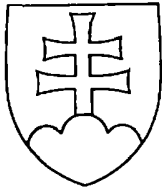


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

(11), (21) Číslo dokumentu:

934-2002

- (22) Dátum podania prihlášky: **26. 6. 2002**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **60/302 415**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **2. 7. 2001**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **1. 7. 2003**
Vestník ÚPV SR č.: **7/2003**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT:
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT:

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷ :

A61K 31/337,
A61K 31/166,
A61K 9/00,
A61P 35/00
 //(A61K 31/337,
A61K 31:166)

- (71) Prihlasovateľ: **WARNER-LAMBERT COMPANY, Morris Plains, NJ, US;**
(72) Pôvodca: **Grove William Richard, Ann Arbor, MI, US;**
Merriman Ronald Lynn, Ann Arbor, MI, US;
(74) Zástupca: **Bušová Eva, JUDr., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Kombinačná chemoterapia**

(57) Anotácia:
Kombinácia obsahujúca acetyldinalín s docetaxelom má synergický účinok pri liečení karcinómov.

SK 934-2002 A3

KOMBINAČNÁ CHEMOTERAPIA

Oblasť techniky

Vynález sa týka spôsobu liečenia nádorov používajúceho kombináciu známych onkolytických prípravkov. Spoločné použitie takých prípravkov poskytuje neočakávane väčšiu účinnosť ako použitie jednotlivých prípravkov samotných.

Doterajší stav techniky

Chemoterapia karcinómov v posledných rokoch dramaticky pokročila. Mnoho nádorov môže byť účinne liečené s použitím zlúčenín, ktoré sú buď prirodzene sa vyskytujúce produkty alebo syntetické prípravky. Chemoterapia karcinómov často znamená použitie kombinácie prípravkov, obecné ako prostriedku poskytujúceho väčšie liečebné účinky a redukujúceho toxické účinky, na ktoré sa často naráža, keď sú jednotlivé prípravky použité samotné.

Pôvodcovia teraz objavili unikátnu kombináciu známych onkolytických prípravkov, ktorá prejavuje dramatický synergický účinok. Kombinácia používa prípravok acetyldinalín spolu s docetaxelom. Kombinácia je obzvlášť účinná v liečení pacientov so solídnymi nádormi, obzvlášť nemalobunkových pľúcnych karcinómov a iných pokročilých solídnych nádorov.

Acetyldinalín je chemicky 4-acetylamino-N-(2'-aminofenyl)benzamid. Je tiež známy pod označením CI-994. Je popisovaný v patente Spojených Štátov č. 5 137 918, ktorý je v

tomto texte zahrnutý formou odkazu pre náuku, ako vyrobiť acetyldinalín, ako ho formulovať do liekovej formy a ako ho používať pre liečenie karcinómov, ako je napríklad karcinóm bedrovníka a adenokarcinómy. Acetyldinalín je tiež popisovaný v patente Spojených Štátov č. 5 795 909 ako možný konjugát pre liečbu karcinómov.

Docetaxel je semisyntetická zlúčenina patriaca do rodiny taxoidov. Je to antimikrotubulárny prípravok, ktorý podporuje zostrojenie mikrotubulov z dimérov tubulínu a stabilizuje mikrotubuly zabránením depolymerizácie. Táto stabilita má za následok inhibíciu normálnej dynamickej reorganizácie mikrotubulárnej siete, ktorá je základná pre životne dôležitú interfázu a mitotické bunkové funkcie. Okrem toho docetaxel indukuje abnormálne usporiadanie zväzkov mikrotubulov v priebehu bunkového cyklu a mnohonásobná vretienka (astery) mikrotubulov počas mitózy. Docetaxel je indikovaný primárne pre karcinóm prsníka a nemalobunkový pľúcny karcinóm, hoci je tiež použiteľný pre liečenie iných karcinómov. Použitie docetaxelu je obecné sprevádzané nežiadúcimi vedľajšími účinkami, vrátane reakciou precitlivenosti, hypotenzie, bradykardie, hypertenzie, nauzey a vracania a reakcie v mieste injekcie. Docetaxel trihydrát je komerčne dostupný ako Taxotere® (Aventis Pharmaceutical Products, Inc., Collegeville, PA).

Predmetom predkladaného vynálezu je poskytnúť spôsob liečenia karcinómov, najmä pokročilých solídnych nádorov, kombináciou obsahujúcou acetyldinalín spoločne s docetaxelom. Ďalej je predmetom vynálezu poskytnúť prípravok obsahujúci synergické množstvá acetyldinalínu a docetaxelu.

Podstata vynálezu

Tento vynález sa týka synergickej kombinácie protinádorových prípravkov a spôsobu liečenia nádorov, ktorý obsahuje podávanie kombinácie. Vynález konkrétnejšie poskytuje prípravok, ktorý obsahuje ako prvú zložku acetyldinalín a ako druhú zložku docetaxel.

Prípravky podľa tohto vynálezu zostávajú v podstate z vyššie uvedených účinných zložiek alebo ich vhodných solí, spolu s bežnými excipientmi, riedidlami a nosičmi.

V ďalšom uskutočnení vynálezu pôvodcovia poskytujú spôsob liečenia karcinómu, ktorý obsahuje podávanie živočíchovi, ktorý potrebuje liečbu, účinného množstva kombinácie acetyldinalínu s docetaxelom.

Výhodný spôsob zahrnuje liečbu solídnych nádorov.

Ďalší výhodný spôsob používa protinádorové množstvá acetyldinalínu a účinné množstvá docetaxelu k liečbe citlivých karcinómov, vrátane NSCLC, karcinómu prsníka, karcinómu vaječníkov, karcinómy hlavy a krku, myelómov, karcinómu prostaty a karcinómu pankreasu.

Ďalším uskutočnením vynálezu je kit obsahujúci v jednom kompartmente dávku acetyldinalínu a v ďalšom kompartmente dávku docetaxelu.

Podrobný popis vynálezu

Zlúčeniny používané v spôsobe podľa tohto vynálezu budú podávané v dávkach obecné používaných klinicky. Tieto dávky budú vypočítané normálne, napríklad telesný povrch. Acetyldinalín bude podávaný napríklad v dávkach približne od 1,0 mg/m² približne do 50 mg/m², výhodne približne od 2,0 mg/m² približne do 10,0 mg/m². Ideálne bude acetyldinalín podávaný v dávke, ktorá vyvolá plazmatické hladiny približne 5 až približne 100 µg/ml. Acetyldinalín je typicky podávaný perorálne napríklad ako tobolky, ktoré majú účinnú zložku v množstve 2,5, 5 a 25 mg na tobolku. Acetyldinalín je podávaný denne v približne rovnakej hladine dávok v priebehu liečebného obdobia, typicky po dobu 15 až 30 dní. V praxi môžu byť použité mnohonásobné liečebné obdobia, ako je predpísané ošetrojúcim lekárom a podľa konkrétneho pacienta a liečeného chorobného stavu.

Docetaxel je cytotoxický protinádorový liek a zachádzanie s prípravkom by malo byť vykonávané opatrne. Docetaxel je typicky poskytovaný vo fľaštičkách a je nariedený pred podávaním nitrožilnou infúziou. Typické riedidlá zahrnujú 0,9% chlorid sodný a 5% dextrózu. Konečné koncentrácie pre tekutinu infúzie obecné je približne 0,3 až približne 1,2 mg/ml. Docetaxel je komerčne dostupný v niekoľkých koncentráciách, napríklad koncentrát 20 mg/0,5 ml, koncentrát 80 mg/2,0 ml. Produkt je obecné podávaný pre liečbu karcinómu prsníka napríklad v dávkach približne 60 mg/m² až približne 100 mg/m² po dobu 1 až 2 hodín každé 3 týždne.

Prípravok je účinnou liečbou karcinómu prsníka v dávkach približne 100 mg/m² podávaných i.v. po dobu približne 1 hodiny každé 3 týždne. Pre liečbu Kaposiho sarkómu združeného s AIDS je docetaxel obecné podávaný i.v. v dávke približne 75

mg/m² po dobu 1 až 2 hodín každé 3 týždne alebo v dávke 100 mg/m² po dobu 3 hodín každé 2 týždne. Obecne je intenzita dávky docetaxelu približne 45 až 50 mg/m²/týždeň.

Vo výhodnom uskutočnení typická kombinácia podľa vynálezu je podávaná v nasledujúcich dávkach ukázaných v tabuľke 1.

Tabuľka 1

Dávka docetaxelu (mg/m ² v infúzii po dobu 1 hodiny v deň 1)	Dávka acetyldinalínu (perorálnej dávky podávanej denne v dňoch 1 - 14)
60	2,5 mg fixná dávka
80	5 mg fixná dávka
100	6 mg/m ² /deň
120	4 mg/m ² /deň

Ďalšie typické uskutočnenie dávkovania je ukázané v tabuľke 2.

Tabuľka 2

Dávka docetaxelu (mg/m ² v infúzii po dobu 1 hodiny v deň 1)	Dávka acetyldinalínu (perorálnej dávky podávanej denne v dňoch 1 - 14)
50	2,5 mg fixná dávka
75	6 mg fixná dávka
80	6 mg/m ² /deň

Kombinácie poskytované týmto vynálezom boli vyhodnotené v niekoľkých testovacích systémoch a dáta môžu byť analyzované s využitím štandardného programu pre kvantifikáciu synergizmu, adície a antagonizmu medzi protinádorovými prípravkami. Výhodne použitý program je ten, ktorý bol popísaný autormi Chou a Talalay v "New Avenues in Developmental Cancer Chemotherapy," Academic Press, 1987, kapitola 2.

Spôsob je založený na princípe mediánového účinku podľa zákona hromadného účinku s využitím enzymatického kinetického systému ako modelu. Rovnice je jednoduchá a popisuje vzťahy medzi dávkou a účinkom bez ohľadu na tvar krivky závislosti účinku od dávky. Dve základné rovnice predstavujú pilierov tejto metodológie. Popísať najjednoduchším možným spôsobom závislosť účinku od dávky pre jeden liek, rovnica mediánového účinku odvodená autorom Chou je daná takto:

$$f_1/f_0 = (D/D_m)^m$$
$$D = D_m [f_1/(1-f_1)]^{1/m}$$

Kde pravá strana reprezentuje dávku a ľavá strana reprezentuje účinok, v ktorej f_a a f_0 sú frakcie postihnuté a nepostihnuté, v danom poradí, D je dávka, D_m je dávka mediánového účinku prejavujúca účinnosť a m je koeficient naznačujúci tvar krivky závislosti účinku od dávky. Z tejto rovnice Chou a Talalay derivovali obecnú rovnicu pre dva alebo viacej liekov:

$$\begin{aligned} \left[\frac{(f_a)_{1,2}}{(f_u)_{1,2}} \right]^{1/m} &= \left[\frac{(f_a)_1}{(f_u)_1} \right]^{1/m} + \left[\frac{(f_a)_2}{(f_u)_2} \right]^{1/m} = +\alpha \left[\frac{(f_a)_1 (f_a)_2}{(f_u)_1 (f_u)_2} \right]^{1/m} \\ &= \frac{(D)_1}{(D_m)_1} + \frac{(D)_2}{(D_m)_2} = \frac{\alpha (D)_1 (D)_2}{(D_m)_1 (D_m)_2} \end{aligned}$$

kde $m = 1$ je kinetika prvého rádu podľa Michaelis-Mentenovej a $m > 1$ (alebo $m < 1$) je kinetika vyššieho rádu (alebo nižšieho rádu) podľa Hilla. Keď $\alpha = 0$, tretí termín na pravej strane sa stratí a keď $\alpha = 1$, tretí termín je zachovaný. $\alpha = 0$ sa používa pre vzájomne sa vylučujúce lieky a $\alpha = 1$ sa používa pre vzájomne sa nevylučujúce lieky. Pre lieky, ktoré majú rovnaké alebo podobné spôsoby pôsobenia, sú účinky oboch liekov vzájomne sa vylučujúce. Pre lieky, ktoré majú odlišné spôsoby pôsobenia alebo pôsobia nezávisle, sú účinky oboch liekov vzájomne sa nevylučujúce.

Graf frakcie ovplyvnenej (F_a) proti kombinačnému indexu (CI) je nazývaný F_a -CI graf. Tento graf ukazuje synergizmus, adíciu alebo antagonizmus dvoch liekov pri rôznych účinných hladinách vo zmesi, ktorá je rádovo nariedená. Ak je vytvorené niekoľko zmesí, je možné stanoviť optimálny kombinačný pomer pre dosiahnutie maximálnej synergie. Rôzne stupne účinku zvyčajne dávajú rôzne stupne synergizmu, adície alebo antagonizmu. CI hodnoty < 1 ukazujú synergizmus, CI hodnoty > 1 ukazujú antagonizmus a CI hodnoty, ktoré sú jedna alebo balansujú vokol jednej, ukazujú adíciu. Pre protinádorové prípravky je synergizmus vo vysokom stupni účinku (F_a) klinicky viacej relevantný ako synergizmus v nízkych F_a stupňoch.

Aj keď acetyldinalín (CI-994) nebol schválený pre klinické použitie, napriek tomu bol hodnotený v niekoľkých krvných skúškach. V jednej takej štúdií boli pacienti liečení s použitím schémy eskalácie dávok, ktoré sa zvyšovali ako v

dennej dávke tak, čo sa týka trvania liečby. Väčšina pacientov dostala rozsiahlu predchádzajúcu chemoterapiu. Maximálna tolerovaná dávka (MTD) bola 15 mg/m²/deň, keď liečba trvala 14 po sebe idúcich dní. Aby sa umožnilo predĺženie liečby, boli študované nižšie dávky. S použitím režimu 8 týždňov kontinuálnej dennej terapie, nasledovaných 2 týždňami bez lieku, MTD bola 8 mg/m²/deň. Toxické účinky obmedzujúce dávku boli trombocytopénia alebo neutropénia zvyčajne nastávajúca v priebehu 1 mesiaca od začiatku terapie. Krvné obrazy mali tendenciu ku stabilizácii dokonca aj pri pokračujúcej liečbe a rýchlo sa zotavili, keď bola liečba zastavená. Neexistoval žiadny dôkaz o kumulatívnej toxicite po opakovaných kôrach a predĺženej expozícii CI-994. Ďalšie toxické účinky zahrnovali nauzeu, vracanie, hnačku, anorexiu, únavu, zápaly slizníc, bolesti hlavy, dehydratáciu a zvyšovanie hodnôt testov pečenej a obličkových funkcií. Reakcie zahrnovali jednu parciálnu reakciu u silne vopred liečeného pacienta s NSCLC a menšiu reakciu u jedného pacienta s karcinómom obličiek a NSCLC.

Ďalšia štúdia fázy 1 bola uskutočnená u pacientov s relapsom akútnej leukémie alebo inej hematologickej malignity s použitím 5-denného dávkovacieho režimu s jednou dennou vysokou dávkou. MTD bola 135 mg/m²/deň. Toxické účinky obmedzujúce dávku boli akútne toxické postihnutia CNS prejavujúce sa ischiatickými ťažkosťami a spavosťou. Ďalšie nepriaznivé účinky zahrnovali nauzeu, vracanie, hypotenziu v dôsledku dehydratácie, hypokalcémiu, bolesti hlavy a u jedného pacienta všetky, akútnu pankreatitídu, pyramídový syndróm charakterizovaný hyperreflexiou a bilaterálnymi Babinského reflexmi a sepsu. Hematologické toxické účinky nemohli byť stanovené u tejto populácie pacientov. U dvoch pacientov s AML sa vyvinul syndróm lýzy nádoru, ktorý mal za následok jedno

úmrtie. Boli zaznamenané prechodné poklesy bielych krviniek v periférnych obrazoch.

S CI-994 v súčasnosti prebieha program štúdie fázy 2, kedy je použitá ako jednoduchý prípravok. Režim dávkovania je 8 mg/m² denne podávané perorálne. Je liečené cez 100 pacientov, vrátane pacientov s nemalobunkovým pľúcnym karcinómom, karcinóm obličiek, karcinóm pankreasu, karcinómy hlavy a krku, karcinóm vaječníkov, myelóm, karcinóm prostaty a karcinóm prsníka. Niektorí pacienti tolerovali zvýšenie dávky na 10 mg/ml, zatiaľ čo niektorí pacienti museli liečbu prerušiť kvôli trombocytopénii, a potom začali znovu s CI-994 v nižších dávkach. Nepriaznivé účinky boli podobné účinkom pozorovaným v protokole chronického dávkovania Fázy 1. Trombocytopénia bola toxicita obmedzujúca dávku. Boli udávané vzácne neurologické nepriaznivé javy vrátane parestézií, konfúzií a halucinácií. Objektívne reakcie boli pozorované u pacientov s nemalobunkovým pľúcnym karcinómom. Klinický prospech bol udávaný u pacientov s karcinómom obličiek.

Vo Fáze 1 štúdie solídnych nádorov, boli dávky CI-994 podávané perorálne po období postu a vzorky krvi boli zbierané pre farmakokinetické analýzy. Predbežné výsledky ukazujú, že maximálnej hladiny v krvi je dosiahnuté približne 1 až 2 hodiny po požití a konečný polčas eliminácie CI-994 je približne 15 hodín. Maximálne plazmatické koncentrácie CI-994 dosiahnuté so stúpajúcimi hladinami dávok boli menšie ako by bolo proporcionálne k dávke. Konečný polčas eliminácie a zjavná rýchlosť clearancie boli nezávislé od podávanej dávky.

Ďalším cieľom tejto štúdie bolo určiť, či aplikácia CI-994 s jedlom ovplyvňuje rýchlosť alebo mieru jej absorpcie. Dvanásť pacientov dostalo nalačno jednu dávku CI-994 v koncentrácii 8 mg/m². O týždeň neskôr bola rovnakým

pacientom podaná rovnaká dávka CI-994 s normálnym jedlom. Analýza farmakokinetických dát ukázala, že CI-994 môže byť aplikovaný bez ohľadu na jedlo.

Štúdie celkovej rovnováhy/spôsobu eliminácie neboli uskutočňované u ľudí. Štúdie na zvieratách ukazujú, že hlavný spôsob eliminácie je prostredníctvom vylučovania obličkami, pričom 80 % a 62 % rádioaktívne označeného lieku sa objavilo v moči opíc a laboratórnych potkanov, v danom poradí, počas 24 hodín.

Nasledujúce detailné príklady ďalej stanovujú synergiu medzi CI-994 a docetaxelom.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Synergické kombinácie poskytované týmto vynálezom boli vyhodnotené vo štandardnej chemoterapeutickej štúdií s použitím samíc myši BALB/C o hmotnosti 18 až 20 g. Testovacie myši boli získané od Charles River Laboratories, Wilmington, MA. V deň 0 testu bolo každej myši chirurgicky implantovaný (subkutánne) fragment pľúcneho epidermoidného karcinómu LC-12 o hmotnosti približne 30 až 60 mg. Nádorové fragmenty boli implantované s použitím trokára kalibra 12. Myši boli vážené jeden raz týždne a veľkosť nádoru (šírka a dĺžka v mm) boli merané dvakrát každý týždeň štandardným kaliperom. Nádorová hmota bola pre každé zviera vypočítaná podľa vzorca:

$$(a \times b^2)$$

$$\text{hmotnosť nádoru (mg)} = \text{-----}$$

kde "a" je šírka nádoru v mm a "b" je dĺžka v mm. Vyhodnotenie protinádorovej aktivity bolo stanovené vzorcom T-C, kde "T" a "C" sú priemerné časy (v dňoch) nutné pre to, aby liečené a kontrolné nádory (v danom poradí) dosiahli predurčenej veľkosti približne 750 mg ("veľkosť pre vyhodnotenie"). Nádory obecné dosiahli veľkosti približne 150 až približne 200 mg predtým, ako bolo zahájené podávanie lieku. Protinádorová aktivita bola hodnotená podľa štyroch parametrov: (1) parciálna reakcia nádoru (PR), (2) kompletná reakcia nádoru (CR), (3) prežitie bez nádoru (TF) a (4) oddialený rast nádoru (TL). Oddialený rast nádoru je exprimovaný ako hodnota T-C, kde T je priemerný počet dní vyžadovaných pre to, aby nádory liečené skupiny dosiahli predurčenej veľkosti (napr. 750 mg) a C je priemerný počet dní pre to, aby nádory kontrolnej skupiny dosiahli tejto veľkosti. Z hodnoty oddialeného/opozdeného rastu nádoru bola vypočítaná čistá hodnota \log_{10} pre usmrtenie nádorových buniek takto:

$$\text{Čistá hodnota } \log_{10} \text{ usmrtenia nádorových buniek} = [(T-C) - R_x] / 3,32 \times T_d$$

kde T_d je počet dní potrebný pre zdvojnásobenie nádorovej masy a R_x je celkový počet dní liečby. T_d je odvodená zo štatisticky najlepšie preloženej priamky v log-lineárnom grafe exponenciálneho rastu nádorov kontrolnej skupiny (rozsah 200 až 800 mg). Konverzia hodnôt T-C na \log_{10} pre usmrtenie nádorových buniek je možná, pretože T_d pre nádory opätovne rastúce po liečbe je približne rovnaká, ako hodnota pre neošetrené kontrolné myši. Čistá hodnota \log_{10} usmrtenia buniek normalizuje dáta o účinnosti pre nádorový rast počas liečebných režimov rôznej dĺžky a poskytuje odhad, či nastala aktuálna regresia nádoru. Pozitívne hodnoty ukazujú, že nastala skutočná redukcia nádoru. Negatívne hodnoty ukazujú, že nádor počas liečby vlastne rastie (hoci možná pomalšie).

Myši, ktoré prežili bez nádoru, boli z týchto výpočtov vyradené.

Acetyldinalín bol suspendovaný v 0,5% vodnej metylcelulóze a podávaný perorálne v rôznych dávkach v objemoch 0,5 ml. Docetaxel bol rozpustený vo zmesi 5 % etanolu, 5 % Tween 80, 90 % vodného fyziologického roztoku a podávaný intravenózne v rôznych dávkach injekciami o objeme 0,2 ml.

Zvieratá boli rozdelené do skupín po 10 zvieratách. Jedna skupina slúžila ako kontroly a dostávala samotné vehikulum, bez ošetrovania liekmi. Dve skupiny dostávali perorálne dávky samotného acetyldinalínu v určenej hladine (ako je ukázané v tabuľke 3) účinného lieku 30 mg/kg a 60 mg/kg. Acetyldinalín bol podávaný denne v dňoch 11-13 (deň 0 bol deň implantácie nádoru), dňoch 15-17 a dňoch 19-20. Tri skupiny dostávali samotný docetaxel v dávkach 3,5, 5,6 a 9,0 mg/kg. Dve skupiny dostávali acetyldinalín v uvedených dávkach v kombinácii s dávkou 3,5 mg/kg docetaxelu a iné dve skupiny dostávali acetyldinalín v uvedených dávkach v kombinácii s dávkou 5,9 mg/kg docetaxelu a konečne dve skupiny dostávali acetyldinalín v uvedených dávkach v kombinácii až do dávky 9,0 mg/kg docetaxelu.

Výsledky a záver

Protinádorové účinky, ktoré boli vyvolané použitím CI-994 v kombinácii s docetaxelom sú ukázané v tabuľke 3. MTD CI-994 bola 60 mg/kg/deň. Táto dávka vyvolala v 40 % kompletnú reakciu nádoru a v 10 % parciálnu reakciu nádoru. Oddialený rast nádoru pre nádory, ktoré nereagovali kompletne na CI-994, bolo 4,9 dní. Toto opozdenie reprezentuje čistú hodnotu usmrtenia nádorových buniek $-0,3 \log_{10}$. Tridsať percent (30%)

myši bolo bez nádoru, keď štúdia skončila 105 dní po poslednom ošetrení CI-994. CI-994 v dávke 30 mg/kg/deň (50% svojej MTD) vyvolala 20 % parciálnej reakcie nádoru, ale žiadnu kompletnú nádorovú reakciu. Oddialený rast nádoru vyvolaný touto dávkou bol 4,6 dni, čo predstavuje čistú hodnotu usmrtenia nádorových buniek $-0,5 \log_{10}$. MTD docetaxelu bola 9 mg/kg/deň. Táto dávka vyvolala 30 % parciálnej reakcie nádoru, ale žiadnu kompletnú nádorovú reakciu. Oddialený rast nádoru vyvolaný docetaxelom pri jeho MTD bol len 3,3 dni. To predstavuje čistú hodnotu usmrtenia nádorových buniek $-0,2 \log_{10}$.

Zatiaľ čo prípravky individuálne vyvolali iba mierne protinádorové účinky, dobrá protinádorová aktivita bola pozorovaná u všetkých kombinácií CI-994 a docetaxelu. CI-994 mohla byť podávaná vo svojej MTD s docetaxelom v jeho MTD. Táto dávka kombinácie vyvolala 40% CRS, 30% PRs a T-C 15,7 dní. Toto oddialenie rastu predstavuje čistú hodnotu usmrtenia nádorových buniek $+0,2 \log_{10}$. Dvadsať percent (20 %) liečených zvierat bolo bez nádoru, keď štúdia skončila v deň 105.

Lepšia protinádorová aktivita bola pozorovaná, keď CI-994 bola podávaná vo svojej MTD s docetaxelom v dávke 62 % jeho MTD. Táto kombinácia vyvolala 70 % kompletnej reakcie nádoru, 100 % parciálnej reakcie, T-C 12 dní a 100% myši bolo stále bez nádoru, keď štúdie po 105 dňoch skončila.

Tieto výsledky ukazujú, že protinádorová aktivita je väčšia ako aditívna, keď CI-994 bola podávaná vo svojej MTD súčasne s docetaxelom v jeho MTD alebo nižšej dávke. Ozaj, na základe parametrov pre reakciu nádoru PR, CR, TF a oddialeného rastu nádoru, tieto výsledky ukazujú, že protinádorová aktivita kombinácie je väčšia ako aditívna, keď bola CI-994 použitá vo svojej MTD a docetaxel bol použitý v dávke 62 % jeho MTD.

Tabuľka 3

Protinádorový účinok CI-994 v kombinácii s docetaxelom proti karcinómu LC12

CI-994		Docetaxel		Nešpe-		%Zmeny		Protinádorový účinok	
Dávka ^a	Režim	Dávka ^a	Režim	cifické úmrtia	hmotnosti ^b	CR ^c	PR ^d	T-C ^e (+)	Čistý log ₁₀ Bez nádoru ^f
Vehi- dni 11-13,15-17,19-21		Vehi- dni 11,15,19		0/10	+5,2	--	--	--	0,10
kulum		kulum							
30,0 dni 11-13,15-17,19-21	--	--	--	0/10	-5,5	0/10	2/10	4,6	-0,5
60,0 dni 11-13,15-17,19-21	--	--	--	0/10	-10,5	4/10	1/10	4,9	-0,3
-- --		3,5 dni 11,15,19		0/10	-7,3	0/10	0/10	-1,7	--
-- --		5,6 dni 11,15,19		1/10	-11,7	0/10	1/10	-0,5	0/10
-- --		9,0 dni 11,15,19		1/10	-16,7	0/10	3/10	3,3	-0,2
30,0 dni 12-14,16-18,20-22		3,5 dni 11,15,19		1/10	-13,5	2/10	1/10	4,5 (2,9)	-0,3
60,0 dni 12-14,16-18,20-22		3,5 dni 11,15,19		1/10	-26,7	4/10	2/10	11,4 (3,2)	0,0
30,0 dni 12-14,16-18,20-22		5,9 dni 11,15,19		0/10	-17,8	4/10	2/10	6,3 (4,1)	-0,2
60,0 dni 12-14,16-18,20-22		5,9 dni 11,15,19		0/10	-24,9	7/10	1/10	12,1 (4,4)	0,1
30,0 dni 12-14,16-18,20-22		9,0 dni 11,15,19		0/10	-17,8	3/10	2/10	15,4 (7,9)	0,2
60,0 dni 12-14,16-18,20-22		9,0 dni 11,15,19		1/10	-23,8	4/10	3/10	15,7 (8,2)	0,2

^a Dávka je v mg/kg/injekcií. Vehikulum bolo zložené z 0,5% hydroxypropylmetylcelulózy a 0,2% Tween-80 vo vode. Vehikulum pre docetaxel bolo zložené z 0,5 % EtOH/0,5 % Tween-80/90 % voda.

- ^b Strata hmotnosti je percento straty hmotnosti pozorovanej počas liečby, percento rastu hmotnosti je nárast hmotnosti pozorovaný na konci liečby.
- ^c Kompletná reakcia je definovaná ako 100% redukcia počiatkovej nádorovej masy.
- ^d Parciálna reakcia je definovaná ako aspoň 50% redukcie počiatkovej nádorovej masy.
- ^e T-C je rozdiel v dňoch preto, aby liečené a kontrolné nádory dosiahli 750 mg. Hodnoty v zátvorkách predstavujú hodnoty T-C pre aditívny protinádorový účink. Kto prežil bez nádoru, bol z T-C výpočtov vyradený.
- ^f Čistá hodnota \log_{10} usmrtenia nádorových buniek bola vypočítaná z T-C hodnoty.
- ^g termín bez nádoru označuje myši, ktoré mali nedetekovateľný nádor, keď štúdie skončila v deň 105.

Príklad 2

Kombinácia CI-994 plus docetaxel bola hodnotená na bunkách myšacieho karcinómu bedrovníka (rekombinantné bunky 26:10) a dáta boli analyzované podľa programu autorov Chou a Talalay, ktorý stanovil, či je kombinácia synergická.

Bunky myšacieho karcinómu bedrovníka boli vysiate na 96 jamkové kultivačné platničky do kultivačného média RPMI 1640 doplneného 20% fetálnym telacím sérom a 10 µg/ml inzulínu. Rôzne koncentrácie CI-994 a docetaxel boli pridávané spoločne 24 hodín potom, čo bunky boli osiate na kultivačné platničky a ponechané prichytiť sa. Účinok samotných CI-994 a docetaxelu a v kombinácii na proliferáciu buniek karcinómu bedrovníka bol určovaný po 96 hodinách inkubácie v 37°C s použitím testu SRB (Skehan P, Stoneng R, Scudiero D, et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. J. Natl. Cancer Inst., 1990, 82: 1107-1112). Chemoterapické dáta získané pri použití kombinácie boli analyzované s použitím programu Biosoft, "Dose Effect Analysis with Microcomputers for IBM PC", čo je štandardný program pre kvantifikáciu synergizmu, adície a antagonizmu medzi protinádorovými prípravkami a je založený na princípe mediánového účinku zákona hromadného účinku s použitím modelu systému enzymatickej kinetiky popísaného autormi Chou a Talalay. Grafy ovplyvnenej frakcie (Fa) proti kombinačnému indexu (CI) sú nazvané grafmi Fa-CI. Tieto grafy ukazujú synergizmus, adíciu alebo antagonizmus 2 liekov v rôznych hladinách účinku vo zmesi, ktorá je sériovo nariedená. Ak je pripravené niekoľko zmesí, je možno stanoviť optimálny pomer kombinácie pre dosiahnutie maximálnej synergie. Rôzne hladiny účinku zvyčajne dávajú iné stupne synergizmu, adície alebo antagonizmu. CI hodnoty <1 ukazujú synergizmus, CI hodnoty >1 ukazujú

antagonizmus a hodnoty balansujúce okolo 1, a v grafu tiež priamka ukazujú adíciu.

Príklad 3

Klinické vyhodnotenie 2-zložkovej kombináčnej liečby

Popisovaná štúdia bola klinická viacstredisková štúdia so známym označením fázy 1, kedy sa podával CI-994 v kombinácii s docetaxelom pacientom s pokročilými solídnymi nádormi.

Cieľom tejto štúdie bolo určiť (1) MTD, (2) dávku odporúčanú pre fázu 2, (3) farmakokinetiku, (4) bezpečnostný profil a (5) sledovať protinádorovú aktivitu CI-994 pri podávaní v kombinácii s docetaxelom pacientom s pokročilými solídnymi nádormi. Koncový bod primárnej účinnosti je dosiahnutiu buď PR alebo CR. Sekundárne koncové body zahŕňujú čas dosiahnutia PR alebo CR, trvanie PR alebo CR a prežitie.

Docetaxel bol podávaný ako nitrožilná infúzia v 3-týždenných intervaloch počas liečebnej kúry, s použitím počiatočnej dávky 75 mg/ml. CI-994 bola podávaná perorálne v dennej dávke po dobu 21 dní 28-dennej kúry, počínajúc v deň 1. Pacienti dostávali následné kúry liečby založenej na tolerancii jednotlivca a reakcie na terapii. Pacienti, ktorých choroba neodpovedala alebo u ktorých sa vyvinuli neznesiteľné nepriaznivé účinky, nepokračovali v liečbe podľa štúdie.

Počiatočná hladina dávky CI-994 bola 4 mg/m². V každej hladine dávky boli liečení minimálne tri pacienti. Hladiny dávky boli zvyšované na 2 mg/m², dokiaľ nebolo dosiahnuté MTD. Desať ďalších pacientov má byť liečené hladinou dávky

odporúčanou pre Fázu 2 štúdie, o ktorej sa predpokladá, že to je MTD, alebo hladina dávky o jednu hladinu nižšia ako MTD.

Akonáhle pacient zaháji liečbu podľa štúdie, pridanie ďalšej liečby karcinómu by pokazilo hodnotenie bezpečnosti a účinnosti, a preto nie je dovolené. Toto obmedzenie zamedzuje pridanie systémových cytotoxických, hormonálnych, imunologických alebo iných biologických prípravkov, dokiaľ je pacient v liečebnej fáze podľa tohto protokolu. Ochorenie pacientov, ktoré vyžadovalo paliatívnu rádioterapiu, dokiaľ sa pacienti účastnili štúdie, bolo obecné považované za progresívne a, ak neexistovali presvedčivé informácie o opaku, liečba podľa štúdie týchto pacientov bola prerušená. Pacienti, u ktorých sa vyvinuli nové metastázy do mozgu, zatiaľ čo sa účastnili štúdie, mohli prerušiť liečbu, aby dostali sériu ožiarení lebky, potom bola opäť zahájená liečba podľa štúdie po zotavovacím období aspoň 1 týždeň.

Po úvahe bádateľa mohli byť použité antiemetiká pre prevenciu a/alebo liečbu nauzey alebo vracania. Mala by byť urobená snaha zaistiť kontrolu nauzey a vracania, pretože tieto podmienky môžu zabrániť pacientom brať alebo absorbovať perorálne dávky CI-994.

Faktory stimulujúce rast kolónií môžu byť použité po úvahe bádateľa k liečbe epizód závažnej myelosupresie, ktoré sú komplikované infekciou, ale nemali by inak byť použité pre podporovanie nízkych počtov krvných obrazov alebo pre udržiavanie intenzity dávky.

Ak sú dodržané kritériá pre CR, boli podávané 2 ďalšie behy liečby po potvrdení CR, a potom kompletne prehodnotený chorobný stav pacienta. Ak pacient bol v tomto okamihu klinicky nájdený bez známk ochorenia, bolo podávanie

docetaxelu zastavené a pokračovalo podávať CI-994 po dobu 3 ďalších mesiacov pri použití rovnakej dávky a režimu (3 týždne podávať/1 týždeň prestávka). V tejto dobe sa znovu kompletne prehodnotil chorobný stav pacienta. Ak pacient bol ešte v CR, bádateľ musel zhodnotiť riziká a potenciálne výhody pokračujúcej CI-994 liečby.

Liečebné kúry

Liečebná kúra zostávala z docetaxelu podávaného intravenózne v deň 1 28-dennej kúry plus CI-994 podávanej denne perorálne, počínajúc v deň 1, po dobu 21 dní 28-dennej kúry. Kúry boli opakované v deň 29, ak sa dosiahlo adekvátneho zotavenia z nepriaznivých účinkov a myelosupresie, definované ako nehematologické parametre stupňa ≤ 1 , počet platničiek $\geq 100\ 000/\ \mu\text{l}$ a absolútny počet neutrofilov $\geq 1500/\ \mu\text{l}$. Následné kúry môžu byť oddialené týždennými intervalmi až 3 týždňami. Ak zotavenie nenastalo do dňa 50, liečba podľa štúdie bola u pacienta prerušená.

Dávkovanie docetaxelu

Počiatočná dávka docetaxelu v každej kúre bola približne 70 až 80 mg/m², podávaná ako intravenózna infúzia po dobu 1 až 2 hodín. Počas liečebnej kúry môže byť vyžadované upraviť dávku. Je nutné nasledovať odporúčanie výrobcu pre informácie s ohľadom na prípravu a podávanie.

Hladiny dávky CI-994

Dávky CI-994 boli vypočítané na základe telesného povrchu (BSA) a museli potom byť zaokrúhlené na najbližšiu dostupnú koncentráciu v tobolke. CI-994 je dostupná v tobolkách o koncentrácii 2, 5, 5 a 25 mg. Dávky možno brať bez ohľadu na jedlá.

Počiatočná hladina dávky CI-994 je 4 mg/ml. Následné hladiny dávky budú zvyšované (alebo znižované, ak je nutné) o pevný prírastok 2 mg/m² dokiaľ nie je dosiahnutá MTD. Jednotliví pacienti nemusia dostať eskalácie dávky gemcitabínu alebo CI-994 v následných kúrach. Pacienti môžu dostať nižšiu dávku CI-994 v následnej kôre, ak sa u nich prejavili toxické účinky obmedzujúce dávku.

Pre každú novú hladinu dávky boli určení traja noví pacienti. Minimálny čas, po ktorý musí byť títo pacienti sledovaní, je doba 4 týždňov predtým, ako môže byť zahájené podávanie novej hladiny dávky (ak nebola liečba prerušená skôr a pacient sa zotavil z nepriaznivých účinkov). Ako náhle žiadny z týchto troch pacientov neprejavil toxické účinky obmedzujúce dávku, bolo zahájené podávanie nasledujúcej vyššej hladiny dávky. Ak sa u jedného pacienta vyvinuli toxické účinky obmedzujúce dávku, boli pre túto hladinu dávky zaregistrovaní traja ďalší pacienti. Ak ≥ 2 z 6 pacientov prejavili toxické účinky obmedzujúce dávku pri rovnakej hladine, bola táto hladina dávky považovaná za MTD.

Hodnotiteľný pacient bol definovaný ako pacient, ktorý dostal 3 týždenné dávky gemcitabínu plus aspoň 80% dávok CI-994 (217 dávok) alebo pacient, ktorého liečebná kúra bola skoro zastavená alebo nespolupracoval (<17 dávok) voči nepriaznivým účinkom so vzťahom k liečeniu. Pacient, ktorý prijal menej ako 17 dávok CI-994 alebo nedokončil liečebnú kúru z dôvodov nesúvislých s liečbou (napr. omeškané schôdzky,

vyčerpal zásoby. CI-994, u pacienta sa vyvinul súčasne existujúci zdravotní stav, ktorý pacientovi znemožnil polykať tobolky, u pacienta sa vyvinula rýchlo postupujúca choroba) nie je považovaný za pacienta, u ktorého možno hodnotiť tolerancie tejto hladiny dávky.

Pacienti by mali byť povzbudzovaní, aby prijímali svoju dávku CI-994 každý deň v približne rovnaký čas. Ale radšej ako vynechanie dennej dávky je povolený rozdiel až 12 hodín proti stanovenému času pre ktorúkoľvek danú dávku. Ak pacient úplne vynechá dennú dávku, musí byť inštruovaný nasledujúci deň. Ak pacient vracia kedykoľvek po aplikácii dávky CI-994, musí byť inštruovaný dávku nezvyšovať, ale pokračovať v následných dávkach nasledujúci deň, ako bolo predpísané.

V dňoch 1, 8 a 15 by mala byť dávka CI-994 podaná 2 hodiny pred dávkou gemcitabínu, aby sa zaistila maximálna absorpcia v prípade, že sa u pacienta vyvinie vracanie po dávke gemcitabínu.

Akonáhle je určená MTD, bude 10 ďalších pacientov liečené hladinou dávky vo Fáze 2, o ktorej sa predpokladá, že to je MTD alebo hladina dávky o jednu hladinu nižšia ako MTD.

Upravenie dávky počas kúry

Pokračovanie podávania docetaxelu a CI-994 počas kúry je závislé od pacientovej tolerancie a hematologických parametroch. Redukované dávky docetaxelu môžu byť žiadúce v dňoch 8 a 15, ako odporúčané výrobcom. Dávka CI-994 nemá byť zvýšená alebo znížená počas liečebnej kúry, hoci môže byť žiadúce časné ukončenie, ako popísané nižšie. Akonáhle obe liečby podľa štúdie musia byť zastavené pred dokončením kúry, nedoporučuje sa táto kúra dokončiť, ale namiesto toho sa u

pacienta sleduje zotavení, a potom sa začne s ďalšou kúrou s použitím zníženej dávky CI-994.

Rozhodnutie prerušiť dávky CI-994 kedykoľvek počas kúry je založené na nepriaznivých účinkoch alebo hematologických výsledkoch. Príklad: pacient má počet doštičiek v deň 11 45 000/ μ l. Je nutné inštruovať pacienta, aby prestal brať tobolky CI-994 (a vrátil všetky nádoby s liečbou podľa štúdie). V deň 15 sa odoberie ďalší krvný obraz (CBC). Ak počet doštičiek v deň 15 je 50 000 až 99 000/ μ l, podáva sa 75% vypočítanej dávky docetaxelu, ale nezačne sa s dávkami CI-994. Ak počet doštičiek v deň 15 zostáva pod 50 000/ μ l, neustupuje sa s podávaním gemcitabínu. Zváži sa, či ukončiť túto kúru a sledovať u pacienta zotavenie. V každom prípade môže pacient dostať následnú liečebnou kúru s použitím rovnakej počiatočnej dávky docetaxelu a dávky CI-994, ktorá bola redukovaná o 2 mg/m².

Formulácia a stabilita lieku

Docetaxel možno získať z komerčných zdrojov. Je odporúčané nasledovať odporúčanie výrobcu pre prípravu, podávanie, stabilitu a skladovacie podmienky. CI-994 je formulovaný v rovnako vyzerajúcich želatínových tobolkách obsahujúcich 2,5, 5 alebo 25 mg liečby podľa štúdie plus inaktívne zložky, ako je laktóza, kukuričný škrob a mastenec alebo polyetylén glykol 6000. Uskladniť pri kontrolovanej izbovej teplote.

Predchádzajúce dáta dokazujú neočakávane výhodnú interakciu medzi acetyldinalínom v kombinácii s docetaxelom. V súlade s tým tento vynález poskytuje spôsob liečenia citlivých novotvarov obsahujúci podávanie acetyldinalínu v režime spolu

s docetaxelom. Kombinácia obecné zahrnuje každú účinnú zložku balenú oddelene, a tým sa zabráni akejkoľvek interakcii medzi prípravkami pred podávaním. Ak je to žiadúce, individuálne balené lieky môžu byť umiestnené v jednej krabici ako kit (súprava), čo je výhodné pre ošetrojúceho lekára alebo ošetrovateľa. Citlivé novotvary pre liečenie podľa tohto vynálezu zahrnujú solídne nádory, obzvlášť pokročilé solídne nádory a nemalobunkový pľúcny karcinóm, a tiež karcinóm obličiek, karcinóm pankreasu, karcinóm hlavy a krku, karcinóm vaječníkov, myelóm, karcinóm prostaty a karcinóm prsníka.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Kombinácia antineoplastických prípravkov v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že obsahuje protinádorové množstvo acetyldinalínu a protinádorové množstvo docetaxelu.

2. Kombinácia podľa nároku 1 v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že obsahuje acetyldinalín formulovaný ako tobolka.

3. Kombinácia podľa nároku 2 v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že obsahuje docetaxel alebo jeho farmaceuticky prijateľnú soľ alebo hydrát formulovaný ako sterilný roztok pre nitrožilnú infúziu.

4. Kombinácia podľa nároku 3 v y z n a č u j ú c a s e t ý m, že obsahuje monohydrochlorid docetaxeltrihydrátu.

5. Kombinácia v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že obsahuje acetyldinalín a docetaxel.

6. Spôsob liečenia karcinómu v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa podávanie živočíchovi, ktorý potrebuje liečbu, protinádorového množstva kombinácie podľa nároku 1.

7. Spôsob podľa nároku 6 v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že liečený karcinóm je nemalobunkový pľúcny karcinóm.

8. Spôsob podľa nároku 6 v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že liečený karcinóm je karcinóm prsníka.

9. Spôsob podľa nároku 6 v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že liečený karcinóm je karcinóm prostaty.

10. Spôsob podľa nároku 6 v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že liečený karcinóm je lokálne pokročilý (neresekovateľné štádium II alebo štádium III) alebo metastázujúce (štádium IV) adenokarcinóm pankreasu.

11. Súprava v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že obsahuje acetyldinalín v jednom kompartmente a docetaxel v druhom kompartmente.