

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

337-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **30. 07. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **04.08.95, 16.07.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/001889, 96/674180**

(33) Země priority: **US, US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17. 06. 98**
(Věstník č. 6/98)

(86) PCT číslo: **PCT/US96/12474**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/05873**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:
A 61 K 31/41

(71) Přihlašovatel:

THE PROCTER & GAMBLE COMPANY,
Cincinnati, OH, US;

(72) Původce:

Camden James Berger, West Chester, OH,
US;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1,
Praha 4, 14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Použití flukonazolu pro inhibování růstu
rakovin**

(57) Anotace:

Je popsán farmaceutický prostředek flukonazolu pro léčení rakovin nebo tumorů, který obsahuje 2-/2,4-difluorofenyl/-1,3-bis/1H-1,2,4-triazol-1-yl/propan-2-ol a jeho deriváty. Může být použitý v kombinaci s jinými chemoterapeutickými činidly a potenciátory. Stejný farmaceutický prostředek může být použitý pro léčení virových infekcí buď samotný nebo v kombinaci s ostatními proti-virovými činidly nebo s potenciátorem.

CZ 337-98 A3

Farmaceutický prostředek flukonazolu pro inhibici růstu rakovin

Oblast techniky

Tento vynález se týká farmaceutického prostředku, který je užitečný pro léčení rakovin a tumorů zejména u lidí a teplokrevných zvířat. Tento farmaceutický prostředek obsahuje 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol a jeho deriváty. Může být použitý v kombinaci s jinými chemoterapeutickými činidly a potenciátory. Stejný farmaceutický prostředek může být použitý pro léčení virových infekcí.

Dosavadní stav techniky

Rakoviny zahrnující leukemii jsou hlavní příčinou smrti u zvířat a u lidí. Přesná příčina leukemie není známa, ale vazby mezi určitými aktivitami jako jsou například kouření nebo inhalace karcinogenů a výskyt určitých typů leukemie a tumorů byla ukázána mnohými výzkumníky.

Mnoho typů chemoterapeutických činidel se ukázalo být účinnými proti rakovinám, leukemiím a tumorům, ale ne všechny buňky rakoviny a tumorů odpovídají na tyto činidla. Na neštěstí mnoho těchto činidel ničí také normální buňky. Přesný mechanismus působení těchto chemoterapeutických činidel není ještě stále znám.

Přes pokroky na poli léčení rakoviny a leukemie, jsou hlavními terapiemi do této doby radiace a chemoterapie a transplantace kostní dřeně. Chemoterapeutické kroky jsou při boji proti rakovinám zvláště agresivní. Taková cytocidální nebo

cytostatické činidla působí na rakoviny nejlépe ve velkých růstových faktorech tj. takové jejichž buňky se rychle dělí. Až do dnešního dne se hormony zejména estrogen, progesteron a testosteron a některá antibiotika vyrábějí pomocí různých mikroorganismů, alkylujících činidel a antimetabolitů z velkého množství terapií dostupných onkologům. Bylo by však velmi žádoucí, aby cytotoxická činidla, která mají specifitu pro leukemii, rakovinu a tumorové buňky v ideálním případě nebyla účinná na normální zdravé buňky. Na neštěstí nebyla žádná dosud nalezena a místo toho jsou používána činidla, která se zaměřují především na rychle se dělící buňky.

Samozřejmě, vývoj materiálů, které by se zaměřily na buňky leukemie nebo rakoviny vzhledem k některým jednoznačným specifitám, by byl pro ně prudkým pokrokem. Ve výhodném provedení by bylo žádoucí nalézt materiály, které by byly cytotoxické na buňky rakoviny nebo leukemie, zatímco by měly mírné účinky na normální buňky. Proto je předmětem tohoto vynálezu poskytnutí farmaceutického prostředku, který je účinný při léčení leukemie s mírnými nebo žádnými účinky na normální krevní buňky.

Ještě výhodněji je předmětem tohoto vynálezu poskytnutí prostředku, který obsahuje farmaceutický nosič a 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol a jeho derivát jak je definováno zde pomocí metody pro léčení rakoviny, leukemie a tumorů.

Použití 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol a jeho derivátů v kombinaci s jinými chemoterapeutickými činidly, které jsou účinné v ničení tumoru, je novou metodou léčení.

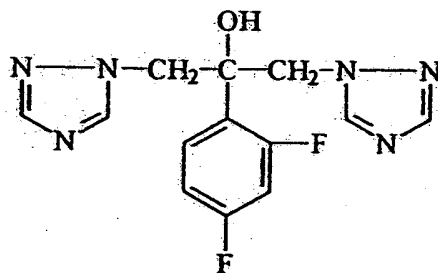
2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol a jeho deriváty mohou být také použité k léčení virových infekcí buď samotné nebo v přítomnosti potenciátoru.

27.02.98

Podstata vynálezu

Farmaceutický prostředek pro léčení savců a zejména teplokrevných zvířat a lidí, kteří jsou postiženi leukemií, obsahuje farmaceutický nosič a účinné množství 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-olu a jeho derivátů.

2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol má následující vzorec:



Tyto prostředky mohou být použité k inhibici růstu buněk leukemie, tumorů a rakoviny u lidí nebo u zvířat pomocí podávání účinného množství buď ústy, rektálně, lokálně nebo parenterálně nebo intravenózně. Tyto prostředky nepůsobí významně na zdravé buňky.

Potenciátory mohou být také použité v kombinaci s 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)

propan-2-olem a jeho deriváty jako chemoterapeutické činidla.

Tyto prostředky jsou zvláště účinné proti viru chřipky.

A. Definice

Zde používaný výraz "obsahující" znamená, že různé komponenty mohou být využívány společně ve farmaceutickém prostředku tohoto vynálezu. Podle toho tedy výrazy "sestavající

27.02.98

v podstatě" a "sestavající" jsou vyjádřeny výrazem obsahující. Zde používaný výraz "farmaceuticky přijatelná" komponenta je ta, která je vhodná pro použití u lidí a/nebo u zvířat bez nevhodných nepříznivých vedlejších účinků (jako jsou toxicita, podráždění a alergické odpovědi), které jsou úměrné odpovídajícímu poměru prospěch/risk.

Zde používaný výraz "bezpečný" a "účinné množství" vzhledem k množství komponent, které jsou dostačující pro získání požadované terapeutické odpovědi bez nevhodných nepříznivých vedlejších účinků (jako jsou toxicita, podráždění a alergické odpovědi), které jsou úměrné odpovídajícímu poměru prospěch/risk, když je používán ve způsobu tohoto vynálezu. Specifické "bezpečné a účinné množství" bude obvykle různé v závislosti na takových faktorech, které jsou specifickými podmínkami používanými při léčení, jako například tělesné podmínky pacienta, typ léčeného savce, doba trvání léčení, druh souběžné terapie (jeli nějaká) a specifické používané složení látek a struktura sloučenin nebo jejich derivátů.

Zde používaný výraz "derivát 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)" propan-2-olu zahrnuje jeho estery a ethery a jejich farmaceuticky přijatelných solí.

Zde používaný výraz "farmaceutický přídavek solí" jsou soli 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl) propan-2-olu s organickými nebo anorganickými kyselinami. Preferovanými solemi přidávaných kyselin jsou chloridy, bromidy, sulfáty, nitráty, fosfáty, sulfonáty, formiáty, tartráty, maleáty, maláty, citráty, benzoáty, salicyláty, askorbáty a podobně.

Zde používaný výraz "farmaceutický nosič" je farmaceuticky přijatelné rozpouštědlo, které suspenduje činidlo nebo vehikulum pro dodávání činidla proti leukemii zvířatům nebo lidím. Nosič může být kapalný nebo pevný a je vybrán podle způsobu zamýšleného podávání.

27.02.98

všem typům rakoviny nebo novotvaru nebo zhoubné nemoci, které napadají normální zdravé buňky nebo kostní dřeň, která produkuje krevní buňky, které se nacházejí v savcích.

Zde používaný výraz "viry" zahrnují viry, které způsobují nemoci teplokrevných zvířat zahrnující HIV, chřipku, rhinovirus, opar a podobně.

Zde používaný výraz "2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol

a jeho deriváty" zahrnuje jeho estery a ethery jakož i farmaceuticky přijatelné sole.

Zde používaný výraz "potenciátory" jsou materiály jako jsou například triprolidin a jeho cis-isomer nebo 1H-benzimidazol-2-propanová kyselina, které jsou používány v kombinaci

s 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)

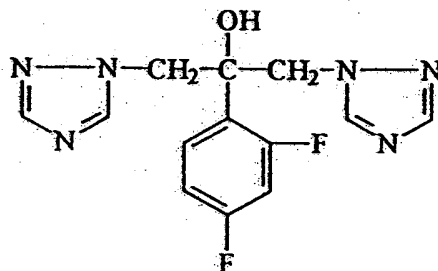
propan-2-olem a jeho deriváty. Potenciátory mohou působit na imunní systém nebo mohou zvyšovat účinnost léčiv.

Zde používaný výraz "chemoterapeutická činidla" zahrnují DNA-interaktivní činidla, antimetabolity, tubulin-interaktivní činidla, hormonální činidla a ostatní jako jsou například asparaginasa nebo hydroxymočovinu.

B. 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol a jeho deriváty"

2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol

a jeho deriváty mají následující vzorec:

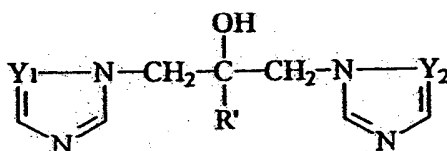


Je připraven podle metody popsané v US 4404216 publikované Richardsonem (1983).

Deriváty zahrnují estery nižších karboxylových kyselin propanolové skupiny například acetyl, propanoyl, butyl, pentyl a hexylové estery. Zvláště preferovanými jsou estery karboxylových kyselin, které mají méně než sedm uhlíků a nejpreferovanějšími jsou propylové estery. Arylové karboxylové kyseliny jako například salicylová kyselina, benzoová kyselina a příbuzné kyseliny mohou být také použité k esterifikaci propanolové skupiny. Alkylové ethery, které mají méně než sedm uhlíků mohou být také užitečnými deriváty.

Farmaceuticky přijatelné přídatné soli jsou solemi 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl) propan-2-olu a jeho derivátů s organickými a anorganickými kyselinami. Těmito preferovanými přídatnými solemi kyselin jsou chloridy, bromidy, sulfáty, nitráty, fosfáty, sulfonáty, formáty, tartráty, maleáty, maláty, citráty, benzoáty, salicyláty, askorbáty, a podobně.

Tyto sloučeniny jsou částmi více druhů tříd fungicidů s následujícím vzorcem:



kde R' je výhodně substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl (2,4-dichlorofenyl) nebo aralkylová skupina a Y^1 a Y^2 jsou $=\text{CH}-$ nebo $=\text{N}-$ a soli nebo kovové komplexy a ethery nebo jejich estery. I když jsou tyto materiály aktivní proti plísňovým nemocím, u některých byla zjištěna teratogenicita.

Tudíž tyto materiály, které vykazují tyto vlastnosti zde nejsou použitelné.

27.02.98

C. Chemoterapeutická činidla

Chemoterapeutická činidla jsou obecně seskupeny jako DNA-interaktivní činidla, antimetabolity, tubulin-interaktivní činidla, hormonální činidla a jiné jako například asparaginasa a hydroxymočovina. Každá ze skupin chemoterapeutických činidel může být dále rozdělena podle typu aktivity nebo sloučeniny.

Chemoterapeutická činidla použitá v kombinaci s 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)

propan-2-olem a jeho deriváty zahrnuje členy všech těchto skupin. Pro podrobnější popis chemoterapeutických činidel a jejich způsobu podávání lze porovnat zde začleněnou referenci Dorr a kol., Cancer Chemotherapy Handbook, druhé vydání, stránky 15-34, (Appleton a Lange, Connecticut, 1994).

DNA-interaktivní činidla zahrnují alkylační činidla jako jsou například cisplatina, cyklofosfamid, altretamin, DNA činidla se zlomovým řetězcem jako jsou například bleomycin, interkalační inhibitory topoisomerasy II (jako jsou například dactinomycin a doxorubicin), neinterkalační inhibitory topoisomerasy II jako jsou etoposid a teniposid a DNA s vnitřním žlábkovým pojivem Plcamydin.

Alkylační činidla tvoří kovalentní chemické adukty s buněčnou DNA, RNA a molekulami proteinu a s menšími aminokyselinami, glutathionem a podobnými chemickými sloučeninami. Tato alkylační činidla obvykle reagují s nukleofilickým atomem v buněčné složce jako například aminokarboxyl, fosfát, sulfhydrylová skupina v nukleových kyselinách, proteinech, aminokyselinách nebo glutathionu. Mechanismus a úloha těchto alkylačních činidel v terapii rakoviny nejsou dobře chápány.

Typická alkylační činidla zahrnují:

Yperity dusíku jako například chlorambucil, cyklofosfamid, isofamid, mechloreタミン, melfalon a uracilový yperit.

Aziridiny jako je například thiotepa.

Metansulfonátové estery jako je například busulfan.

Nitrosové močoviny jako jsou například carmustin, lomustin a streptozocin.

Platinové komplexy jako jsou například cisplatina a carboplatina.

Bioreduktivní alkylátor jako jsou například mitomycin, procarbazin, dacarbazin a altretamin.

DNA činidla zlomového řetězce zahrnující bleomycin.

DNA inhibitory topoisomerasy zahrnující následující:

Interkalátory jako jsou například amsacrin, dactinomycin, doxorubicin, idarubicin a mitoxantron. Neinterkalátory jako jsou etoposid a teniposid. DNA s vnitřním žlábkovým pojivem Plcamydin.

Antimetabolity ruší produkci nukleových kyselin jedním nebo druhým ze dvou hlavních mechanismů. Některé z léků inhibují produkci deoxyribonukleosidových trifosfátů, které jsou přímými prekursory pro syntézu DNA a tím inhibují replikaci DNA. Některé ze sloučenin jsou dostatečně schopné se substituovat anabolickými nukleotidovými cestami jako například puriny a pyrimidiny. Tyto analogy mohou být poté substituovány do DNA a RNA namísto jejich normálních protějšků. Mezi užitečné antimetabolity jsou zde zahrnuté:

Folátové antagonisty jako jsou například methotrexát a trimetrexát. Pyrimidinové antagonisty jako jsou fluorouracil, fluorodeoxyuridin, CB3717, azacitidin, cytarabin a floxuridin.

Purinové antagonisty zahrnují merkaptopurin, 6-thioguanin, fludarabin a pentostatin. Modifikované cukernaté analogy zahrnují cytrabin a fludarabin. Inhibitory ribonukleotidové reductasy zahrnují hydroxymochovinu.

Tubulinové interaktivní činidla reagují při vazbě na specifická místa tubulinu proteinu, který polymeruje a vytváří buněčné mikrotubulusy. Mikrotubulusy jsou kritickými jednotkami

buněčných struktur. Když se interaktivní činidla vážou na protein, buňka nemůže vytvářet mikrotubulusy. Tubulinové interaktivní činidla zahrnují oba alkaloidy vinblastin a vincristin a paclitaxel.

Hormonální činidla jsou rovněž užitečná při léčbě rakovin a tumorů. Jsou používána u hormonálně náchylných tumorů a jsou obvykle odvozené z přírodních zdrojů. Tato hormonální činidla zahrnují: Estrogeny, konjugované estrogeny a ethinyl estradiol a diethylstilbesterol, chlortrianisen a idenestrol. Progestiny jako jsou například hydroxyprogesteronový kapronát, medroxyprogesteron a megestrol. Androgeny jako jsou například testosteron, testosteronový propionát, fluoxymesteron a metyltestosteron.

Adrenální kortikosteroidy jsou odvozeny z přírodního kortisolu a nebo hydrokortisonu. Jsou používány vzhledem k jejich protizánětlivému využití jakož i schopnosti některých z nich inhibovat mitotická dělení a zastavit syntézu DNA. Tyto sloučeniny zahrnují prednison, dexamethason, methylprednisolon a prednisolon.

Leutinizující hormony, které uvolňují hormonální činidla nebo gonadotropinový spouštěcí hormon antagonistů, jsou používány přednostně při léčbě rakoviny prostaty. Tyto zahrnují leuprolidové acetáty a goserelinové acetáty. Tyto zabraňují biosyntéze steroidů při testech.

Antihormonální činidla zahrnují: Antiestrogenická činidla jako například tamoxifen, antiandrogenní činidla jako jsou například flutamid a antiadrenální činidla jako jsou například mitotan a aminoglutethimid.

Hydroxymočovina se zdá být, že působí přednostně zkrze inhibici enzymu ribonukleotidové reduktasy.

Asparaginasa je enzym, který konvertuje asparagin na aspartovou kyselinu a tudíž blokuje proteinovou syntézu v tumoru.

Taxol je preferované chemoterapeutické činidlo.

D. Potenciátory

Potenciátory mohou být jakýmkoliv materiálem, který zlepšuje

nebo zvyšuje účinnost farmaceutické kompozice. Zahrnují imunosupresory nebo materiály, které působí na imunitní systém. Jedním takovým potenciátorem je triprolidin a jeho cis-isomer, který je používán v kombinaci s chemoterapeutickými činidly a s 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-olem a jeho deriváty. Triprolidin je popsán v dokumentu US 5114951, 1992.

Dalším potenciátorem je procodazol, 1H-benzimidazol-2-propanová kyselina (beta-(2-benzimidazol)propionová kyselina a 2-(2-karboxyetyl)benzimidazol, propazol). Procodazol je nespifické aktivní imunoochranné činidlo proti virovým a bakteriálním infekcím a může být použité s kompozicemi zde nárokovány. Je účinné s 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis-

(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-olem a jeho deriváty buď samotným při léčení rakovin, tumorů, leukemie a virových infekcí nebo spolu s chemoterapeutickými činidly.

Propionová kyselina a její soli a estery mohou rovněž být použité v kombinaci s farmaceutickými prostředky, které jsou zde nárokovány.

Antioxidační vitaminy jako jsou například vitaminy A, C a E a beta-karoten, mohou být přidávány k těmto prostředkům.

E. Dávkování

Jakékoliv vhodné dávkování může být zavedeno metodou podle tohoto vynálezu. Druh choroby (rakovina, leukemie nebo virus), sloučenina, nosič a množství se bude široce odlišovat v závislosti na druzích teplokrevných živočichů nebo lidí, jejich tělesné váze a druhu tumoru, který je léčen. Dávkování je obvykle mezi asi 1 miligramem (mg) na kilogram (kg) tělesné váhy a asi 1000 mg na kg tělesné váhy, což je vhodné pro buď 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol a jeho deriváty nebo pro chemoterapeutická činidla. Převážně je používáno dávkování od asi 15 mg do asi 800 mg/kg tělesné váhy. Dávkování u člověka je obvykle nižší než u malých teplokrevných savců jako například u myší. Dávkovací jednotka

může také zahrnovat jednotlivé složky nebo jejich směsi s jinými sloučeninami nebo jinými sloučeninami inhibujícími rakovinu. Dávkovací jednotka může také obsahovat ředící roztoky, plnidla, nosiče, liposomy a podobně. Jednotka může být v pevné nebo gelové formě jako například v pilulkách, tabletách, kapslích a podobně nebo v tekuté formě vhodné pro ústní, rektální, topické, intravenózní injekce nebo parenterální podávání nebo injekce do nebo kolem kostní dřeně. Rozsah a poměr 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl) propan-2-olu a jeho derivátů k chemoterapeutickému činidlu bude záviset na druhu rakoviny nebo tumoru, které jsou léčeny a na jednotlivém chemoterapeutickém činidlu.

F. Dodací formy dávkování

Chemoterapeutická činidla 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl) propan-2-olu a jeho derivátů a výhodně potenciátorů jsou podle typu smíchána s farmaceuticky vhodným nosičem. Tento nosič může být pevný nebo kapalný a jeho typ je obvykle vybírán na základě typu používané aplikace podávání. Aktivní činidlo může být ko-aplikováno ve formě tablety nebo kapsle, liposomu jako aglomerovaný prášek nebo v tekuté formě. Příklady vhodných pevných nosičů laktozu, sacharosu, želatinu a agar. Kapsle nebo tablety mohou být snadno vytvořeny a mohou být zhotoveny snadno k polykání nebo žvýkání. Jiné pevné formy zahrnují granule a objemné prášky. Tablety mohou obsahovat vhodné pojiva, maziva, ředící roztoky, dezintegrační činidla, barvicí činidla, vonná činidla, tok vyvolávající činidla a změkčovací činidla. Příklady vhodných forem dávkování zahrnují roztoky nebo suspenze ve vodě, farmaceuticky přijatelných tucích a olejích, alkoholech, nebo jiných organických rozpouštědlech, které zahrnují estery, emulze sirupy nebo elixíry, suspenze, roztoky a/nebo suspenze rekonstituované z nešumivých granulí a šumivé přípravky rekonstituované z šumivých granulí. Takové formy kapalných dávek mohou obsahovat například vhodná rozpouštědla, konzervační prostředky, emulzační činidla, suspenzační

činidla, ředící roztoky, sladidla, zahušťovadla a změkčovací činidla. Formy ústního dávkování obsahují výhodně vonná činidla a barvící činidla. Parenterální a intravenozní formy by mohly rovněž zahrnovat minerály a jiné materiály, které by je učinily slučitelné s typem injekce nebo vybraného dodacího systému.

Specifické příklady farmaceuticky přijatelných nosičů a masťových základů, které by mohly být použité k vytvoření forem ústních dávek forem pro ústní dávkování podle předloženého vynálezu, jsou popsány v dokumentu US patentu No. 3903297 od Roberta vydáno 2.9.1975. Techniky a kompozice pro vyhotovení forem dávkování používaných podle tohoto vynálezu jsou popsány v následujících odkazech: 7 Modern Pharmaceutics, Chapter 9 and 10 (Banker a Rhodes, Editors, 1979), Lieberman et al., (Pharmaceutical Dosage Forms, 1981) a Ansel, (Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms 2nd Edition, 1976).

G. Metoda léčení

Způsobem léčení může být jakákoliv vhodná metoda, která je efektivní při léčení zvláštních typů rakoviny nebo tumoru, které jsou léčeny. Léčení může být ústní, rektální, topoické, parenterální nebo intravenozní aplikace nebo pomocí injekce do tumoru nebo rakoviny. Způsob podávání účinného množství se rovněž odlišuje v závislosti na tumoru, který je léčený. Je známo, že parenterální léčení pomocí intravenozní, subkutánní nebo intramuskulární aplikace 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl) propan-2-olu a jeho derivátů, které jsou vytvořeny s vhodným nosičem, přídatnou sloučeninou nebo sloučeninami inhibující rakovinu nebo s ředícím roztokem pro usnadnění aplikace, bude preferovaným způsobem podávání sloučenin teplokrevným zvířatům.

Kromě použití chemoterapeutických činidel a potenciátorů, může být 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl) propan-2-ol a jeho deriváty kombinovány s fungicidy, herbicidy nebo jinými antivirovými činidly. Preferované fungicidy a herbicidy zahrnují carbendazim, fluoconazol, benomyl, glyphosat a propiconazol.

27.02.98

Pokud jsou používány pro léčení virových infekcí farmaceutické prostředky, mohou být kombinované s ostatními proti-virovými činidly.

Příklady provedení vynálezu

1. Proti-virové vyhodnocení pomocí lidského viru chřipky

Jsou používány samičí CD (mice Charles River Breeding Laboratories, Portage, MI) myši ve stáří 5 až 7 týdnů v době příjmu. Myši jsou přibližně 6 až 9 týdnů staré a váží 20 až 28 g v době začátku testu. Všechny myši použité ve studii se neliší ve věku více než o 10 dnů. Myši jsou chovány po šesti v jedné kleci s podestýlkou. Myši jsou krmeny podle libosti hlodavčí stravou 5002 (PMI, St. Louis Missouri). Čerstvá voda je myším dodávána též podle libosti.

Virus lidské chřipky kmen AT2/Taiwan/1/64 je používán k vyvolání reakcí u myší. Organismus je skladován při teplotě přibližně minus 70 stupňů Celsia. Před infekční vyvolanou reakcí se nechá ampulka zmražené zásoby roztát a rozředit na vhodnou koncentraci v pufrovaném solném roztoku. Myši jsou znarkotizovány pomocí Halothanu a virusová vyvolávací reakce je aplikována intravenózně v objemu 50 mikrolitrů.

Testované výrobky jsou podávány v koncentraci a objemu jak je uvedeno níže. Ve dnech 1 až 14 obdrží skupina po deseti myších testované výrobky orálním výplachem. Solná kontrolní skupina zvířat (deset myší) obdržela srovnatelný objem solného roztoku, aby bylo srovnáno se skupinou myší, které byly testovány dávkovanými výrobky. Dávkování testovaných výrobků je ustáleno v přibližně 24 hodinových intervalech. Ve dni 0 přibližně 4 hodiny po druhém dávkování testovaných výrobků nebo solného roztoku, jsou všechny myši zkoumány na reakci intravenózně s injekční dávkou viru, se kterým se počítá, že vyprodukuje přibližně 90% úmrtnost. Zvířata jsou pozorována denně po dobu 21 dnů po vyvolání infekční reakce na úmrtnost nebo skomírání.

27.02.98

Testovaný materiál	Dávka (mg/kg)	Procenta úmrtnosti (%)
Fluconazol	350	0
Fluconazol	700	30
Saline	-	100
Amantadin	75	0

2. Lidská in vitro tumorová kolonie tvořící testované jednotky

Pevné tumory od pacientů jsou rozsekány na 2 až 5 mm fragmenty a okamžitě umístěné do media McCoy's Medium 5A spolu s 10 % horkého inaktivovaného telecího séra spolu s 1 % penicilinu/streptomycinu. Během 4 hodin jsou tyto pevné tumory mechanicky rozděleny nůžkami, protlačené zkrze nerezavějící ocelovou síť číslo 100 pomocí cejchovaných jehel a potom jsou promyté pomocí media McCoy's jak je popsáno výše. Břišní, pohrudniční, osrdečnickové moky a kostní dřev jsou získávány standardními technikami. Moky a kostní dřev jsou umístěné do sterilní nádoby, která obsahuje deset jednotek konzervačního prostředku prostého heparinu na jeden ml. zhoubného moku nebo kostní dřev. Po centrifugačním odstředování při 150g otáčkách po dobu 10 minut, jsou získané buňky promyté pomocí media McCoy's spolu s 10 % horkého inaktivovaného telecího séra. Životaschopnost buněčných suspenzí je stanovena na hemocytometru s trypanovou modří.

Buňky určené ke klonování jsou suspendované v 0.3% agaru obohaceném CMRL, který je doplněn 15 % horkého inaktivovaného telecího séra, penicilinem (100 jednotek/ml), streptomycinem (2 mg/ml), glutaminem (2 mM), insulinem (3 jednotky/ml), asparaginem (0,6 mg/ml) a pufrem HEPES (2 mM). Pro kontinuální expoziční test je každá sloučenina dodána do shora uvedené směsi. Buňky jsou umístěné v 35 mm Petriho miskách v horní vrstvě agaru pod povrchem agaru pro zabránění růstu fibroblastů. Tři Petriho misky jsou připraveny pro každé

27.02.98

hledisko údajů. Misky jsou umístěné do inkubátoru při 35 stupních Celsia a jsou vybrány 14 den pro vypočítání počtu kolonií v každé misce. Počet kolonií (definovaných jako 50 buněk), ustálených ve třech miskách, které jsou zpracovány sloučeninou, je srovnáno s počtem kolonií ustálených ve třech kontrolních miskách a může být stanoveno procento kolonií, které přežívají při koncentraci sloučeniny. Tři pozitivní kontrolní misky jsou použité k určení poměru přežití. Jako pozitivní kontrola je použit orthosodium vanadu v množství 200 ug/ml. Jestliže se vyskytuje více než 30 % kolonií v pozitivní kontrole při srovnání s nezpracovanou kontrolou, je test vyhodnocen.

Při koncentraci 0,5 a 5,0 $\mu\text{g/ml}$ v kontinuální zkušební expozici nebo v jednotlivé zkušební dávce flucanozolu, nebylo účinných (0/3 a 0/13 resp.) proti tumorům v tomto testu. Při koncentraci 50 $\mu\text{g/ml}$ v kontinuální zkušební expozici byl flucanozol účinný proti rakovinám plicního melanomu (ne-malá buňka) a zejména vaječníku. Z celkového množství jich 4/13 přežilo více než 50 %.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Farmaceutický prostředek pro léčení rakoviny a tumorů a virových infekcí obsahující od asi 1 mg/kg do asi 800 mg/kg tělesné váhy vybraný ze skupiny, která obsahuje 2-(2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl) propan-2-ol a jeho deriváty a jejich směsi a farmaceuticky přijatelný nosič.
2. Farmaceutický prostředek pro léčení rakoviny a tumorů podle nároku 1, který dále obsahuje bezpečné a účinné množství chemoterapeutického činidla.
3. Farmaceutický prostředek pro léčení rakoviny a tumorů podle nároku 1 nebo 2, kde uvedené chemoterapeutické činidlo je vybrané ze skupiny obsahující DNA-interaktivní činidla, antimetabolity, tubulin interaktivní činidla, hormonální činidla, asparaginasu nebo hydroxymočovinu.
4. Farmaceutický prostředek pro léčení rakoviny a tumorů podle nároku 1, 2 nebo 3, kde uvedené chemoterapeutické činidlo je vybrané ze skupiny obsahující asparaginasu, hydroxymočovinu, cisplatinu, cyklofosfamid, altretamin, bleomycin, dactinomycin, doxorubicin, etoposid, teniposid a plcamydin.
5. Farmaceutický prostředek pro léčení rakoviny a tumorů podle nároku 1, 2 nebo 3, kde uvedené chemoterapeutické činidlo je vybrané ze skupiny obsahující taxol, methotrexat, fluorouracil, fluorodeoxyuridin, CB3717, azacitidin, cytarabin, floxuridin, mercaptopurin, 6-thioguanin, fludarabin, pentostatin, cycetrabin a fludarabin.
6. Farmaceutický prostředek pro léčení rakoviny a tumorů podle nároku 1, 2, 3, 4 nebo 5, který dále obsahuje potenciátor.

27.00.98

7. Způsob léčení rakoviny a tumorů teplokrevných savců vyznačený tím, že zahrnuje podávání bezpečného a účinného množství prostředku podle nároků 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6.

8. Způsob léčení virových infekcí teplokrevných savců vyznačený tím, že zahrnuje podávání bezpečného a účinného množství prostředku podle nároků 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6.

9. Způsob léčení podle nároku 7 nebo 8 vyznačený tím, že 2-((2,4-difluorofenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl) propan-2-ol a jeho deriváty jsou podávány orálně nebo entericky intravenózně, peritoneálně nebo pomocí injekce do tumoru.