{R}_{38}$ ili $\text{NR}_{39}\text{CONR}_{40}\text{R}_{41}$

D je odabran iz skupine koja se sastoji od $\text{NR}_{42}\text{R}_{43}$ ili heterociklo;

$\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3, \text{R}_4$ i R_5 su odabrani iz H, nižeg alkila;

$\text{R}_8, \text{R}_9, \text{R}_{10}$ i R_{11} su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo ili supstituiranog heterociklo;

$\text{R}_{17}, \text{R}_{18}, \text{R}_{22}$ i R_{23} su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila i supstituiranog alkila;

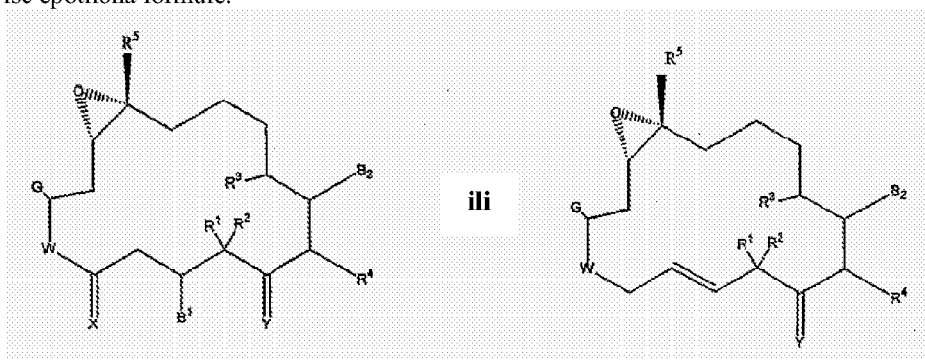
$\text{R}_{24}, \text{R}_{25}, \text{R}_{26}, \text{R}_{28}, \text{R}_{30}, \text{R}_{32}, \text{R}_{33}, \text{R}_{34}, \text{R}_{35}, \text{R}_{36}, \text{R}_{37}, \text{R}_{39}, \text{R}_{40}, \text{R}_{41}, \text{R}_{42}, \text{R}_{51}, \text{R}_{52}, \text{R}_{53}$ i R_{61} su odabrani iz skupine koju čine H, alkil, supstituirani alkil, aril ili supstituirani aril;

$\text{R}_{12}, \text{R}_{16}, \text{R}_{27}, \text{R}_{29}, \text{R}_{31}, \text{R}_{38}$ i R_{43} su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo, $\text{R}_{51}\text{C}=\text{O}$, $\text{R}_{52}\text{OC}=\text{O}$, R_{53}SO_2 , hidroksi i O-alkila ili O-supstituiranog alkila; ili

farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih; te

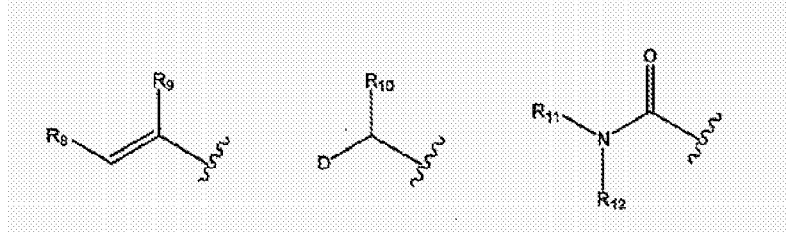
(ii) kruti farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline u količini koja je dovoljna da smanji raspadanje jednog ili više epotilona, ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih kada se farmaceutski pripravak rekonstituira s otapalom kako bi se dobio tekući peroralni oblik za doziranje.

29. Farmaceutski pripravak iz Zahtjeva 28, **naznačen time** da farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline omogućuje tekući peroralni oblik za doziranje koji ima pH faktor između oko 5 do 9.
30. Farmaceutski pripravak iz Zahtjeva 28, **naznačen time** da je farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline prisutan u količini koja je dovoljna da omogući najmanje oko 20 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline.
31. Farmaceutski pripravak iz Zahtjeva 28, **naznačen time** da je farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline dibazični fosfat-limunska kiselina-citrat pufer.
32. Farmaceutski pripravak iz Zahtjeva 28, **naznačen time** da su jedan ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih, prisutni u količini između oko 0,05 i 200 mg.
33. Farmaceutski pripravak iz Zahtjeva 28, **naznačen time** da je rečeni epotilon [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,16S*]]-7,11-dihidroksi 8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-17-oksa-4-azabicyklo[14.1.0]heptadekan-5,9-dion.
34. Pribor, **naznačen time** da sadrži farmaceutski pripravak iz Zahtjeva 28 i otapalo za rekonstituiranje farmaceutskog pripravka čime se omogućuje peroralni oblik za doziranje.
35. Pribor iz Zahtjeva 34, **naznačen time** da otapalo sadrži propilen glikol, etanol i fosfatni pufer (1M, pH 8).
36. Pribor iz Zahtjeva 35, **naznačen time** da je omjer propilen glikol:etanol:fosfatni pufer oko 58:12:30.
37. Tekući peroralni oblik za doziranje prikladan za peroralnu primjenu na sisavca **naznačen time** da sadrži:
- (i) jedan ili više epotilona formule:



pri čemu:

G je odabran iz skupine koja se sastoji od alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, heterociklo,



W je O ili NR¹⁶;

X je O; S; CHR₁₇; ili H, R₁₈;

Y je odabran iz skupine koja se sastoji od O; H, H; H, OR₂₂; OR₂₃, OR₂₃; NOR₂₄; H, NOR₂₅; H, HNR₂₆R₂₇; NHNR₂₈R₂₉; H, NHNR₃₀R₃₁ ili CHR₃₂, pri čemu OR₂₃, OR₂₃ može biti ciklički ketal;

B₁ i B₂ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, OR₃₃, OCOR₃₄, OCONR₃₅R₃₆, NR₃₇R₃₈ ili NR₃₉CONR₄₀R₄₁

D je odabran iz skupine koja se sastoji od NR₄₂R₄₃ ili heterociklo;

R₁, R₂, R₃, R₄ i R₅ su odabrani iz H, nižeg alkila;

R₈, R₉, R₁₀ i R₁₁ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo ili supstituiranog heterociklo;

R₁₇, R₁₈, R₂₂ i R₂₃ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila i supstituiranog alkila;

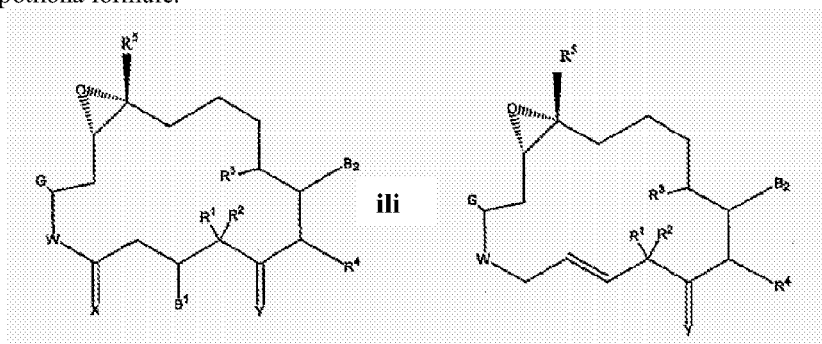
R₂₄, R₂₅, R₂₆, R₂₈, R₃₀, R₃₂, R₃₃, R₃₄, R₃₅, R₃₆, R₃₇, R₃₉, R₄₀, R₄₁, R₄₂, R₅₁, R₅₂, R₅₃ i R₆₁ su odabrani iz skupine koju čine H, alkil, supstituirani alkil, aril ili supstituirani aril;

R₁₂, R₁₆, R₂₇, R₂₉, R₃₁, R₃₈ i R₄₃ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo, R₅₁C=O, R₅₂OC=O, R₅₃SO₂, hidroksi i O-alkila ili O-supstituiranog alkila;

ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih; te

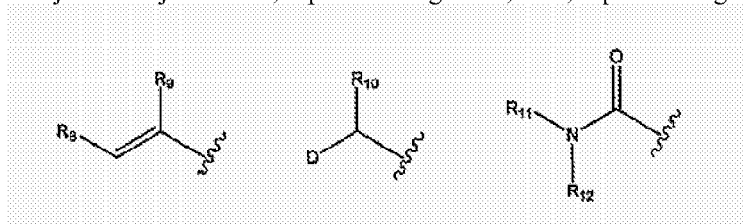
(ii) farmaceutski prihvatljiv tekući nosač.

38. Tekući peroralni oblik za doziranje iz Zahtjeva 41, **naznačen time** da je rečeni epotilon [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,16S*]]-7,11-dihidroksi 8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil-17-oksa-4-azabicyklo[14.1.0]heptadekan-5,9-dion.
39. Tekući peroralni oblik za doziranje iz Zahtjeva 37, **naznačen time** da nadalje sadrži farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline u količini koja je dovoljna da smanji raspadanje jednog ili više epotilona, ili farmaceutski prihvatljive soli, solvata, klatrata, hidrata ili prolijeke istih u usporedbi s farmaceutskim pripravkom bez pufera.
40. Tekući peroralni oblik za doziranje iz Zahtjeva 39, **naznačen time** da je pH faktor tekućeg peroralnog oblika za doziranje između oko 5 do 9.
41. Tekući peroralni oblik za doziranje iz Zahtjeva 39, **naznačen time** da je pufer prisutan u količini koja je dovoljna da omogući najmanje oko 20 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline.
42. Tekući peroralni oblik za doziranje iz Zahtjeva 37, **naznačen time** da je rečeno otapalo propilen glikol, etanol i voda puferirana s fosfatnim puferom pH faktora oko 8.
43. Tekući peroralni oblik za doziranje iz Zahtjeva 42, **naznačen time** da su propilen glikol, etanol i voda puferirana s fosfatnim puferom prisutni u omjeru od oko 58:12:30.
44. Tekući peroralni oblik za doziranje iz Zahtjeva 42, **naznačen time** da je rečeni epotilon [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,16S*]]-7,11-dihidroksi 8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil-17-oksa-4-azabicyklo[14.1.0]heptadekan-5,9-dion.
45. Tekući peroralni oblik za doziranje iz Zahtjeva 37, **naznačen time** da su jedan ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih prisutni u količini koja od između oko 0,05 i 200 mg.
46. Tekući peroralni oblik za doziranje iz Zahtjeva 39, **naznačen time** da je rečeni pufer dibazični fosfat-limunska kiselina-citrat pufer.
47. Proizvodni artikl, **naznačen time** da sadrži:
- a) posudu koja se može hermetički zatvoriti, a prikladna je za prenošenje tekućih ili krutih farmaceutskih preparata;
 - b) jedan ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljivu sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijeke istih; i
 - c) farmaceutski prihvatljiv nosač prikladan za peroralnu isporuku epotilona.
48. Raspršiva puferirana tableta, **naznačena time** da sadrži:
- (i) jedan ili više epotilona formule:



pri čemu:

G je odabran iz skupine koja se sastoji od alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, heterociklo,



W je O ili NR¹⁶;

X je O; S; CHR₁₇; ili H, R₁₈;

Y je odabran iz skupine koja se sastoji od O; H, H; H, OR₂₂; OR₂₃, OR₂₃; NOR₂₄; H, NOR₂₅; H, HNR₂₆, R₂₇; NHNR₂₈, R₂₉; H, NHNR₃₀, R₃₁ ili CHR₃₂, pri čemu OR₂₃, OR₂₃ može biti ciklički ketal;

B₁ i B₂ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, OR₃₃, OCOR₃₄, OCONR₃₅, R₃₆, NR₃₇, R₃₈ ili NR₃₉, CONR₄₀, R₄₁

D je odabran iz skupine koja se sastoji od NR₄₂, R₄₃ ili heterociklo;

R₁, R₂, R₃, R₄ i R₅ su odabrani iz H, nižeg alkila;

R₈, R₉, R₁₀ i R₁₁ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, arila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo ili supstituiranog heterociklo;

R₁₇, R₁₈, R₂₂ i R₂₃ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila i supstituiranog alkila;

R₂₄, R₂₅, R₂₆, R₂₈, R₃₀, R₃₂, R₃₃, R₃₄, R₃₅, R₃₆, R₃₇, R₃₉, R₄₀, R₄₁, R₄₂, R₅₁, R₅₂, R₅₃ i R₆₁ su odabrani iz skupine koju čine H, alkil, supstituirani alkil, aril ili supstituirani aril;

R₁₂, R₁₆, R₂₇, R₂₉, R₃₁, R₃₈ i R₄₃ su odabrani iz skupine koja se sastoji od H, alkila, supstituiranog alkila, supstituiranog arila, cikloalkila, heterociklo, R₅₁C=O, R₅₂OC=O, R₅₃SO₂, hidroksi i O-alkila ili O-supstituiranog alkila;

ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijek istih; te

5 (ii) puferske komponente koje su prikladne za neutralizaciju želučanih sokova za vrijeme koje je dovoljno da se omogući apsorpcija rečenog epotilona.

49. Pribor iz Zahtjeva 20, **naznačen time** da su prva i druga komponenta omogućene kao tekući peroralni oblik za doziranje.

10 50. Pribor iz Zahtjeva 49, **naznačen time** da su jedan ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijek istih prisutni u količini od između oko 0,05 i 200 mg, a farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline je prisutan u količini koja je dovoljna da omogući najmanje oko 20 miliekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline.

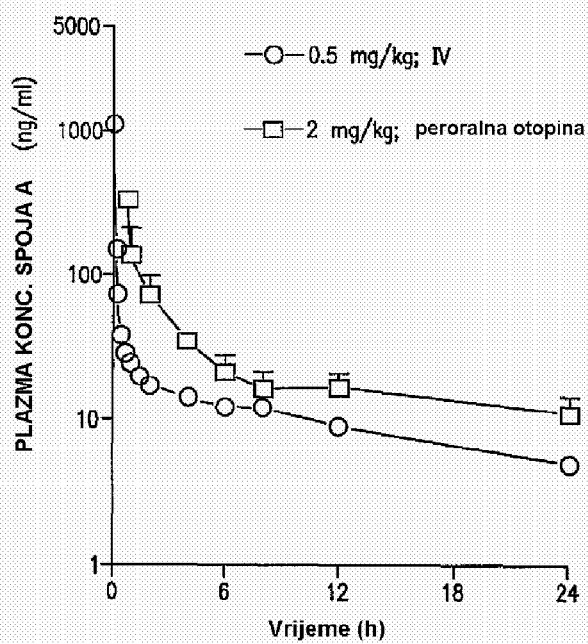
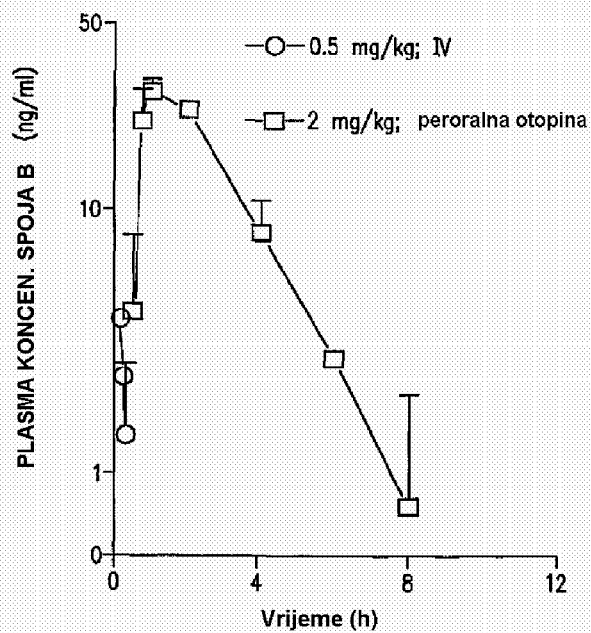
15 51. Pribor iz Zahtjeva 20, **naznačen time** da su prva komponenta i druga komponenta omogućene kao farmaceutski pripravak koji se može rekonstituirati s otapalom tako da omoguće tekući peroralni oblik za doziranje; jedan ili više epotilona ili farmaceutski prihvatljiva sol, solvat, klatrat, hidrat ili prolijek istih su prisutni u količini između oko 0,05 i 200 mg; i farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline je prisutan u količini koja je dovoljna da omogući najmanje oko 20 mili-ekvivalenata sposobnosti za neutralizaciju kiseline.

20 52. Pribor iz Zahtjeva 20, **naznačen time** da je rečeni epotilon [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,16S*]]-7,11-dihidroksi 8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil-17-oksa-4-azabicyklo[14.1.0]heptadekan-5,9-dion, a farmaceutski prihvatljiv pufer za neutralizaciju kiseline sadrži dibazični natrijev fosfat, natrijev citrat i bezvodnu limunsku kiselinu.

SAŽETAK

25 Predmetni izum odnosi se na postupke za povećanje bio-dostupnosti peroralno primijenjenih epotilona. Epotiloni primijenjeni postupcima prema predmetnom izumu su dovoljno bio-dostupani za postizanje farmakološkog učinka. Predmetni izum se nadalje odnosi na farmaceutske pripravke, farmaceutske oblike za doziranje i pribor za uporabu u postupcima prema predmetnom izumu.

1/1

**SLIKA I****SLIKA 2**

ZAMJENSKI LIST (PRAVILO 26)