

A61K 31/436 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2019-248
(22) Přihlášeno: 18.02.2002
(30) Právo přednosti:
19.02.2001 GB 0104072.4
17.10.2001 GB 0124957.2
(40) Zveřejněno: 14.01.2004
(Věstník č. 1/2004)
(47) Uděleno: 11.05.2022
(24) Oznámení o udělení ve věstníku:
22.06.2022
(Věstník č. 25/2022)
(86) PCT číslo: PCT/EP2002/001714
(87) PCT číslo zveřejnění: WO 2002/066019

(56) Relevantní dokumenty:
M. Grewe a kol.: „Regulation of Cell Growth and Cyclin D1 Expression by the Constitutively Active FRAP-p70S6K Pathway in Human Pancreatic Cancer Cells“ Cancer Research 59, 3581-3587 (1999); T. Seufferlein a kol.: „Constitutive activation of p70s6k in human pancreatic cancer cell lines bearing activating Ki-ras mutations“ Gastroenterology 114 (4) abstrakt G2023 (1998); M. Hidalgo a E. K. Rowinsky: „The rapamycin-sensitive signal transduction pathway as a target for cancer therapy“ Oncogene 19, 6680-6686 (2000); S.A. Shah a kol.: „FRAP-p70s6K Signaling Is Required for Pancreatic Cancer Cell Proliferation“, J. Surg Res. 97 (2) 123-30 (květen 2001) – prezentováno na Annual Meeting of the Association for Academic Surgery, Tampa, Florida, 2-4.11. 2000; M. Majewski a kol.: „The immunosuppressive macrolide RAD inhibits growth of human Epstein-Barr virus-transformed B lymphocytes in vitro and in vivo: A potential approach to prevention and treatment of posttransplant lymphoproliferative disorders“ Proc Natl Acad Sci USA 97 (8) 4285-90 (2000).
WO 97/47317; WO 94/09010.

(73) Majitel patentu:
Novartis AG, CH-4056 Basel, CH
(72) Původce:
Heidi Lane, Basel, CH
Terence O'Reilly, Basel, CH
Jeanette Marjorie Wood, Biel-Benken, CH
(74) Zástupce:
Traplová Hakr Kubát, advokátní a patentová
kancelář, Ing. Jan Kubát, Přístavní 24, 170 00 Praha
7

(54) Název vynálezu:
**40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycin pro
použití jako jediná účinná látka při léčení
solidního nádoru**

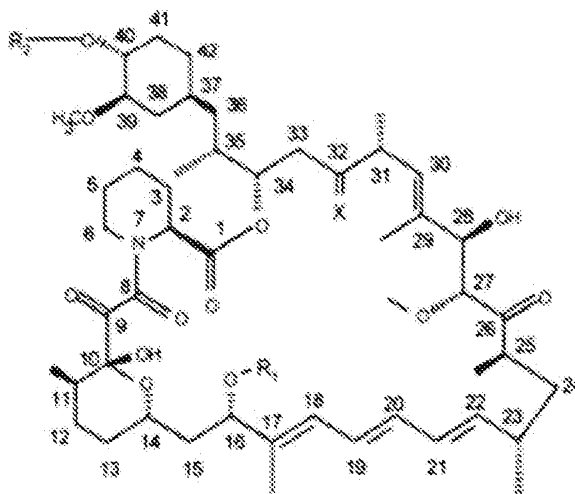
(57) Anotace:
Vynález se týká 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycinu pro použití při léčení solidního nádoru slinivky břišní jako jediné účinné látky. Výhodně je solidní nádor pokročilým solidním nádorem. Výhodně je 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycin podán v jednotkové dávkové formě pro orální podání obsahující 0,25 až 10 mg 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycinu společně s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými ředidly nebo nosiči.

40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycin pro použití jako jediná účinná látka při léčení solidního nádoru5 Oblast techniky

Tento vynález se týká použití 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycinu jako jediné účinné látky při léčení solidního nádoru

10 Dosavadní stav techniky

Rapamycin je známé makrolidové antibiotikum produkované organismem *Streptomyces hygroscopicus*. Mezi vhodné deriváty rapamycinu patří například sloučeniny obecného vzorce I



15

(I),

ve kterém

20 R_1 znamená skupinu CH_3 nebo alkynylovou skupinu obsahující 3 až 6 uhlíkových atomů,

R_2 znamená atom vodíku nebo skupinu $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$, a

X znamená skupinu $=\text{O}$, (H,H) nebo (H,OH),

25

s tou výhradou, že symbol R_2 nabývá jiného významu než atomu vodíku, pokud X znamená skupinu $=\text{O}$ a R_1 znamená skupinu CH_3 .

30

Sloučeniny obecného vzorce I jsou popsány např. v dokumentech WO 94/09010, WO 95/16691 nebo WO 96/41807. Lze je připravit způsoby popsány v těchto dokumentech nebo analogicky k nim.

40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycin (dále označovaný jako sloučenina A), byla popsána v příkladu 8 dokumentu WO 94/09010.

35

Zjistilo se, že jsou sloučeniny obecného vzorce I, na základě pozorované aktivity, např. vazby na makrofilin-12 (též známý jako FK-506 vazebný protein nebo FKBP-12), např. jak se popisuje v dokumentech WO 94/09010, WO 95/16691 či WO 96/41807, použitelné např. jako imunosupresiva, např. při léčení akutní rejekce allotransplantátu. Nyní se zjistilo, že sloučeniny

obecného vzorce I vykazují silné antiproliferativní účinky, které je činí použitelnými pro rakovinnou chemoterapii, zejména solidních nádorů, obzvláště pokročilých solidních nádorů. Stále však existuje potřeba rozšíření nástrojů rakovinné terapie solidních nádorů, zejména v případech, kdy není léčení protirakovinnými sloučeninami spojeno s regresí či stabilizací onemocnění.

Podstata vynálezu

V souladu s konkrétními zjištěními je předmětem tohoto vynálezu 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycin pro použití jako jediná účinná látka při léčení solidního nádoru, přičemž solidním nádorem je nádor slinivky břišní a 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycin je podán v jednotkové dávkové formě pro orální podání obsahující 0,25 až 10 mg 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycinu společně s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými ředidly nebo nosiči. Výhodně je solidním nádorem pokročilý solidní nádor.

Zmíněny jsou také:

1.1 Způsob léčení solidních nádorů u jedince, který ho vyžaduje, zahrnující podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny obecného vzorce I uvedenému jedinci.

1.2 Způsob inhibice růstu solidních nádorů u jedince, který ho vyžaduje, zahrnující podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny obecného vzorce I uvedenému jedinci.

1.3 Způsob vyvolání regrese nádoru, např. redukce nádorové hmoty, u jedince, který ho vyžaduje, zahrnující podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny obecného vzorce I uvedenému jedinci.

1.4 Způsob ošetřování invazivity solidního nádoru nebo symptomů spojených s takovým nádorovým růstem u jedince, který ho vyžaduje, zahrnující podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny obecného vzorce I uvedenému jedinci.

1.5 Způsob prevence metastatického rozsevu nádorů nebo prevence či inhibice růstu mikrometastázy u jedince, který ho vyžaduje, zahrnující podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny obecného vzorce I uvedenému jedinci.

Termínem “solidní nádory” jsou míněny nádory nebo/a metastázy (kdekoli umístěné), jiné než lymfatické karcinomy, např. nádory mozku a jiné nádory centrálního nervového systému (např. meningeální nádory, mozkové nádory, míšní nádory, nádory kraniálních nervů a jiných částí centrálního nervového systému, např. glioblastomy či meduloblastomy); karcinomy hlavy nebo/a krku; nádory hrudi; nádory oběhového systému (např. srdce, mediastina a pleury, a dalších nitrohručních orgánů, vaskulární nádory a s nádorem související vaskulární tkáň); nádory vylučovacího systému (např. ledvin, ledvinových pánviček, močovodů, močového měchýře, dalších a nespecifikovaných močových orgánů); nádory gastrointestinálního traktu (např. jícnu, žaludku, tenkého střeva, tračníku, kolorektální nádory, nádory rektosigmoidního spojení, rekta, anu a análního kanálu), nádory postihující játra a nitrojaterní žlučové cesty, žlučník, dalších a nespecifikovaných částí žlučového traktu, pankreatu a dalších orgánů zažívacího traktu); hlavy a krku; dutiny ústní (rtu, jazyka, dásně, spodiny dutiny ústní, patra a dalších částí úst, příušních žláz a dalších částí slinných žláz, tonzil, orofaryngu, nasofaryngu, pyriiformního sinu, hypofaryngu a dalších míst ve rtu, ústní dutině a hltanu); nádory reprodukčního systému (např. vulvy, vaginy, děložního krčku, děložního těla, dělohy, vaječníků a dalších míst spojených s ženskými pohlavními orgány, placenty, penisu, prostaty, varlete a dalších míst spojených s mužskými pohlavními orgány); nádory dýchacího traktu (např. dutiny nosní a středního ucha, akcesorních sinů, hrtanu, trachey, bronchů a plic, např. malobuněčný karcinom plic či nemalobuněčný karcinom plic); nádory kosterního systému (např. kostí a kloubní chrupavky

končetin, kostí a kloubní chrupavky a dalších míst); nádory kůže (např. maligní melanom kůže, non-melanomové kožní karcinomy, karcinom kůže z bazálních buněk, karcinom kůže ze skvamózních buněk, mesotheliom, Kaposiho sarkom); a nádory postihující jiné tkáně, což zahrnuje periferní nervy a autonomní nervový systém, pojivové a měkké tkáně, retroperitoneum a peritoneum, oko a adnexa, štítnou žlázu, nadledvinu a další endokrinní žlázy a související struktury, sekundární a nespecifické maligní novotvary lymfatických uzlin, sekundární a nespecifické maligní novotvary dýchacího a zažívacího traktu a sekundární maligní novotvary jiných míst.

Pokud jsou výše a níže zmíněny nádor, nádorové onemocnění, karcinom nebo rakovina, jsou alternativně nebo navíc míněny též metastázy v původním orgánu či tkáni nebo/a v libovolném jiném místě, ať již je umístění nádoru nebo/a metastázy jakékoliv.

K příkladům onemocnění souvisejících s deregulovanou angiogenezí patří, bez omezení, např. neoplastická onemocnění, např. solidní nádory. Angiogeneze se považuje za předpoklad těch nádorů, které vyrůstají nad určitý průměr, např. přibližně 1 až 2 mm.

Vynález se také týká farmaceutické kompozice pro použití při některém z výše definovaných způsobů 1.1 až 1.5 obsahující sloučeninu vzorce I společně s jedním nebo více farmaceuticky přijatelných ředidel nebo nosičů.

“Lymfatickým karcinomem“ jsou míněny např. nádory krevního a lymfatického systému (např. Hodgkinova choroba, non-Hodgkinův lymfom, Burkittův lymfom, lymfomy související s AIDS, maligní imunoproliferativní onemocnění, mnohočetný myelom a maligní neoplasmata plasmatických buněk, lymfoidní leukémie, myeloidní leukémie, akutní nebo chronická lymfocytární leukémie, monocytární leukémie, další leukémie specifikovaných typů buněk, leukémie nespecifikovaných typů buněk, další a nespecifikované maligní neoplasmata lymfoidní, hematopoetické a příbuzných tkání, například difusní velkobuněčný lymfom, T-buněčný lymfom nebo kožní T-buněčný lymfom).

Vynález rovněž zahrnuje příslušné farmaceuticky přijatelné soli, příslušné racemáty, diastereoisomery, enantiomery, tautomery a rovněž také příslušné krystalové modifikace výše uvedené sloučeniny, pokud se vyskytují, např. solváty, hydráty a polymorfy.

Užitečnost sloučeniny obecného vzorce I při léčení solidních nádorů, jak je upřesněno výše, lze ukázat pomocí živočišných testovacích metod, a rovněž tak pomocí klinických metod, například v souladu s níže popsány metodami.

Příklady uskutečnění vynálezu

A. *In vitro*

A.1 Antiproliferativní aktivita v kombinaci s dalšími činidly

Buněčná linie, např. A549 linie rezistentní vůči sloučenině A (IC_{50} v rozmezí nízkých hodnot v nmol) proti komparativním KB-31 a HCT116 liniím rezistentním vůči sloučenině A (IC_{50} v rozmezí M), se vloží na devadesátistijamkové desky (1500 buněk/jamka v 100 l media) a inkubují se po dobu 24 hodin. Následně se v samostatných zkumavkách připraví dvojnásobně ředěná řada (s počátkem na $8 \times IC_{50}$ každé sloučeniny) každé sloučeniny (sloučeniny obecného vzorce I nebo známého chemoterapeutického činidla), buď samotné nebo v párových kombinacích, a roztoky se přidají do jamek. Buňky se poté opětovně inkubují po dobu 3 dnů. V den 4 se provede barvení methylenovou modří a stanoví se množství navázaného barviva (proporcionálně k počtu přeživších buněk s navázaným barvivem). Následně se stanoví hodnoty IC_{50} pomocí programu Calcsyn, který umožňuje měření interakce, jmenovitě tzv. non-

exkluzivního kombinačního indexu (CI), kde: $CI \sim 1$ = interakce je téměř aditivní; 0,85 až 0,9 = lehký synergismus; $< 0,85$ = synergismus. V rámci této analýzy vykazují sloučeniny obecného vzorce I, v kombinaci s jiným chemoterapeutickým činidlem, zajímavé antiproliferativní účinky. U kombinace sloučeniny A a cisplatiny, paclitaxelu, gemcitabinu a doxorubicinu lze například získat následující hodnoty CI, ukazující synergické účinky.

Buněčná linie	Cisplatina	Paclitaxel	Gemcitabin	Doxorubicin
KB-31	0,74	0,9	0,79	0,7
A549	0,47	0,74	0,76	0,64
HCT116	0,47	0,3	0,9	0,52

Dále v rámci této analýzy sloučenina A, pokud se použije v kombinaci s gemcitabinem, zesiluje úbytek životnosti A549 buněk a buněčné smrti.

A2 Antiangiogenní aktivita

In vitro analýza antiproliferativní aktivity rapamycinu nebo jeho derivátu, např. sloučeniny A, proti lidským endotelovým buňkám umbilikální žíly (HUVECs) ukazuje u VEGF- a bFGF-, respektive FBS-stimulované proliferace hodnoty IC_{50} ve výši 120 ± 22 pmol a 841 ± 396 , a $> 10\,000$ pmol. Dále se v rámci stejného rozmezí koncentrací nepozorují významné účinky sloučeniny A na bFGF-stimulovanou proliferaci normálních lidských dermálních fibroblastů (NHDF). Tyto výsledky ukazují, že sloučenina A inhibuje proliferaci HUVECs, přičemž je obzvláště silná proti proliferaci vyvolané VEGF, přičemž VEGF je klíčový proangiogenní faktor.

B. *In vivo*

V následujících analýzách se protinádorová aktivita vyjadřuje jako T/C % (střední zvýšení objemů nádorů ošetřovaných zvířat dělené středním zvýšením objemů nádorů kontrolních zvířat násobené 100) a % regrese (objem nádoru minus počáteční objem nádoru děleno počátečním objemem nádoru a násobeno 100).

B.1 Aktivita u A549 lidských xenoštěpů nádoru plic

Fragmenty A549 nádorů (přibližně 25 mg; pocházející od buněčné linie CCL 185, ATCC, Rockville MD, USA) se subkutánně transplantují do levého boku BALB/c holých myši. S ošetřováním se započne v den 7 nebo den 12 po transplantaci nádoru. Testovaná sloučenina se podává p.o. jednou denně ode dne 7/12 do dne 38/55. V rámci této analýzy, vykazují sloučeniny obecného vzorce I, pokud se podávají v denní dávce pohybující se od 0,1 mg/kg do 2,5 mg/kg, inhibici růstu nádoru závislou na dávce; například v rámci jednoho reprezentativního experimentu vede sloučenina A, pokud se podává v dávce 2,5 mg/kg, k setrvalým regresím (41 %); dávka 0,5 mg/kg vede k přechodným regresím (38 % v den 17), s konečnou hodnotou T/C činící 16 %, a dávka ve výši 0,1 mg/kg zpomaluje růst nádoru, což vede ke konečné hodnotě T/C

činící 43 % (T/C u kontrolních zvířat činí 100 %).

B.2 Aktivita u KB-31 lidských xenoštěpů epidermoidního nádoru

- 5 Fragmenty KB-31 nádorů (přibližně 25 mg; pocházející od buněčných linií získaných od Roswell Park Memorialis Institute Buffalo, NY, USA) se subkutánně transplantují do levého boku BALB/c holých myši. S ošetřováním se započne v den 7 nebo v den 10 po transplantaci nádoru. Testovaná sloučenina se podává p.o. jednou denně ode dne 7/10 do dne 25/35. Protinádorová aktivita se vyjadřuje jako T/C %, jak je naznačeno výše. V rámci této analýzy inhibují sloučeniny obecného vzorce I, pokud se podávají v denní dávce pohybující se od 0,5 mg/kg do 2,5 mg/kg, růst nádoru; například v rámci jednoho reprezentativního experimentu vede sloučenina A, pokud se podává v dávce činící 2,5 mg/kg/den, ke konečné hodnotě T/C činící 25 % (T/C u kontrolních zvířat činí 100 %).

15 B.3 Aktivita u CA20948 krysích nádorů pankreatu

- Nádory se zavedou u samčích krys Lewis pomocí subkutánní injekce suspenze CA20948 nádorových buněk pocházejících od dárcovských krys do levého boku. S ošetřováním se započne v den 4 po inokulaci. Testovaná sloučenina se podává p.o. jednou denně (6 dnů v týdnu) ode dne 4 do dne 9 až 15 po inokulaci. Protinádorová aktivita se vyjadřuje jako T/C %, jak je naznačeno výše. V rámci této analýzy inhibují sloučeniny obecného vzorce I, pokud se podávají v denní dávce 0,5 mg/kg až 2,5 mg/kg, růst nádoru; například v rámci reprezentativního experimentu vede sloučenina A, pokud se podává p.o. v denní dávce 2,5 mg/kg ke konečné hodnotě T/C činící 23 %. V tom samém experimentu vede přerušované podávání sloučeniny A, 5 mg/kg dvakrát týdně, ke konečné hodnotě T/C činící 32 %. Sloučenina A v rámci těchto analýz významně a konsistentně snižuje míru růstu CA20948 pankreatických nádorů, v porovnání s vehikulovými kontrolami (T/C u kontrolních zvířat je definována jako 100 %).

- Sloučeniny obecného vzorce I, např. sloučenina A, se testuje v dalších nádorových modelech v souladu s postupem popsáným výše. Například výsledkem denní dávky 2,5 mg/kg nebo 5 mg/kg sloučeniny A, pokud se podávají v rámci modelu lidského NCI H-596 nádoru plic, respektive nádorového modelu lidského MEXF 989 melanomu, jsou konečné hodnoty T/C 18 % a 9 %; 5 mg/kg vede ke konečným hodnotám T/C činícím 20 % (primární nádor) a 36 % (metastázy v cervikální lymfatické uzlině), pokud se podávají v orthotopickém myším nádorovém modelu B16/BL6 melanomu, a 24 %, pokud se podávají v modelu lidského AR42J pankreatického nádoru; 2,5 mg/kg vede ke konečné hodnotě T/C ve výši 28 %, pokud se podává v modelu lidského KB-8511 epidermoidního nádoru rezistentního vůči více léčivům (MDR). Dobré protinádorové odpovědi se získají také, pokud se sloučeniny obecného vzorce I, např. sloučenina A, podávají přerušovaně, např. 2 následné dny za týden nebo dvakrát denně, myším s transplantovanými lidskými AR42J pankreatickými nádory.

B.4 Kombinace s doxorubicinem

- Myši s transplantovanými lidskými KB-31 epidermoidními nádory se ošetřují po dobu 21 dne doxorubicinem v dávce činící 5 mg/kg i.v. jednou týdně, sloučeninou obecného vzorce I, např. sloučeninou A, v dávce 2,5 mg/kg p.o. jednou denně, nebo kombinací obou. Poté se v kombinované skupině pokračuje v ošetřování sloučeninou obecného vzorce I samotnou za účelem zjištění, zda může sloučenina obecného vzorce I suprimovat vyrůstání nádorů, které odpovídají na konvenční činidla. Protinádorová aktivita se vyjádří jako T/C % nebo % regresí, jak je naznačeno výše. Například kombinace sloučeniny A a doxorubicinu vede k vyššímu protinádorovému účinku (74 % regresí) v porovnání s každým z činidel samotným (sloučenina A, T/C 32 %; doxorubicin 44 % regresí). Pokud se přidá ošetřování sloučeninou A nedochází k žádnému zhoršení úbytků tělesné hmotnosti způsobeným doxorubicinem. Pokračování v ošetřování sloučeninou A u kombinované skupiny po ukončení podávání doxorubicinu inhibuje vyrůstání nádoru, takže objemy nádorů u skupiny s monoterapií doxorubicinem jsou významně

vyšší než u kombinované skupiny. Navíc se zdá, že výsledkem kombinace je vyšší míra vyléčení (8/8 nádorů) po 14 dnech po ukončení ošetřování než u samotného doxorubicinu (3/8 nádorů).

B.5 Kombinace s cisplatinou

5

Myši s transplantovanými lidskými NC1 H-596 nádory plic se po dobu 21 dne ošetřují cisplatinou v dávce 2,5 mg/kg i.v. jednou týdně, sloučeninou obecného vzorce I, např. sloučeninou A, v dávce 2,5 mg/kg p.o. jednou denně, nebo kombinací obou. Protinádorová aktivita se vyjadřuje jako T/C % nebo % regresí, jak je uvedeno výše. Kombinace sloučeniny A a cisplatiny vede k vyššímu protinádorovému účinku (5 % regresí) v porovnání s každým z činidel samotným (sloučenina A, T/C 26 %; cisplatin, T/C 26 %). Výsledkem kombinace není zhoršení snášenlivosti.

10

B.6 Antiangiogenní aktivita

15

B16/BL6 buňky (5×10^4) se injekčně intradermálně podávají do ucha C57BL/6 myši. O sedm dní později se započne s ošetřováním rapamycinem nebo jeho derivátem, např. sloučeninou A, nebo vehikule. Po dvou týdnech denního ošetřování se shromáždí primární nádory a cervikální lymfatické uzliny pro měření hustoty cév. Endotel perfundovaných cév se v nádorech vizualizuje pomocí barviva zbarvujícího jádro (Hoechst 33342, 20 mg/kg), které se injikuje i.v. krátce před usmrcením myši. Nádory a metastázy se momentově zmrazí a řezy se zkoumají pod světelným mikroskopem vybaveným epifluorescentním zdrojem. Fluorescence H33342-značených endotelových buněk se použije ke stanovení počtu a velikosti cév v celém nádorovém řezu. Cévy se rozdělí do skupin s rozmezím velikosti 10 μ m. Distribuce cév se hodnotí pomocí histogramové frekvenční analýzy. V dávce 5 mg/kg p.o. snižuje rapamycin nebo jeho derivát hustotu cév jak u primárního nádoru (např. T/C 50 % pro sloučeninu A), tak u metastáz (např. T/C 40 % pro sloučeninu A), v porovnání s kontrolami. Rapamycin nebo jeho derivát, např. sloučenina A, také v metastázách mění distribuci velikostí cév.

20

25

B.7 Kombinace s antiangiogenním činidlem

30

B16/BL6 buňky (5×10^4) se intradermálně injikují do ucha C57BL/6 myši. O sedm dní později se započne s ošetřováním rapamycinem nebo jeho derivátem, např. sloučeninou A, inhibitorem VEGF receptorové tyrosinkinázy, např. 1-(4-chloranilino)-4-(4-pyridylmethyl)ftalazinem nebo jeho solí, např. sukcinátem, nebo kombinací obou a monitorují se účinky na růst a hmotnost primárního nádoru, respektive metastáz v cervikálních lymfatických uzlinách. Denní podávání antiangiogenního činidla (100 mg/kg p.o.) nebo rapamycinu či jeho derivátu, např. sloučeniny A, (1 mg/kg p.o.) samotných snižuje velikost primárního nádoru (konečná hodnota T/C: 65 %, respektive 74 %), zatímco kombinace těchto dvou činidel je synergická (T/C 12 %). Ošetřování rapamycinem nebo jeho derivátem, např. sloučeninou A a antiangiogenním činidlem samotným snižuje hmotnosti cervikálních lymfatických uzlin (ve vztahu k regionálním metastázám) (T/C: 75 %, respektive 34 %), a kombinace dále snižuje hmotnosti lymfatických uzlin (T/C 13 %). Ošetřování významně zvyšuje přírůstky tělesné hmotnosti v porovnání s kontrolami. U primárních nádorů ukazuje analýza možných interakcí synergii pro sloučeninu A a antiangiogenního činidla - antiangiogenní činidlo/kontroly = 0,66; sloučenina A/kontroly = 0,77; sloučenina A a antiangiogenní činidlo/kontroly = 0,135. Protože sloučenina A a antiangiogenní činidlo/kontroly < sloučenina A/kontroly x antiangiogenní činidlo/kontroly (0,51), je toto definováno jako synergie. U metastáz ukazuje analýza také synergii pro sloučeninu A a antiangiogenní činidlo - antiangiogenní činidlo/kontroly = 0,337; sloučenina A/kontroly = 0,75; sloučenina A a antiangiogenní činidlo/kontroly = 0,122. Protože sloučenina A a antiangiogenní činidlo/kontroly < sloučenina A/kontroly x antiangiogenní činidlo/kontroly (0,252), je toto také definováno jako synergie (Clark, Breast Cancer Research Treatment 1997;46:255).

35

40

45

50

C. Klinická studie

55

C.1 Výzkum klinického přínosu sloučeniny obecného vzorce I, např. sloučeniny A jako monoterapie u solidních nádorů

5 Cíl studie: Identifikovat optimální dávku uvedené sloučeniny podávané jednou týdně v rámci studie se zvyšující se dávkou a účinnost optimální dávky u solidních nádorů.

Studie se dělí na 2 částí:

Část 1:

10

Primární cíl: Identifikovat optimální dávku sloučeniny I, např. sloučeniny A, podávané p.o. jednou týdně, za předpokladu, že touto by měla být minimální dávka spojená s prolongovanou inhibicí mTOR a krevními hladinami uvedené sloučeniny alespoň ekvivalentními hladinám dosahujícím protinádorového účinku v *in vivo* preklinických studiích.

15

Sekundární cíl: Zhodnotit bezpečnost uvedené sloučeniny, pokud se podává samotná pacientům s rakovinou, a zhodnotit změny nádorové metabolické aktivity.

20 Plán: Po sobě jdoucí skupiny 4 pacientů s pokročilými maligními solidními nádory, refraktorními nebo rezistentními vůči standardním terapiím užívají sloučeninu obecného vzorce I, např. sloučeninu A, každých 7 dní různé dávky (skupina 1 užívá 5 mg; skupina 2 užívá 10 mg, skupina 3 užívá 20 mg) po dobu 4 týdnů. V týdnu 4 se stanovuje farmakokinetický profil a profil inhibice mTOR, jak ukazuje inhibice p70s6 kinázy v periferních lymfocytech. Provede se komparativní 18-fluor-deoxyglukózový (FDG) pozitron-emisní tomografické (FDG-PET) zobrazení (před 25 první dávkou, po třetí dávce) za účelem vyšetření změny nádorového metabolismu.

Hlavní výběrová kritéria pacientů: Dospělí s pokročilým stadiem (III až V) solidních nádorů, resistentním nebo refraktorním vůči standardním terapiím. Alespoň jedna nádorová léze by měla být měřitelná (> 20 mm v jednom rozměru).

30

Hlavní proměnné pro hodnocení: Bezpečnost (nepříznivé jevy), standardní biochemické vyšetření séra a hematologické vyšetření, krevní hladiny testované sloučeniny, lymfocytární p70-s6-kinázová aktivita, změny v nádorovém příjmu glukózy pomocí FDG-PET.

35 Část 2:

Primární cíl: Vyšetřit účinnost sloučeniny obecného vzorce I, např. sloučeniny A, u pacientů s pokročilými solidními nádory, pokud se podává jednou týdně v optimální dávce, jak se identifikuje v části 1, jak ukazuje nádorová odpověď.

40

Sekundární cíl: Zhodnotit bezpečnost uvedené sloučeniny při této dávce.

45 Plán: 20 pacientů s progredujícím solidním nádorem v pokročilém stadiu, rezistentním nebo refraktorním vůči standardním terapiím, užívá uvedenou sloučeninu v dávce doporučené jako výsledek části 1. Celkový klinický stav pacientů se vyšetřuje týdně pomocí fyzikálního a laboratorního vyšetření. Změny nádorové zátěže se hodnotí každé 2 měsíce pomocí radiologického vyšetření. Zpočátku pacienti užívají terapii po dobu 2 měsíců. Poté se ponechávají na terapii, dokud jejich onemocnění neprogreduje a léčivo je uspokojivě snášeno. Hlavní 50 proměnné pro hodnocení: Bezpečnost (nepříznivé jevy), standardní biochemické vyšetření séra a hematologické vyšetření, rozměry nádoru pomocí snímkování za použití počítačové tomografie (CT) nebo zobrazování magnetickou resonancí (MRI).

C.2 Kombinovaná terapie

55 Vhodnými klinickými studiemi jsou například otevřené, značené, nerandomizované, studie se

zvyšující se dávkou u pacientů s pokročilými solidními nádory. Tyto studie slouží zejména k vyšetření synergismu účinných látek kombinace podle vynálezu. Příznivé účinky na proliferativní onemocnění lze stanovovat přímo pomocí výsledků těchto studií nebo pomocí změn plánu studie, které jsou jako takové odborníkovi v oboru známy. Takové studie jsou obzvláště vhodné k porovnání účinků monoterapie za použití účinných látek a kombinace podle vynálezu. Výhodně se dávka činidla (a) zvyšuje až do dosažení maximální tolerované dávky a spolučinidlo (b) se podává ve fixní dávce. Alternativně se činidlo (a) podává ve fixní dávce a dávka spolučinidla (b) se zvyšuje. Každý pacient užívá dávky činidla (a) buď denně nebo přerušovaně. Účinnost léčení lze stanovovat v rámci těchto studií např. po 12, 18 nebo 24 týdnech pomocí radiologického hodnocení nádorů každých 6 týdnů.

Alternativně lze za účelem ověření zde uvedených příznivých účinků kombinace podle vynálezu použít placebem kontrolovanou, dvojité slepou studii.

Denní dávky požadované při provádění způsobu, jehož se předkládaný vynález týká, se budou v případě, že se sloučenina obecného vzorce I použije samotná, lišit například v závislosti na použité sloučenině, hostiteli, způsobu podávání a závažnosti léčeného stavu. Výhodné rozmezí denních dávek činí přibližně od 0,1 do 25 mg v podobě jediné dávky nebo v rozdělených dávkách. Vhodné denní dávky pro pacienty činí např. od 0,1 do 25 mg p.o. Sloučeninu A lze podávat jakoukoliv běžnou cestou, zejména enterálně, např. orálně, např. ve formě tablet, kapslí, nápojových roztoků, nazálně, pulmonárně (pomocí inhalace) nebo parenterálně, např. ve formě injikovatelných roztoků nebo suspenzí. Vhodné jednotkové dávkové formy pro orální podávání obsahují cca od 0,05 do 12,5 mg, obvykle 0,25 až 10 mg sloučeniny A, společně s jedním nebo více z jejich farmaceuticky přijatelných ředidel nebo nosičů.

Vhodné farmaceutické kompozice obsahují například přibližně od 0,1 % do přibližně 99,9 %, výhodně přibližně od 1 % do přibližně 60 %, účinné látky. Farmaceutickými přípravky pro kombinovanou terapii k enterálnímu nebo parenterálnímu podávání jsou například přípravky v jednotkových dávkových formách, jako jsou cukrem potažené tablety, tablety, kapsle nebo čípky, nebo ampule. Pokud není uvedeno jinak, jsou tyto připraveny způsobem o sobě známým, například pomocí běžného míšení, granulace, potahování cukrem, rozpouštění nebo lyofilizace. Bude ceněno, že jednotkový obsah kombinačního partnera obsažený v jednotlivé dávce každé dávkové formy nemusí jako takový tvořit účinné množství, neboť požadovaného účinného množství lze dosáhnout podáváním většího počtu dávkových jednotek.

Sloučenina A je dobře tolerována a její NTEL v rámci čtyřtýdenní studie na toxicitu činí 0,5 mg/kg/den u krysy a 1,5 mg/kg/den u opice.

PATENTOVÉ NÁROKY

5 1. 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycin pro použití jako jediná účinná látka při léčení solidního nádoru, přičemž solidním nádorem je nádor slinivky břišní a 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycin je podán v jednotkové dávkové formě pro orální podání obsahující 0,25 až 10 mg 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycinu společně s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými ředidly nebo nosiči.

2. 40-O-(2-hydroxyethyl)rapamycin pro použití při léčení podle nároku 1, přičemž solidní nádor je pokročilým solidním nádorem.

10