PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:
2001 - 3483

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.[7]:
A 61 K 31/7064
A 61 P 35/02

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **28.03.2000**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **29.03.1999 30.03.1999**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/126734 1999/126813**

(33) Země priority: **US US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17.04.2002**
(Věstník č. 4/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/CA00/00334**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO00/57861**

(71) Přihlašovatel:
SHIRE BIOCHEM INC., Laval, CA;

(72) Původce:
Gourdeau Henriette, Montreal, CA;
Giles Francis J., Houston, TX, US;

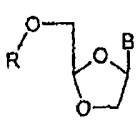
(74) Zástupce:
Hakr Eduard Ing., Přístavní 24, Praha 7, 17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

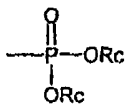
Použití sloučenin podle vynálezu pro přípravu farmaceutických přípravků k léčení leukémie

(57) Anotace:

Popisuje se použití nových sloučenin obecného vzorce I, kde B je cytosin nebo 5-fluorcytosin a substituent R je vybrán ze skupiny sestávající z atomu vodíku, monofosfátu, difosfátu, trifosfátu, karbonylu substituovaného C_{1-6}alkylovou skupinou, C_{2-6}alkenylovou skupinou, C_{2-6}alkynylovou skupinou, C_{6-10}arylovou skupinou a (a), kde každý substituent Rc je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z atomu vodíku, C_{1-6}alkylové skupiny, C_{2-6}alkenylové skupiny, C_{2-6}alkynylové skupiny a skupiny chránící hydroxy funkci; a kde uvedená sloučenina je podstatně ve formě (-)enantiomeru, pro přípravu farmaceutických prostředků k léčení leukémie, zejména k léčení akutní myeloidní leukémie (AML).



(I)



(a)

CZ 2001 - 3483 A3

179969/HK

03.10.01

PV 2001 - 3483

Použití sloučenin podle vynálezu pro přípravu farmaceutických přípravků k léčení leukémie

Oblast techniky

Předložený vynález popisuje použití sloučeniny podle vynálezu pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie. Zejména předložený vynález popisuje použití nukleosidových analog pro přípravu účinného farmaceutického prostředku k léčení leukémie akutní nebo chronické myeloidní leukémie.

Dosavadní stav techniky

Leukémie je maligní rakovinnové onemocnění kostní dřeně a krve. Toto onemocnění je charakterizováno nekontrolovatelným růstem krvinek. Běžné typy leukémie mohou být rozděleny na čtyři kategorie: akutní nebo chronická myeloidní leukémie, která zasahuje myeloidní složky kostní dřeně (leukocyty, erytrocyty, megakaryocyty) a akutní nebo chronická lymfocytární leukémie, která zasahuje buňky lymfatického rodu.

Akutní leukémie je velmi progresivní onemocnění, které má za následek masivní hromadění nezralých, nefunkčních buněk (blastů) v kostní dřeni a krvi. Velmi často se stává, že kostní dřeň nemůže za tohoto stavu dále produkovat dostatečné množství normálních leukocytů, erytrocytů a trombocytů. U všech pacientů, kteří trpí leukemií, se rozvíjí anémie, což je deficit erytrocytů. Nedostatek normální leukocytů narušuje schopnost obranného systému těla bojovat proti infekcím.

Deficit trombocytů vede ke zhmožděninám a krvácení. Na rozdíl od chronické leukémie, která postupuje velmi pomalu a vede k nekontrolovatelné proliferaci a z toho důvodu k nadměrné expanzi spektra zralých (diferencovaných) buněk. Obecně je akutní leukémie, na rozdíl od chronické formy, potenciálně vyléčitelná eliminací neoplastické klonu.

Předpokládá se, že v USA bude tento rok kolem 28 700 nových případů leukémie s zhruba stejným poměrem mezi akutními a chronickými typy leukémie. Ve většině případů se leukémie vyskytuje u starších jedinců. Předpokládá se, že zasáhne desetkrát více dospělých jedinců než dětí v roce 1998. (Asi 26 500 případů v porovnání s 2 200 případy u dětí) Více než polovina případů leukémie se vyskytuje u jedinců starších šedesáti let. Nejběžnějšími typy leukémie u dospělých jedinců jsou akutní myeloidní leukémie (AML) s předpokládanými 9 400 novými případy ročně, chronická lymfocytární leukémie (CLL) s 7 300 novými případy v tomto roce a chronická myeloidní leukémie (CML). Nejběžnějším typem leukémie u dětí je akutní lymfocytární leukémie (ALL).

Standardní ošetření leukémie běžně zahrnuje chemoterapii a/nebo transplantaci kostní dřeně a/nebo radioterapii.

Dva hlavní typy transplantátů kostní dřeně jsou autologní, při které se používá pacientovi vlastní kostní dřeně, a alogenní, při které se používá kostní dřeně od kompatibilního dárce. Radioterapie, která zahrnuje použití vysokoenergetických paprsků, je obvykle aplikována před vlastní transplantací kostní dřeně a používá se kvůli zabití veškerých leukemických buněk.

Chemoterapie u leukémie obvykle zahrnuje kombinaci dvou nebo více protirakovinových léků. V současné době je při ošetření leukémie používáno přibližně čtyřicet různých léčiv. Některé běžné kombinace zahrnují cytarabin společně s doxorubicinem nebo daunorubicinem nebo mitoxantronem nebo thioguaninem, merkaptopurin s methotrexatem, mitroxantronu s etoposidem, asparaginasy s vincristinem, daunorubicin a prednison, cyklofosfoamid s vincristinem, cytarabin a prednison, cyklofosfoamid s vincristinem a prednisonem, daunorubicin s cytarabinem a thioguanin a daunorubicin s vincristinem a prednisonem.

Použití sloučeniny obecného vzorce (I) pro přípravu nových farmaceutických přípravků k léčení leukémi také zahrnují reverzi rezistence vůči multiléčivům (preparát složený z několika léčebných složek)spočívající v použití agens, které zeslabují mechanismus umožňující maligním buňkách uniknout poškozením způsobeným účinky chemoterapeutických agens (a mít za následek odolnosti vůči nemocem nebo recidivě nemoci); a biologickou terapii, která zahrnuje použití látek známých jako modifikátory biologických odpovědí (BRM). Tyto látky jsou běžně produkovány v malých množstvích jako součást přirozené tělesné odezvy na rakovinové onemocnění nebo jiné nemoci. Typy BRM zahrnují monoklonální protilátky, ve kterých jsou toxiny připojeny na protilátky, jenž reagují s komplementárním antigenem přeneseným maligními buňkami; a cytokiny (např. interferony, interleukiny, faktory stimulující kolonie CSF), které jsou přirozeně vyskytujícími se chemickými látkami, jenž stimulují produkci erytrocytů a velmi intenzivně pomáhají obnovovat množství erytrocytů po ošetření. Příklady těchto léčiv zahrnují multiléčivový agens reverzující rezistanci PSC 833;

monoklonální protilátku Rituxan a následující cytokiny: Erythropoetin a Epoetin, které stimulují produkci erytrocytů; G-CSF, GM-CSF, filgrastim a Sargramostim, které stimulují produkci leukocytů; a thrombopoietin, který stimuluje produkci trombocytů.

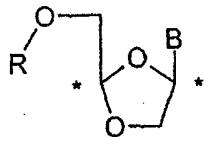
Bylo zjištěno, že mnoho analog nukleosidů má protirakovinovou aktivitu. Cytarabin, Fludarabin, Gemcitabin a Cladribin jsou některé z příkladů analog nukleosidů, které jsou v současné době velmi důležitými léčivy používanými při léčení leukémie.

(-)-β-L-Dioxolan-Cytidin(β-L-OddC) je také analog nukleosidu, který byl první popsal jako protivirové agens Belleau *et al.* (EP 337713), a bylo zjištěno, že má silnou protinádorovou aktivitu (K. L. Grove *et al.*, *Cancer Res.*, 55(14), 3008-11, 1995; K. L. Grove *et al.*, *Cancer Res.*, 56(18), 4187-4191, 1996, K. L. Grove *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides* 16: 1229-33, 1997,; S. A. Kadhim *et al.*, *Can. Cancer Res.*, 57(21), 4803-10, 1997).

Ošetření leukémie je velmi složité a komplexní a závisí na typu leukémie. Ohromná klinická variabilita mezi dočasným vymizením projevů nemoci byla pozorována u pacientů, kteří trpí leukémií, a navíc i u těch pacientů, kteří prodělali terapeutickou kůru. Pacienti, kteří jsou rezistentní vůči terapii, mají velmi krátký čas přežití bez ohledu na to zda se později vyskytne rezistance nebo ne. Navzdory zlepšením ve výsledcích běžných terapeutických programů, pokračuje úsilí v hledání nových agens vhodných pro ošetření všech typů leukémie.

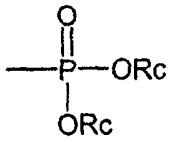
Podstata vynálezu

Předložený vynález popisuje použití sloučeniny obecného vzorce (I) pro přípravu farmaceutického přípravku k léčení leukémie u hostitele vyznačující se tím, že zahrnuje podání terapeuticky účinného množství sloučeniny obecného vzorce (I):



(I)

kde B je cytosin nebo 5-fluorcytosin a substituent R je vybrán ze skupiny sestávající z atomu vodíku, monofosfátu, difosfátu, trifosfátu, karbonylu substituovaného alkylovou skupinou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou skupinou s 2 až 6 atomy uhlíku, alkynylovou skupinou s 2 až 6 atomy uhlíku, arylovou skupinou s 6 až 10 atomy uhlíku a



kde každý substituent Rc je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z atomu vodíku, alkylové skupiny s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylové skupiny s 2 až 6 atomy uhlíku, alkynylové skupiny s 2 až 6 atomy uhlíku a skupiny chránicí hydroxy funkci; a

kde uvedená sloučenina je podstatně ve formě (-) enantiomeru.

V dalším provedení je popisováno použití sloučeniny obecného vzorce (I) a alespoň jednoho dalšího terapeutického agens vybraného ze skupiny obsahující chemoterapeutické agens, multiléčivové agens reverzující rezistanci a

modifikátory biologické odezvy pro přípravu farmaceutického přípravku k léčení leukémie.

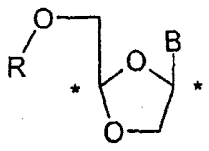
V dalším provedení je popisován farmaceutický přípravek k léčení leukémie obsahující alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce (I) společně s alespoň jedním farmaceuticky přijatelným nosičem nebo excipientem.

V dalším provedení je popisován farmaceutický přípravek k léčení leukémie obsahující alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce (I) a alespoň jeden další terapeutický agens vybraný ze skupiny sestávající z chemoterapeutického agens, multiléčivového agens reverzující rezistanci a modifikátorů biologické odezvy

V dalším provedení podle předloženého vynálezu je popisováno použití sloučeniny obecného vzorce (I) pro přípravu farmaceutického přípravku k léčení leukémie.

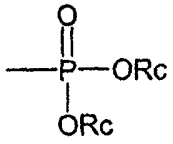
Detailní popis vynálezu

Předložený vynález popisuje použití sloučeniny obecného vzorce (I) pro přípravu farmaceutického přípravku k léčení leukémie u hostitele vyznačující se tím, že zahrnuje podání terapeuticky účinného množství sloučeniny obecného vzorce (I):



(I)

kde B je cytosin nebo 5-fluorcytosin a substituent R je vybrán ze skupiny sestávající z atomu vodíku, monofosfátu, difosfátu, trifosfátu, karbonylu substituovaného alkylovou skupinou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou skupinou s 2 až 6 atomy uhlíku, alkynylovou skupinou s 2 až 6 atomy uhlíku, arylovou skupinou s 6 až 10 atomy uhlíku a



,

kde každý substituent Rc je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z atomu vodíku, alkylové skupiny s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylové skupiny s 2 až 6 atomy uhlíku, alkynylové skupiny s 2 až 6 atomy uhlíku a skupiny chránicí hydroxy funkci; a

kde uvedená sloučenina je podstatně ve formě (-) enantiomeru.

V dalším provedení je substituent R atom vodíku.

V dalším provedení je B cytosin.

Jako alternativa je B v dalším provedení 5-fluorcytosin.

V jednom provedení je sloučenina obecného vzorce (I) (-)-β-L-dioxolan-cytidin (β-L-oddC).

V dalším provedení je sloučenina obecného vzorce (-)-β-dioxolan-5-fluor-cytidin (β-FoddC).

Odborné veřejnosti bude zcela jasné, že sloučeniny obecného vzorce (I) obsahují alespoň dvě chirální centra,

která jsou v obecném vzorci (I) označena hvězdičkou. Sloučeniny obecného vzorce (I) tak existují ve formě dvou různých optických izomerů (tzn. (+) nebo (-) enantiomery nebo β-L a β-D). Všechny tyto enantiomery a jejich směsi, včetně racemických směsí, jsou zahrnuty do rozsahu vynálezu. Jednotlivý optický izomer nebo enantiomer může být získán známými způsoby, např. chirální HPLC, enzymatickou cestou a použitím chirálních pomocných látek.

V rámci jednoho provedení jsou popisovány sloučeniny obecného vzorce (I) podle předloženého vynálezu, které jsou z podstatné části ve formě (-) enantiomeru.

Termín „podstatně", jak je používán zde, vyjadřuje vztah mezi enantiomery, přičemž v našem případě je výrazně více (-) enantiomeru než (+) enantiomeru.

V dalším provedení jsou sloučeniny obecného vzorce (I) podle předloženého vynálezu alespoň z 95% bez odpovídajícího (+) enantiomeru.

V dalším provedení jsou sloučeniny obecného vzorce (I) podle předloženého vynálezu alespoň z 97% bez odpovídajícího (+) enantiomeru.

V dalším provedení jsou sloučeniny obecného vzorce (I) podle předloženého vynálezu alespoň z 99% bez odpovídajícího (+) enantiomeru.

Předložený vynález také popisuje farmaceuticky přijatelné soli sloučenin obecného vzorce (I) podle předloženého vynálezu. Termínem farmaceuticky přijatelné soli

sloučenin obecného vzorce (I) se rozumějí ty sloučeniny, které jsou odvozené od farmaceuticky přijatelných anorganických nebo organických kyselin a bází. Příklady vhodných kyselin zahrnují kyselinu chlorovodíkovou, bromovodíkovou, sírovou, dusičnou, chloristou, fumarovou, maleinovou, fosforečnou, glykolovou, mléčnou, salicylovou, jantarovou, toluen-*p*-sulfonovou, vinnou, octovou, citronovou, methansulfonovou, mravenčí, benzoovou, malonovou, naftalen-2-sulfonovou a benzensulfonovou.

Soli odvozené od příslušných bází zahrnují soli alkalických kovů (např. sodné), soli kovů alkalických zemin (např. hořečnaté), soli amonné a NR_4^+ (kde substituent R je alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku).

Termín „alkylová skupina", jak je používán zde, se vztahuje na nesubstituované nebo substituované (halogenen, nitro skupinou, $CONH_2$, COOH, alkylovou skupinou s 1 až 6 atomy uhlíku navázanou na atom kyslíku, alkenylovou skupinou s 2 až 6 atomy uhlíku navázanou na atom kyslíku, alkynylovou skupinou s 2 až 6 atomy uhlíku navázanou na atom kyslíku, hydroxylem, amino skupinou nebo COOQ, kde Q je alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylová skupina s 2 až 6 atomy uhlíku, alkynylová skupina s 2 až 6 atomy uhlíku) rozvětvené nebo nerozvětvené řetězce nebo cyklické uhlovodíkové části (např. izopropylová, ethylová, flurohexylová, cyklopropylová skupina). Termín alkylová skupina také zahrnuje alkylové skupiny, ve kterých je jeden nebo více atomů vodíku nahrazeno halogenem, výhodněji je halogen fluor (např. CF_3- nebo CF_3CH_2-).

Termín „alkenylová skupina" a „alkynylová skupina", jak je používán zde, se vztahuje na alkylovou skupinu obsahující alespoň jednu nenasycenou skupinu (např. allyl).

Termín „skupina chránicí hydroxy funkci" je velmi dobře znám odborné veřejnosti. Tyto skupiny lze nalézt v knize T. Greena, Protective Groups In Organic Synthesis, (John Wiley & Sons, 1981). Příklady skupin chránicích hydroxy funkci zahrnují, ale není to nikterak limitováno, acetyl-2-thioethylester, pivaloyloxymethylester a izopropyloxy-karbonyloxymethylester.

Termín „arylová skupina", jak je používán zde, se vztahuje na nenasycenou karbocyklickou část, která je případně mono- nebo disubstituovaná skupinou OH, SH, amino, halogen nebo alkylovou skupinou s 1 až 6 atomy uhlíku, a případně substituovaná alespoň jedním heteroatomem (např. N, O nebo S).

V rámci jednoho provedení podle předloženého vynálezu je popisováno použití sloučeniny pro přípravu farmaceutického přípravku k léčení myeloidní leukémie.

V rámci dalšího provedení podle předloženého vynálezu je popisováno použití sloučeniny pro přípravu farmaceutického přípravku k léčení akutní myeloidní leukémie.

V rámci dalšího provedení podle předloženého vynálezu je popisováno použití sloučeniny pro přípravu farmaceutického přípravku k léčení chronické myeloidní leukémie.

V rámci dalšího provedení podle předloženého vynálezu je popisováno použití sloučeniny pro přípravu farmaceutického přípravku k léčení leukémie vyznačujícím se rezistencí vůči multiléčivům.

Termín „leukémie", jak je používán zde, se vztahuje na akutní myeloidní leukémii (AML), chronickou myeloidní leukémii (CML), akutní lymfocytární leukémii (ALL), chronickou lymfocytární leukémii (CLL), srstnatou buněčnou leukémii (HCL) a veškeré podtypy těchto leukémií, které jsou definovány morfologickými, histochemickými a imunologickými technikami, které jsou známé odborné veřejnosti.

Termín „myeloidní leukémie", jak je používán zde, se vztahuje jak na akutní, tak i na chronickou myeloidní leukémii (AML, CML), která zahrnuje myeloidní složky kostní dřeně (např. leukocyty, erytrocyty a megakaryocyty) a veškeré podtypy, které jsou definovány morfologickými, histochemickými a imunologickými technikami, které jsou známé odborné veřejnosti.

Termín „leukémie rezistentní vůči multiléčivu", jak je používán zde, se vztahuje na leukémii, kterou není možno léčit chemoterapeutickými agens.

Termín „hostitel", jak je používán zde, se vztahuje na jakéhokoliv savce, včetně lidí.

V rámci jednoho provedení je hostitel lidský subjekt.

Podle jednoho provedení byl již ošetřovaný pacient léčen cytarabinem (Ara-C). Pacient je ošetřován podle jakékoliv zde uvedené metody.

Podle dalšího provedení je pacient refrakterní vůči Ara-C.

Podle jednoho provedení bude množství sloučeniny obecného vzorce (I) podle předloženého vynálezu, které je potřebné pro léčení, záviset nejenom na jednotlivé vybrané sloučenině, ale také na způsobu podání, charakteru stavu, který je ošetřován, věku a stavu pacienta. Stanovení tohoto množství bude plně v kompetenci ošetřujícího lékaře nebo veterináře. Nicméně obecně se vhodná dávka pohybuje v rozmezí od 0,01 do 750 mg/kg tělesné váhy denně, výhodně v rozmezí 0,5 až 60 mg/kg denně, nejvýhodněji v rozmezí 1 až 20 mg/kg denně.

Podle jednoho provedení je požadovaná dávka výhodně jednorázová dávka nebo dělená dávka podávaná v příslušných intervalech, např. jako dvě, tři, čtyři nebo více dávek denně.

V dalším provedení je sloučenina podle vynálezu podávána v jednotkové dávkovací formě, např. v obsahu 10 až 1500 mg, výhodně 20 až 1000 mg, nejvýhodněji 50 až 700 mg aktivní složky na jednotkovou dávkovací formu.

Podle dalšího provedení předloženého vynálezu je aktivní složka podávána k dosažení píkové plazmové koncentrace aktivní sloučeniny v rozmezí 1 až 75μM, výhodně 2 až 50 μM, nejvýhodněji 3 až 30 μM. Této dávky lze dosáhnout např.

intravenózní injekcí 0,1 až 5 % roztoku aktivní složky, případně fyziologického roztoku, nebo perorální aplikací ve formě bolusu, který obsahuje 1 až 500 mg aktivní složky. Požadované krevní hladiny mohou být udržovány souvislou infuzí k dosažení 0,01 až 5,0 mg/kg aktivní složky za hodinu nebo intermitentními infúzemi obsahujícími 0,4 až 15 mg/kg aktivní složky.

Pro použití při terapii je možné, aby sloučenina obecného vzorce (I) podle předloženého vynálezu byla podávána jako surová nečištěná sloučenina, nicméně je výhodné, podle jednoho provedení předloženého vynálezu, aby aktivní složka byla přítomna jako farmaceutický přípravek. To znamená, že provedení podle předloženého vynálezu dále popisuje farmaceutický přípravek obsahující sloučeninu obecného vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl společně s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými nosiči a případně s dalšími terapeutickými a/nebo profylaktickými složkami. Nosič(i) musí být „přijatelný" ve smyslu slučitelnosti s dalšími složkami přípravku a nesmí být zdravý škodlivý pro jeho recipienta.

Podle jednoho provedení předloženého vynálezu zahrnují přípravky, ale není to nikterak limitováno, vhodné perorální, rektální, nazální, místní (včetně bukální a sublingvální), transdermální, vaginální nebo parenterální (včetně intramuskulární, subkutánní a intravenózní) podání nebo formu, která je vhodná pro podání inhalací nebo insuflací. Přípravky mohou být obecně, tam, kde je to vhodné, přítomny v jednotkových dávkách složených z několika částí a mohou být připraveny jakýmkoliv známým způsobem. Veškeré způsoby podle tohoto provedení zahrnují krok, ve kterém dochází ke smíchání

aktivní složky s tekutými nosiči nebo jemně rozetřenými pevnými nosiči nebo obé a, poté, pokud je třeba, k formování produktu do požadovaného přípravku.

Podle dalšího provedení jsou farmaceutické přípravky vhodné pro perorální podání vhodně ve formě jednotek složených z několika částí, např. kapsle, kachety nebo tablety, přičemž každá obsahuje předem stanovené množství aktivní složky; a jako prášky nebo granule. V dalším provedení je přípravek ve formě roztoku, suspenze nebo emulze. V dalším provedení je aktivní složka ve formě bolusu, lektvaru nebo pasty. Tablety a kapsle pro perorální podání mohou obsahovat konvenční excipienty, např. pojiva, fillery, lubrikanty, bobtnadla nebo detergenty. Tablety mohou být koutovány podle známých způsobů. Perorální tekuté přípravky mohou být ve formě např. vodných nebo olejovitých suspenzí, roztoků, emulzí, sirupů nebo léčebných nápojů nebo mohou být ve formě suchých produktů pro smíchání s vodou nebo jiným vhodným nosičem před použitím. Tyto tekuté přípravky mohou obsahovat konvenční aditiva, např. suspendační prostředky, emulgátory, bezvodé nosiče (které mohou zahrnovat jedlé tuky) nebo konzervační prostředky.

Sloučeniny obecného vzorce (I) podle provedení předloženého vynálezu jsou připravovány pro parenterální podání (např. injekcí, např. injekcí bolusu nebo kontinuální infuzí) a mohou být ve formě jednotkové dávky v ampulích, předem naplněných injekčních stříkaček, maloobjemové infúze nebo obalu na více dávek s přidaným konzervačním prostředkem. Přípravky mohou být také ve formách např. suspenzí, roztoků nebo emulzí v olejovitých nebo vodných nosičích a mohou obsahovat agens, které dotvářejí formu přípravku, např.

suspendační, stabilizační a/nebo dispergační prostředky. Alternativně může být aktivní složka ve formě prášku, který se získá aseptickou izolací sterilní pevné látky nebo lyofilizací z roztoku, k smíchání s vhodným nosičem, např. sterilní vody bez pyrogenu, před použitím.

Pro místní podání do epidermu jsou sloučeniny obecného vzorce (I) podle předloženého vynálezu připraveny ve formě mastí, krémů nebo lotion nebo transdermálních náplastí, které mohou obsahovat zesilovače penetrace, např. linalool, karvakrol, thymol, citral, menthol a t-anethol. Masti a krémy mohou být např. formulovány s vodnou nebo olejovitou bází za přídavku vhodného zahušťovacího a/nebo gelovacího prostředku. Lotion mohou být připraveny s vodnou nebo olejovitou bází a mohou také obecně obsahovat jeden nebo více emulgačních, stabilizačních, dispergačních, suspendačních, zahušťovacích nebo barvicích prostředků.

Přípravky, které jsou vhodné pro místní podání léku ústy, zahrnují pastilky obsahující aktivní složku v aromatické bázi, obvykle sacharosa a arabská guma nebo traganth; pastilky obsahující aktivní složku v inertní bázi, např. želatině a glycerinu nebo sacharose a arabské gumě; a pro místní podání léku ve formě ústní vody, která obsahuje aktivní složku ve vhodném tekutém nosiči.

Farmaceutické přípravky vhodné pro rektální podání, kde nosič je pevná látka. V dalším provedení je přípravek ve formě rektálních čípků. Vhodné nosiče zahrnují kakaové máslo a jiné běžně používané látky. Rektální čípky mohou být vhodně připraveny smíchání aktivní složky se změkčeným nebo roztaveným nosičem(y), poté zchlazením a tvarováním formy.

Podle jednoho provedení jsou přípravky vhodné pro vaginální podání ve formě pesarů, tamponů, krémů, gelů, past, pěn nebo sprejů obsahujících kromě aktivní složky, např. vhodné nosiče.

V rámci jednoho provedení jsou sloučeniny podle vynálezu pro intranazální podání ve formě tekutých sprejů nebo dispergovatelných prášků nebo kapek. Kapky mohou být připraveny s vodnou nebo bezvodou bází, která také obsahuje prostředky k rozpuštění dispergační nebo suspendační prostředky. Tekuté spreje jsou vhodně v baleních se stlačeným obsahem.

V rámci jednoho provedení jsou sloučeniny podle vynálezu pro podání inhalací podávány z rozprašovače, nebulizátoru nebo v balení se stlačeným obsahem nebo z dalších vhodných prostředků k podání aerosolového spreje. V rámci dalšího provedení obsahují balení se stlačeným obsahem vhodné propelanty, např. dichlordifluormethan, trichlorfluormethan, dichlortetrafluorethan, oxid uhličitý nebo jiný vhodný plyn. V rámci dalšího provedení je jednotková dávka ve stlačeném aerosolu stanovena za předpokladu použití ventilku, který je schopen uvolnit dané množství.

Alternativně, v rámci dalšího provedení jsou sloučeniny obecného vzorce (I) podle předloženého vynálezu ve formě suchého práškového přípravku, např. práškové směsi sloučeniny a vhodné práškové báze, např. laktosy nebo škrobu. V rámci dalšího provedení je přípravek ve formě prášku jako jednotková dávka např. v kapslích nebo zásobnících nebo např. v želatinových nebo měkkých průhledných baleních, ze kterých

může být prášek podáván za pomoci inhalátoru nebo rozprašovače.

V rámci jednoho provedení jsou výše uvedené přípravky přizpůsobeny k poskytnutí postupného uvolňování aktivní složky.

V rámci dalšího provedení je popisováno použití sloučeniny obecného vzorce (I) pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie u hostitele zahrnující podání terapeuticky účinného množství alespoň jedné této sloučeniny obecného vzorce (I) a alespoň jednoho dalšího terapeutického agens, který je vybrán ze skupiny sestávající z chemoterapeutického agens, multiléčivového agens reverzujícího rezistanci a modifikátorů biologické odezvy, pro přípravu farmaceutického přípravku k léčení leukémie.

V rámci dalšího provedení jsou chemoterapeutické agens vybrány ze skupiny sestávající z Asparaginasy, Bleomycinu, Busulfanu; Carmustinu, Chlorambucilu, Cladribinu, Cyklofosfamidu, Cytarabinu, Dacarbazinu, Daunorubicinu, Doxorubicinu, Etoposidu, Fludarabinu, Gemcitabinu, Hydroxyurey, Idarubicinu, Ifosfamidu, Lomustinu, Mechlorethaminu, Melfalanu, Merkaptopurinu, Methotrexatu, Mitomycinu, Mitoxantronu, Pentostatinu, Prokarbazinu, 6-Thioguaninu, Topotecanu, Vinblastinu, Vincristinu, Dexamethasonu, kyseliny retinoové a Prednisonu.

V rámci dalšího provedení jsou chemoterapeutické agens vybrány ze skupiny sestávající z Cytarabinu, Etoposidu, Mitoxantronu, Cyklofosfamidu, kyseliny retinoové, Daunorubicinu, Doxorubicinu a Idarubicinu.

V rámci dalšího provedení jsou chemoterapeutické agens vybrány ze skupiny sestávající z Doxorubicinu.

V rámci dalšího provedení je multiléčivový agens reverzující rezistanci PSC 833.

V rámci dalšího provedení jsou modifikátory biologické odezvy vybrány ze skupiny sestávající z monoklonálních protilátek a cytokinů.

V rámci dalšího provedení jsou cytokiny vybrány ze skupiny sestávající z interferonů, interleukinů a faktorů stimulujících kolonie.

V rámci dalšího provedení jsou modifikátory biologické odezvy vybrány ze skupiny sestávající z Rituxanu, CMA-676, rekombinantního α-Interferonu, Interleukinu-2, Interleukinu-3, Erythropoetinu, Epoetinu, G-CSF, GM-CSF, Filgrastimu, Sargramostimu a Thrombopoietinu.

V rámci dalšího provedení jsou výše uvedené kombinace používány ve formě farmaceutických přípravků obsahujících výše definovanou kombinaci společně s farmaceuticky přijatelným nosičem.

V rámci dalšího provedení jsou jednotlivé komponenty takových kombinací podávány buď postupně nebo najednou v oddělených nebo spojených farmaceutických přípravcích.

V rámci jednoho provedení podle předloženého vynálezu, pokud je sloučenina obecného vzorce (I) nebo její

farmaceuticky přijatelná sůl používána v kombinaci s druhým terapeutickým agens, je dávka každé sloučeniny, v porovnání s podáním pouze samotné sloučeniny, buď stejná nebo rozdílná. Příslušné dávky by měly být snadno stanoveny odbornou veřejností.

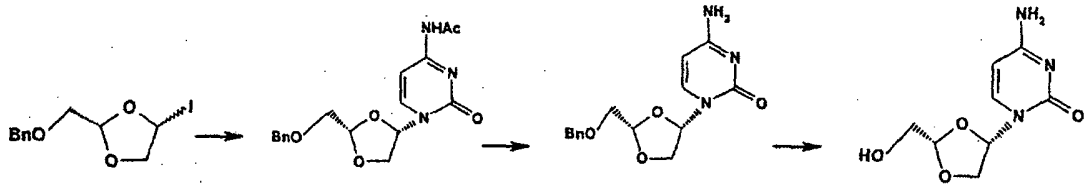
Sloučeniny obecného vzorce (I) podle předloženého vynálezu mohou být připraveny podle následující části.

Příklady uvedené níže mají sloužit k ilustraci různých provedení předloženého vynálezu a nemají nikterak limitovat jeho rozsah.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Příprava β-L-oddC



Sloučenina #1 **Sloučenina #2** **Sloučenina #3** **β-L-OddC**

Sloučenina #1: 2S-Benzyloxymethyl-4R-jod-1,3-dioxolan a 2Sbenzyloxymethyl-4S-jod-1,3-dioxolan

Směs 2S-benzyloxymethyl-4S-acetoxy-1,3-dioxolanu a 2S-benzyloxymethyl-4R-acetoxy-1,3-dioxolanu v poměru 1:2 (6g; 23,8 mmol) byla sušena azeotropickou destilací s toluenem ve vakuu. Po odstranění toluenu byl zbylý olej rozpuštěn v suchém dichlormethanu (60 ml) a při teplotě -78°C za intenzivního míchání byl přidán jodtrimethylsilan (3,55 ml;

1,05 ekviv.). Po přidání byla odstraněna lázeň ze suchého ledu a acetonu směs se nechala ohřát na pokojovou teplotu (15 minut). Měřením ^{1}H NMR byla zjištěna tvorba směsi 2S-benzyloxymethyl-4R-jod-1,3-dioxolanu a 2S-benzyloxymethyl-4S-jod-1,3-dioxolanu.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3,65-4,25 (2H,m); 4,50-4,75 (4H,m) 5,40-5,55 (1H, překrývající se triplety); 6,60-6,85 (1H, d z d); 7,20-7,32 (5H,m).

Sloučenina #2: β-L-5'-Benzyl-2'-deoxy-3'-oxa-*N*-4-acetyl-cytidin

Výše připravený jodový meziprodukt (sloučenina #1) v dichlormethanu byl ochlazen na teplotu -78°C. Persilylovaný *N*-acetylcytosin (1,1 ekviv.), připravený z 1,1,1,3,3,3-hexamethyldisilazanu (HMDS) a síranu amonného za refluxu směsi, byl po odpaření HMDS rozpuštěn v 30 ml dichlormethanu a přidán do jodového meziproduktu. Teplota reakční směsi byla udržována při -78°C po dobu 1,5 hodiny, pak byla nalita do vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a extrahována s dichlormethanem (2 x 25 ml).

Organická fáze byla sušena síranem sodným, pevná látka byla odstraněna filtrací a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua, čímž bylo získáno 8,1 g surové směsi. Na základě ^{1}H NMR bylo zjištěno, že β-L-5'-benzyl-2'-deoxy-3'-oxacytidin a jeho α-L-izomer vznikají v poměru 5:1. Tato surová reakční směs byla separována chromatografií na sloupci silikagelu v systému 5% MeOH v EtOAc, čímž byl získán čistý β-L(*cis*)izomer (4,48 g). Alternativně bylo z rekrystalizace směsi z ethanolu získáno 4,92 g čistého β izomeru a 3,18 g směsi β a α-izomerů v poměru 1:1. ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ

2,20 (3H,S,Ac); 3,87 (2H,m,H-5'), 4,25 (2H,m,H-2'); 4,65 (2H,dd,OCH_2Ph); 5,18 (1H,t,H-4'); 6,23 (1H,m,H-1'); 7,12 (1H,d,H-5); 7,30-7,50 (5H,m,Ph); 8,45 (2H,m,NH+H-6).

Sloučenina #3: β-L-5'-Benzyloxy-2'-deoxy-3'-oxacytidin

Chráněný β-L izomer (4,4 g) (sloučenina #2) byla suspendována v nasyceném methanolickém roztoku amoniaku (250 ml) a míchána při pokojové teplotě po dobu 18 hodin v uzavřené nádobě. Rozpouštědla pak byla odstraněna ve vakuu, čímž byl získán deacetylovaný nukleosid v čisté formě.

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3,85 (2H,m,H-5'); 4,20 (2H,m,H-2'); 4,65 (2H,dd,OCH_2Ph); 5,18 (1H,t,H-4'); 5,43 (1H,d,H-5); 5,50-5,90 (2H,br,S,NH_2); 6,28 (1H,m,H-1'); 7,35-7,45 (SH,m,Ph); 7,95 (1H,d,H-6).

Sloučenina #4;β-L-OddC

β-L-5'-Benzyl-2'-deoxy-3'-oxacytidin (sloučenina #3) byl rozpuštěn v EtOH (200 ml), poté byl přidán cyklohexen (6 ml) a oxid palladia (0,8 g). Reakční směs byla refluxována po dobu 7 hodin, pak byla ochlazena a filtrována kvůli odstranění pevného podílu. Rozpouštědla byla odstraněna z filtrátu vakuovou destilací. Surový produkt byl čištěn zrychlenou chromatografií na sloupci silikagelu v systému 5% MeOH v EtOAc, čímž byla získána bílá pevná látka (β-L-OddC)(2,33 g; 86% celkový výtěžek, α_D^{22} = -46,7° (c = 0,285; MeOH) Teplota tání = 192 - 194°C). ^1H NMR (300 MHz,DMSO-d_6) δ 3,63 (2H,dd,H-5'); 4,06 (2H,m,H-2'); 4,92 (1H,t,H-4'); 5,14 (1H,t,OH); 5,70 (1H,d,H-5); 6,16 (2H,dd,H-1'); 7,11-7,20 (2H,brS,NH_2); 7,80 (1H,d,H-6). ^{13}C NMR (75 MHz,DMSO - d_6) δ 59,5 (C-2'); 70,72 (C-5'); 81,34 (C-4'); 93,49 (C-1'); 104,49 (C-5); 140,35 (C-4); 156,12 (C-6); 165,43 (C-2).

Příklad 2

Stanovení β-L-oddC u pacientů s pokroučilo leukémií

Studie se týkala ošetření pacientů s pokročilou leukémií, které byly dříve podrobeni léčbě s Citarabinem (Ara-C). Předešlá léčba s Ara-C byla neúspěšná z hlediska zastavení progrese onemocnění. Dvanáct pacientů bylo podrobeno počáteční léčbě zahrnující podání dávek 0,72 mg/m^2 (4 pacienti), 1,08 mg/m^2 (5 pacientů), 1,62 mg/m^2 (3 pacienti) ve formě infúze po dobu 30 minut v 5 následných dnech. Pět pacientů bylo podrobeno druhé léčbě zahrnující podávání dávek 1,08 mg/m^2 (3 pacienti), 1,62 mg/m^2 (2 pacienti) po dobu 5 následujících dnů výše uvedeným způsobem. Jeden pacient byl podroben třetí léčbě zahrnující podávání 2,43 mg/m^2 denní dávky po dobu 5 následujících dnů. Čtyři pacienti (dvěma bylo podáno 1,08 mg/m^2 a druhým dvěma 1,62 mg/m^2) vykazovali dočasné snížení periferní krve a blastů kostní dřeně. Z těchto čtyřech pacientů měli tři akutní myeloidní leukémii a jeden chronickou myeloigní leukémii.

Příklad 3

Studie účinku kombinace β-L-OddC a Doxorubicinu na xenoimplantátovém modelu lidské leukémie

Studie byla provedena za účelem stanovení synergistických nebo aditivních terapeutických účinků β-L-OddC v kombinaci s Doxorubicinem, který je v současné době používán jako protirakovinové agens. Použitý model zahrnoval samičí SCID myš, která byla do břišní oblasti inokulována (i. p.) 15 x 10^6 HL60 buňkami v logaritmické fázi růstu, což bylo stanoveno jako den 0 experimentu. S podáváním

protirakovinového léčiva se začalo v 10 den po inokulaci buněčného nádoru.

Pro testování samotného β-L-oddC, Doxorubicinu a kombinace β-L-oddC a Doxorubicinu bylo používáno 10 zvířat v jedné skupině.

Každé skupině byla podána samotná léčiva nebo jejich kombinace intravenózně jednou denně po následujících 5 dnů.

Nárůst času přežití byl vypočten ze střední hodnoty přežití skupiny 2 až 6, jenž koresponduje s dnem, ve kterém zemřelo 5 myší, střední hodnoty času přežití kontrolní skupiny 1 a násobením 100.

V tabulce I níže jsou uvedeny jednotlivé hodnoty, ze kterých vyplývá, že nejlepší způsob léčení je při použití kombinace β-L-oddC a Doxorubicinu v dávce 2 mg/kg. Tato kombinace léčiv prodlužuje dobu přežití myší podstatným způsobem v porovnání se samotným β-L-oddC a Doxorubicinem.

Tabulka I

Studie účinku kombinace β-L-OddC a Doxorubicinu na xenoimplantátovém modelu lidské leukémie

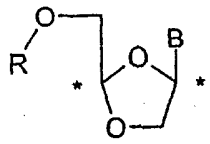
Skupina	Kombinace	Nárůst času přežití
1	Fyziologický roztok i.p.	
2	β-L-OddC 1 mg/kg	55%
3	Doxorubicin 0,2 mg/kg	25%
4	β-L-OddC 1 mg/kg + Doxorubicin 0,2 mg/kg	55%
5	Doxorubicin 2 mg/kg	50%
6	β-L-OddC 1 mg/kg + Doxorubicin 2 mg/kg	100%

03.10.01

PV 2001-3483

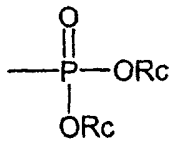
Patentové nároky

1. Použití sloučeniny obecného vzorce (I)



(I)

kde B je cytosin nebo 5-fluorcytosin a substituent R je vybrán ze skupiny sestávající z atomu vodíku, monofosfátu, difosfátu, trifosfátu, karbonylu substituovaného alkylovou skupinou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou skupinou s 2 až 6 atomy uhlíku, alkynylovou skupinou s 2 až 6 atomy uhlíku, arylovou skupinou s 6 až 10 atomy uhlíku a



kde každý substituent Rc je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z atomu vodíku, alkylové skupiny s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylové skupiny s 2 až 6 atomy uhlíku, alkynylové skupiny s 2 až 6 atomy uhlíku a skupiny chránicí hydroxy funkci; a

kde uvedená sloučenina je podstatně ve formě (-) enantiomeru

pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie u pacienta, který trpí chronickou myeloidní leukémií nebo akutní myeloidní leukémií.

2. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 1 pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie u pacienta, který byl již dříve podroben léčbě s Ara-C.

3. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 2, kde substituent R je atom vodíku, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

4. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 2, kde B je cytosin, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

5. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 2, kde substituent R je atom vodíku a B je cytosin, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

6. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 4, kterážto sloučenina obecného vzorce (I) je alespoň z 95 % bez odpovídajícího (+) enantiomeru, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

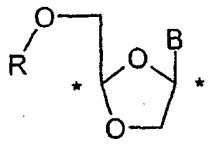
7. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 4, kterážto sloučenina obecného vzorce (I) je alespoň z 97 % bez odpovídajícího (+) enantiomeru, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

8. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 4, kterážto sloučenina obecného vzorce (I) je alespoň z 99 % bez odpovídajícího (+) enantiomeru, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

9. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 2 pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení chronické myeloidní leukémie.

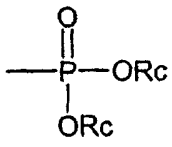
10. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 2 pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení akutní myeloidní leukémie.

11. Použití sloučeniny obecného vzorce (I)



(I)

kde B je cytosin nebo 5-fluorcytosin a substituent R je vybrán ze skupiny sestávající z atomu vodíku, monofosfátu, difosfátu, trifosfátu, karbonylu substituovaného alkylovou skupinou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou skupinou s 2 až 6 atomy uhlíku, alkynylovou skupinou s 2 až 6 atomy uhlíku, arylovou skupinou s 6 až 10 atomy uhlíku a



,

kde každý substituent Rc je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z atomu vodíku, alkylové skupiny s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylové skupiny s 2 až 6 atomy uhlíku, alkynylové skupiny s 2 až 6 atomy uhlíku a skupiny chránicí hydroxy funkci; a

kde uvedená sloučenina je podstatně ve formě (-) enantiomeru,

v kombinaci s doxarobicinem,

pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

12. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 11 pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení chronické myeloidní leukémie.

13. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 11 pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení akutní myeloidní leukémie.

14. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 11, v kombinaci s činidlem revertujícím rezistenci vůči více léčivům nebo modifikátorem biologické odezvy, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

15. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 14, v kombinaci s PSC 833 jako činidlem revertujícím rezistenci vůči více léčivům, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

16. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 14, v kombinaci s monoklonální protilátkou nebo/a cytokinem, jako modifikátorem biologické odezvy, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

17. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 14, v kombinaci s interferonem, interleukinem nebo/a faktorem stimulujícím kolonie, jako modifikátorem biologické odezvy, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

18. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 14, v kombinaci s Rituxanem, CMA-676, rekombinantním α-Inter-

feronem, Interleukinem-2, Interleukinem-3, Erythropoetinem, Epoetinem, G-CSF, GM-CSF, Filgrastimem, Sargramostimem nebo/a Thrombopoietinem, jako modifikátorem biologické odezvy, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie.

19. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 11, v kombinaci s doxorubicinem, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie pro postupné podávání sloučeniny obecného vzorce (I) a doxorubicinu.

20. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 11, v kombinaci s doxorubicinem, pro přípravu farmaceutického prostředku k léčení leukémie pro současné podávání sloučeniny obecného vzorce (I) a doxorubicinu.