



**KÉSLELTETETT ÉS/VAGY NYÚJTOTT HATÓANYAG-**

**-LEADÁSÚ D-VITAMIN KÉSZÍTMÉNYEK alkalmazása**

és D-vitaminokat tartalmazó gyógyszerkompozíciók

**K I V O N A T**

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

A találmány  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vagy aktív D-vitamin vagy ezek kombinációi nyújtott hatóanyag-leadású vagy késleltetett és nyújtott hatóanyag-leadású formáinak alkalmazására vonatkozik prosztatatarák és prosztatata-túlfejlődés kezelésére alkalmas gyógyászati készítmények előállítására. A fenti készítmények megnövekedett aktív D-vitamin szintet biztosítanak a vérben a hiperkalcémia szignifikáns rizikója nélkül, amely az egyéb orális D-vitamin készítmények adagolása esetén fennáll.

Jellemező elve nincs.

Dr. István Katalin

\* A találmány tárgya továbbá a szerzők által  
 (1) az aktív D-vitamin készítmények (2) a megnövekedett  
 aktív D-vitamin szintet biztosító készítmények (3) a megnövekedett  
 aktív D-vitamin szintet biztosító készítmények (4) a megnövekedett  
 aktív D-vitamin szintet biztosító készítmények.

90223-7621A SI

**KÉSLELTETETT ÉS/VAGY NYÚJTOTT HATÓANYAG-****-LEADÁSÚ D-VITAMIN KÉSZÍTMÉNYEK** alkalmazása  
és D-vitamint tartalmazó gyógyszerkészítmények

A találmány általánosságban hiperproliferatív prosztatabetegségek kezelésére alkalmas készítményekre vonatkozik, és főleg késleltetett és/vagy nyújtott hatóanyag-leadású orális gyógyszerek alkalmazására, amelyek aktív D-vitamin vegyületet szolgáltatnak, közelebbről késleltetett és/vagy nyújtott hatóanyag-leadású aktivált D-vitamin készítményekre vagy orális  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin készítményekre, amelyek a fenti betegségek esetén a hiperproliferatív sejtaktivitás gátlására és sejt differenciálódás elősegítésére alkalmazhatók.

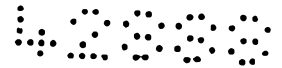
A prosztata kizárólag hím emlősökben található, és bizonyos hiperproliferatív betegségei lehetnek. A prosztata bazális és vázsejtjeinek proliferációja kóros prosztata-túlfejlődéshez vezethet, ami gyakori prosztatabetegség. Egy másik gyakori prosztatabetegség a prosztatatarák, különösen a prosztata-adenokarcinóma. A prosztata adenokarcinómája a leggyakoribb a végzetes patofiziológiás prosztatatarákok közül, és tipikusan a prosztata perifériás régiójában lévő hámsejtek rosszindulatú transzformációjával jár. Az öregebb férfi népességben mind a prosztata-túlfejlődés, mind a prosztatatarák nagy gyakorisággal fordul elő. 55 év felett körülbelül minden négy férfiből egy valamilyen prosztatabetegségben szenved.



Az amerikai férfiak körében a prosztatatarák jelenleg a rákos betegségek okozta halálozás második leggyakoribb oka a tüdőrák után. A prosztatatarák mortalitási aránya logaritmikusan növekedik a korrallal, és kétszer nagyobb az USA-ban élő fekete lakosság körében, mint a fehérekében. Nemzetközi méreteket tekintve a mortalitási arány a legmagasabb az USA-ban élő feketék körében és Észak-Európában, és a legalacsonyabb Japánban. Előrejelzések szerint a 2000. évre a betegség éves gyakorisága 90%-os növekedést, és az éves mortalitási arány 37% növekedést fog mutatni. Noha a prosztatatarák viszonylag kevésbé fájdalmas daganat az idősebbekben, a fenti betegségben szenvedő betegek élettartama átlagosan 10 évvel csökken.

A prosztatatarák kezelésének javulása a korai felismerésen alapul. Az utóbbi években a prosztata által szekretált bizonyos proteinek vagy peptidek, azaz markerek [például prosztata-specifikus antigén (PSA), prosztatasav-foszfátáz (PAP), prosztata-inhibin (PIP)] detektálásán alapuló szűrővizsgálatok lehetővé tették a fenti betegség diagnosztizálását tünetmentes betegekben.

A 65 év alatti férfiakban a prosztatatarák kezelése főleg radikális sebészeti beavatkozáson, például prosztataektomián és/vagy radioterápián alapul, de az ilyen agresszív beavatkozások hatása az általános túlélésre vitatható. A 65 év feletti férfiak kezelésének módja történetileg konzervatívabb, és a tesztoszteron termelés megszüntetésén vagy szabályozásán alapul. Az ilyen megszüntetést vagy szabályozást rendszerint sebészeti kasztrálással, vagy hipofízis gonadotropin inhibitorok, például ösztrogének vagy luteinizáló hormont felszabadító hormon



(LHRH) analógok adagolásával vagy a fenti kezelések kombinációjával érik el. Az ösztrogének, például a dietilsztilbesztről erősen gátolja a luteinizáló hormon (LH), a tesztoszteron termelést szabályozó gonadotropin agyalapi mirigyből történő felszabadulását, és ennek következtében az ösztrogén adagolás kasztrációs szintig csökkentheti a tesztoszteron szintet. A plazma tesztoszteron maximális szupresszióját 3 mg/nap dietilsztilbesztről dózissal érik el rendszerint. Egyéb ösztrogének, például konjugált ösztrogének körülbelül azonos hatékonysággal rendelkeznek a plazmaszint csökkentésében, mint a dietilsztilbesztről. Azonban a dietilsztilbesztről gyenge kardiovaszkuláris profillal rendelkezik és a kardiovaszkuláris betegségeknek tulajdonítható halálozás nem ritka a dietilsztilbesztről nagy dózisaival kezelt betegekben. Így noha a dietilsztilbesztről 3 mg/nap dózisokig rendszerint biztonságos, ezt a dozírozást nem javallják kardiovaszkuláris betegségben is szenvedő férfiaknak.

A prosztatatacarcinoma gyakran áttevődik a medencére és az ágyékcsigolyára, csontvesztést és ezzel kapcsolatos fájdalmat okozva. A hormonkezelés gyakran az áttételes prosztatatarák szignifikáns tüneti enyhítését eredményezheti a csontfájdalom és egyéb, a betegséggel kapcsolatos tünetek javulásával. Az androgén megvonás ezért fontos kiegészítő terápia előrehaladott áttételes prosztatatarák esetén.

A hormonterápiára adott kezdeti javulás ellenére a lokálisan nem eltávolítható vagy áttételes betegségben szenvedő betegek többsége végső fokon már nem reagál további hormonterápiára. A betegek e nagy csoportjában a kezelés egyéb formái sajnos kevésbé hatékonyak. A radioterápia gyakran enyhítheti a csont-



fájdalom tüneteit, de nem gyógyít. Az idő előrehaladtával a betegség végzetes kimenetelűvé fejlődhet.

Mint azt fent említettük, a prosztatata-túlfejlődés az agyalapi mirigy másik gyakori hiperproliferatív betegsége. A rendelkezés a 45 év feletti férfiakat érinti, és az életkor növekedésével gyakorisága is növekedik. A prosztatata-túlfejlődés a periretrális régióban kezdődik lokalizált sejtburjánzásként, és ahogy fejlődik, egyre inkább összenyomja a még normális mirigyet. A túlburjánzás összenyomhatja és elzárhatja az uterust. A kezelések közé tartozik a sebészeti beavatkozás és a hipofízis gonadotropin inhibitorok és/vagy  $5\alpha$ -reduktáz enzim inhibitorok adagolása.

A fiziológia és biokémia másik területén, a D-vitaminra vonatkozó területen az utóbbi két évtized során végzett széleskörű kutatómunkával kimutatták a D-vitamin fontos biológiai szerepeit, a csont és ásványi metabolizmusban játszott klasszikus szerepén túl. Az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitaminnak, a D-vitamin hormonálisan aktív formájának specifikus magreceptorai a kalcium homeosztázisban részt nem vevő különféle szervek sejtjeiben is jelen van. Például Miller és munkatársai [Cancer Res. 52, 515-520 (1992)] kimutatták az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin specifikus, biológiailag aktív receptorait az LNCaP humán prosztatatacarcinóma sejtvonalba.

Leírták, hogy bizonyos D-vitamin vegyületek és analógjaik erősen gátolják a rosszindulatú sejtburjánzást, és sejt differenciálódást indukálnak/stimulálnak. Például az US 4391802 számú szabadalmi leírásban (Suda és munkatársai) leírják, hogy az  $1\alpha$ -hidroxi-D-vitamin vegyületek, különösen az  $1\alpha,25$ -dihidroxi-



-D<sub>3</sub>-vitamin és az 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>3</sub>-vitamin erős leukémiaellenes aktivitással rendelkeznek azáltal, hogy a rosszindulatú sejtek (különösen leukémiasejtek) nem rosszindulatú makrofágokká (monocitákká) történő differenciálódását indukálják, és leukémia kezelésére alkalmazhatók. Az 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>3</sub>-vitamin és egyéb D<sub>3</sub>-vitamin analógok antiproliferatív és differenciáló hatását prosztatarák sejtvonalakokkal kapcsolatban is leírták. Újabban leírták a D-vitamin receptor gén polimorfizmusát és a prosztatarák rizikója közötti kapcsolatot jelezvén, hogy a D-vitamin receptoroknak szerepe lehet a prosztatarák kifejlődésében, és valószínűleg kezelésében is.

Ezek a korábbi vizsgálatok kizárólag D<sub>3</sub>-vitamin vegyületekre vonatkoztak. Noha ezek a vegyületek sejttenyészetben valóban nagyon hatékonyak a rosszindulatú sejtek differenciálódásának elősegítésében, gyakorlati alkalmazásuk a differenciálódáson alapuló terápiában rákellenes szerként nagyon korlátozott, mivel ugyanolyan erősen a kalcium metabolizmust is befolyásolják. A például leukémiaellenes szerként hatékony alkalmazáshoz szükséges in vivo koncentrációkban ugyanezen vegyületek jelentősen megnövekedett és potenciálisan veszélyes vérkalcium-szinteket okozhatnak inherens kalcémiás aktivitásuk következtében. Ez azt jelenti, hogy az 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>3</sub>-vitamin és egyéb D<sub>3</sub>-vitamin analógok rákellenes szerként történő klinikai alkalmazását erősen korlátozza vagy kizárja a hiperkalcémia rizikója. Ezért van szükség olyan vegyületekre, amelyek nagyobb specifikus aktivitással és szelektivitással rendelkeznek, azaz olyan D-vitamin vegyületekre, amelyek antiproliferatív és differenciáló hatásokkal rendelkeznek, de kalcémiás



aktivitásuk kisebb. Az ilyen vegyületek iránti igény ugyanolyan nagy, mint a prosztatadaganatok és megnagyobbodás kezelésének igénye.

A találmány szerinti készítmények olyan prosztatabetegségek kezelésére alkalmasak, amelyekre jellemző a hiperproliferatív sejtszaporodás és/vagy abnormális sejtdifferenciálódás, ilyenek például a prosztatatarák és a prostata-túlfejlődés. A fenti betegségek kezelésére az abnormális sejtszaporodás gátlására és sejtdifferenciálódás elősegítésére D-vitamin terápiát alkalmazunk késleltetett és/vagy nyújtott hatóanyag-leadású készítmény adagolásával. A késleltetett és/vagy nyújtott hatóanyag-leadású készítményben a hatóanyag  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vegyület és/vagy aktív D-vitamin vegyület lehet.

A fentieket és a találmány egyéb előnyeit úgy valósítjuk meg az egyik kiviteli alakban, hogy humán prosztatatarák vagy túlfejlődött sejtek hiperproliferatív aktivitásának gátlására a sejteket hatásos D-vitamin terápiaként késleltetett és/vagy nyújtott hatóanyag-leadású D-vitamin készítménnyel kezeljük. A kezelési lépés magában foglalja az ilyen prostatasejtek proliferációjának gátlását és differenciálódásának indukálását és fokozását, előnyösen orális adagolási módot alkalmazva. A késleltetett hatóanyag-leadású D-vitamin készítmény  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin és/vagy aktív D-vitamint tartalmaz egy nyújtott hatóanyag-leadású mátrixban. A késleltetett és nyújtott hatóanyag-leadású készítmény a hatóanyag(ko)n enterális bevonatot is tartalmaz.

A találmány szerinti nyújtott hatóanyag-leadású vagy késleltetett és nyújtott hatóanyagleadású készítményben lévő előnyös  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vegyület az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -



-previtamin, az  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_3$ -previtamin, az  $1\alpha$ -hidroxi- $D_3$ -previtamin, az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_2$ -previtamin, az  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_2$ -previtamin, az  $1\alpha$ -hidroxi- $D_2$ -previtamin, az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_4$ -previtamin, az  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_4$ -previtamin és az  $1\alpha$ -hidroxi- $D_4$ -previtamin. Az aktív D-vitamin vegyületek közül előnyös az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin, az  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin, az  $1\alpha$ -hidroxi- $D_3$ -vitamin, az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_2$ -vitamin, az  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_2$ -vitamin, az  $1\alpha$ -hidroxi- $D_2$ -vitamin, az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_4$ -vitamin, az  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_4$ -vitamin és az  $1\alpha$ -hidroxi- $D_4$ -vitamin.

Az egységdózis formában lévő  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vegyület hatékony vagy gyógyászati mennyisége  $0,01 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  -  $2,0 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$ , és hasonlóképpen a késleltetett és/vagy nyújtott hatóanyag-leadású formában az aktív D-vitamin mennyisége  $0,01 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  -  $2,0 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$ .

A humán prosztaták kezelésére a rákos sejtek abnormális proliferatív aktivitásának csökkentésére vagy stabilizálására a prosztatákban szenvedő férfiaknak hatásos mennyiségű D-vitamin vegyületet adunk, amely  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vagy aktív D-vitamin késleltetett és/vagy nyújtott hatóanyag-leadású formában, amelynek hiperkalcémiás rizikója lényegesen alacsonyabb, mint a korábban önmagában vagy ismert készítményben adagolt  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitaminé, abból a célból, hogy. Tehát a prosztata állapotának javítása mellett a találmány szerinti készítményekkel kiküszöböljük a jelenleg ismert orális D-vitamin készítmények inherens hátrányait azáltal, hogy nyújtott és/vagy késleltetett hatóanyag-leadású orális D-vitamin gyógyszert biztosítunk.





A találmány egyik kiviteli alakjában az orális gyógyszer egy nyújtott hatóanyag-leadású (SR) D-vitamin készítmény, amely  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vegyület vagy aktív D-vitamin vegyület nyújtott hatóanyag-leadású mátrixban (továbbiakban SR pre D vagy SR aktív D). Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin előnyösen egy alább ismertetett (I) vagy (II) általános képletű vegyület. Az (I) és (II) általános képletű vegyületek közé tartozik az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin, az  $1\alpha,24$ -dihidroxi-D-previtamin és az  $1\alpha,25$ -dihidroxi-D-previtamin.

A találmány szerinti gyógyszer SR pre D formájában, azaz amelyben a hatóanyag  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin, az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin az aktív D-vitamin prodrogjaként működik, ezáltal gátolja az abnormális sejtproliferációt és indukálja és fokozza a sejtdifferenciálódást prosztatabetegségek esetén. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin adagolásával az aktív  $1\alpha$ -hidroxi-D-vitamin vagy annak metabolitja szintjének nyújtott növekedését a vérben szignifikánsan kisebb hiperkalcémiával biztosítjuk, mint az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin orális adagolása esetén.

Az SR pre D készítményben az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamint olyan formában használjuk, amely szobahőmérsékleten viszonylag stabil marad és oldószermentes. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamint ezután orális dóziskészítmény formájában adagoljuk az állatnak vagy embernek. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin az orális dóziskészítményből történő felszabadulás után a bélből abszorbeálódik. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin inaktív, azaz nem kötődik a D-vitamin-receptor proteinhez és nem stimulálja az intestinális kalcium abszorpciót. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin az állat vagy ember belső hőmérsékletét történő felmelegedés



után a hő hatására megfelelő aktivált  $1\alpha$ -hidroxi-D-vitaminná alakul. Az aktív formává történő hőkonverzió elegendően hosszú időt vesz igénybe, tehát a konverzió nagyrészt azután megy végbe, miután az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin az állat vagy ember beléből abszorbeálódott. Így az SR pre D a megfelelő aktív D-vitaminból nagyobb nyújtott vérszintet biztosít, az intesztinális kalcium abszorpció szignifikánsan kisebb stimulálásával, mint amelyet magának a megfelelő aktív D-vitaminnak orális adagolása esetén kapunk.

A találmány szerinti SR aktív D készítményben az aktív D-vitamint nyújtott hatóanyag-leadású mátrixba építjük be, amely orális adagolásra alkalmas. Tehát az aktív D-vitamint úgy formáljuk, hogy azt a mátrixban megkötjük, ami nyújtott hatóanyag-leadást biztosít, amikor a béltartalommal érintkezésbe kerül.

A találmány másik kiviteli alakjában az orális készítmény egy késleltetett és nyújtott hatóanyag-leadású (DSR) D-vitamin készítmény, például nyújtott hatóanyag-leadású D-vitamin készítmény enterális bevonattal. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vagy az aktív D-vitamin-tartalmú mátrix megfelelő enterális bevonattal van ellátva, amely széteséssel szemben ellenálló a gyomor-  
nedvekben. Az enterális bevonatú nyújtott hatóanyag-leadású D-vitamin készítmény, azaz a késleltetett, nyújtott hatóanyag-leadású D-vitamin készítményt (továbbiakban DSR pre D, vagy DSR aktivált D) ezután orálisan adagoljuk az állatnak vagy az embernek. Miközben a DSR pre D vagy DSR aktivált D áthalad a vékonybél proximális részén, az enterális bevonat oldódik. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vagy az aktív D-vitamin-tartalmú



mátrix érintkezésbe kerül a bélnedvekkel, és az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vagy aktivált D-vitamin fokozatosan felszabadul hosszabb időtartamon keresztül, és abszorbeálódik a bélből. Mivel a hidroxilezett previtaminból származó  $1\alpha$ -hidroxi-vitaminnak megfelelő aktivált D-vitamin nagy része a vékonybél proximális része alatti ponton abszorbeálódik, a bélből a kalciumfelvételt kisebb mértékben serkenti. Ezáltal csökken a hiperkalcémia és hiperkalciuria rizikója, vagyis növekszik a terápia index. A fokozatos felszabadulás lehetővé teszi a szérum nagyobb, nyújtott az aktivált D-vitamin-szintjének kialakulását is, ami a beteg prosztataszövetekre jótékony hatást fejt ki.

A találmány szerinti orális DSR kompozíció célszerűen az aktivált D-previtamin és az aktivált D-vitamin kombinációját is tartalmazhatja (továbbiakban ezt DSR aktivált pre D és D-nek nevezzük). A találmánynak ez a kiviteli alakja egy vagy több (I), (II), (III) és/vagy (IV) általános képletű alább definiált vegyületet tartalmaz, enterális bevonatú, nyújtott hatóanyagleadású, orális adagolásra alkalmas készítmény formájában.

Tehát a prosztatabetegségek, például prosztatarák vagy túlfejlődés kezelésére a kezelendő alanyak orálisan SR D-vitamin adunk hatásos mennyiségben, amely  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin és/vagy aktív D-vitamin nyújtott hatóanyag-leadású mátrixban; vagy DSR aktivált D-vitamin vagy DSR aktivált pre D hatékony mennyiségét, vagy DSR aktivált pre D és D hatékony mennyiségét adjuk, ezáltal fokozzuk az állat vagy ember vérében az aktivált D-vitamin szintjét, gátoljuk a prosztata celluláris proliferációt és indukáljuk vagy fokozzuk a sejtdifferenciálódást.



A találmány értelmében a prosztatabetegségek kezelésére az SR D-vitamint vagy DSR D-vitamint célszerűen vagy önmagában mint hatóanyagot (azaz mint első rákellenes szert) adagoljuk, vagy egy második rákellenes szerrel, egy androgén megvonó szerrel, egy  $5\alpha$ -reduktáz inhibitorral vagy ezek kombinációival, elegy formájában.

Egy másik megközelítésben a találmány tárgya gyógyászati készítmény, amely egy első rákellenes szert, azaz egy SR D-vitamint vagy egy DSR D-vitamint és egy (i) második rákellenes szerek, (ii) csontgyógyszerek, (iii) androgén megvonó szerek és (iv)  $5\alpha$ -reduktáz inhibitorok vagy ezek kombinációi közül választott szert és fiziológiásan elfogadható hordozóanyagot tartalmaz. Az aktív D-vitamin vegyület körülbelül  $0,01 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  - körülbelül  $2,0 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$ ; az aktív D-previtamin szintén  $0,01 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  -  $2,0 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  mennyiségben van jelen.

A találmány további előnyei és a specifikus kiviteli alakok, az összetétel variációi és a fizikai tulajdonságok teljesebb megértése érdekében a találmányt az előnyös kiviteli alakok részletes leírásával az alábbiakban ismertetjük. Hangsúlyozni kívánjuk, hogy az ábrák kizárólag a találmány szemléltetését szolgálják a korlátozás szándéka nélkül.

Az ábrákat röviden az alábbiakban ismertetjük.

A találmány előnyös kiviteli alakját az alábbiakban az ábrákkal kapcsolatban ismertetjük, ahol az azonos jelölések azonos elemekre vonatkoznak, és ahol

az 1. ábra egy grafikon, amely bizonyos  $1\alpha$ -hidroxi-previtaminok vitamin formává történő konverziójának időfüggését mutatja; és



a 2. ábra egy grafikon, amely a vér aktív D-vitamin koncentrációját mutatja az idő függvényében DSR aktivált D adagolása után.

A találmányt részletesen az alábbiakban ismertetjük.

A találmány hatékony készítményt szolgáltat daganatos és túlfejlődéses betegségek kezelésére. Közelebbről, a találmány a prosztatata hiperproliferatív sejtaktivitásból eredő betegségei, például a prosztatatarák vagy prosztatata-túlfejlődés gátlására, enyhítésére vagy gyógyítására; és a beteg sejtek differenciálódásának indukálására, fokozására vagy elősegítésére alkalmas gyógyászati készítményekre vonatkozik. A találmány új kezelési eljárást biztosít hiperproliferatív betegségek, például prosztatatarák vagy prosztatata-túlfejlődés kezelésére  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vagy DSR aktív D-vitamin vagy aktív D-previtamin adagolással. A gyógyszert a betegnek dózistól függő hiperkarcémia és hiperkalciuria, azaz a vér és vizelet fiziológiástól eltérő, magas és veszélyes kalciumszintjének kiváltása nélkül adagoljuk. Ezeket a tulajdonságokat a találmány szerinti kompozíció bizonyos kémiai és fizikai tulajdonságaival érjük el.

Ha a találmány értelmében az SR D-vitamin vagy DSR-D-vitamin készítmények hatékony mennyiségeit prosztatatarákban vagy prosztatata-túlfejlődésben szenvedő betegeknek adagoljuk, az abnormális prostatasejtek proliferatív aktivitása gátlódik vagy csökken, és a sejt differenciálódás indukálódik, előtérbe kerül vagy fokozódik, az azonos mennyiségű aktivált  $D_3$ -vitamin ismert készítményekben történő adagolása után megfigyelhetőnél szignifikánsan kisebb hiperkarcémia és hiperkalciuria mellett. Tehát a találmány szerinti készítmények jobb terápiás



indexszel rendelkeznek. A prosztatata daganatos és túlfejlődött állapotainak kezelésére alkalmas SR és DSR készítményekben a hatóanyag hatásos mennyisége körülbelül 0,01  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  - körülbelül 2,0  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$   $1\alpha$ -hidroxi-D-previtaminra, és 0,01  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  - 2,0  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  aktív D-vitaminra.

Ismert, hogy a  $\text{D}_3$ -vitaminnak C-1 és C-25 helyzetben hidroxileződnie kell, mielőtt aktiválódik, azaz mielőtt biológiai választ produkál. Valószínűleg hasonló metabolizmus szükséges a D-vitamin egyéb formái, például a  $\text{D}_2$ -vitamin és  $\text{D}_4$ -vitamin aktiválásához is. Ezért a leírásban az aktivált D-vitamin vagy aktív D-vitamin alatt olyan D-vitamin vegyületet vagy analógot értünk, amely a molekula A gyűrűjének legalább C-1 helyzetében hidroxilezve van, és vagy maga a vegyület, vagy annak konvertált formája/metabolitja D-vitamin receptorhoz (VDR) kötődik. Más szavakkal, az utóbbit illetően egy  $1\alpha$ -hidroxi-D-vitamin tovább hidroxileződik olyan vegyületté, amely azután képes a VDR-hez kötődni. Hasonlóképpen aktivált D-previtamin alatt olyan D-previtamin vegyületet értünk, amely az A-gyűrű legalább C-1 helyzetében hidroxileződött, és olyan vegyületté alakult/metabolizálódott, amely a VDR-hez kötődik.

A leírásban rövid szénláncú alatt az alkil- vagy acilcsoportokkal kapcsolatban egyenes vagy elágazó, telített vagy telítetlen 1-4 szénatomos szénhidrogéncsoportot értünk. A fenti szénhidrogéncsoportok specifikus példái a metil-, etil-, propil-, izopropil-, butil-, izobutil-, t-butil-, etenil-, propenil-, butenil-, izobutenil-, izopropenil-, formil-, acetil-, propionil- vagy butirilcsoport. Aromás acilcsoport alatt szubsztituálatlan benzoilcsoportot vagy szubsztituált benzoilcsoportot, például nitroben-



zoil- vagy dinitrobenzoilcsoportot értünk. Kezelés alatt a prosztatabetegségek csökkentését, enyhítését, megszüntetését vagy megelőzését, valamint az abnormális sejt hiperproliferáció gátlását és a sejtdifferenciálódás elősegítését, indukálását és/vagy fokozását értjük.

A találmány szerinti SR és DSR készítményben lévő  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vegyületek és aktív D-vitamin vegyületek azok, amelyek hatékony antiproliferatív és sejtdifferenciálódást elősegítő aktivitással (azaz a daganatos transzformáció megfordításával) rendelkeznek, különösen a prosztatabetegségek, például prosztaták és prosztata-túlfejlődés sejtjei esetén, de hiperkalcémiában és/vagy hiperkalciuriában megnyilvánuló nem-kívánatos mellékhatásokat nem, vagy csak kisebb mértékben okoznak. Más szavakkal, a találmány szerinti kompozíciók vagy gyógyszerek antiproliferatív szerként és sejtdifferenciáló szerként hatnak, amikor rosszindulatú vagy egyéb hiperproliferatív sejtekkel érintkeznek anélkül, hogy szignifikánsan megváltoztatnák a kalcium metabolizmust. A találmány szerinti készítmények a késleltetett és nyújtott hatóanyag-leadás miatt a hiperproliferáció biztonságos gátlására és a rosszindulatú sejtek differenciálódásának kiváltására alkalmas és előnyös szerek. A találmány szerinti készítmények tehát nem rendelkeznek a fent említett ismert aktív D-vitamin készítmények hátrányaival, és előnyösnek tekinthetők rosszindulatú betegségek, például prosztaták, valamint a jóindulatú prosztata-túlfejlődés kezelésére és szabályozására.

A találmány szerinti kompozíciók és gyógyszerek előnyös kiviteli alakjait, amelyeket bizonyos prosztataállapotok enyhíté-



sére szolgáló gyógyászati eljárásokban alkalmazhatunk, az alábbiakban ismertetjük.

A találmány szerinti gyógyszer első kiviteli alakja egy SR készítmény, amely alapvetően tiszta  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamint vagy aktív D-vitamint tartalmaz nyújtott hatóanyag-leadású mátrixban. Azt találtuk, hogy ha alapvetően tiszta  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamint adagolunk orálisan, az aktivált D-vitamin koncentrációja a vérben nagyobb mértékben, nyújtottan fokozódik, és szignifikánsan kisebb hiperkalcémiát és hiperkalciuriát okoz, mint az azonos mennyiségű aktív D-vitamin, amelyet orálisan, ismert készítményben adagolunk. Ezért az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin prosztatabetegségek kezelésére alkalmazható. A leírásban alapvetően tiszta alatt legalább 85%-os tisztaságú  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamint értünk. Nyújtott hatás alatt a leírásban azt értjük, hogy a vérszint viszonylag állandó marad (azaz  $\pm 10$  pg/ml vagy  $\pm 10\%$  eltérés az átlagértéktől) egy előre meghatározott időtartamnál, azaz rendszerint 4 óránál hosszabb időn keresztül.

Ismeretes, hogy a  $D_3$ -vitamin az állatok és ember bőrében endogéne szintetizálódik 7-dehidrokoleszterinből, ultraibolya sugárzás által mediált fotokémiai reakcióban, amelynek hatására a 7-dehidrokoleszterin B-gyűrűje a 4-es és 9-es helyzetű szénatom között felnyílik, és így  $D_3$ -previtamin keletkezik. A trién  $D_3$ -previtamin instabil, és az idő során hőhatásra  $D_3$ -vitaminná alakul. A normális testhőmérsékleten egyensúlyi állapot van a  $D_3$ -previtamin és a  $D_3$ -vitamin között (lásd 1. reakcióvázlatot). Amint a  $D_3$ -vitamin in vivo tovább metabolizálódik, ez az egyensúly eltolódik a  $D_3$ -vitamin irányába. Hasonló átalakulás és egyensúlyi állapot áll fenn az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin ese-





tén is.

A találmány szerinti  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin előnyösen az (I) általános képlettel írható le - a képletben

$R_a$  jelentése legalább 7 szénatomos oldallánc, amely egyenes vagy elágazó, telített vagy telítetlen, heteroatommal szubsztituált vagy heteroatommal nem szubsztituált, ciklusos vagy nem ciklusos -

és az (I) általános képletű  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin termális izomerje aktív D-vitamin, és D-vitamin hiányos patkányokban fokozza a szérum kalciumszintjét, amelyet a D-vitaminok területén szokásosan alkalmazott standard módszerekkel határozhatunk meg.

A találmány szerinti előnyös  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtaminok közé tartoznak a (II) általános képletű vegyületek, a képletben B és C jelentése hidrogénatom vagy szén-szén kötés, vagyis kettős kötést jelent a C-22 és C-23 helyzet között;

$R^1$  és  $R^2$  jelentése azonosan vagy eltérően hidrogénatom, hidroxilcsoport, fluoratom rövid szénláncú alkilcsoport, rövid szénláncú fluoralkilcsoport, rövid szénláncú alkiloxicssoport, rövid szénláncú alkenilcsoport, rövid szénláncú fluoralkenilcsoport, rövid szénláncú alkeniloxicssoport, rövid szénláncú aciloxicssoport, aromás aciloxicssoport, rövid szénláncú cikloalkilcsoport vagy a hozzájuk kapcsolódó szénatommal együtt 3-8 szénatomos karbociklusos csoportot alkot;

$R^3$  jelentése hidrogénatom, fluoratom, rövid szénláncú alkilcsoport, rövid szénláncú alkenilcsoport, rövid szénláncú fluoralkilcsoport, rövid szénláncú fluoralkenil-



csoport, rövid szénláncú alkiloxicsoport, rövid szénláncú alkeniloxicsoport, rövid szénláncú aciloxicsoport, aromás aciloxicsoport vagy rövid szénláncú cikloalkil-csoport;

- X<sup>1</sup> jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport, és  
X<sup>2</sup> jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport, vagy R<sup>1</sup>-gyel vagy R<sup>2</sup>-vel együtt kettős kötést jelent.

A (II) általános képletű vegyületek közül előnyösek, azaz előnyös 1 $\alpha$ -hidroxi-D-previtaminok az alábbiak:

- 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>3</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>];
- 1 $\alpha$ ,24,25-trihidroxi-D<sub>3</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,24,25-(OH)<sub>3</sub>preD<sub>3</sub>];
- 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>3</sub>-previtamin [1 $\alpha$ -(OH)preD<sub>3</sub>];
- 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-D<sub>3</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>];
- 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-25-fluor-D<sub>3</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>-25-FpreD<sub>3</sub>];
- 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>2</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>2</sub>];
- 1 $\alpha$ ,24,25-trihidroxi-D<sub>2</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,24,25-(OH)<sub>3</sub>preD<sub>2</sub>];
- 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>2</sub>-previtamin [1 $\alpha$ -(OH)preD<sub>2</sub>];
- 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-D<sub>2</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>2</sub>];
- 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-25-fluor-D<sub>2</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>-25-FpreD<sub>2</sub>];
- 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>4</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>4</sub>];
- 1 $\alpha$ ,24,25-trihidroxi-D<sub>4</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,24,25-(OH)<sub>3</sub>preD<sub>4</sub>];
- 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>4</sub>-previtamin [1 $\alpha$ -(OH)preD<sub>4</sub>];
- 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-D<sub>4</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>4</sub>] és
- 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-25-fluor-D<sub>4</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>-25-FpreD<sub>4</sub>].

Az oldalláncban, például C-24 helyzetben királis centrumot



tartalmazó (I) általános képletű vegyületek közül magától értendően mindkét epimer (például R és S), és a racém elegy is a találmány tárgykörébe tartozik.

A találmány egyik előnyös kiviteli alakjában az (I) vagy (II) általános képletű vegyületeket alapvetően tiszta, kristályos, oldószermentes formában prezentáljuk. Mint olyan, az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin teljesen stabil marad szobahőmérsékleten, és csak minimális mértékben alakul  $1\alpha$ -hidroxi-D-vitamin formává. Az (I) vagy (II) általános képletű vegyületek, azaz  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtaminok könnyen előállíthatók kristályos formában az US 4 539 153 számú szabadalmi leírásban Vandewalle és munkatársai által ismertetett eljárással.

A találmány szerinti  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vegyületeket a gyógyszerkészítésben szokásosan alkalmazott eljárásokkal dolgozhatjuk fel betegeknek, például emlősöknek, így embernek is adagolható gyógyszerekké. Például az (I) vagy (II) általános képletű vegyületek szokásos segédanyagokkal alkotott dózisformái közé tartoznak az orális adagolásra alkalmas elegyek. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin dózisformái bármely nem-toxikus, gyógyászatilag elfogadható hordozóanyaggal, például kukoricakeményítővel, laktózzal vagy szacharózzal kombinálhatók, amely nem reagál károsan a hatóanyagokkal. A készítmények előállíthatók tablettá, kapszula, por, ostyás készítmény, vagy gyógycukorka formájában. Bármelyik formálási eljárást alkalmazzuk is, ügyelni kell arra, hogy kerüljük az oldószerrel vagy hővel való hosszantartó érintkezést, mivel ilyen körülmények között az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin egy része hajlamos  $1\alpha$ -hidroxi-D-vitamin formává átalakulni. Mivel a hőhatás és az



oldás előnyösen elkerülendő, előnyös tablettáformálási eljárás a száraz granulálás néven ismert eljárás, amikor az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin oldószermentes és hőstabil szobahőmérsékleten.

Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamint az állatnak vagy embernek orális dóziskészítményben adagoljuk. Amint az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin az orális dóziskészítményből felszabadul, a bélből abszorbeálódik. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin nem lép kölcsönhatásba az enterociták D-vitamin receptor proteinjével, ezért nem stimulálja az intesztinális kalcium abszorpciót.

Ismert az is, hogy az aktivált D-vitamin kötődése az enterociták D-vitamin receptor proteinjével enzimek felszabadulását indukálja, amelyek a bélben jelenlévő, kötetlen aktivált D-vitamin jelentős részét lebontják. Az ilyen lebontás csökkenti a véráramba történő abszorpció számára hozzáférhető aktivált D-vitamin mennyiségét. Mivel az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin nem kötődik a D-vitamin receptor proteinhez, nincs ilyen enzim indukció. Tehát a bélben kisebb mértékű lebontás megy végbe, és nagyobb mennyiség lesz hozzáférhető a véráramba történő abszorpcióhoz, mint a megfelelő aktivált D-vitamin esetében.

Amint az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin az állat vagy ember belső hőmérsékletére melegedik, termálisan átalakul a megfelelő aktivált D-vitaminná. Az aktív formává történő termális konverzió reakcióideje elegendően hosszú, tehát a konverzió nagy része azután játszódik le, miután az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin abszorbeálódott. Így az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamint tartalmazó orális dóziskészítmények nagyobb nyújtott vérszintet biztosítanak a megfelelő aktivált D-vitaminból, szignifikánsan kisebb intesztinális kalcium abszorpció stimulálással, mint amely az



aktivált D-vitamin orális dózisának megfelelő mennyiségével elérhető. Tehát az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin orális adagolásával nagyobb nyújtott vérszinteket érhetünk el az aktív D-vitaminból a prosztata daganatos és túlfejlődött sejtjeinek kezelésére, szignifikáns kalcémiás aktivitás nélkül, mint a magának az aktív D-vitaminnak a megfelelő mennyiségben történő orális adagolásával.

A találmány szerinti SR készítményekben az aktív D-vitamin előnyösen (III) általános képletű  $1\alpha$ -hidroxi-D-vitamin - a képletben

$R_a$  jelentése legalább 7 szénatomos oldallánc, amely elágazó vagy egyenes szénláncú, telített vagy telítetlen, heteroszubsztituált vagy nem heteroszubsztituált, gyűrűs vagy nem gyűrűs lehet -,

vagy bármely D-vitamin vegyület vagy annak homológja, amely D vitamin receptor proteinhez kötődik.

A találmány fenti kiviteli alakjában előnyös  $1\alpha$ -hidroxi-D-vitamin vegyületek közé tartoznak a (IV) általános képletű vegyületek - a képletben

B és C jelentése hidrogénatom vagy szén-szén kötés, vagyis kettős kötést jelent a C-22 és C-23 helyzet között;

$R^1$  és  $R^2$  jelentése azonosan vagy eltérően hidrogénatom, hidroxilcsoport, fluoratom, rövid szénláncú alkilcsoport, rövid szénláncú fluoralkilcsoport, rövid szénláncú alkiloxicssoport, rövid szénláncú alkenilcsoport, rövid szénláncú fluoralkenilcsoport, rövid szénláncú alkeniloxicssoport, rövid szénláncú aciloxicssoport, aromás aciloxicssoport, rövid szénláncú cikloalkilcsoport vagy



a hozzájuk kapcsolódó szénatommal együtt 3-8 szénatomos karbociklusos csoportot alkot;

$R^3$  jelentése hidrogénatom, fluoratom, rövid szénláncú alkilcsoport, rövid szénláncú alkenilcsoport, rövid szénláncú fluoralkilcsoport, rövid szénláncú fluoralkenilcsoport, rövid szénláncú alkiloxics csoport, rövid szénláncú alkeniloxics csoport, rövid szénláncú aciloxics csoport, aromás aciloxics csoport vagy rövid szénláncú cikloalkilcsoport;

$X^1$  jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport, és

$X^2$  jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport, vagy  $R^1$ -gyel vagy  $R^2$ -vel együtt kettős kötést jelent.

A (IV) általános képletű vegyületek, azaz az előnyös  $1\alpha$ -hidroxid<sub>3</sub>-vitamin vegyületek közül előnyösek az alábbiak:

$1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin [ $1\alpha,25$ -(OH)<sub>2</sub> $D_3$ ];

$1\alpha,24,25$ -trihidroxi- $D_3$ -vitamin [ $1\alpha,24,25$ -(OH)<sub>3</sub> $D_3$ ];

$1\alpha$ -hidroxid<sub>3</sub>-vitamin [ $1\alpha$ -(OH) $D_3$ ];

$1\alpha$ -hidroxid<sub>3</sub>-25-fluor- $D_3$ -vitamin [ $1\alpha$ -(OH)-25-F $D_3$ ];

$1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin [ $1\alpha,24$ -(OH)<sub>2</sub> $D_3$ ];

$1\alpha,24$ -dihidroxi-25-fluor- $D_3$ -vitamin [ $1\alpha,24$ -(OH)<sub>2</sub>-25-F $D_3$ ];

$1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_2$ -vitamin [ $1\alpha,25$ -(OH)<sub>2</sub> $D_2$ ];

$1\alpha,24,25$ -trihidroxi- $D_2$ -vitamin [ $1\alpha,24,25$ -(OH)<sub>3</sub> $D_2$ ];

$1\alpha$ -hidroxid<sub>2</sub>-vitamin [ $1\alpha$ -(OH) $D_2$ ];

$1\alpha$ -hidroxid<sub>2</sub>-25-fluor- $D_2$ -vitamin [ $1\alpha$ -(OH)-25-F $D_2$ ];

$1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_2$ -vitamin [ $1\alpha,24$ -(OH)<sub>2</sub> $D_2$ ];

$1\alpha,24$ -dihidroxi-25-fluor- $D_2$ -vitamin [ $1\alpha,24$ -(OH)<sub>2</sub>-25-F $D_2$ ];

$1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_4$ -vitamin [ $1\alpha,25$ -(OH)<sub>2</sub> $D_4$ ];

$1\alpha,24,25$ -trihidroxi- $D_4$ -vitamin [ $1\alpha,24,25$ -(OH)<sub>3</sub> $D_4$ ];



$1\alpha$ -hidroxi- $D_4$ -vitamin [ $1\alpha$ -(OH) $D_4$ ];

$1\alpha$ -hidroxi-25-fluor- $D_4$ -vitamin [ $1\alpha$ -(OH)-25-FD $_4$ ];

$1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_4$ -vitamin [ $1\alpha,24$ -(OH) $_2D_4$ ] és

$1\alpha,24$ -dihidroxi-25-fluor- $D_4$ -vitamin [ $1\alpha,24$ -(OH) $_2$ -25-FD $_4$ ].

Az aktív D-vitamin vegyületek közül azoknak, amelyek oldalláncukban királis centrumot tartalmaznak, például az  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_2$ -vitaminnak természetesen mindkét epimerje (például R és S), valamint a racém elegy is a találmány oltalmi körébe tartozik.

A (III) és (IV) általános képletű vegyületeket gyógyszerkészítésben szokásos eljárásokkal dolgozhatjuk fel nyújtott hatóanyag-leadású gyógyászati készítmények (alábbiakban részletesen ismertetett) előállítására, betegeknek, például emlősöknek - beleértve az embert is - történő adagolásra. A (III) és (IV) általános képletű vegyületek szokásos segédanyagokkal előállított dózisformái közé tartoznak például az orális adagolásra alkalmas elegyek. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-vitamin dózisformáit bármely nem-toxikus, gyógyászatilag elfogadható hordozóanyaggal előállíthatjuk, például kukoricakeményítővel, laktózzal vagy szacharózzal, amely nem reagál károsan a hatóanyagokkal. Az SR készítmény tabletta vagy kapszula formájában állítható elő.

A fenti kiviteli alak nagyon előnyös formája egy mátrix, amely az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamint egy elfogadható gyógyászati segédanyaggal együtt tartalmazza, és 4-8 órán keresztül lehetővé teszi az  $1,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin lassú, viszonylag állandó felszabadulását.

A nyújtott (azaz szabályozott) hatóanyagfelszabadulást biztosító eszközöket az ismert nyújtott hatóanyag-leadású adagoló-



rendszerek közül választhatjuk, amelyek körülbelül 4 vagy még több órán keresztül képesek a hatóanyag szabályozott leadására, ilyenek például a viasz mátrixrendszer, és az Eudragit RS/RL rendszer (Rohm Pharma, GbmH, Weiterstadt, Németország).

A viasz mátrixrendszerben a hatóanyag(ok) viasz kötőanyagban van(nak) diszpergálva, amely lassan oldódik a testfolyadékokban, és ezáltal fokozatosan adja le a hatóanyag(ka)t.

Előnyös szabályozott hatóanyag-leadású orális gyógyszer-adagoló rendszer az Eudragit RL/RS rendszer, amelyben a hatóanyag, az aktivált D-vitamin egy nyújtott hatóanyag-leadású mátrixszal van kombinálva, és 25/30 mesh méretű granulákra van porlasztva. A granulák ezután egy vékony polimer lakkréteg bevonattal vannak egységesen bevonva, amely vízdoldhatatlan, de a víz lassan átjut rajta. A bevont granulák kívánt esetben adalékanyagokkal, például antioxidánsokkal, stabilizátorokkal, kötőanyagokkal, csúsztatóanyagokkal, feldolgozási segédanyagokkal és hasonlókval elegyíthetők. Az elegy tablettává préselhető, amely alkalmazás előtt kemény és száraz, vagy kapszulába tölthető. A tablettá vagy kapszula lenyelés után érintkezésbe kerül a vizes bélfolyadékkal, a vékony lakkréteg duzzadni kezd, és lassan lehetővé teszi a bélfolyadék átjutását. Amint a bélfolyadék lassan átjut a lakk bevonaton, a hatóanyagok lassan felszabadulnak. Mire a tablettá áthalad a béltraktuson, körülbelül 4-8 óra alatt, a hatóanyagokat lassan, de teljesen leadja. Ennek megfelelően az emésztett tablettá aktivált D-vitamin, valamint bármely egyéb hatóanyag nyújtott leadását biztosítja.

Az Eudragit rendszer nagy permeabilitású lakkokból (RL) és kis permeabilitású lakkokból (RS) áll. A bevonat permeabi-





litása, ezáltal a hatóanyag leadásához szükséges idő az RS/RL bevonóanyag arányának változtatásával állítható be.

Az Eudragit RL/RS rendszer részletesebben a Rohm Tech., Inc. (195 Canal Street, Maiden, Massachusetts, 02146) technikai közleményeiből ismerhető meg. Utalunk továbbá K. Lehmann és D. Dreher munkájára ["Coating of tablets and small particles with acrylic resins by fluid bed technology", Int. J. Pharm. Techn. & Prod. Mfr. 2(r), 31-43 (1981)].

A találmány szerinti gyógyszer vagy kompozíció második kiviteli alakjában egy vagy több aktivált D-vitamin vegyület, vagy egy vagy több lényegében tiszta  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vagy ezek kombinációi vannak enterális bevonatú, nyújtott hatóanyag-leadású készítményben. Más szavakkal az enterális bevonatú, nyújtott hatóanyag-leadású készítmény egy késleltetett, nyújtott (DSR) készítmény, amely hatóanyagként az (I) és (II) vagy (III) és (IV) általános képletű vegyületeket vagy ezek kombinációit tartalmazza.

Meglepő módon azt találtuk, hogy a találmány szerinti DSR aktivált D készítmény szignifikánsan növeli az aktivált D-vitamin vegyület terápiás ablakát. Ez azt jelenti, hogy a hiperkalcémia és hiperkalciuria rizikója szignifikánsan csökkent, és az aktivált D-vitamin terápiás hatékonysága szignifikánsan növekedett, amikor orálisan adagoltuk DSR aktivált D készítményben, azonos mennyiségű aktivált D-vitamin korábban ismert orális készítményben való adagolásához viszonyítva. Ezenkívül a DSR aktivált D készítmény lehetővé teszi az aktivált D-vitamin magasabb nyújtott vérszintjének biztosítását, mint amely a korábban ismert aktív D-vitamint tartalmazó készítményekkel le-



hetséges volt.

A találmány szerinti gyógyszer fenti kiviteli alakjának megfelelő DSR készítményeket úgy állítjuk elő, hogy az (I), (II), (III) vagy (IV) általános képletű vegyületeket tartalmazó bevonatos granulákat - amelyeket fentebb ismertettünk - vagy tablettává formáljuk, vagy kapszulába töltjük, és a tablettát vagy kapszulát enterális bevonóanyaggal vonjuk be, amely pH 6,0 - 7,0 értéken oldódik. Egyik ilyen pH-dependens enterális bevonóanyag az Eudragit L/S, amely bélfolyadékban oldódik, de a gyomornedvben nem. Egyéb enterális bevonóanyagokat is alkalmazhatunk, például cellulóz-acetát-ftalátot (CAP), amely gyomornedvekben való oldódásnak ellenáll, de könnyen dezintegrálódik az intesztinális észterázok hidrolitikus hatása következtében.

Az enterális bevonóanyag megválasztása nem kritikus, amennyiben 4-8 órán keresztül nyújtott vagy szabályozott hatóanyag-leadást biztosít, és a hatóanyag leadása késleltetett, amíg a DSR készítmény eléri a belet. Noha a találmány szempontjából nem esszenciális, előnyös, ha a hatóanyag-leadás késleltetett addig, amíg a DSR készítmény eléri a vékonybél proximális része alatti részt.

Szakember számára nyilvánvaló, hogy a találmány szerinti készítmények egyéb idő-függő hatóanyag-leadó rendszerekbe is bezárható, például liposzóma-adagoló rendszerekbe, poliszacharidokba, amelyek lassú hatóanyag-leadási mechanizmust mutatnak, szalisztikus vagy egyéb polimer implantátumokba vagy mikrogömbökbe. Az ilyen, idő-függő hatóanyag-leadó rendszerekben a hatóanyagot megfelelően védik a differenciálisan degradálódó bevonatok, például a mikrokapszulák, többszö-



rös bevonatok, stb. és olyan eszközök, amelyek a bennük lévő kompozíciók folyamatos dozírozását biztosítják.

Noha a fentiekben a találmányt az előnyös kiviteli alakok ismertetésével írtuk le, magától értetődő, hogy a találmány egyetlen korlátja az alkalmazott aktív D-vitamin vegyület tekintetében az, hogy maga a D-vitamin vegyület, vagy annak in vivo metabolitja kötődjön a D-vitamin receptor proteinhez. Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamint illetően az egyetlen korlátozás az, hogy az termálisan aktív D-vitamin vegyületté alakuljon, amely maga, vagy annak in vivo metabolitja kötődik a VDR-hez.

Az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin és aktív D-vitamin vegyületek, előnyösen az (I), (II), (III) és (IV) általános képletű vegyületek hatóanyagként alkalmazhatók a fent ismertetett gyógyászati készítményekben. Az ilyen készítmények célszerűen fiziológiásan elfogadható segédanyagokat vagy hordozóanyagokat tartalmazhatnak. Ezek a gyógyászati készítmények a találmány további tárgyát jelentik. A dózisformák adjuvánsokat, például konzerválószerkeket vagy stabilizáló adjuvánsokat is tartalmazhatnak.

Mint azt fent említettük, a találmány szerinti gyógyászati hatású vegyületeket a gyógyszerkészítésben szokásosan alkalmazott eljárásokkal dolgozhatjuk fel a betegeknek, például emlősöknek, így embernek is adagolható gyógyszerekké. Például az (I) és (II) általános képletű vegyületeket szokásos segédanyagokkal, például gyógyászatilag elfogadható, enterális (például orális) vagy parenterális adagolásra megfelelő hordozóanyagokkal elegyíthetjük, amelyek nem lépnek káros reakcióba a hatóanyagokkal.

A (III) és (IV) általános képletű vegyületek esetén megfe-



lelő, gyógyászatiilag elfogadható hordozóanyag például a víz, sóoldatok, alkoholok, gumiarábikum, növényi olajok (például kukoricaolaj, gyapotmag-olaj, földimogyoró-olaj, olivaolaj, kókuszdió-olaj), halmájolajok, olajos észterek, például poliszorbát 80, polietilén-glikolok, zselatin, szénhidrátok (például laktóz, amilóz vagy keményítő), magnézium-sztearát, talkum, kovasav, viszkózus paraffin, zsírsav-monogliceridek és -digliceridek, pentaeritrit zsírsav-észterei, hidroximetilcellulóz, poli(vinilpirrolidon), stb. Az (I) és (II) általános képletű vegyületeket viszont lényegében oldószermentesen kell formálni.

Orális adagolásra különösen alkalmasak a tabletták, draszték, gyógycukorkák, porok vagy kapszulák, amint azt fent ismertettük. Édesítőszer is alkalmazható, hogyha édesített hordozóanyag a kívánatos. Általában a prosztata hiperproliferatív betegségei kezelésére a találmány szerinti kompozíciókban az  $1\alpha$ -hidroxid-previtamint  $0,1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  - körülbelül  $2,0 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  dózisokban, az aktív D-vitamint körülbelül  $0,1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  -  $2,0 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  dózisokban adagoljuk gyógyászatiilag elfogadható hordozóanyaggal, megfelelő mátrixban és/vagy enterális bevo-nattal ellátva, a találmány kiviteli alakjainak megfelelően.

Magától értetődően az adott esetben előnyös hatóanyag mennyiségek az alkalmazott specifikus vegyület hatékonyságától, a készítmény formájától, az adagolás módjától és a kezelendő betegségtől és organizmustól függően változhatnak. Így például egy adott beteg esetén szükséges specifikus dózis a beteg életkorától, testtömegétől, általános egészségi állapotától, a diétától, az adagolás időzítésétől és módjától, a kiürülés sebességétől és a kombinációban alkalmazott gyógyszereléstartól, vala-



mint a kezelendő betegség súlyosságától függően változik. Az adott beteg esetén alkalmazandó dózisokat szokásos módon határozhatjuk meg, például az adott vegyület és egy ismert szer aktivitásának összehasonlításával, amelyet szokásos gyógyászati protokoll segítségével végzünk.

A találmány szerinti kompozíciók egyéb gyógyászatilag hatásos anyagokat is tartalmazhatnak, vagy egynél több ismertetett vegyület keverékét. Előnyösen az (I), (II), (III) és (IV) általános képletű vegyületeket vagy ezek kombinációit egyéb gyógyászatilag hatásos anyagokkal együtt orálisan adagolhatjuk a fent ismertetett kiviteli alakok valamelyikében, ahol az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin dózisa 0,1 - 2,0  $\mu\text{g}/\text{nap}$  és az aktív D-vitamin dózisa 0,1  $\mu\text{g}$  - 2,0  $\mu\text{g}/\text{nap}$ .

A találmány tárgykörébe tartozik a találmány szerinti SR vagy DSR formában lévő antihyperproliferatív hatású vegyületek hatékony dózisainak együtt adagolása ismert androgén szabályozó vagy megvonó vagy tesztoszterinszint csökkentő szerekkel, például ösztrogénekkal (például dietilsztilbesztrollal), LHRH analógokkal,  $5\alpha$ -reduktáz enzim inhibitorokkal (például finaszteriddel), antiösztrogénekkal (például Tamoxifennel<sup>TM</sup>), antiandrogénekkal (például flutamiddal) (lásd például az US 5372996 számú szabadalmi leírást, amelynek tartalmát leírásunkba referenciaként beépítettük). Feltételezzük, hogy szimbiotikus hatás kapható és fokozott gyógyászati hatás érhető el ezekkel a különféle kombinációkkal. Ezenkívül lehetőség nyílik a terápia alkalmazására azáltal, hogy a fenti szerek káros mellékhatásai, például az ösztrogének káros kardiovaszkuláris hatásai jelentősen csökkennek ahhoz viszonyítva, amikor ezeket a



szereket önmagukban nagyobb dózisokban adagoljuk. Az együtt adagolt androgén szabályozó vagy tesztoszterinszint csökkentő szerek lehetséges dózisa körülbelül 0,002 és 0,20  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  között változnak.

A találmány szerinti DSR vagy SR formában lévő  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vagy aktív D-vitamin hatásos mennyisége együtt alkalmazható egy másik rákellenes szerrel, például citotoxikus szerrel, különösen áttételes prosztaták kezelésére használható gyógyszerkészítmény előállítására, ahol a hormonkezelést követően visszaesés következett be. A fenti szerekre példaként említjük az ösztramusztin-foszfátot, prednimusztint, ciszplatint, 5-fluor-uracilt, melfalant, hidroxikarbamidot, mitomicint, idarubicint, metotrexátot, adriamicint és daunomicint. A (II) vagy (IV) általános képletű aktív D-vitamin vagy (I) vagy (II) általános képletű  $1\alpha$ -hidroxi-X-previtamin alkalmazása különféle rákellenes szerekkel kombinációban feltehetőleg szignifikánsan növeli a ráksejtekre kifejtett citotoxikus hatást, ezáltal fokozott terápiás hatást biztosít. Specifikusan szignifikánsan nagyobb szaporodásgátló hatást kapunk a fenti kombinációkkal a rákellenes szerek alacsonyabb koncentrációinak alkalmazása esetén, mint ha ezeket a szereket önmagukban használjuk a kezelésre, ezért lehetőség nyílik olyan gyógykezelésre, amikor a rákellenes szerekkel kapcsolatos káros mellékhatások jelentősen csökkennek, a rákellenes szer önmagában, nagyobb dózisokban való alkalmazásához viszonyítva. Az együtt adagolt második rákellenes szer lehetséges dózisa körülbelül 0,1 - 1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$ .

A találmány tárgykörébe tartozik továbbá az (I), (II), (III) vagy (IV) általános képletű vegyületek hatékony dózisainak



együtt alkalmazása hormonokkal vagy egyéb olyan szerekkel, például ösztrogénekkal, amelyek ismertén enyhítik a csontbetegségeket vagy rendellenességeket. Mint azt fent említettük, a prosztaták gyakran áttevődik a csontra, csontvesztést, és ezzel kapcsolatos fájdalmat okozva. A fenti csontgyógyszerekre példaként említjük a konjugált ösztrogéneket vagy ekvivalenseiket, kalcitonint, biszfoszfonátokat, kalciumpótlókat, kobalamint, pertusszisz toxint és bórt. Az együtt alkalmazott csontgyógyszerek lehetséges dózisait az 1. táblázatban adjuk meg.

### 1. táblázat

#### **(I) általános képletű $1\alpha$ -hidroxi-D-vitaminokkal együtt alkalmazott különféle csontgyógyszerek lehetséges orális dózisa**

Szer	Dózistartomány		
	Széles	Előnyös	Legelőnyösebb
Konjugált ösztrogének vagy ekvivalensei (mg/nap)	0,3-5,0	0,4-2,4	0,6-1,2
Nátrium-fluorid (mg/nap)	5-150	30-75	40-60
Kalcitonin (NE/nap)	5-800	25-500	50-200
Biszfoszfonátok (mg/nap)	0,5-20	1-15	5-10
Kalciumpótlók (mg/nap)	250-2500	500-1500	750-1000
Kobalamin ( $\mu$ g/nap)	5-200	20-100	30-50
Pertusszisz toxin (mg/nap)	0,1-2000	10-1500	100-1000
Bór (mg/nap)	0,10-3000	1-250	2-100

Az antiösztrogének, mint például a Tamoxifen<sup>TM</sup> szintén ismert csontgyógyszerek, és ezeket célszerűen együtt alkalmaz-



hatjuk a találmány szerinti vegyületekkel és kompozíciókkal.

A találmányt részletesebben az alábbi példákkal szemléltetjük a korlátozás szándéka nélkül. A példákban a nagynyomású folyadékkromatográfiás eljárást (HPLC) Waters kromatográfárral végeztük, Zorbax Sil ODS oszlop alkalmazásával.

1 $\alpha$ -Hidroxi-D-previtamin 1 $\alpha$ -hidroxi-D-vitaminná történő konverziójának időbeli lefolyása

1. példa

**1 $\alpha$ -OH-preD<sub>2</sub>, 1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>2</sub> és 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>**

A previtamin vitaminná történő in vitro konverzióját három 1 $\alpha$ -hidroxi-D-previtaminon határozzuk meg. A vizsgált previtaminok: 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>2</sub>-previtamin, 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-D<sub>2</sub>-previtamin és 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>3</sub>-previtamin. Mind a három 1 $\alpha$ -hidroxi-D-previtamint etanolban oldjuk, 37 °C-os vízfürdőn inkubáljuk, és 2 órás időközökben mintát veszünk. A mintákat analitikai HPLC-vel szétválasztjuk, hogy meghatározzuk a previtamin vitamin formává történő termális konverziójának mértékét. A mért adatokat normalizáltuk, hogy bármely vitamin forma jelenlétét figyelembe vegyük a kiindulási készítményben ( $\leq 10\%$ ). Az eredményeket az 1. ábrán közöljük, amelyen a previtamin százalékát az idő függvényében (óra) ábrázoljuk. Minden egyes previtaminra generáltuk a lineáris regressziós egyeneseket. Ezekből meghatároztuk a hőkonverzió felezési idejét, azaz a previtamin 50%-ának vitamin formává történő átalakulásához szükséges időt. Az alábbi értékeket kaptuk:

1 $\alpha$ -hidroxi-D <sub>2</sub> -previtamin	12,9 óra
1 $\alpha$ ,24-hidroxi-D <sub>2</sub> -previtamin	12,2 óra
1 $\alpha$ ,25-hidroxi-D <sub>3</sub> -previtamin	7,7 óra





Ezek az adatok azt mutatják, hogy normális testhőmérsékleten az  $1\alpha$ -hidroxilezett D-previtamin 50%-os konverziója  $1\alpha$ -hidroxilezett vitaminná in vitro hosszabb, mint 12 óra. In vivo hasonló arányú konverzió várható. Tehát, a szakmai előítéletekkel szemben az  $1\alpha$ -hidroxi-previtaminok olyan átalakulási sebességgel rendelkeznek, hogy orális gyógyszerkészítményekben megfelelően alkalmazhatók.

$1\alpha$ -Hidroxi-D-previtamin biológiai hozzáférhetősége és farmakokinetikai vizsgálata

2. példa

**$1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{preD}_2$**

Az  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $\text{D}_2$ -previtamin [ $(1,24-(\text{OH})_2\text{preD}]$  biológiai hozzáférhetőségének meghatározására végeztük a kísérletet. Ebben a kísérletben a normál diétán tartott normál patkányokat véletlenszerűen kezelt és kontroll csoportra osztjuk. A patkányoknak orálisan, egyetlen dózisban  $1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{preD}_2$ -t adagolunk frakcionált kókuszdióolajban (FCO)  $1,5 \mu\text{g}$  mennyiségben, amely közelítőleg  $7,5 \mu\text{g/kg}$ -nak felel meg. A kontroll csoport csak hordozóanyagot kap. A kezelés után 6 órával mindkét csoportból vérmintát veszünk, és analizáljuk az  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $\text{D}_2$ -vitamin forma szérum koncentrációját. Az adatokat a 2. táblázatban ismertetjük.



## 2. táblázat

**1 $\alpha$ ,24-Dihidroxi-D<sub>2</sub>-vitamin [1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>] szérumszintje patkányban 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-D<sub>2</sub>-previtamin [1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>2</sub>] egyetlen orális dózisa után 6 órával**

<b>Tesztvegyület</b>	<b>Dózis (<math>\mu</math>g)</b>	<b>n</b>	<b>Szérum 1<math>\alpha</math>,24- -(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> (pg/ml)*</b>
Hordozóanyag	0,000	5	13,8 $\pm$ 4,2
1 $\alpha$ ,24-(OH) <sub>2</sub> preD <sub>2</sub>	1,5	5	65,5 $\pm$ 10,1

\*A megadott értékek jelentése átlag  $\pm$  SD

A fenti adatok megerősítik, hogy az orálisan adagolt 1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>2</sub> biológiailag hozzáférhető, amit a keringésben az 1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> megnövekedett koncentrációja bizonyít. Ezek az eredmények meglepőek és előre nem vártak.

### 3. példa

#### **1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>**

Hím, elválasztott patkányokat normál kalciumot (0,47%) tartalmazó D-vitamin deficiens táplálékon tartunk. 4 hét elteltével a patkányokat két csoportra osztjuk, és orálisan kezeljük vagy 0,25  $\mu$ g/kg 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>-mal hordozóban, például laktózban, vagy csak a hordozóval (kontroll). Az adagolás után 4 órával a patkányokat elpusztítjuk, és az 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> vérszintjét szokásos módszerrel meghatározzuk.

Ezzel az eljárással kimutattuk, hogy 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>-mal kezelt patkányokban az 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> vérszintje szignifikánsan nagyobb, mint a kontroll állatok vérszintje.



#### 4. példa

##### **1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>**

Hím, elválasztott patkányokat normál Ca-t (0,47%) és P-t (0,3%) tartalmazó D-vitamin deficiens táplálékkal etetünk. Az állatokat 4 héten keresztül a fenti diétán tartjuk, majd 17 csoportra osztjuk, és orálisan 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-mal vagy 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>-mal kezeljük hordozóban, például laktózban, vagy csak a hordozóanyaggal (kontroll). Egy csoportot a hordozóanyaggal történt kezelés után 8 órával ölünk le. Nyolc csoportnak orálisan, egyetlen dózisban vagy 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>-at, vagy 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-at adagolunk, és a kezelés után 2, 4, 6, 9, 12, 18, 24, illetve 48 órával pusztítjuk el. Az összegyűjtött vért 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> szintre analizáljuk.

Az eredmények azt mutatják, hogy az 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>-mal végzett kezelés megnövekedett 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> szérumszinteket eredményez. Az eredmények azt is mutatják, hogy a szérum 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> növekedése sokkal fokozatosabb és elnyúltabb, hosszabb időn keresztül tart, az 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> adagolása után megfigyelt 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> farmakokinetikához viszonyítva.

#### 5. példa

##### **1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub> és 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> biológiai hozzáférhetőségének összehasonlítása**

Háromhetes patkányokat normál koncentrációban kalciumot és foszfort tartalmazó, D-vitamin hiányos tápon tartunk 3-6 héten keresztül, amíg kifejezett hipokalcémiát figyelünk meg. A patkányokat ezután véletlenszerűen kezelt csoportokra osztjuk, és orálisan, egyetlen dózisban 0,255  $\mu$ g 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>-mal



vagy  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ -mal kezeljük, amely közelítőleg  $1,5 \mu\text{g/kg}$  dózisnak felel meg, hordozóként frakcionált kókuszolajat alkalmazva. A kontroll csoport csak hordozóanyagot kap. Minden egyes kezelt csoportban a dozírozás után 12 órával vérmintát veszünk, és meghatározzuk a szérumban a vitamin forma koncentrációját.

Az adatokat a 3. táblázatban foglaljuk össze.

### 3. táblázat

**$1\alpha,25$ -Dihidroxi- $\text{D}_3$ -vitamin [ $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ ] szérum-  
-koncentrációja angolkóros patkányokban  $1\alpha,25$ -dihidroxi-  
- $\text{D}_3$ -previtamin [ $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$ ] egyetlen orális dózisának  
adagolása után 12 órával**

Tesztvegyület	Dózis ( $\mu\text{g}$ )	n	Szérum $1\alpha,25$ - - $(\text{OH})_2\text{D}_3$ ( $\text{pg/ml}\pm\text{SD}$ )*
Hordozóanyag	0,000	8	$14,7 \pm 5,1$
$1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$	0,255	6	$615,4 \pm 298,1^{**}$
$1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$	0,255	6	$326 \pm 192,0$

\*\*  $p < 0,01$  az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ -hoz viszonyítva

Ezek az adatok azt mutatják, hogy az orálisan adagolt  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$  szignifikánsan nagyobb szérum  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  szintet eredményez, mint az orálisan adagolt  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ . Ezek az adatok megerősítik, hogy az orálisan adagolt  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$  biológiailag hozzáférhető, amit a keringésben lévő megnövekedett  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  szint bizonyít. Az adatok azt is mutatják, hogy az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$  biológiailag



jobban hozzáférhető, mint a vitamin aktív formája, az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ .

#### VDR kötődés vizsgálata

##### 6. példa

##### **$1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$**

$1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$ -at vagy  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ -at inkubálunk D-vitamin receptor proteinnel és nyomjelző mennyiségű  $^3\text{H}$ - $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ -mal, kompetitív kötődési vizsgálat standard körülményei között. Az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$  és az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  kompetitor mennyiségét 7,8 és 1000 pg, illetve 1,0 és 25 pg között változtatjuk.

A kötődési vizsgálathoz végzett inkubálással egyidejűleg egy  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$ -at tartalmazó csövet azonos hőmérsékleten és azonos időn keresztül inkubálunk, hogy meghatározzuk az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$  vitamin formával egyensúlyba jutott mennyiségét. A HPLC analízis azt mutatja, hogy az inkubációs periódus végén az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$  körülbelül 2%-a alakul át vitamin formává. Az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{preD}_3$  kötődési szintjét korrigáljuk a vizsgálati eljárás során képződött vitamin forma mennyiségével. A kötődési analízis eredményeit a 4. táblázatban foglaljuk össze.



4. táblázat

**1 $\alpha$ ,25-Dihidroxi-D<sub>3</sub>-previtamin kötődése D-vitamin  
receptorhoz in vitro**

<b>1,25-preD<sub>3</sub> mennyisége (pg/cső)</b>	<b>Összes kimutatható kötődés (pg/cső)</b>	<b>Korrigált kötődés (pg/cső)</b>
7,8	ND	ND
15,6	ND	ND
31,3	ND	ND
62,5	1,88	0,6
125	3,02	0,5
250	6,32	1,3
500	12,0	2,0
1000	20,5	0,5

A 4. táblázat adatai azt mutatják, hogy 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub> vagy csak csekély, vagy semmi affinitást nem mutat VDR-rel szemben, azaz a receptorral szembeni affinitása kisebb, mint az 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> affinitásának századrésze, tehát az 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>3</sub>-nak 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> formává kell alakulnia, mielőtt kifejti biológiai hatását.

7. példa

**1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>2</sub>**

Az 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>2</sub> és annak vitamin formája, az 1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> VDR kötődési affinitásainak összehasonlítását a 6. példában leírtak szerint végezzük. Az eredmények azt mutatják, hogy az 1 $\alpha$ ,24-(OH)<sub>2</sub>preD<sub>2</sub> lényegesen kisebb affinitást mutat a



receptorhoz, mint vitamin formája, az  $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_2$ .

8. példa

**$1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{preD}_4$**

Az  $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{preD}_4$  és annak vitamin formája, az  $1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{D}_4$  VDR kötődési affinitásainak összehasonlítását a 6. példában leírtak szerint végeztük. Az eredmények azt mutatják, hogy az  $1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{preD}_4$  lényegesen kisebb affinitást mutat a receptorhoz, mint vitamin formája, az  $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_4$ .

$1\alpha$ -Hidroxi-D-previtamin akut hiperkalcémiás hatásának vizsgálata

9. példa

**$1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{preD}_3$**

Hím, elválasztott patkányokat normál kalciumot (0,47%) és foszfort (0,3%) tartalmazó, D-vitamin hiányos táppal etetünk. Körülbelül 4-6 hét elteltével a patkányokat 5 csoportra választjuk szét, és orálisan vagy 0,06, vagy 0,12  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  dózisban  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $\text{D}_3$ -vitaminnal; vagy 0,06 vagy 0,12  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  dózisban  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $\text{D}_3$ -previtaminnal kezeljük hordozóanyagban, például laktózban, vagy csak a hordozóanyaggal (kontroll) 3 napon keresztül. Az utolsó adagolás után 24 órával az összes állatot kivérettük, és a vérben meghatározzuk a szérum kalcium- és foszforszintjét. Az eredmények azt mutatják, hogy az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $\text{D}_3$ -vitaminnal végzett adagolás nagyobb emelkedést okoz a szérum kalcium- és foszforszintjében, mint az azonos dózisban adott  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $\text{D}_3$ -previtamin.



Késleltetett, nyújtott hatóanyag-leadású aktív D-vitamin tartalmú készítmény (DSR aktív D-vitamin) biológiai hozzáférhetőségének és farmakokinetikájának vizsgálata

10. példa

**Azonos mennyiségű Eudragit L100-at és S100-at tartalmazó készítmény, és vizsgálata**

Megfelelő mennyiségű aktivált D-vitamint etanolban oldunk, és a 4. táblázatban megadott mátrix komponensekkel elegyítjük, majd 850 g-os 25/30 mesh nonpareille gyöngyökre permetezzük. Száradás után a gyöngyöket szintén az 5. táblázatban megadott enterális bevonattal bevonjuk.

5. táblázat

<b>Komponens</b>	<b>Anyag</b>	<b>Mennyiség (g)</b>
Mátrix	Eudragit RS100	50
	Metanol	50
	Etanol gyógyszerrel	
	Desztillált víz	5
	Aceton	qs 500-ra
Enterális bevonat	A TEC (acetyl-triethyl-citrate, képlékenyítőszert)	54
	Metanol	600
	Desztillált víz	30
	Eudragit L100	153
	Eudragit S100	153
	Talkum	40
	Aceton	qs 4000-re





A gyöngyök formálása után azokat zselatin kapszulába (#0) töltjük 500 mg/kapszula mennyiségben, kutyáknak történő adagolásra.

A kutyákat (kopó, hímek és nőstények vegyesen, testtömegük 13, illetve 9 kg) 5 kapszula/nap dózisban kezeljük a készítménnyel (DSR-008). Vérmintát veszünk az alapérték meghatározásához, és a dozírozás után 24 órával, de a soron következő dozírozás előtt, és meghatározzuk a szérum kalciumszintjét. A dózisok adagolását 2 nap elteltével befejezzük, ekkor a szérum kalciumszintjei szignifikánsan a normális érték feletti.

A fenti készítményből (DSR-008) 5 kapszula/nap dózist adagolunk egy szukának 7 napon keresztül. A szérum normális kalciumszintje szukákban 10,0 - 12,4 mg/dl, az átlagérték 11,2 mg/dl. A szérum kalciumszintjének alapértéke ebben a kísérletben 11,7 mg/dl; az ezt követő napokon az alábbi értékeket kapjuk: 12,1, 12,3, 12,7, 13,1, 13,5 és 15,1 mg/dl.

Ezek az eredmények azt mutatják, hogy az aktív D-vitamin biológiai aktivitása ebben a DSR készítményben hosszabb időn keresztül tart.

### 11. példa

#### **Eudragit L100 és S90 eltérő mennyiségeit tartalmazó készítmény, és vizsgálata**

Az aktivált D-vitamin megfelelő mennyiségét etanolban oldjuk, és a 6. táblázatban megadott mátrix komponensekkel elegyítjük, majd 850 g-os 25/30 mesh méretű nonpareille gyöngyökre permetezzük. Szárítás után a gyöngyöket a 6. táblázatban megadott enterális bevonattal látjuk el.



6. táblázat

Komponens	Anyag	Mennyiség (g)
Mátrix	Eudragit RS100	10
	Metanol	10
	Etanol gyógyszerrel	
	Desztillált víz	1
	Aceton	qs 100-ra
Enterális bevonat	A TEC (acetyl-triethyl-citrate, képlékenyítőszert)	68
	Metanol	750
	Desztillált víz	35
	Eudragit L100	338
	Eudragit S90	49
	Talkum	50
	Aceton	qs 5000-re

A gyöngyök kialakítása után azokat zselatin kapszulába (#0) töltjük 500 mg/kapszula mennyiségben, kutyáknak történő adagoláshoz.

A kutyáknak (mint a 10. példában) 5 kapszula/nap dózisban adjuk a DSR-010 készítményt. Vérmintát veszünk az alapérték meghatározásához, és a dozírozás után 24 órával, de a soron következő dozírozás előtt, és meghatározzuk a szérumban a kalciumszintjét. A dózisok adagolását 2 nap elteltével fejezzük be, ekkor a szérumban a kalciumszintjei szignifikánsan a normális érték fölé emelkednek.



A fenti készítményt (DSR-010) 5 kapszula/nap mennyiségben szuka kutyának adagoljuk 2 napon keresztül. A szérumszintje szukákban 10,0 - 12,4 mg/dl közötti, az átlagérték 11,2 mg/dl. A szérumszintjének alapértéke 11,9; az ezt követő napokon a megfelelő értékek az alábbiak: 13,8 és 16,1 mg/dl.

Ezek az adatok azt mutatják, hogy az aktív D-vitamin ebben a DSR készítményben biológiailag jól hozzáférhető.

### 12. példa

#### **Sztearinsav mátrixszal készült készítmény és annak vizsgálata**

Az aktivált D-vitamin megfelelő mennyiségét etanolban oldjuk, és a 7. táblázatban megadott mátrix komponensekkel kombináljuk, majd 850 g-os 25/30 mesh méretű nonpareil gyöngyökre permetezzük. Száradás után a gyöngyöket a 7. táblázatban megadott enterális bevonattal látjuk el.



7. táblázat

Komponens	Anyag	Mennyiség (g)
Mátrix	Sztearinsav	10
	Etanol gyógyszerrel	
	Aceton	qs 90-re
Enterális bevonat	A TEC (acetyl-triethyl-citrate, képlékenyítőszert)	68
	Metanol	750
	Desztillált víz	35
	Eudragit L100	338
	Eudragit S90	49
	Talkum	50
	Aceton	qs 5000-re

A gyöngyök kialakítása után azokat zselatin kapszulába (#0) töltjük 500 mg/kapszula mennyiségben, kutyáknak történő adagoláshoz.

A kutyáknak (mint a 10. példában) 5 kapszula/nap dózisban adjuk a DSR-012 készítményt. Vérmintát veszünk az alapérték meghatározásához, és a dozírozás után 24 órával, de a soron következő dozírozást megelőzően, és meghatározzuk a szérumban a kalcium szintet. A dózisok adagolását 2 nap elteltével fejezzük be, ekkor a szérumban a kalciumszintek szignifikánsan a normális értékek fölé emelkednek.

A fenti készítményt (DSR-012) 5 kapszula/nap mennyiségben szuka kutyának adagoljuk 2 napon keresztül. A normális



szérum kalciumszint szukákban 10,6 - 12,0 mg/dl közötti, az átlagérték 11,3 mg/dl. A szérum kalciumszint alapértéke 11,4; az ezt követő napokon a megfelelő értékek az alábbiak: 14,2 és 15,5 mg/dl.

Ezek az adatok azt mutatják, hogy az aktív D-vitamin ebben a DSR készítményben biológiailag jól hozzáférhető.

### 13. példa

#### **DSR $1\alpha,25-(OH)_2D_3$**

Egy kutyát kezelünk hatóanyagként  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamint tartalmazó kapszulával, amelyet a találmány szerint készítettünk (DSR). Egy másik kutyának hasonló mennyiségben  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamint adunk frakcionált kókuszdióolajban (FCO). A dózis beadása után 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 9, 15, 24, 36 és 72 óra elteltével veszünk vérmintákat. A vért aktív D-vitamin szintre analizáljuk. A kapszula készítménnyel kezelt állatban az aktív D-vitamin koncentrációja a vérben lassabban növekedik, az aktív D-vitamin maximális koncentrációja a vérben alacsonyabb értéket mutat, és az aktív D-vitamin szint a vérben hosszabb időn keresztül fennáll, mint a frakcionált kókuszolajban beadott D-vitaminnal kezelt állat esetén.

A 2. grafikonon mutatjuk be a vér aktív D-vitamin szintjét, amelyet a fenti példa szerint határoztunk meg.

Ezek az eredmények azt mutatják, hogy az állatokat a találmány szerint formált készítménnyel kezelve az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin szérum szintje lassabb emelkedést mutat, és a hatás időtartama hosszabb, a frakcionált kókuszolajban adott  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin beadása után kapott  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin farmakokinetikájával összehasonlítva.



#### 14. példa

##### **Aktív D-vitamin késleltetett és nyújtott szintjei szérumban**

A betegeknek 2 µg  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ -at adagolunk a találmány szerint formált készítményben. Vérmintákat az adagolás után 0, 2, 6, 8 és 12 órával veszünk, és  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ -ra analizáljuk. Az eredmények azt mutatják, hogy az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  a 2, 6 és 8 órás időpontban a 0 időpontban mért érték fölé emelkedik, de a hiperkalcémiát kiváltó szint alatt marad. Ezek az eredmények bizonyítják az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  késleltetett és nyújtott felszabadulását.

#### 15. példa

##### **Akut hiperkalcémia vizsgálata**

A betegeknek 2,0 µg találmány szerint formált kalcitriolt adunk naponta egyszer, 7 napon keresztül. Az utolsó adagolás után egy éjszakán keresztül gyűjtjük a vizeletet, és az utolsó dózálás után 24 órával vérmintát veszünk, és meghatározzuk a kalcium-tartalmat. Nem találtunk hiperkalcémiát vagy hiperkalciuriát, ami az alacsony toxicitást mutatja.

#### 16. példa

##### **$1\alpha,24\text{-(OH)}_2\text{D}_2$**

A D-vitamin vegyületek VDR kötődését prosztatasejtekben Skowronski és munkatársai módszere szerint határozzuk meg [Endocrinology 136, 20-26 (1995)]. A prosztatából származó sejtvonalakat közelítőleg összefolyásig tenyésztjük, mossuk, és lekaparással összegyűjtjük. A sejteket centrifugálással mossuk, és a sejtüledéket proteáz inhibitorokat tartalmazó pufferolt sóoldatban újra szuszpendáljuk. A sejteket ultrahangos kezelés-



sel szétroncsoljuk, jeges hűtés közben. A szétroncsolt sejtekből 207000 g-vel 35 percen keresztül 4 °C-on végzett centrifugálás-sal kapott felülúszót vizsgáljuk kötődésre. 200 µl oldható extraktumot (1-2 mg protein/ml felülúszó) 1 nmol/l <sup>3</sup>H-1α,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-mal inkubálunk, az 1α,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> növekvő koncentrációinak (0,01 - 100 nmol/l) jelenlétében, 4 °C-on, 16-20 órán keresztül. A megkötött és a szabad hormonokat hidroxilapatit alkalmazásával szokásos módon szétválasztjuk. A specifikus kötődést úgy számítjuk ki, hogy a nem-radioaktív 1α,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 250-szeres feleslegének jelenlétében kapott nem-specifikus kötődést az összes mért kötődésből levonjuk. Az eredmények azt mutatják, hogy az 1α,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> erős affinitást mutat prosztata VDR-ekhez, jelezvén, hogy az 1α,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> erős biológiai aktivitással rendelkezik prosztata-sejtek vonatkozásában.

#### 17. példa

##### **1α,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>4</sub>**

A 16. példában leírtak szerint járunk el 1α,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>4</sub> aktív D-vitamin analógot alkalmazva, és meghatározzuk a specifikus kötődést. Az eredmények azt mutatják, hogy az 1α,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>4</sub> erős affinitást mutat prosztata VDR-hez, jelezvén, hogy az 1α,24-(OH)<sub>2</sub>D<sub>4</sub> erős biológiai hatással rendelkezik prosztata-sejtek vonatkozásában.

#### 18. példa

##### **1α,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>4</sub>**

A 16. példában leírtak szerint járunk el 1α,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>4</sub> aktív D-vitamin analógot alkalmazva, és meghatározzuk a specifikus kötődést. Az eredmények azt mutatják, hogy az



$1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_4$  erős affinitást mutat prosztata VDR-hez, jelezvén, hogy az  $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_4$  erős biológiai hatással rendelkezik prosztata sejtek vonatkozásában.

### **Prosztata sejt proliferáció gátlása**

#### 19. példa

#### **$1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{D}_2$**

A sejtproliferáció gátlását Skowronski és munkatársai módszerével [Endocrinology 132, 1952-1960 (1993) és Endocrinology 136, 20-26 (1995)] határozzuk meg. A humán prosztata adenokarcinómából származó LNCaP és PC-3 sejt vonalakat 6-rezervoáros szövettenyésztő lemezekre oltjuk le körülbelül 50000 sejt/lemez sűrűséggel. Miután a sejtek körülbelül 2-3 nap elteltével megtapadtak és stabilizálódtak, a közeget vagy hordozóanyagot, vagy  $10^{-11}$  mol/l -  $10^{-7}$  mol/l koncentrációban  $1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{D}_2$  D-vitamin analógot tartalmazó tápközzeggel helyettesítjük. A hordozót vagy a vizsgált analógot tartalmazó tápközeget minden harmadik napon kicseréljük. 6-7 nap elteltével a közeget eltávolítjuk, a sejteket öblítjük, hideg 5%-os triklórecetsavval kicsapjuk, és hideg etanollal mossuk. A sejteket 0,2 n nátrium-hidroxiddal szolubilizáljuk, és a DNS mennyiségét standard eljárásokkal meghatározzuk. Az eredmények azt mutatják, hogy az  $1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{D}_2$  analóggal inkubált tenyészetekben szignifikánsan kevesebb a sejt, mint a kontroll tenyészetekben.

#### 20. példa

#### **$1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{D}_4$**

A 19. példa szerinti eljárást ismétljük, azzal az eltéréssel, hogy a vizsgálatot az  $1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{D}_4$  aktív D-vitamin analóggal





végezzük, majd meghatározzuk a sejtszámot. Az  $1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{D}_4$  analóggal inkubált tenyészetekben szignifikánsan kevesebb sejtet találunk, mint a kontroll tenyészetekben.

21. példa

**$1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_4$**

A 19. példa szerinti eljárást ismételtük, azzal az eltéréssel, hogy a vizsgálatot az  $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_4$  aktív D-vitamin analóggal végezzük, majd meghatározzuk a sejtszámot. Az  $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_4$  analóggal inkubált tenyészetekben szignifikánsan kevesebb sejtet találunk, mint a kontroll tenyészetekben.

**Prosztatasejt differenciálódás stimulálása**

22. példa

**$1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{D}_2$**

Skowronski és munkatársai módszerét alkalmazva [Endocrinology 132, 1952-1960 (1993) és Endocrinology 136, 20-26 (1995)] a humán áttételes prosztata adenokarcinómából származó, és ismertén PSA-t expresszáló LNCaP sejtvonalat 6-rezervoáros szövettenyésztő lemezre oltjuk le körülbelül 50000 sejt/lemez sűrűséggel. Miután a sejtek körülbelül 2-3 nap elteltével megtapadtak és stabilizálódtak, a közeget vagy hordozóanyagot, vagy  $10^{-11}$  mol/l -  $10^{-7}$  mol/l koncentrációban az  $1\alpha,24-(\text{OH})_2\text{D}_2$  aktív D-vitamin analógot tartalmazó közeggel helyettesítjük. 6-7 nap elteltével a tápközeget eltávolítjuk, és  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ -on tároljuk a prosztata-specifikus antigén (PSA) analízis végzéséig.

A parallel tenyészetekből származó sejteket mossuk, kicsapjuk, és a DNS mennyiségét standard eljárással meghatározzuk. A PSA-t ismert standard eljárással mérjük. Az  $1\alpha,24-$



$-(OH)_2D_2$ -vel inkubált tenyészetekben szignifikánsan több PSA-t találunk, mint a kontroll tenyészetekben, PSA tömege/sejt egységben kifejezve.

23. példa

**$1\alpha,24-(OH)_2D_4$**

A 22. példában leírtak szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy aktív D-vitamin analóggént  $1\alpha,24-(OH)_2D_4$ -et alkalmazunk. Meghatározzuk a PSA-t, és azt találjuk, hogy az  $1\alpha,24-(OH)_2D_4$  analóggal inkubált tenyészetekben szignifikánsan több a PSA, mint a kontroll tenyészetekben PSA tömege/sejt egységben kifejezve.

24. példa

**$1\alpha,25-(OH)_2D_4$**

A 22. példában leírtak szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy aktív D-vitamin analóggént  $1\alpha,25-(OH)_2D_4$ -et alkalmazunk. Meghatározzuk a PSA-t, és azt találjuk, hogy az  $1\alpha,25-(OH)_2D_4$  analóggal inkubált tenyészetekben szignifikánsan több a PSA, mint a kontroll tenyészetekben PSA tömege/sejt egységben kifejezve.

**Klinikai vizsgálatok**

25. példa

**$1\alpha,24-(OH)_2preD_2$**

Az  $1\alpha,24-(OH)_2preD_2$ -vel végzett nyitott vizsgálatokban előrehaladott, androgéntől független prosztatákban szenvedő betegek vettek részt. A választott betegek legalább 40 évesek voltak, a prosztatata adenokarcinóma hisztológiailag bizonyított volt, és a vizsgálat idején progresszív betegség előzetesen hormonális beavatkozásra reagált. A vizsgálat megkezdésekor a



betegek 26 héten keresztül orálisan  $1\alpha,24\text{-(OH)}_2\text{preD}_2$  terápiát kaptak, miközben az előzetesen esetleg alkalmazott kalcium kiegészítők, D-vitamin kiegészítők és D-vitamin hormon helyettesítéses terápiák alkalmazását megszakítottuk. A kezelés során a betegek állapotát szabályos időközökben ellenőriztük a következőkre: (1) hiperkalcémia, hiperfoszfátémia, hiperkalciuria, hiperfoszfaturia és egyéb toxicitás; (2) az áttételes betegség progressziójában bekövetkezett változások, és (3) a vizsgált szer előírt dózisának elfogadása.

A vizsgálatot két fázisban végeztük. Az első fázisban a naponta orálisan adott  $1\alpha,24\text{-(OH)}_2\text{preD}_2$  maximális tolerálható dózisát (MTD) határoztuk meg oly módon, hogy a betegek egymást követő csoportjainak progresszíven növelt dózisokat adagoltunk. Az összes dózist reggel adagoltuk reggeli előtt. A betegek első csoportját  $25,0 \mu\text{g } 1\alpha,24\text{-(OH)}_2\text{preD}_2$ -vel kezeltük. A következő betegcsoportot  $50,0$ ,  $75,0$ , illetve  $100,0 \mu\text{g/nap}$  dózissal kezeltük. Az adagolást a vizsgálat során megszakítás nélkül folytattuk, hacsak a szérum kalciumszintje meg nem haladta a  $11,6 \text{ mg/dl}$  értéket, vagy egyéb, 3-as vagy 4-es fokozatú toxicitás nem lépett fel, amely esetben a dózist a még elfogadott értéken tartottuk a megfigyelt toxikus hatások eltűnéséig, majd visszatértünk egy  $10,0 \mu\text{g}$ -mal kisebb szintre.

A vizsgálat első szakaszából származó eredmények azt mutatják, hogy az  $1\alpha,24\text{-(OH)}_2\text{preD}_2$ -re kapott MTD nagyobb, mint  $20,0 \mu\text{g/nap}$ , ez a szint 10-40-szer nagyobb, mint amely az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ -mal elérhető. A vizsgálatban résztvevő betegekből szabályos időközökben vett vérminták analízise azt mutatja, hogy a keringésben lévő  $1\alpha,24\text{-(OH)}_2\text{D}_2$  arányosan növekedik a



beadott dózissal, és jóval 100 pg/ml feletti maximális szintre növekedik a legnagyobb dózisokban, és hogy az  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  keringésben lévő szintje gyakran a kimutatható szint alá csökken. A szérum és vizelet kalcium szintje dózistól függő módon növekedik. Az  $1\alpha,24\text{-(OH)}_2\text{preD}_2$  MTD-vel legalább 6 hónapon keresztül kezelt betegek azt állították, hogy az áttételes betegséggel kapcsolatos csontfájdalom szignifikánsan csökkent.

A második fázisban a betegeket 24 hónapon keresztül  $1\alpha,24\text{-(OH)}_2\text{preD}_2$ -vel kezeltük az MTD 0,5 - 1,0-szoros koncentrációival. A kezelés 1 vagy 2 éve után az áttételes betegség előrehaladtának kiértékelésére alkalmazott CAT letapogatás, röntgen vizsgálat és csontvizsgálat azt mutatta, hogy a betegség stabilizálódott, vagy sok betegben részlegesen visszafejlődött az alacsonyabb dózisszinteken végzett kezelés hatására, és a nagyobb dózisokban végzett kezelés esetén a betegség stabilizálódott és részlegesen vagy teljesen visszafejlődött.

#### 26. példa

##### **DSR $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$**

A 25. példában ismertetett vizsgálatot végeztük el a DSR formájú  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$  aktív D-vitamin vegyületre. A vizsgálat első fázisának eredményei azt mutatják, hogy a DSR  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$  MTD-vel legalább 6 hónapon keresztül kezelt betegekben az áttételes betegséggel kapcsolatos csontfájdalom szignifikánsan csökkent. A vizsgálat második fázisának eredményei azt mutatják, hogy két év elteltével az alacsonyabb dózissal kezelt betegekben a betegség stabilizálódott vagy részlegesen visszaszorult, míg a nagyobb dózissal kezelt betegekben a betegség stabilizálódott és részlegesen vagy teljesen visszaszorult.



Összefoglalóan, a találmány prosztatabetegségek, például prosztatatarák és prostata-túlfejlődés kezelésére alkalmas gyógyászati készítményekre vonatkozik, amelyek hatóanyagként  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamint vagy aktivált D-vitamint vagy ezek kombinációit tartalmazzák orális SR vagy DSR készítményben. A találmány szerinti készítmények szignifikánsan csökkentik a hiperkalcémia és hiperkalciuria veszélyét, amely az aktivált D-vitamin ismert készítményei alkalmazása esetén fennállt. Ezenkívül a találmány szerinti készítmény magasabb aktivált D-vitamin szinteket biztosít hosszabb időn keresztül az adagolás után, mint amely az aktivált D-vitamin ezidáig ismert orális készítményeivel elérhető volt, ezáltal a beteg prostatasejteket elérő aktív D-vitamin jobb vérszintjeit biztosítja.

Noha a találmányt a fentiekben általánosságban és példászerűen néhány specifikus kiviteli alakkal szemléltettük, szakember számára nyilvánvaló, hogy különféle módosítások, így variációk, bővítések és elhagyások is végrehajthatók. Ennek megfelelően a találmányt nem kívánjuk a fenti ismertetésre korlátozni, hanem az ekvivalens megoldások is a találmány oltalmi körébe tartoznak.



## Szabadalmi igénypontok

1. D-vitamin vegyületek - vagyis  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtami-  
nok vagy hatóanyagok reverzibilis kötődését és szabályozott  
leadását nyújtott időn keresztül biztosító mátrixban lévő aktív  
D-vitaminok - hatásos mennyiségének alkalmazása daganatos  
vagy túlfejlődött humán prosztatasejtek hiperproliferatív aktivi-  
tásának gátlására alkalmas orális gyógyászati készítmények elő-  
állítására.

2. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, ahol az orális  
gyógyászati készítmény a D-vitamin vegyület felszabadulását  
megakadályozó enterális bevonatot is tartalmaz, a gyomorban  
való oldódással szemben ellenálló, de a bélben oldódik, ezáltal  
megakadályozza a D-vitamin vegyület felszabadulását, amíg a  
gyógyszer a belet eléri.

3. A 2. igénypont szerinti alkalmazás, ahol az enterális be-  
vonat a vékonybél proximális, középső és disztális része közül a  
proximális részben való oldódásnak ellenáll, de a középső és  
disztális részben oldódik, ezáltal megakadályozza a D-vitamin  
vegyület leadását, amíg a gyógyszer a bél középső részéig eljut.

4. A 2. igénypont szerinti alkalmazás, ahol az enterális be-  
vonat pH 6,0 értéknél alacsonyabb pH-jú környezetben való ol-  
dódással szemben ellenálló.

5. A 3. igénypont szerinti alkalmazás, ahol az enterális be-  
vonat pH 6,0 értéknél alacsonyabb pH-jú környezetben való ol-  
dódásnak ellenáll.

6. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, ahol az  $1\alpha$ -hidroxi-  
-D-previtamin az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -previtamin,  $1\alpha,24$ -dihid-



roxi-D<sub>3</sub>-previtamin, 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>3</sub>-previtamin, 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>2</sub>-previtamin, 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-D<sub>2</sub>-previtamin, 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>2</sub>-previtamin, 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-D<sub>4</sub>-previtamin, 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>4</sub>-previtamin vagy 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>4</sub>-previtamin.

7. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, ahol az aktív D-vitamin az 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>3</sub>-vitamin, 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-D<sub>3</sub>-vitamin, 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>3</sub>-vitamin, 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>2</sub>-vitamin, 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-D<sub>2</sub>-vitamin, 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>2</sub>-vitamin vagy 1 $\alpha$ ,24-dihidroxi-D<sub>4</sub>-vitamin, 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi-D<sub>4</sub>-vitamin, 1 $\alpha$ -hidroxi-D<sub>4</sub>-vitamin.

8. D-vitamin vegyületek - vagyis 1 $\alpha$ -hidroxi-D-previtaminok vagy a hatóanyag reverzibilis kötődését és szabályozott leadását nyújtott időn keresztül biztosító mátrixban lévő aktív D-vitaminok - proliferációt gátló hatásos mennyiségének alkalmazása férfiakban abnormális sejtdifferenciálódással vagy sejtproliferációval járó prosztatabetegségek kezelésére alkalmas orális gyógyászati készítmények előállítására.

9. A 8. igénypont szerinti alkalmazás, ahol az 1 $\alpha$ -hidroxi-D-previtamin proliferációt gátló mennyisége 0,01  $\mu$ g/kg/nap - 2,0  $\mu$ g/kg/nap.

10. A 8. igénypont szerinti alkalmazás, ahol az aktív D-vitamin proliferációt gátló mennyisége 0,01  $\mu$ g/kg/nap - 2,0  $\mu$ g/kg/nap.

11. 1 $\alpha$ -hidroxi-D-previtamin, aktív D-vitamin vegyület nyújtott hatóanyag-leadású formája vagy aktív D-vitamin vegyület késleltetett, nyújtott hatóanyag-leadású formája hatékony mennyiségének alkalmazása első rákellenes szerként férfiakban humán prosztatatarák kezelésére alkalmas gyógyszer előállítására.



12. A 11. igénypont szerinti alkalmazás, ahol a készítmény hiperkalcémiás rizikója lényegesen kisebb, mint az  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitaminé.

13. A 11. igénypont szerinti alkalmazás, ahol a készítmény és egy ösztramusztin-foszfát, prednimusztin, ciszplatin, 5-fluor-uracil, melfalán, hidroxikarbamid, mitomicin, idarubicin, metotrexát, adriamicin és daunomicin közül választott második rákellenes szer elegyét alkalmazzuk.

14. A 13. igénypont szerinti alkalmazás, ahol a második rákellenes szer mennyisége az elegyben körülbelül  $0,002 - 0,02 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$ .

15. Gyógyászati kompozíció, amely

a) első rákellenes szerként  $1\alpha$ -hidroxi- $D$ -previtamin, SR aktív  $D$ -vitamin, DSR aktív  $D$ -vitamin és ezek kombinációi közül választott  $D$ -vitamin vegyületet és

b) (i) második rákellenes szer, (ii) csontgyógyszer, (iii) androgén szabályozó szer és (iv)  $5\alpha$ -reduktáz inhibitor vagy ezek kombinációi közül választott szert tartalmaz.

16. A 15. igénypont szerinti gyógyászati kompozíció, amelyben az aktív  $D$ -vitamin vegyület  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin,  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_3$ -vitamin,  $1\alpha$ -hidroxi- $D_3$ -vitamin,  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_2$ -vitamin,  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_2$ -vitamin,  $1\alpha$ -hidroxi- $D_2$ -vitamin,  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_4$ -vitamin,  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_4$ -vitamin vagy  $1\alpha$ -hidroxi- $D_4$ -vitamin.

17. A 15. igénypont szerinti gyógyászati kompozíció, amelyben az  $1\alpha$ -hidroxi- $D$ -previtamin vegyület  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_3$ -previtamin,  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_3$ -previtamin,  $1\alpha$ -hidroxi- $D_3$ -





-previtamin,  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_2$ -previtamin,  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_2$ -previtamin,  $1\alpha$ -hidroxi- $D_2$ -previtamin,  $1\alpha,24$ -dihidroxi- $D_4$ -previtamin,  $1\alpha,25$ -dihidroxi- $D_4$ -previtamin vagy  $1\alpha$ -hidroxi- $D_4$ -previtamin.

18. A 15. igénypont szerinti gyógyászati kompozíció, amelyben a második rákellenes szer ösztramusztrin-foszfát, prednimusztin, ciszplatin, 5-fluor-uracil, melfalán, hidroxikarbamid, mitomicin, idarubicin, metotrexát, adriamicin vagy daunomicin.

19. A 15. igénypont szerinti gyógyászati kompozíció, amelyben az aktív D-vitamin vegyület körülbelül 0,01  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  - körülbelül 2,0  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  dózisban van jelen.

20. A 15. igénypont szerinti gyógyászati kompozíció, amelyben az  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vegyület körülbelül 0,01  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  - körülbelül 2,0  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{nap}$  dózisban van jelen.

21. A 15. igénypont szerinti gyógyászati kompozíció, amelyben az androgén szabályozó szer egy ösztrogén, LHRH analóg, antiösztrogén vagy antiandrogén.

22. A 15. igénypont szerinti gyógyászati kompozíció, amelyben az  $5\alpha$ -reduktáz enzim inhibitor a finaszterid.

23. A 15. igénypont szerinti gyógyászati kompozíció, amelyben a csontgyógyszer egy konjugált ösztrogén, egy anti-ösztrogén, kalcitonin, nátrium-fluorid, biszfoszfonát, kalcium kiegészítő, kobalamin, pertussis toxin vagy bór.

24.  $1\alpha$ -hidroxi-D-previtamin vagy nyújtott hatóanyag-leadású formában vagy késleltetett, nyújtott hatóanyag-leadású formában lévő aktív D-vitamin gyógyászatiilag hatékony mennyiségének alkalmazása prosztatatarák vagy -túlfejlődés hi-



perproliferatív sejtaktivitásának csökkentésére a prosztatatarák vagy -túlfejlődés sejtaktivitásának a hiperkalcémia kisebb rizikója mellett; csökkentésével vagy stabilizálásával alkalmas humán gyógyászati készítmények előállítására.

A meghatalmazott:

**DANUBIA**

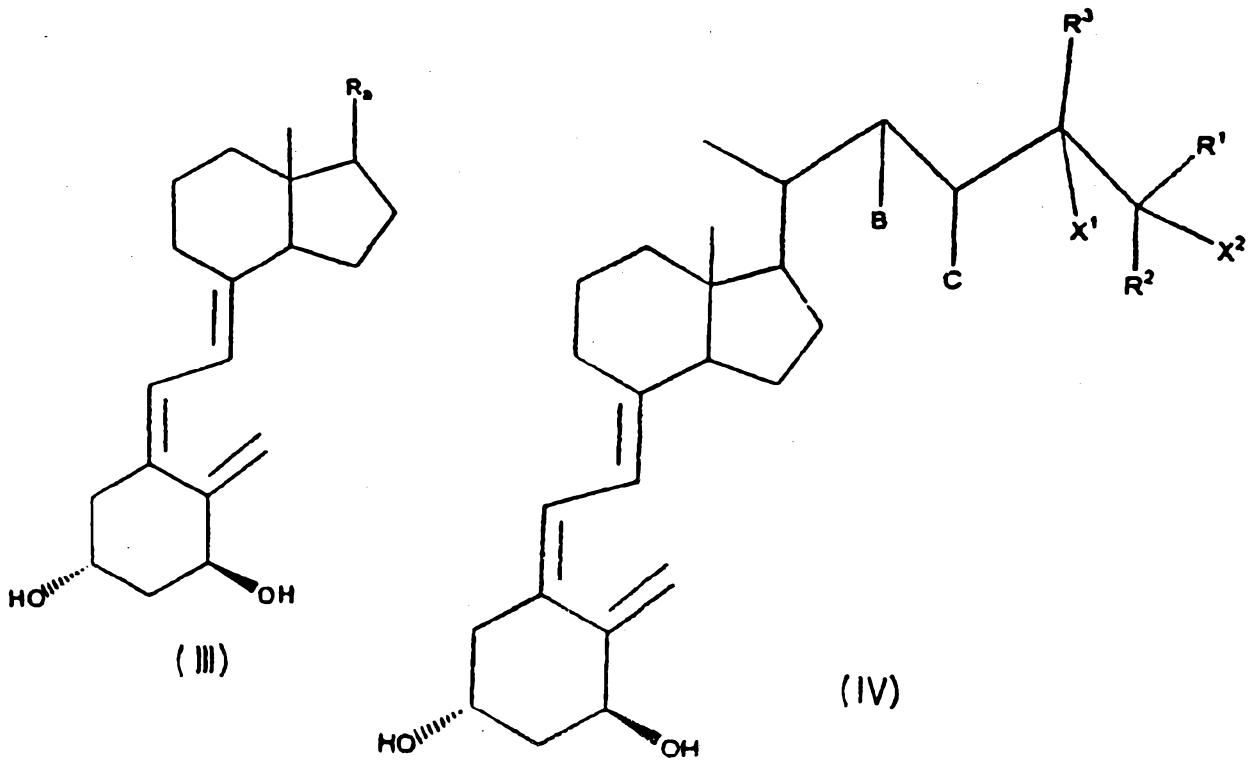
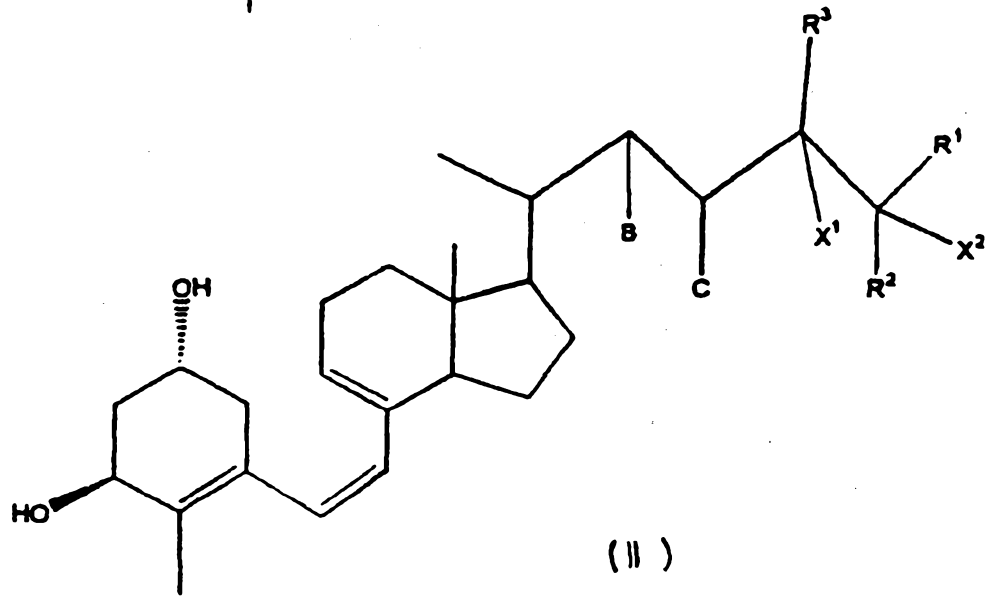
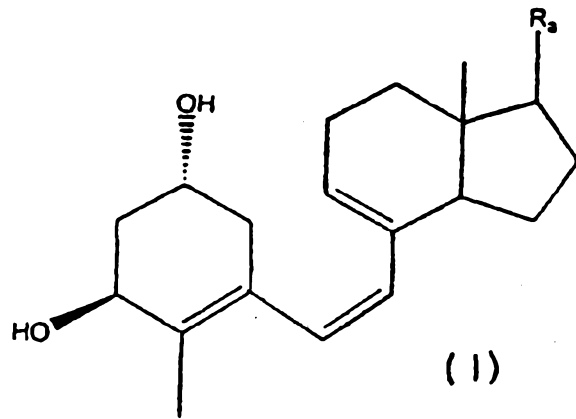
*Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.*

dr. Kiss Ildikó  
szabadalmi ügyvivő

3 lapra  
Dr. Kiss Ildikó

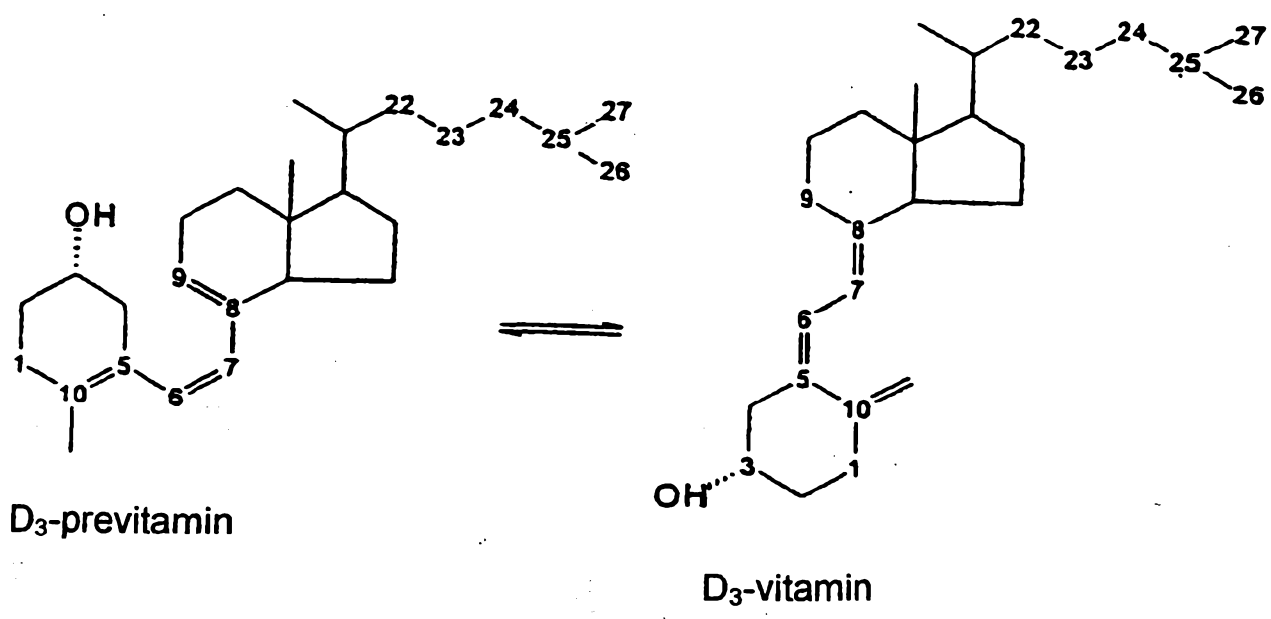
Aktaszámunk: 90223-7621A SI

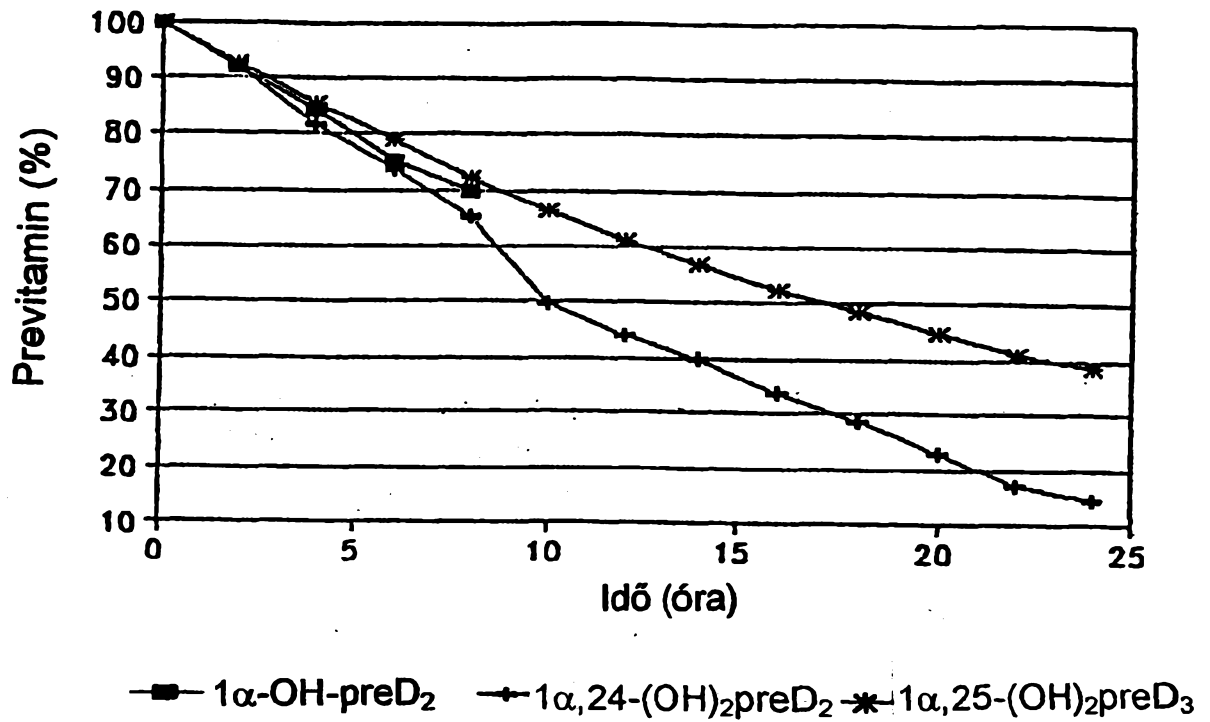
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



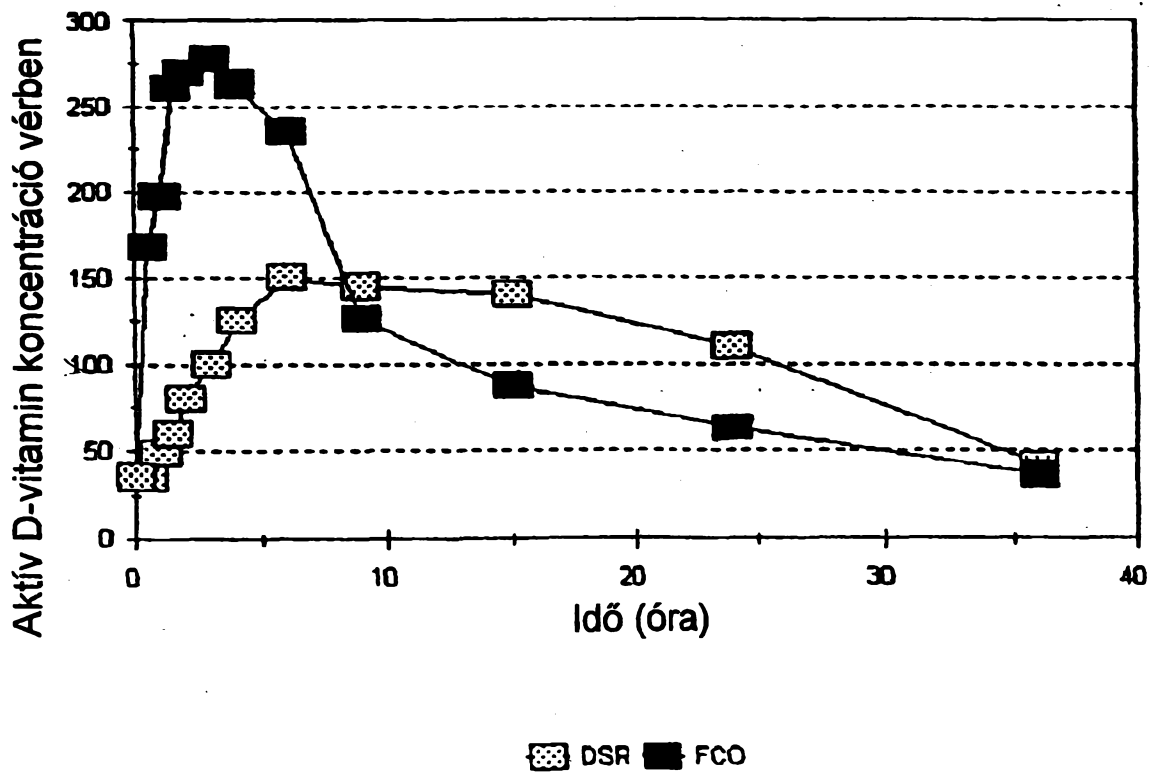
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

### 1. reakcióvázlat





1. ábra



2. ábra