

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **015933**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2011.12.30

(51) Int. Cl. **A61K 31/4745 (2006.01)**
A61P 35/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
201070193

(22) Дата подачи заявки
2008.07.03

(54) ЛЕЧЕНИЕ ДЕТСКИХ ОПУХОЛЕЙ

(31) **07113603.0**

(32) **2007.08.01**

(33) **EP**

(43) **2010.06.30**

(86) **PCT/EP2008/058601**

(87) **WO 2009/015981 2009.02.05**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**СИГМА-ТАУ ИНДУСТРИЕ
ФАРМАСЬЮТИКЕ РИУНИТЕ С.п.А.
(IT)**

(56) EP-A-1044977

SHITARA TOSHIJI ET AL.: "Irinotecan for children with relapsed solid tumors." PEDIATRIC HEMATOLOGY AND ONCOLOGY MAR 2006, vol. 23, no. 2, March 2006 (2006-03), pages 103-110, XP008086961 ISSN: 1521-0669 page 10.4, paragraph 2-4 page 106, paragraph 2; table 2 page 107, last paragraph - page 109, paragraph 3

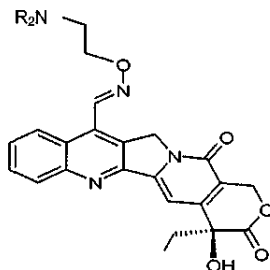
WO-A-2007/071603

WO-A-2008/098701

(72) Изобретатель:
**Пизано Клаудио, Веша Лоредана,
Карминати Паоло (IT)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) В изобретении раскрыт подкласс производных камптотецина, применимых для получения лекарственного средства, предназначенного для лечения опухолей у детей, например рабдомиосаркомы, примитивных нейроэктодермальных опухолей (PNET) и нейробластомы. В частности, предложено применение соединения формулы (I)



(I)

где R представляет собой водород или C₁-C₄ алкил.

B1

015933

015933

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к применению подкласса производных камптотецина с целью получения лекарственных средств, предназначенных для лечения детских опухолей, например рабдомиосаркомы, примитивных нейроэктодермальных опухолей (PNET) и нейробластомы.

Предпосылки изобретения

Производные камптотецина являются ингибиторами ДНК-топоизомеразы I, которые проявили себя в качестве выдающегося класса противораковых агентов. Наряду с таксанами, ингибиторы топоизомеразы I предположительно являются наиболее важным новым классом противораковых средств, внедренных в клиническую практику. Доклинические исследования продемонстрировали значительную *in vitro* и *in vivo* активность против широкого ряда опухолей ингибиторов топоизомеразы I, таких как камптотецин и его производные. Результаты клинических испытаний оказались многообещающими, что подтверждено регистрацией двух ингибиторов топоизомеразы, а именно топотекана и иринотекана (известного также как CPT-11), во многих европейских странах и США для лечения пациентов с раком яичников и колоректальным раком, соответственно. Другие производные в настоящее время находятся на различных стадиях клинических исследований.

В заявке на патент EP1044977 и в J. Med. Chem.2001, 44, 3264-3274 описаны производные камптотецина, в молекулах которых в положении 7 содержится фрагмент О-замещенного алкилоксиа, и которые обладают противоопухолевой активностью, превышающей активность эталона топотекана. Кроме того, эти производные камптотецина, содержащие иминогруппу в положении 7, также демонстрируют более высокий терапевтический индекс. Было показано, что среди этих соединений одной из предпочтительных молекул является 7-т-бутоксииминометилкамптотецин (CPT 184, известный также, как ST1481 или гиматекан).

Хотя процент ежегодной смертности от детского рака снижался два последних десятилетия, доля смертности от опухолей центральной нервной системы на одинаковое число заболевших раком детей увеличилась с 18 до 30 процентов. Причины опухолей мозга у детей по большей части неизвестны. Хотя действие радиации является хорошо известным фактором риска возникновения опухолей мозга, в случае детей неясна роль других токсинов, присутствующих в окружающей среде. Менее 5 процентов случаев опухолей мозга у детей связаны с известными генетическими заболеваниями, например нейрофиброматозом - распространенным генетическим состоянием, связанным с ростом доброкачественной опухоли нервной ткани (Serletis D, Parkin P, Bouffet E, Shroff M, Drake JM, Rutka JT J.Neurosurg. 2007 106:363-7).

Хотя лишь 1 процент детских опухолей мозга обнаруживается при рождении или в первые несколько месяцев жизни, значительное число случаев диагностируется до пяти лет, что наводит на мысль о дефектах развития. В качестве факта, в последнее время в эмбриональных опухолях были выявлены дефекты в сигнальных путях роста.

Традиционно диагноз "рак мозга" устанавливает патоморфолог, который исследует образцы тканей под микроскопом. При визуальном исследовании клеток мозга (гистологии) патоморфолог может определить тип опухоли (Miller CR, Perry A Arch Pathol Lab Med. 2007 131: 397-406). Недостаток этой практики заключается в том, что многие опухоли мозга имеют сходную гистологию, хотя в реальности они являются весьма различными опухолями со значительно различающимися прогнозами и реакциями на лечение. Некоторые дети, которым был поставлен диагноз "медуллобластома", хорошо реагировали на лечение, тогда как другие дети - нет. Вследствие этого, классификация опухолей движется в направлении использования молекулярных характеристик для более точной классификации и определения типов опухолевых тканей (Sardi I, Cavalieri D, Massimino M Paediatr Drugs, 2007, 9:81-96).

Помимо запутанной классификации опухолей, в прошлом считалось, что детские опухоли подобны опухолям взрослых. Однако современные исследования выявили, что опухоли мозга у детей сильно отличаются с биологической точки зрения от аналогичных заболеваний у взрослых. Одним из примеров является опухоль, именуемая фибриллярной астроцитомой, т.е. опухоль, которая встречается как у детей, так и у взрослых (Collins Nat Clin Pract Oncol. 2007 4: 362-74).

С биологической точки зрения опухоли ведут себя совершенно по-разному, даже несмотря на то, что они одинаково выглядят под микроскопом. У детей это заболевание редко становится высокодифференцированной опухолью в детском возрасте, тогда как у взрослых оно может превратиться в высокодифференцированную опухоль.

Эти наблюдения затем подтвердились современными исследованиями молекулярных маркеров. Мутации в конкретных генах, которые вызывают заболевание у взрослых, могут не являться причиной заболевания у детей. Будущие исследования должны предоставить продуктивные возможности для обнаружения мишеней лекарственных средств и соответствующих видов лечения, нацеленных на эти молекулярные мишени.

Применение хирургии при лечении детских опухолей мозга является прочно установившейся практикой, но необходимы более эффективные способы лечения. Различные методики визуализации применялись для неинвазивной оценки состояния и лечения опухолей у детей, что избавляло от необходимости получать повторные биопсии одной и той же опухоли. Успехи, достигнутые в совершенствовании хирургического удаления опухолей мозга, также могут быть отнесены на счет улучшения технологий визуализации.

зации (Khatua S, Jalali R *Pediatr Hematol Oncol.* 2005 22:361-71). В настоящее время хирурги лучше могут определить положение опухоли и оценить ее границы, удаляя меньшее количество здоровой ткани мозга. Это является значительным достижением, поскольку существует непосредственная корреляция между объемом резекции опухоли и выживаемостью при некоторых видах опухолей мозга у пациентов детского возраста. Улучшение методик визуализации привело также к успехам в разработке методик радиационной терапии (Greco C, Wolden S, *Cancer*, 2007, 109: 1227-38). Помимо информации о размере и местоположении опухоли, методики визуализации представляют также данные для оценки биохимического профиля опухоли. Исследования показали, что изменения соотношений некоторых биохимических компонентов опухоли могут помочь онкологу в установлении факта, является ли опухоль активно растущей (Chen L, Madura K, *Cancer Res.*, 2005, 65:5599-606; Chung TD, Broaddus WC *Mol Interv.* 2005 5:15-9). Эти результаты могли бы помочь в выборе агрессивного или менее жесткого режима лечения.

Кроме того, с помощью визуализации исследуют поток крови к опухоли и тканям мозга. Оценка изменений количества крови, поступающей к тканям мозга, является важной для оценки эффективности антиангиогенных лекарственных препаратов. Эти препараты не нацелены непосредственно на опухоль, но действуют на клетки, выстилающие кровеносные сосуды, которые поддерживают рост опухоли. Размер опухоли может не сокращаться, но уменьшение числа кровеносных сосудов, окружающих опухоль является значительным достижением (Kieran MW J. *Neurooncol.*, 2005, 75: 327-34; Kibble A. *IDrugs.*, 2007 10: 5-7). Антиангиогенные препараты вероятнее всего будут комбинироваться с другими агентами, нацеленными непосредственно на опухоль. В настоящее время эти агенты проходят отдельное тестирование на безопасность.

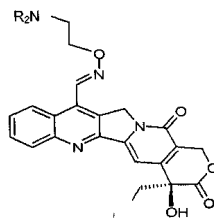
Нейробластома является одной из наиболее распространенных внечерепных солидных опухолей в детском возрасте с неблагоприятным прогнозом для развитых стадий. Неудачное лечение часто связано с появлением устойчивости к лекарственным препаратам. До сегодняшнего дня результаты лечения нейробластомы у детей все еще являются удручающими, и следовательно предстоит разработка новых эффективных лекарственных средств (Gutierrez JC, Fisher AC, Sola JE, Perez EA, Romans LG *Pediatr Surg Int.*, 2007, 23:637-46). Рабдомиосаркома является наиболее распространенной саркомой мягких тканей в детском возрасте, охватывая 5% всех случаев рака у детей (M. Beth McCarville, Sheri L. Spunt and Alberto S. Pappo *AJR*, 2001; 176:1563-1569). Полагают, что эта опухоль развивается из недифференцированных мезенхимных клеток, вовлеченных в дифференцировку скелетных мышц, и она может возникать в ряде органов и тканей, включая те, в которых отсутствуют поперечно-полосатые мышцы.

Примитивные нейроэктодермальные опухоли (PNETs) развиваются из примитивных или недифференцированных нейроэпителиальных клеток с первых этапов развития нервной системы. PNET задней черепной ямки или медуллобластома является наиболее распространенной опухолью мозга у детей. В 80% случаев, у пациентов с PNETs развивается острая гидроцефалия, сопровождаемая сильными симптомами головной боли и рвоты, и необходимо немедленное удаление опухоли (de Bont JM, den Boer ML, Kros JM, Passier MM, Reddingius RE, Smitt PA, Luiders TM, Pieters R. *J. Neuropathol Exp Neurol.* 2007, 66:505-516).

Описание изобретения

В настоящем изобретении неожиданно было обнаружено, что два производных камптотецина демонстрируют превосходную эффективность по сравнению с эталонным соединением (иринотеканом) в уменьшении объема опухоли (TVI%) на примере широкого спектра ксенотрансплантатов детских опухолей *in vivo*. Кроме того, данный способ лечения хорошо переносится животными без признаков острой или долговременной токсичности.

В частности, основным объектом настоящего изобретения является применение соединения формулы (I)



(I)

где R представляет собой водород или C₁-C₄ алкил, для получения лекарственного средства, предназначенного для лечения детских опухолей, как, например, рабдомиосаркомы, примитивных нейроэктодермальных опухолей (PNET) и нейробластомы.

Соединения формулы (I) включают также таутомеры, геометрические изомеры, оптически активные формы, такие как энантиомеры, диастереомеры и рацемические формы, а также фармацевтически приемлемые соли соединений формулы (I).

Предпочтительными фармацевтически приемлемыми солями соединений формулы (I) являются ки-

слотно-аддитивные соли, образованные фармацевтически приемлемыми кислотами, как, например, гидроклорид, гидробромид, сульфат или бисульфат, фосфат или гидрофосфат, ацетат, бензоат, сукцинат, фумарат, малеат, лактат, цитрат, тартрат, глюконат, метансульфонат, бензолсульфонат и паратолуолсульфонат.

R предпочтительно является водородом или метилом.

Предпочтительными соединениями формулы (I) являются: 7-(2-амино)этоксиинометилкамптотецин (ST1968, известный также как CPT188) и 7-(2-диметиламино)этоксиинометилкамптотецин (ST1969).

Соединения формулы (I) могут быть получены из легкодоступных исходных веществ, с применением упомянутых ниже общих способов и методик. Следует иметь в виду, что если приведены типовые или предпочтительные условия синтеза (т.е. температуры реакций, время, мольное количество реагентов, растворители и т.д.), также могут использоваться другие условия эксперимента, если специально не указано иное. Оптимальные условия реакции могут меняться в зависимости от конкретных применяемых реагентов или растворителей, но эти условия могут быть определены специалистом в данной области техники с помощью стандартной методики оптимизации. Конкретная ссылка осуществляется на способы, описанные в заявке на патент EP1044977 и в J. Med. Chem. 2001, 44, 3264-3274.

Одним из аспектов настоящего изобретения является способ лечения пациента, страдающего опухолевым заболеванием, выбранным из группы, состоящей из рабдомиосаркомы, примитивных нейроэктодермальных опухолей (PNET) и нейробластомы, включающий введение терапевтически эффективного количества описанного выше соединения формулы (I).

Термин "терапевтически эффективное количество" в настоящем описании относится к количеству терапевтического агента, необходимому для лечения или облегчения течения целевого заболевания или состояния, или для проявления заметного терапевтического эффекта.

Для любых соединений терапевтически эффективная доза может быть первоначально определена либо при исследовании на клеточных культурах, например культурах неопластических клеток, либо на животных моделях, как правило мышах или крысах.

Животная модель может также использоваться для определения подходящего диапазона концентраций и пути введения. Эта информация может быть использована для определения применимых дозировок и путей введения у людей.

Точное эффективное количество для субъекта из числа людей будет зависеть от тяжести болезненного состояния, общего состояния здоровья субъекта, возраста, веса и пола субъекта, рациона питания, времени и частоты введения, комбинации (комбинаций) лекарственных средств, чувствительности реакции и переносимости/отклика на лечение. Это количество можно установить проведением стандартных экспериментов, его определение находится в рамках компетенции клинического врача. Как правило, эффективная дозировка будет составлять от 0,01 до 100 мг/кг, предпочтительно от 0,05 до 50 мг/кг. Композиции могут вводиться пациенту индивидуально либо в комбинации с другими агентами, лекарственными препаратами или гормонами.

Лекарственное средство по настоящему изобретению может также содержать фармацевтически приемлемый носитель для введения терапевтического агента. Такие носители включают антитела и другие полипептиды, гены и терапевтические агенты, такие как липосомы, при условии, что носитель сам по себе не вызывает выработку антител, которые вредны для пациента, принимающего композицию, и его можно вводить без неприемлемой токсичности.

Подходящие носители могут представлять собой медленно метаболизируемые макромолекулы значительного размера, например белки, полисахариды, полимолочные кислоты, полигликолевые кислоты, полимерные аминокислоты, сополимеры аминокислот и неактивные вирусные частицы.

Детальное обсуждение фармацевтически приемлемых носителей приведено в Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub.Co., N.J.1991).

Фармацевтически приемлемые носители в терапевтических композициях могут дополнительно содержать жидкости, например воду, солевой раствор, глицерин и этанол. Кроме того, в таких композициях могут присутствовать вспомогательные вещества, такие как смачивающие или эмульгирующие агенты, pH буферные вещества и т.п. Такие носители дают возможность придавать фармацевтической композиции форму таблеток, пилюль, драже, капсул, жидкостей, гелей, сиропов, взвесей, суспензий и т.п. для приема пациентом.

После получения композиции по настоящему изобретению можно вводить непосредственно субъекту. Подвергаемыми лечению субъектами могут являться животные; в частности можно лечить субъектов из числа людей детского возраста.

Лекарственный препарат по настоящему изобретению можно вводить разнообразными путями, включая, но не ограничиваясь этим, пероральный, внутривенный, внутримышечный, внутриартериальный, интрамедуллярный, интратекальный, интравентрикулярный, трансдермальный или чрескожный, подкожный, интраперитонеальный, интраназальный, энтеральный, местный, сублингвальный, интравагинальный, ректальный способы или местное нанесение на пораженную ткань после хирургической операции.

Применяемое при лечении количество препарата можно вводить в виде одной дозы или в виде нескольких доз по соответствующему расписанию.

Далее изобретение будет более подробно проиллюстрировано с помощью не ограничивающих примеров.

Примеры

Противоопухолевая активность *in vivo* на примере моделей ксенотрансплантатов различных детских опухолей.

Оценивали противоопухолевое действие на примере моделей различных детских опухолей: SK-ND-AS (нейробластома), PSFK (примитивная нейроэктодермальная опухоль/PNET); TE-671 (рабдомиосаркома). ST 1968 оценивали в сравнении с CPT-11 (иринотеканом) при внутривенном введении 30 мг/10 мл/кг для ST 1968 и 50 мг/10 мл/кг для CPT-11 по расписанию q4dx4.

Методики

Клетки экспоненциально растущей опухоли подкожно вводили голым бестимусным мышам. Количество опухолевых клеток было предварительно подобрано на основании кривой роста. Мышей поселяли в клетки из макролона (33,2×15×13 см) с крышкой лотка для кормления из нержавеющей стали и подстилкой из стерилизованных и беспыльных комков. Животных содержали в условиях цикла чередования света и темноты, поддерживали постоянную температуру и влажность. Параметры комнат, где содержались животные, были следующими: температура 22±2°C, относительная влажность 55±10%, замена воздуха на фильтрованный примерно 15-20 раз/ч и 12-часовой суточный цикл искусственного света (7 a.m., 7 p.m.). По запросу условия содержания отслеживались и данные сохранялись в Animal Housing Archives. Питьевую воду давали без ограничений. Каждой мыши в течение всего исследования ежедневно предлагали полноценный гранулированный корм (GLP 4RF21, Mucedola). Сертификаты анализа пищи и воды животных сохраняли в помещениях компании Sigma-Tau. Всех животных взвешивали до начала эксперимента и делили на группы по количеству вводимых препаратов.

Каждую клетку снабжали бумажной этикеткой, содержащей следующие сведения: номер клетки, группа, дата введения опухолевых клеток, дата начала введения препарата, наименование тестируемого препарата, доза и путь введения, дата умерщвления. За ростом опухоли следили путем измерения диаметра опухоли два раза в неделю с помощью штангенциркуля Vernier. Объем опухоли (TV, мм³), вычисляли по формуле: [длина (мм) × ширина (мм)]²/2, где ширина и длина представляли собой соответственно наименьший и наибольший диаметр каждой опухоли.

Эффективность действия лекарственного препарата оценивали по ингибированию объема опухоли (TVI%) у мышей, получавших препарат, по сравнению с контрольными, рассчитанному по формуле: 100-[(средний объем опухоли у животного, получавшего препарат/средний объем опухоли у контрольного животного) × 100]. Токсичность введения препарата определяли как: потеря массы тела в процентах (%BWL max) = 100-(средняя BW_{день x}/средняя BW_{день 1} × 100), где BW_x представляет собой среднюю массу тела в день наибольшей потери массы за время введения препарата и BW₁ означает среднюю массу тела в первый день введения препарата.

Результаты

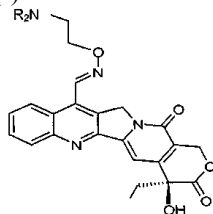
В исследованиях *in vivo*, ST1968 продемонстрировал замечательную противоопухолевую активность с заметной долей случаев полной регрессии опухоли во всех моделях по сравнению с CPT-11. Наиболее впечатляющее противоопухолевое действие наблюдалось в моделях PNET и рабдомиосаркомы, что подтверждалось высокой долей полной ремиссии: ингибирование объема опухоли (TVI) составляло 99 или 100% соответственно (табл. 1). Интересно отметить, что введение ST1968 в основном хорошо переносилось мышами, без признаков острой или долговременной токсичности.

Таблица 1. Противоопухолевая активность ST1968 на примере моделей ксенотрансплантатов детских опухолей

Опухоль	Линия клеток	Соединение	Доза (мг/кг)	Способ введения	TVI%
Рабдомиосаркома	TE-671	ST 1968	30	q4dx4	99
		иринотекан	50	q4dx4	73
Примитивная нейроэктодермальная опухоль (PNET)	PSFK	ST 1968	30	q4dx4	100
		иринотекан	50	q4dx4	95
Нейро-бластома	SK-N-AS	ST 1968	30	q4dx4	98
		иринотекан	50	q4dx4	91

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения формулы (I)



(I)

где R представляет собой водород или C₁-C₄ алкил, для получения лекарственного средства, предназначенного для лечения опухолей у детей.

2. Применение по п.1, где R представляет собой водород или метил.

3. Применение по п.1 или 2, где детские опухоли представляют собой карциномы органов головы и шеи, выбранные из группы, включающей рабдомиосаркому, примитивные нейроэктодермальные опухоли (PNET) и нейробластому.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2