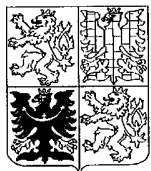


PŘÍHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **24.09.1998**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **26.09.1997**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/938144**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.07.2000**
(Věstník č. 7/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/US98/20111**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/15530**

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 1014

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 498/08

A 61 K 31/395

A 61 P 31/00

/(C 07 D 498/08, C 07 D 331:00, C 07 D
273:00, C 07 D 221:00)

(71) Přihlašovatel:

ABBOTT LABORATORIES, Abbott Park, IL, US;

(72) Původce:

Mollison Karl W., Arlington Heights, IL, US;

(74) Zástupce:

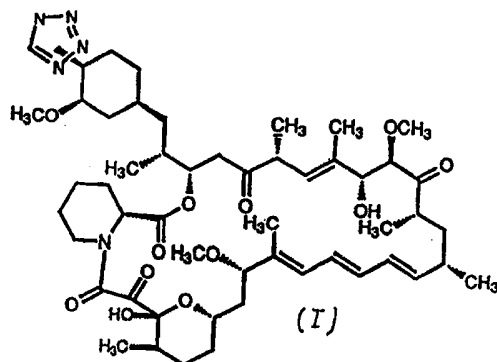
Guttmann Michal JUDr. Ing., Nad Štolou 12, Praha 7,
17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Analogy rapamycinu obsahující tetrazol se
zkráceným poločasem rozpadu**

(57) Anotace:

Sloučenina mající vzorec I nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo její prolečivo je imunomodulační činidlo a je užitečná při léčbě restenózy a imunních a autoimunních nemocí. Rovněž jsou popsány kompozice inhibující rakovinu, fungální růst, restenózu, postransplantační rejekci tkáně a imunitní a autoimunitní nemoci a způsob inhibice rakoviny, fungálního růstu, restenózy, postransplantační rejekce tkáně a imunitních a autoimunitních nemocí u savců, s minimálními vedlejšími účinky.



Analogy rapamycinu obsahující tetrazol se zkrácenými poločasy

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká nových chemických sloučenin majících imunomodulační aktivitu a syntetických meziproduktů použitelných k přípravě nových sloučenin a zejména makrolidových imunomodulátorů. Zejména se vynález týká semisyntetických analogů rapamycinu, způsobů jejich přípravy, farmaceutických prostředků které obsahují takové sloučeniny a způsobů léčby, které je využívají.

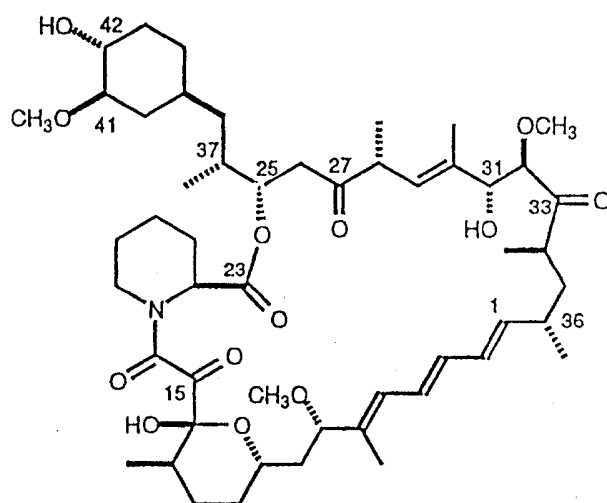
Dosavadní stav techniky

Sloučenina cyklosporin (cyklosporin A) nalezla od svého zavedení do oblasti transplantací orgánů a imunomodulace široké použití a přinesla podstatné zvýšení úspěšnosti transplantačních postupů. Nedávno bylo objeveno několik tříd makrocyklických sloučenin, které mají silnou imunomodulační aktivitu. Okuhara a kol. v Evropské patentové přihlášce č. 184 162, publikované 11. 6. 1986, popisuje řadu makrocyklických sloučenin izolovaných z rodu *Streptomyces*, zahrnujících imunosupresivum FK-506, 23-členný makrocyklický lakton, který byl izolován z kmene *S. tsukubaensis*.

Další příbuzné přirozené produkty, jako jsou FR-900520 a FR 900523, které se liší od FK-506 v alkylovém substituentu v poloze C-21, byly izolovány z *S. hygroscopicus yakushimnaensis*. Další analog, FR-900525 produkovaný *S. tsukubaensis*, se liší od FK-506 v náhradě části pipekolinové kyseliny prolinovou skupinou. Neuspokojivé vedlejší účinky spojené s cyklosporinem a FK-506, jako je nefrotoxicita, vedou k nepřetržitému výzkumu imunosupresivních sloučenin majících zlepšenou účinnost a bezpečnost, zahrnujících imunosupresivní činidlo, které je účinné topicky, ale neúčinné systémově (U.S. patent č. 5 457 111).

Rapamycin je makrocyklické trienové antibiotikum produkované *Streptomyces hygroscopicus*, o kterém bylo zjištěno, že má antifungální účinnost, zejména proti *Candida albicans*, jak in vitro, tak in vivo (C. Vezina a kol., *J. Antibiot.* 1975, 28, 721;

S.N. Sehgal a kol., *J. Antibiot.* 1975, 28, 727; H. A. Baker a kol., *J. Antibiot.* 1978, 31, 539; U.S. patent č. 3 929 992; a U.S. patent 3 993 749).



Rapamycin

Bylo ukázáno, že rapamycin samotný (U.S. patent 4 885 171) nebo v kombinaci s picibanilem (U.S. patent č. 4 401 653) má protirakovinovou účinnost. V roce 1977 bylo uvedeno, že je také účinný jako imunosupresor v experimentálním modelu alergické encefalomyelitidy, modelu násobné sklerózy; v modelu adjuvanční artritidy, modelu revmatické artritidy; a bylo rovněž ukázáno, že je účinný inhibovat tvorbu protilátek podobných IgE (R. Martel a kol., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1977, 55, 48).

Imunosupresivní účinky rapamycinu jsou rovněž popsány v FASEB 1989, 3, 3411, stejně jako byla popsána jeho schopnost prodlužovat životnost transplantovaných orgánů u histoinkompatibilních hlodavců (R. Morris, *Med. Sci. Res.*, 1989, 17, 877). Schopnost rapamycinu inhibovat aktivaci T-buněk byla popsána M. Strauchem (FASEB, 1989, 3, 3411). Přehled o těchto a jiných biologických účincích rapamycinu je uveden v *Transplantation Reviews*, 1992, 6, 39-87).

O derivátech monoesterů a diesterů rapamycinu (esterifikace v poloze 31 a 42) se uvádí, že jsou užitečné jako antifungální činidla (U.S. patent č. 4 316 885) a jako ve vodě rozpustná proléčiva rapamycinu (U.S. patent 4 650 803).

Fermentace a čištění rapamycinu a 30-demethoxy rapamycinu jsou popsány v literatuře (C. Vezina a kol. *J. Antibiot.* (Tokyo), 1975, 28(10), 721; S. N. Sehgal a kol. *J. Antibiot.* (Tokyo), 1975, 28 (10), 727; 1983, 36(4), 351; N. L. Pavia a kol, *J. Natural Products*, 1991, 54(1), 167-177).

Byla zkoušena řada chemických modifikací rapamycinu. Tyto modifikace zahrnují přípravu mono- a diesterových derivátů rapamycinu (WO 92/05179), 27-oximů rapamycinu (EP 467606); 42-oxo analogů rapamycinu (U.S. patent č. 5 023 262); bicyklických rapamycinů (U.S. patent č. 5 120 725); dimerů rapamycinu (U.S. patent č. 5 120 727); silyletherů rapamycinu (U.S. patent č. 5 120 842); a arylsulfonátů a sulfamátů (U.S. patent č. 5 177 203). Rapamycin byl nedávno připraven ve své v přírodě se vyskytující enantiomerní formě (K. C. Nicolau a kol. *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115, 4419-4420; S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115, 7906-7907; S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115, 9345-9346).

Je známo, že se rapamycin, podobně jako FK-506 váže k FKBP-12 (Siekierka, J. J.; Hung, S. H. Y.; Poe, M.; Lin, C. S.; Sigal, N. H. *Nature*, 1989, 341, 755-757; Harding, M. W.; Galat, A.; Uehling, D. E.; Schreiber, S. L. *Nature* 1989, 341, 758-760; Dumont, F. J.; Melino, M. R.; Staruch, M. J.; Koprak, S. L.; Fischer, P. A. ; Sigal, N. H., *J. Immunol.* 1990, 144, 1418-1424; Bierer, B. E.; Schreiber, S. L.; Burakoff, S. J. *Eur. J. Immunol.* 1991, 21, 439-445; Fretz, H.; Albers, M. W.; Galat, A.; Standaert, R.F.; Lane, W. S.; Burakoff, S. J.; Bierer, B. E.; Schreiber, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 1409-1411). Nedávno bylo objeveno, že komplex rapamycin/FKBP-12 se váže ještě k dalšímu proteinu, který je odlišný od calcineurinu, proteinu, který komplex FK-506/FKBP-12 inhibuje (Brown, E. J.; Albers, M. W.; Shin, T. B.; Ichikawa, K.; Keith, C. T.; Lane, W. S.; Schreiber, S. L. *Nature* 1994, 369, 756-758; Sabatini, D. M.; Erdjument-Bromage, H.; Lui, M.; Tempest, P.; Snyder, S. H. *Cell*, 1994, 78, 35-43).

Ačkoliv některé z těchto modifikovaných sloučenin vykazují imunosupresivní účinek, zůstává potřeba makrocyclických imunosupresiv, které nemají vážné postranní účinky často spojované s imunosupresivní terapií, způsobené částečně prodlouženými poločasy imunosupresiv. Podle toho, jeden předmět předkládaného vynálezu spočívá v poskytování nových semisyntetických makrolidů, které mají

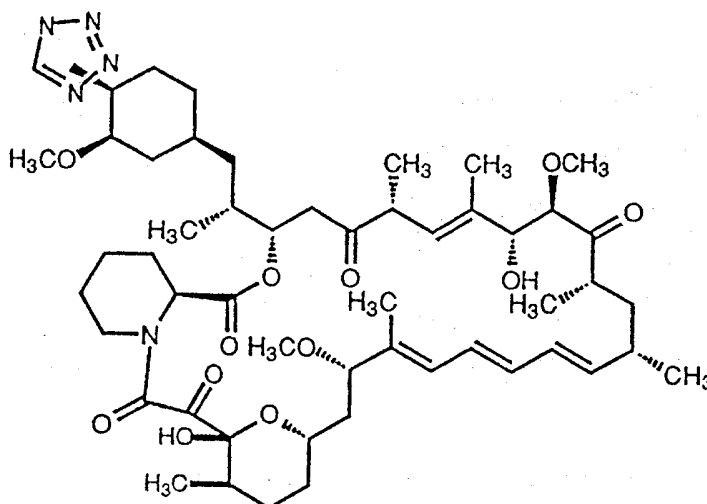
žádaný imunomodulační účinek, ale které minimalizují vedlejší účinky způsobené jejich zkráceným poločasem.

Popis obrázku na výkrese

Obrázek 1 ukazuje koncentrace v krvi $\pm$ SEM ($n=3$) rapamycinových analogů obsahujících tetrazol, dávkovaných opici.

Podstata vynálezu

V prvním aspektu předkládaného vynálezu jsou popsány sloučeniny reprezentované strukturním vzorcem:



nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl nebo proléčivo.

Dalším předmětem předkládaného vynálezu je poskytnutí syntetického postupu přípravy takových sloučenin z výchozích materiálů získaných fermentací a rovněž chemických meziproductů použitelných v tomto syntetickém postupu.

Dalším předmětem vynálezu je poskytnutí farmaceutických prostředků, obsahujících jako aktivní složku alespoň jednu se shora uvedených sloučenin.

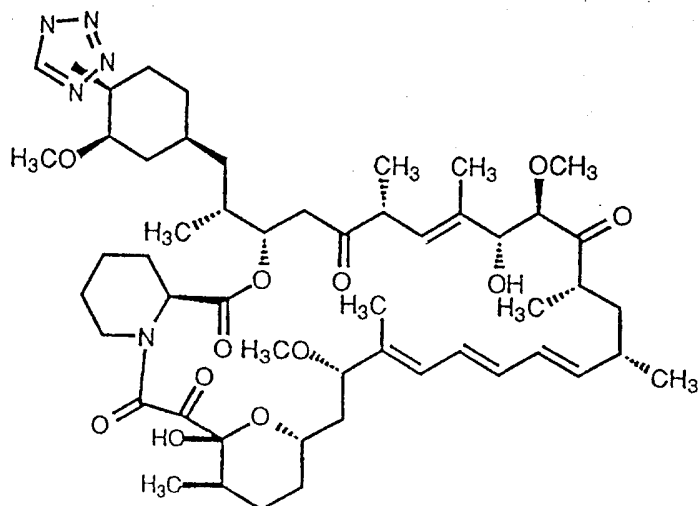
Ještě dalším předmětem předkládaného vynálezu je poskytnutí způsobu léčby řady chorobných stavů, zahrnujících restenózu, odmítnutí transplantátu po transplantaci, imunitní a autoimunitní dysfunkci, růst hub a rakovinu.

Výraz „proléčivo“ jak se zde používá, se týká sloučenin, které se rychle transformují *in vivo* na mateřskou sloučeninu shora uvedeného vzorce, například hydrolyzou v krvi. Podrobná diskuse je uvedena v T. Higuchi a V. Stella, „Prodrugs as Novel Delivery Systems,“ svazek 14 A.C.S. Symposium series, a v Edward B. Roche, ed., „Bioreversible Carriers in Drug Design,“ American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, oba materiály uváděné zde jako odkaz.

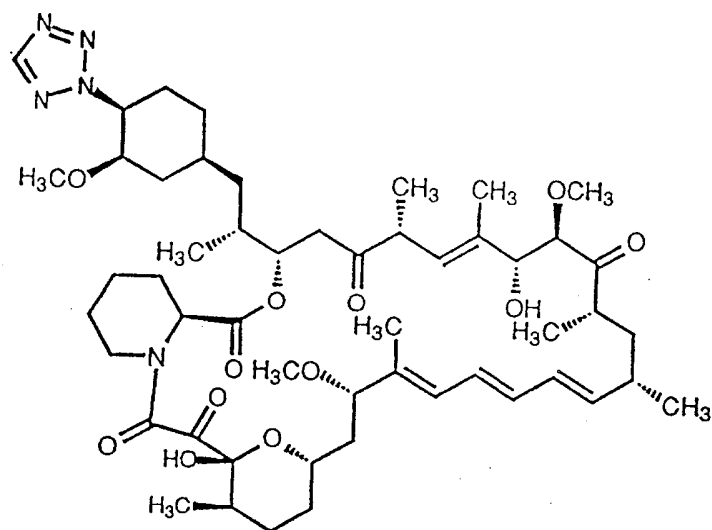
Výraz „farmaceuticky přijatelné proléčivo“ jak se zde používá, se týká těch proléčiv sloučenin podle předkládaného vynálezu, které jsou, v rozsahu platného medicínského posuzování, vhodné k používání při kontaktu s lidskými tkáněmi a tkáněmi nižších živočichů bez zvýšené toxicity, iritace, alergických reakcí a podobně, jsou souměřitelné s rozumným poměrem prospěch/riziko a účinné pro zamýšlené použití stejně, kde to přichází v úvahu, rovněž jako "zwitteriontové" formy sloučenin podle vynálezu. Zejména výhodná farmaceuticky přijatelná proléčiva podle vynálezu jsou proléčiva na bázi esterů C-31 hydroxylové skupiny sloučeniny podle vynálezu.

Výraz „estery proléčiv“ jak se zde používá se týká kterékoliv z rozličných ester tvořících skupin, které jsou hydrolyzovány při fyziologických podmínkách. Příklady skupin esterů proléčiv zahrnují acetyl, ethanoyl, pivaloyl, pivaloyloxymethyl, acetoxymethyl, ftalidyl, methoxymethyl, indanyl a pod. a rovněž esterové skupiny odvozené od aminokyselin vyskytujících se nebo nevyskytujících se v přírodě k hydroxylové skupině C-31 sloučenin podle vynálezu.

Prvním provedením vynálezu je sloučenina vzorce



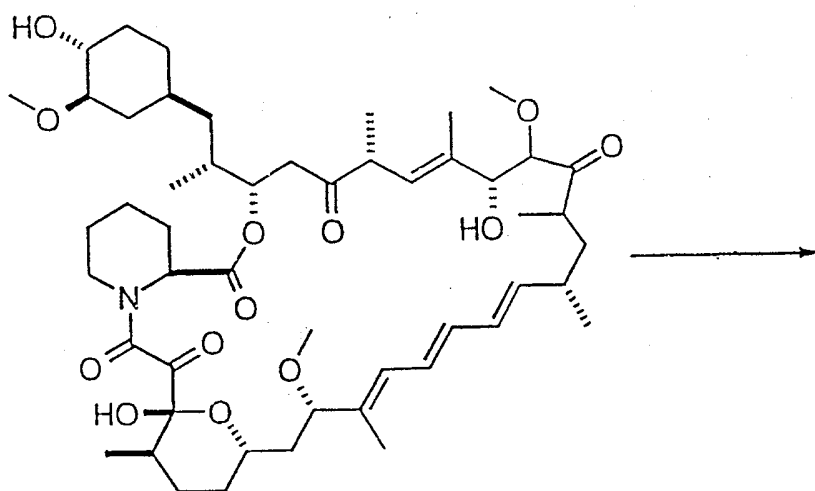
Dalším provedením vynálezu je sloučenina vzorce

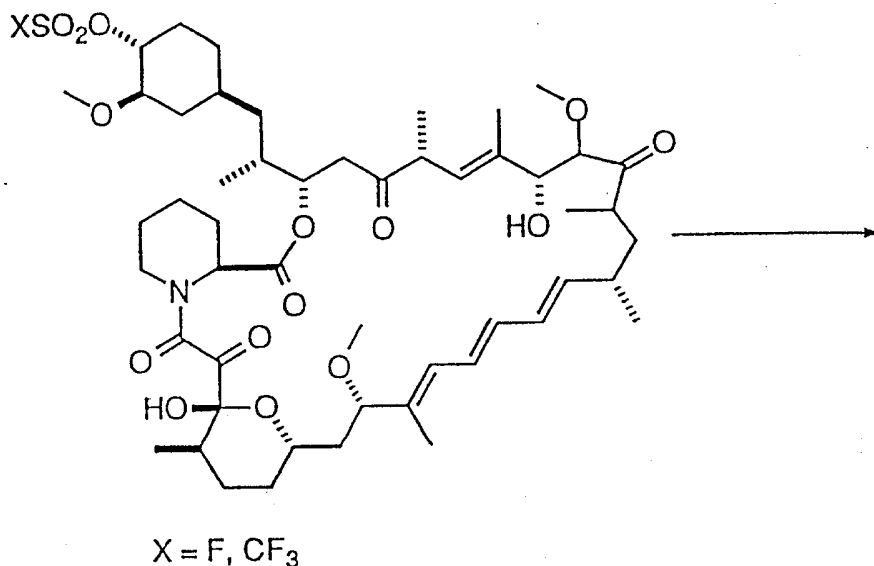


Sloučeniny a postupy podle předkládaného vynálezu budou lépe pochopeny ve spojení s následujícími syntetickými schématy, které ilustrují způsoby, kterými mohou být sloučeniny podle vynálezu připraveny.

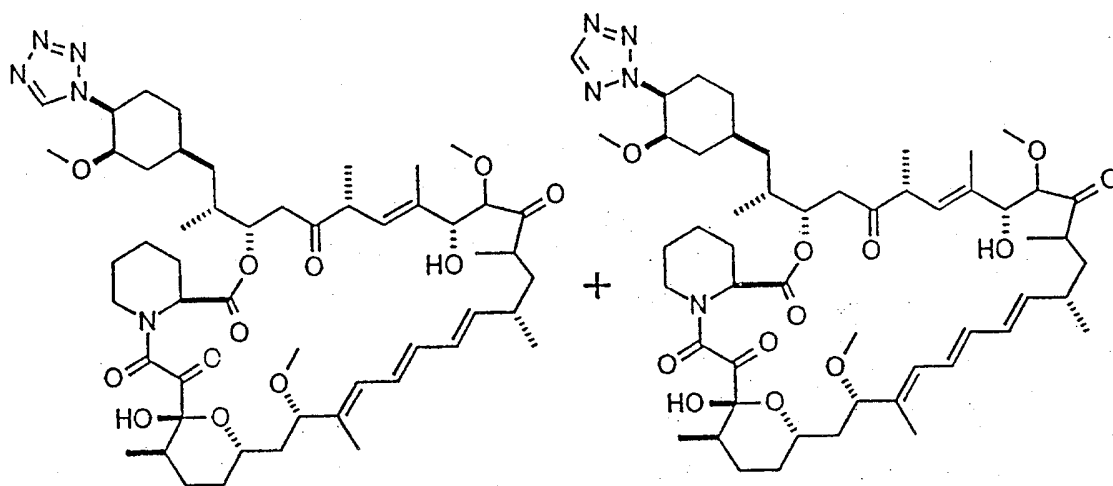
Sloučeniny podle vynálezu mohou být připraveny řadou syntetických cest. Reprezentativní postup je ukázán ve schématu 1.

Schéma 1





A



epimerní směs (B/C)

Jak je ukázáno ve schématu 1, konverze C-42 hydroxylové skupiny rapamycinu na trifluormethansulfonátovou nebo fluorsulfonátovou skupinu poskytuje A. Nahrazení odcházející skupiny s tetrazolem v přítomnosti bráněné, nenukleofilní báze, jako je 2,6-lutidin nebo výhodně diisopropylethylamin poskytuje epimery B a C, které se oddělí a čistí mžikovou chromatografií.

Předcházející údaje mohou být lépe pochopeny odkazy na následující příklady, které ilustrují způsoby, kterými mohou být sloučeniny podle vynálezu připraveny. Tyto příklady mají pouze ilustrativní význam a v žádném případě neomezují rozsah vynálezu jak je definován v přiložených nárocích.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

42-Epi-(tetrazolyl)-rapamycin (méně polární izomer)

Příklad 1A

Roztok rapamycinu (100 mg, 0,11 mmol) v dichlormethanu (0,6 ml) se při -78°C zpracuje pod atmosférou dusíku 2,6-lutidinem (53 μl , 0,46 mmol, 4,3 ekv.) a anhydridem trifluormethansulfonové kyseliny (37 μl , 0,22 mmol) a potom se míchá 15 minut, ohřeje se na teplotu místnosti a eluuje se přes polštářek silikagelu (6 ml) diethyletherem. Frakce obsahující triflát se spojí a koncentrací se získá jmenovaná sloučenina jako jantarová pěna.

Příklad 1B

42-Epi-(tetrazolyl)-rapamycin (méně polární izomer)

Roztok sloučeniny z příkladu 1A v isopropylacetátu (0,3 ml) se postupně zpracuje diisopropylethylaminem (87 μl , 0,5 mmol) a 1H-tetrazolem (35 mg, 0,5 mmol) a potom se míchá 18 hodin. Tato směs se rozdělí mezi vodu (10 ml) a ether (10 ml). Organické fáze se promyjí solankou (10 ml) a suší se (Na_2SO_4). Koncentrací organických fází se získá lepivá žlutá pevná látka, která se čistí chromatografií na silikagelu (3,5 g, 70 až 230 mesh), eluováním s hexanem (10 ml), směsí hexanu a etheru (4:1 (10 ml), 3:1 (10 ml), 2:1 (10 ml), 1:1 (10 ml)), etherem (30 ml), směsí hexanu a acetonu (1:1 (30 ml)). Jeden z izomerů se sebere v etherových frakcích. MS (ESI) m/e 966 (M)⁺;

Příklad 2

42-Epi-(tetrazolyl)-rapamycin (polárnější izomer)

Příklad 2A

42-Epi-(tetrazolyl)-rapamycin (polárnější izomer)

Sebráním pomaleji postupujícího pásu z chromatografické kolony za použití mobilní fáze směsi hexanu a acetonu (1:1) v příkladu 1B se získá jmenovaná sloučenina. MS (ESI) m/e 966 (M)⁺.

In vitro zkouška biologické aktivity

Imunosupresivní aktivita sloučenin podle předkládaného vynálezu se určí použitím reakce lidského smíšeného lymfocytu (MLR), kterou popsali Kino, T. a kol. v *Transplantation Proceedings*, XIX (5): 36-39, dodatek 6 (1987). Výsledky zkoušky ukazují, že sloučeniny podle vynálezu jsou účinnými imunomodulátory při nanomolárních koncentracích, jak je ukázáno v tabulce 1.

Tabulka 1

Příklad	Lidský MLR $IC_{50} \pm S.E.M.$ (nM)
Rapamycin	$0,91 \pm 0,36$
Příklad 1	$1,70 \pm 0,48$
Příklad 2	$0,66 \pm 0,19$

Farmakokinetické vlastnosti sloučenin z příkladu 1 a z příkladu 2 byly charakterizovány po jednorázové 2,5 mg/kg intravenózní dávce opici druhu cynomolgus ($n = 3$ na skupinu). Každá sloučenina se připravila jako roztok obsahující 2,5 mg/ml ve směsném rozpouštědle o složení 20 % ethanolu, 30 % propylenglykolu, 2% cremophoru EL a 48% dextransu jako 5% roztok ve vodném vehikulu. Do safenózní vény opic se dávkoval 1 ml/kg intravenózní dávky jako pomalý bolus (cca 1 až 2 minuty). Vzorky krve se získaly z femorální artérie nebo vény každého zvířete před dávkou a 0,1 (pouze IV), 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 6, 9, 12, 24 a 30 hodin po

dávkování. Vzorky konzervované EDTA se důkladně smíchaly a extrahovaly se pro následnou analýzu.

Podíl krve (1,0 ml) se hemolyzoval s 20% methanolem ve vodě (0,5 ml) obsahující vnitřní standard. Hemolyzované vzorky se extrahovaly směsí ethylacetátu a hexanu (1:1 (objem./objem.), 6,0 ml). Organická vrstva se odpařila do sucha při teplotě místnosti a v proudu dusíku. Vzorky se zředily ve směsi methanolu a vody (1:1, 150 μ l). Sloučenina uvedená v názvu (50 μ l injekce) se oddělila od nečistot za použití HPLC s reverzní fází za použití UV detekce. Vzorky se udržovaly během celého pokusu chladné (4 °C). Všechny vzorky z každé studie se analyzovaly jako jedna dávka HPLC.

Plochy pod křivkou (AUC) měřené u příkladu 1, příkladu 2 a vnitřního standardu byly stanoveny za použití software Sciex MacQuanTM. Kalibrační křivky byly odvozeny od poměru ploch píků (mateřské léčivo/vnitřní standard) zpracovaných krevních standardů použitím lineární regrese metody nejmenších čtverců vůči teoretické koncentraci. Metody byly lineární pro obě sloučeniny v rozsahu standardní křivky (korelace > 0,99) s předběžně odhadnutým kvantitativním limitem 0,1 ng/ml.

Maximální koncentrace v krvi (C_{max}) a doba k dosažení maximální koncentrace v krvi (T_{max}) se odečítaly přímo z nalezených dat koncentrace v krvi-čas. Data koncentrace v krvi se zanesla do vhodné multiexponenciální křivky za použití CSTRIP k získání farmakokinetických parametrů. Předběžně odhadnuté parametry byly dále definovány za použití NONLIN84. Plocha pod křivkou koncentrace v krvi-čas od 0 do t hodin (poslední časový bod, kdy bylo provedeno měření koncentrace v krvi) (AUC_{0-t}) se počítal za použití lineárního lichoběžníkového pravidla pro profil koncentrace v krvi-čas. Zbytková plocha extarpolovaná na nekonečno, určená jako koncová změřená koncentrace v krvi (C_t) vydělená koncovou eliminační rychlostní konstantou (β) se připočetla k AUC_{0-t} , čímž se získala celková plocha pod křivkou ($AUC_{0-\infty}$).

Jak vyplývá z obrázku 1 a z tabulky 2, obě sloučeniny příkladu 1 a příkladu 2 mají ve srovnání s rapamycinem překvapivě podstatně kratší koncový eliminační poločas ($t_{1/2}$).

Tabulka 2

Sloučenina	AUC ng.h /ml	$t_{1/2}$ (hodiny)
Rapamycin	6,87	16,7
Příklad 1	2,35	5,0
Příklad 2	2,38	6,9

Způsoby léčby

Sloučeniny podle vynálezu, zahrnující, nikoliv však s omezením na ty, které jsou uvedeny v příkladech, vykazují imunomodulační aktivitu u savců (zejména lidí). Jako imunosupresiva jsou sloučeniny podle vynálezu použitelné k léčbě a prevenci onemocnění způsobených imunitní reakcí, jako je rezistence při transplantaci orgánů nebo tkání, jako srdce, ledviny, jater, kostní dřeně, kůže, oční rohovky, plic, pankreatu, tenkého střeva, končetin, svalů, nervů, dvanáctníku, buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu apod.; odmítnutí transplantované kostní dřeně dárce příjemcem; k léčbě autoimunních nemocí, jako je revmatoidní artritida, systemický lupus erythematosus, Hashimotova thyreoiditis, roztroušená skleróza, myastenia gravis, diabetes I. typu, uveitis (nitrooční zánět), alergická encephalomyelitis, glomerulonefritida apod. Další použití zahrnuje léčbu a profylaxi zánětlivých a hyperproliferativních kožních onemocnění a kožních projevů imunologicky podmíněných nemocí, jako je lupénka (psoriáza), atopická dermatitida, kontaktní dermatitida a jiné ekzémové dermatitidy, seborrhoická dermatitida, lichen planus, pemphigus, bulózní pemphigus, epidermolysis bullosa, kopřivka, angioedémy, vasculitidy, erytémy, kožní projevy eozinofilie, lupus erythematosus, akné a alopecie areata; různá oční onemocnění (autoimunní nebo jiná), jako je keratokonjunktivitida, jarní konjunktivitida, uveitis provázející Behcetovu chorobu, keratitis, herpetická keratitis, keratokonus rohovky, dystrophia epithelialis corneae, korneální leukom, a oční lokalizace pemphigu. Dále reverzibilní obstruktivní onemocnění dýchacích cest, zahrnující postižení jako astma (například bronchiální astma, alergické astma, astma

podmíněné vnitřními nebo vnějšími faktory a astma způsobené prachem), zejména chronické nebo zanedbané astma (u starších osob nebo při přecitlivělosti dýchacích cest), zánět průdušek, alergická rýma apod. jsou oblastí léčby sloučenin podle vynálezu. Záněty sliznic a cév jako gastroduodenální vředy, cévní poruchy způsobené ischemickými stavy a trombózami. Dále, hyperproliferální cévní onemocnění jako je hyperplazie hladkého svalstva intimy, restenózy a cévní uzávěry, zejména po biologicky nebo mechanicky podmíněném poškození cév, mohou být léčeny nebo preventivně ošetřovány za použití sloučenin podle vynálezu. Jiné k léčbě vhodné patologické stavy, které mohou být ošetřeny zahrnují, nikoliv však s omezením, ischemická onemocnění střev, zánětlivá onemocnění střev, nekrotizující enterokolitidu, střevní zánětlivě alergická onemocnění, jako je coeliakie, proktitida, eozinofilní gastroenteritida, mastocystóza, Crohnova nemoc a ulcerózní kolitida; nervová onemocnění, jako povšechná myositida, syndrom Guillain-Barre, Menierova nemoc, polyneuritida, povšechná neuritida, lokální neuritida a radikulopatie; endokrinní onemocnění, jako hyperthyreóza a Basedowova nemoc; krevní onemocnění, jako aplasie červených krvinek, aplastická anemie, hypoplastická anemie, idiopatická trombocytopenická purpura, autoimunní hemolytická anemie, agranulocytóza, perniciózní anemie, megaloblastická anemie nebo anerytroplasie; kostní onemocnění, jako je osteoporóza; onemocnění plic, jako je sarkoidóza, fibróza plic a idiopatická intersticiální pneumonie; kožní onemocnění, jako dermatomyositis, leukoderma vulgaris, ichthyosis vulgaris, fotoalergická sensitivita a kožní lymfom z T buněk, onemocnění oběhu, jako je arterioskleróza, ateroskleróza, aortitis, polyarthritis nodosa a myocardosis; kolagenózy, jako je sklerodermie, Wegenerův granulom a Sjogrenův syndrom; adiposita; eozinofilní fasciitida; onemocnění periodontu, jako jsou léze gingivy, periodontia, alveolárních výběžků a dentinu; nefrotický syndrom při glomerulonefritidě; známky mužské a stařecké alopecie preventivním účinkem proti vypadávání vlasů a podporou růstu a houstnutí vlasů; svalová dystrofie; pyodermie a Sezaryho syndrom; Addisonova nemoc; onemocnění při aktivní oxygenaci, jako například ischemie orgánů určených k transplantaci vzniklá špatnou reperfuzí těchto orgánů (například srdce, jater, ledviny a zažívacího traktu), což se objevuje při uchovávání před transplantací nebo u ischemické choroby (například trombóza nebo srdeční infarkt); střevní onemocnění jako je endotoxinový šok, pseudomembranózní kolitida a kolitida způsobená léky

nebo ozáření; renální onemocnění jako akutní a chronická renální insuficience; plicní onemocnění, jako toxinóza způsobená plicním kyslíkem nebo léky (například paracort a bleomycin) karcinom plic a plicní emfyzém; oční onemocnění, jako katarakta, sideróza, retinitis, pigmentosa, senilní makulární degenerace, zákal sklivce a popálení rohovky alkáliemi; dermatitis, jako erythema multiforme, lineární bulózní IGA dermatitida a tmelová dermatitida; a jiné nemoci, jako je gingivitis, periodontitis, sepsis, pankreatitis, onemocnění způsobená znečištěným ovzduším (například prašným vzduchem), stárnutím, karcinogeny, metastázy karcinomu a onemocnění vzniklé snížením atmosférického tlaku; nemoci vyvolané uvolněním histaminu nebo Leukotrienu- C_4 ; Behcetova nemoc s projevy střevního, cévního nebo nervového postižení a také Behcetův syndrom, postihující ústní dutinu, kůži, oči, vulvu, klouby, nadvarle, plíce, ledviny atd. Dále, sloučeniny podle vynálezu jsou užitečné pro léčbu a prevenci jaterního onemocnění, jako jsou imunogenní choroby (například chronické autoimunní jaterní poškození, primární biliární cirhóza a sklerotizující cholangitis), částečná resekce jater, akutní jaterní nekróza (například nekróza způsobená toxiny, virová hepatitis, šok nebo anoxie), virová hepatitida B, non-A/nonH hepatitis, cirhóza (například cirhóza způsobená alkoholem) a jaterní selhání, jako je fulminantní jaterní selhání, jaterní selhání s pozdní manifestací a jaterní selhání „akutní na podkladě chronického“ (akutní jaterní selhání navazující na chronické jaterní choroby) a navíc jsou užitečné pro různé nemoci s ohledem na svůj blahodárný vliv na zesílení účinku chemoterapeutik, cytomegalovirovou infekci, zejména na HCMV infekce, protizánětlivé působení, na sklerotizující a fibrotické choroby, jako je nefróza, sklerodermie, plicní fibróza, arterioskleróza, městnavá srdeční vada, hypertrofie srdečních komor, pooperační adheze a jizvy, krvácení do mozku, infarkt myokardu a poškození srdce ve spojení s ischemií a poruchou krevního přítoku apod. apod.

Dále, sloučeniny podle vynálezu vykazují antagonistické vlastnosti vůči FK-506. Sloučeniny podle předkládaného vynálezu tak mohou být využity k léčbě imonodeprese nebo poruch zahrnujících imunodepresi. Příklady chorob zahrnujících imunodepresi zahrnují AIDS, karcinom, fungální infekci, senilní demenci, trauma (včetně hojení ran, chirurgického zákroku a šoku), chronickou bakteriální infekci a některé choroby centrálního nervového systému. Imunodeprese může být způsobena předávkováním imunosupresivní makrocyclické sloučeniny, například

derivátů 12-(2-cyklohexyl-1-methylvinyl)-13,19,21,27-tetramethyl-11,28-dioxa-4-azatricyklo[22.3.1.0^{4,9}] oktakos-18-enu jako je FK-506 nebo rapamycin.

Předávkování těchto léků pacienty je dosti časté, poněvadž nemocní zapomínají brát své dávky podle předpisu a mohou si tak přivodit vážné nežádoucí účinky.

Účinnost sloučenin podle vynálezu při léčbě proliferativních onemocnění, může být demonstrována metodami popsányými Bunchman-em ET a CA Brookshire-em, Transplantation Proceed. 23 967-968 (1991); Yamagishi a kol., Biochem, Biophys. Res. Comm. 191, 840-846 (1993); a Shichiri a kol., J. Clin. Invest. 87 1867-1871 (1991). Proliferativní onemocnění zahrnují proliferace hladkého svalstva, systemickou sklerózu, cirhózu jater, syndrom respirační úzkosti dospělých, idiopatickou kardiomyopatii, lupus erythematodes, diabetickou retinopatii nebo jiné retinopatie, psoriázu, sklerodermii, hypertrofii prostaty, srdeční hypertrofii, restenózu po prodělané tepenné poruše nebo jiných patologických stenózách cév. Tyto sloučeniny navíc antagonizují buněčné odpovědi na některé růstové faktory a proto vykazují antiangiogenní vlastnosti, což z nich činí účinné látky při omezení nebo zastavení růstu některých nádorů i fibrotických procesů plic, jater a ledvin.

Vodné roztoky těchto sloučenin podle předkládaného vynálezu jsou zejména užitečné pro léčbu a prevenci různých onemocnění očí, jako jsou autoimunní choroby (včetně keratokonusu rohovky, keratitidy, dystrofie epitelu, leukomu, Moorenova vředu, sklevitidy a Gravesovy oftalmopatie) a rejekce (odhojení) transplantace rohovky.

Pokud se sloučeniny podle vynálezu použijí pro shora uvedené nebo jiné ošetření, terapeuticky účinné množství jedné ze sloučenin podle vynálezu může být použito v čisté formě, nebo kde taková forma existuje, ve formě farmaceuticky přijatelné soli, esteru nebo proléčiva. Alternativně, sloučenina může být podána jako farmaceutický prostředek obsahující sloučeninu, která je předmětem zájmu, v kombinaci s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými excipienty. Pod "terapeuticky účinným množstvím" sloučeniny podle vynálezu se míní dostatečné množství sloučeniny pro ošetřování chorob při rozumné míře poměru prospěch/riziko, který se vztahuje na jakékoliv medicínské ošetřování. Avšak rozumí se, že celkové denní použití sloučenin a kompozic podle předkládaného vynálezu rozhodne ošetřující lékař v

rámci platného medicínského posuzování. Specifická terapeuticky účinná úroveň dávky pro každého jednotlivého pacienta bude záviset na rozličných faktorech včetně nemoci, která je léčena a závažnosti onemocnění; na účinnosti aplikované konkrétní sloučeniny; na použité specifické kompozici; na věku, tělesné hmotnosti, celkovém zdraví, na pohlaví a výživě pacienta; na době podávání, cestě podání, způsobu aplikace a rychlosti vyměšování konkrétně použité sloučeniny; na trvání léčení; na léčivech užívaných v kombinaci nebo v koincidenci s určitou použitou sloučeninou a podobných faktorech, které jsou v medicínské praxi obecně známy. Například na základě znalostí odborníka je možné začít dávkovat sloučeninu v množství, které je menší než množství potřebné k dosažení požadovaného terapeutického účinku a postupně dávku zvyšovat, dokud se nedosáhne požadovaného účinku.

Celková denní dávka sloučenin podle předkládaného vynálezu podávaných lidem nebo nižším živočichům může být v množstvích okolo 0,01 do okolo 10 mg/kg/den. Pro účely orálního podání výhodnější dávky jsou od okolo 0,001 do okolo 3 mg/kg/den. Je-li to žádoucí, účinná denní dávka může být rozdělena do několika dávek; proto tedy, jednotlivá dávka kompozice může obsahovat takové množství jejích subdávek, aby se dosáhlo denní dávky. Při topickém podání se mohou podávat dávky v rozsahu 0,001 až 3 mg/kg/den, v závislosti na místě podání.

Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu obsahují sloučeninu podle vynálezu a farmaceuticky přijatelný nosič nebo excipient, které mohou být podány orálně, rektálně, parenterálně, intracisternálně, intravaginálně, intraperitoneálně, topicky (jako prášky, masti, kapky nebo transdermální náplasti), buálně nebo jako orální nebo nasální sprej. Výrazem "farmaceuticky přijatelný nosič" je zde míněno netoxické tuhé, polotuhé nebo kapalné plnidlo, ředidlo, enkapsulační materiál nebo pomocnou formulační přísadu jakéhokoliv typu. Výraz „parenterální“, jak se zde používá, se týká způsobu podání, který zahrnuje intravenózní, intramuskulární, intraperitoneální, intrasternální, subkutánní a intraartikulární injekce a infuze.

Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu pro parenterální injekce zahrnují farmaceuticky přijatelné sterilní vodné nebo nevodné roztoky, disperze, suspenze nebo emulze a rovněž sterilní prášky pro rozředění do sterilních injektovatelných roztoků nebo disperzí, které se provede těsně před použitím.

Příklady vhodných vodných nebo nevodných nosičů, ředidel nebo rozpouštědel nebo vehikulů zahrnují vodu, ethanol, polyoly (jako je glycerol, propylenglykol, polyethylenglykol, apod.), karboxymethylcelulózu a její směsi, rostlinné oleje (jako je olivový olej) a injektovatelné organické estery, jako je ethyloléát. Řádná fluidita se může udržet použitím povlakových materiálů, jako je lecitin, udržením požadované velikosti částic v případě disperzí a použitím povrchově aktivních látek.

Tyto prostředky mohou také obsahovat adjuvanty, jako jsou konzervační činidla, smáčedla, emulgátory a dispergační činidla. Prevence před působením mikroorganismů se může dosáhnout zahrnutím různých antibakteriálních a antifungálních činidel, jako je například paraben, chlorbutanol, fenolsorbová kyselina apod. Může být také žádoucí zahrnout isotonická činidla, jako jsou cukry, chlorid sodný apod. Prodloužené absorpce injektovatelných farmaceutických forem se může dosáhnout zahrnutím činidel, které zdržují absorpci, jako je monostearát hlinitý a želatina.

V některých případech, aby se dosáhlo prodlouženého účinku léčiva, je žádoucí zpomalit absorpci léčiva ze subkutánní nebo intramuskulární injekce. Toho se může dosáhnout použitím kapalné suspenze nebo krystalického nebo amorfního materiálu s malou rozpustností ve vodě. Rychlost absorpce léčiva potom závisí na jeho rychlosti rozpouštění, které zase může záviset na velikosti krystalu a krystalické formě. Alternativně, zpožděné absorpce parenterálně podané léčivé formy se dosáhne rozpuštěním nebo suspendováním léčiva v oleji nebo vehikulu.

Injektovatelné depotní formy se připraví formováním mikroenkapsulačních matic léčiva do biodegradovatelných polymerů jako je poly(laktid-polyglykolid). Rychlost uvolňování léčiva může být kontrolována poměrem léčiva k polymeru a povahou zvláštního použitého polymeru. Příklady biodegradovatelných polymerů zahrnují poly(orthoestery) a poly(anhydridy). Depotní injektovatelné formulace se připraví zachycením léčiva v liposomech nebo mikroemulzích, které jsou kompatibilní s tělesnými tkáněmi.

Injektovatelné formulace mohou být sterilizovány, například filtrací přes filtr, který zadržuje bakterie, nebo včleněním sterilizačních činidel ve formě sterilních pevných

kompozic, které mohou být rozpuštěny nebo dispergovány ve sterilní vodě nebo jiném sterilním mediu těsně před použitím.

Tuhé formy dávek pro orální podávání představují kapsle, tablety, pilulky, prášky a granule. V takových tuhých dávkových formách je účinná sloučenina smísená s nejméně jedním inertním, farmaceuticky přijatelným excipientem nebo nosičem jako jsou citrát sodný nebo dikalcium fosfát a/nebo a) plniva nebo nastavovadla jako škroby, laktóza, sacharóza, glukóza, mannitol a kyselina křemičitá, b) pojidla jako například karboxymethylcelulóza, algináty, želatina, polyvinylpyrrolidinon, sacharóza a klovatina, c) zvlhčovadla jako glycerol, d) rozmělnovací látky jako agar-agar, uhličitan vápenatý, bramborový nebo tapiokový škrob, alginová kyselina, určité silikáty a uhličitan sodný, e) rozpouštění zpomalující činidla jako parafin, f) urychlovače absorpce jako kvarterní amoniové soli, g) zvlhčovadla jako například cetylalkohol a glycerol monostearát, h) absorbenty jako kaolin a bentonitová zemina, i) lubrikanty jako mastek, stearát vápenatý, stearát hořečnatý, pevné polyethylenglykoly, laurylsulfát sodný, a jejich směsi. V případě kapslí, tablet a pilulek mohou dávkové formy obsahovat také pufrovací činidla.

Tuhé kompozice podobného typu mohou být také aplikovány jako plniva v měkkých i tvrdých plněných kapslích za použití excipientů, jako je laktóza nebo mléčný cukr, stejně jako vysokomolekulární polyethylenglykoly a jim podobné.

Pevné formy dávek, tablet, dražé, kapslí, pilulek a granulí mohou být připraveny potahované a se slupkami jako jsou stravitelná potahování a jiná potahování tablet běžně používaná v praxi farmaceutické formulace. Mohou případně obsahovat zneprůhledňující látky a mohou mít také takové složení, že uvolňují aktivní ingredienci(e) pouze nebo přednostně v určité části zažívacího traktu, případně se zpožd'ovaným účinkem. Příklady obalovaných kompozic, které mohou být používány, obsahují polymerní substance a vosky.

Aktivní sloučeniny mohou být také v mikroenkapsulované formě, je-li to žádoucí, s jedním nebo více shora uvedenými excipienty.

Kapalné formy dávek pro orální administraci zahrnují farmaceuticky přijatelné emulze, mikroemulze, roztoky, suspenze, sirupy a tinktury. Kromě aktivních sloučenin mohou kapalné formy dávek obsahovat v oboru používaná inertní ředidla jako na příklad vodu nebo jiná rozpouštědla, solubilizační činidla a emulzifikátory jako ethylalkohol, isopropylalkohol, uhličitán ethylnatý, ethylacetát, benzylalkohol, benzylbenzoát, propylenglykol, 1,3-butylenglykol, dimethylformamid, oleje (zvláště pak olej bavlníkový, podzemnicový, kukuřičný, klíčkový, olivový, ricinový a sezamový), glycerol, tetrahydrofurfurylalkohol, polyethylenglykoly a estery mastných kyselin se sorbitolem a jejich směsi.

Vedle inertních ředidel mohou orální kompozice také obsahovat adjuvanty, jako zvlhčovací činidla, emulzifikační a suspendační činidla, sladidla, ochucovací a parfemační činidla.

Suspenze mohou vedle aktivních sloučenin obsahovat suspenzační činidla, jako například ethoxylované isostearylalkoholy, polyoxyethylensorbitol a estery sorbitanu, mikrokystalickou celulózu, metahydroxid hlinitý, bentonit, agar-agar a tragakant a jejich směsi.

Topické podání zahrnuje podání kůží nebo sliznicí, včetně povrchu plic a očí. Kompozice pro topické podání zahrnující kompozice pro inhalaci se mohou připravit jako suchý prášek, který může nebo nemusí být natlakován. V případě práškových kompozic které nejsou natlakovány, může být aktivní složka v jemně rozdělené formě použita ve směsi s farmaceuticky přijatelným nosičem větší velikosti částic, zahrnující částice, mající například velikost do 100 mikrometrů v průměru. Vhodné inertní nosiče zahrnují cukry jako je laktóza. Je žádoucí, aby alespoň 95 % hmotnostních částic aktivní složky mělo účinnou velikost částic v rozsahu 0,01 až 10 mikrometrů. Kompozice pro topické použití na kůži také zahrnují masti, krémy, lotiony a gely.

Alternativně, kompozice může být natlakována a obsahuje stlačený plyn jako je dusík nebo zkapalněné plynné hnací činidlo. Toto zkapalněné hnací medium a skutečně celková kompozice je výhodně taková, že aktivní složka se v něm nerozpouští v žádné podstatné míře. Tato natlakovaná kompozice také může obsahovat povrchově aktivní činidlo. Povrchově aktivní činidlo může být kapalné nebo pevné

neiontové povrchově aktivní činidlo nebo může být pevné aniontové povrchově aktivní činidlo. Je výhodné použít pevné aniontové povrchově aktivní činidlo ve formě sodné soli.

Další forma topického podání je do očí, pokud jde o léčbu imuno-zprostředkovaných stavů očí, jako jsou autoimunní nemoci, alergické nebo zánětlivé stavy a transplantáty rohovky. Sloučenina podle vynálezu je rozšiřována ve farmaceuticky přijatelném vehikulu, tak, že sloučenina je udržována v kontaktu s očním povrchem po dostatečnou časovou periodu, aby bylo sloučenině umožněno pronikat rohovkou a vnitřní oblastí oka, jako například přední komora oční, zadní komora oční, sklivec, vodní tekutina, rohovka, duhovka/řasnaté tělísko v oku, čočky, cévnatka/sítnice a bělmo. Farmaceuticky přijatelným oftalmickým vehikulem může například být masť, rostlinný olej nebo enkapsulační materiál.

Kompozice pro rektální nebo vaginální administraci jsou nejlépe čípky, které mohou být připraveny smísením sloučenin podle tohoto vynálezu s vhodnými neiritujícími excipienty nebo nosiči jako je kakaové máslo, polyethylenglykol nebo vosk pro čípky, které jsou tuhé při teplotě okolí, avšak kapalné při tělesné teplotě, a tudíž tají v dutině rekta nebo vaginy a uvolňují účinnou látku.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou být podány ve formě liposomů. Jak je známo ze stavu techniky, liposomy jsou obecně odvozeny od fosfolipidů nebo od ostatních substancí. Liposomy jsou formovány mono- nebo multilamelárními hydratovanými kapalnými krystaly, které jsou dispergovány ve vodném mediu. Může se použít jakýkoliv netoxický, fyziologicky přijatelný a metabolizovatelný lipid, který je schopen tvořit liposomy. Předkládaná kompozice v liposomu může obsahovat, vedle sloučeniny podle vynálezu, stabilizátory, konzervační činidla, excipienty apod. Výhodné lipidy jsou fosfolipidy a fosfatidylcholin (lecitiny), jak přirozené, tak syntetické. Způsoby k formování liposomů jsou známy ve stavu techniky. Viz například, Prescott, Ed., Methods in Cell Biology, svazek XIV, Academic Press, New York, N.Y. (1976) str. 33 a následující.

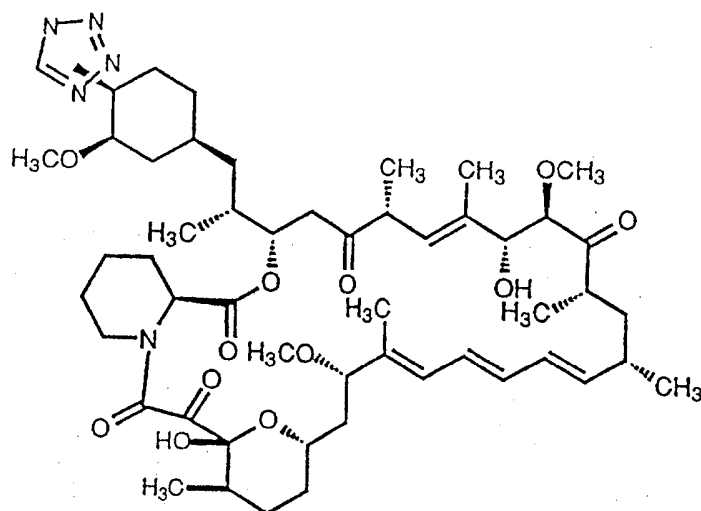
Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou být také podávány společně s jedním nebo více imunosupresivními činidly. Imunosupresivní činidla v rámci

rozsahu tohoto vynálezu zahrnují, nikoliv však s omezením, IMURAN[®] azathioprin sodný, brequinar sodný, SPANDIN[®] guesperimus trihydrochlorid (také známý jako deoxyspergualin), mizoribin (také známý jako bredinin), CELLECEPT[®] mycofenolát mofetil, NEORAL[®] Cyclosporin A (také označován jako odlišná formulace Cyclosporinu A pod obchodním označením SANDIMMUNE[®]), PROGRAF[®] tacrolimus (také známý jako FK-506), sirolimus a RAPAMUNE[®], leflunomid (také známý jako HWA-486), glukokortikoidy, jako prednisolon a jeho deriváty, léčba protilátkou, jako je orthocolon (OKT3) a Zenepax[®] a antithymocytové globuliny, jako thymoglobuliny.

Je třeba vzít v úvahu, že předcházející popis a následující příklady jsou uvedeny pouze pro ilustraci a v žádném případě neomezují rozsah vynálezu, který je definován pouze přiloženými nároky a jejich ekvivalenty. Odborník může provést řadu změn a modifikací předkládaného vynálezu. Takové změny a modifikace, zahrnující, nikoliv však s omezením, chemické struktury, substituenty, deriváty, meziproducty, syntézy, formulace a/nebo metody použití vynálezu mohou být provedeny, aniž by došlo k odchylce od ducha a rozsahu vynálezu.

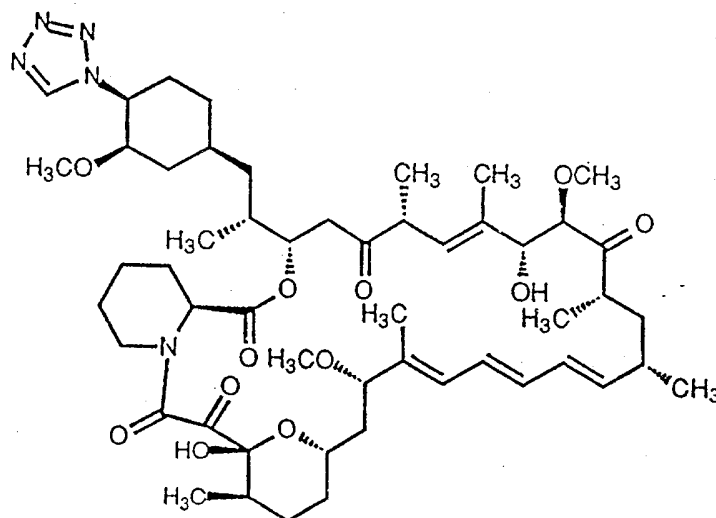
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Sloučenina mající vzorec

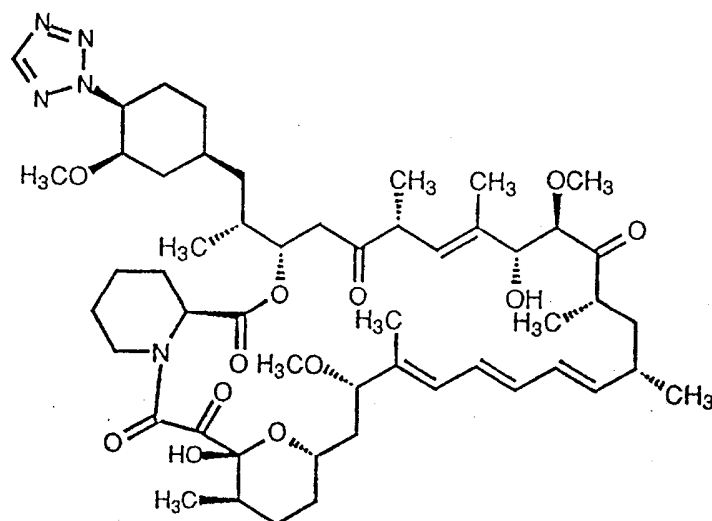


nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo její proléčivo.

2. Sloučenina podle nároku 1 vzorce



3. Sloučenina podle nároku 1 vzorce



4. Způsob inhibice restenózy u savce, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se podá savci, v případě potřeby takové léčby, terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 1.
5. Způsob inhibice imunních nebo autoimunních nemocí u savce, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se podá savci, v případě potřeby takové léčby, terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 1.
6. Způsob inhibice rejekce transplantátu po transplantaci tkáně u savce, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se podá savci, v případě potřeby takové léčby, terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 1.
7. Způsob inhibice fungálního růstu u savce, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se podá savci, v případě potřeby takové léčby, terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 1.
8. Způsob inhibice rakoviny u savce, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se podá savci, v případě potřeby takové léčby, terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 1.

10.04.00

2000 - 1014

1/1

Obrázek 1

