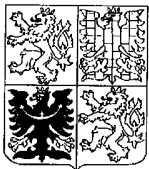


# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **22.04.1998**  
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **27.05.1997**  
(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/863513**  
(33) Země priority: **US**  
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17.10.2001**  
(Věstník č. 10/2001)  
(86) PCT číslo: **PCT/US98/07776**  
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO98/53811**

(21) Číslo dokumentu:

**1999 - 4244**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>:

**A 61 K 31/337**  
**A 61 P 35/00**  
**A 61 P 13/12**  
**A 61 P 33/06**

(71) Přihlašovatel:  
BAKER NORTON PHARMACEUTICALS, INC.,  
Miami, FL, US;

(72) Původce:  
Broder Samuel, Weston, FL, US;  
Duchin Kenneth L., Lauderdale, FL, US;  
Salim Sami, Irvine, CA, US;

(74) Zástupce:  
Všetečka Miloš JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Použití taxanů, jejich derivátů, analogů nebo  
předléků pro přípravu farmaceutického  
prostředku pro perorální podávání**

(57) Anotace:

Použití taxanových látek s účinky proti nádorům, které dosud byly charakteristické velmi nízkou nebo nulovou biologickou dostupností, k perorálnímu podávání pacientům trpícím nemocemi reagujícími na taxany, přičemž biologická dostupnost je dostatečná k dosažení terapeutické hladiny v krvi. Ve výhodném provedení se taxan, výhodně paclitaxel, podává pacientovi společně s perorálně podávaným cyklosporinovým zesilujícím činidlem, výhodně cyklosporinem A. Ve výhodném provedení se perorální dávka zesilujícího činidla podává 0,5 až 72 hodin před taxanem a druhá dávka zesilujícího činidla se podává bezprostředně před, současně nebo bezprostředně po taxanu. Vynález je dále zaměřen na použití při léčení lidí trpících nemocemi reagujícími na taxan a také se týká prevence nebo snížení hypersenzitivity a alergických reakcí bez potřeby premedikace při takovém léčení.

Použití taxanů, jejich derivátů, analogů nebo předléků pro přípravu farmaceutického prostředku pro perorální podávání

### Oblast techniky

Vynález se týká použití taxanu, paclitaxelu, docetaxelu, derivátu, analogu nebo předléku paclitaxelu nebo docetaxelu pro přípravu farmaceutických prostředků, která se špatně absorbují v gastrointestinálním traktu, pacientům v humánní medicíně, určeným pro léčení pacientů perorálním podáváním těchto prostředků. Zejména se vynálezu týká prostředků pro perorální podávání paclitaxelu a příbuzných taxanů pacientům.

### Dosavadní stav techniky

Mnohé cenné farmakologicky účinné sloučeniny není možné podávat pacientům perorální cestou, protože u nich dochází jen k nedostatečné nebo neúplné systémové absorpci z gastrointestinálního traktu. Všechna taková činidla jsou proto všeobecně podávána intravenózně, což vyžaduje účast lékaře nebo jiného zdravotnického pracovníka, kromě toho, že to značně nepříjemné a potenciálně může vzniknout i lokální poranění, nebo dokonce je potřebná i hospitalizace s chirurgickým přístupem v případě některých intravenózních (iv) inrúzí.

Jednou z důležitých skupin cytotoxických činidel, která nejsou normálně biologicky dostupná, pokud se podávají člověku perorálně, jsou taxany, k nimž patří paclitaxel, jeho deriváty a analogy. Paclitaxel (v současnosti dostupný na trhu pod chráněnou značkou TAXOL firmy Bristol-Myers Squibb Oncology Division) je přírodní diterpenový produkt

izolovaný z pacifického tisu (*Taxus brevifolia*). Jedná se o terpen patřící do skupiny taxanů. Poprvé ho izolovali v roce 1971 Wani a kol. (viz *J. Amer. Chem. Soc.* 93: 2325, 1971), kteří také charakterizovali jeho strukturu pomocí chemických metod a rentgenovou krystalografií. Jeden z mechanismů jeho aktivity spočívá v tom, že paclitaxel má schopnost vázat se na tubulin, a tím inhibovat růst rakovinných buněk (*Schiff a kol., Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 1561-1565, 1980, *Schiff a kol., Nature* 277: 665-667, 1979, *Kumar, J. Biol. Chem.* 256: 10435-10441, 1981).

Paclitaxel byl schválen pro klinické použití v USA k léčení rakoviny vaječníků rezistentní vůči standardní léčbě (*Markmann a kol., Yale Journal of Biology and Medicine*, 64: 583, 1991, *McGuire a kol., Ann. Intern. Med.* 111: 273, 1989). Tato látka je účinná při chemoterapii některých typů neoplázií včetně neoplázií prsu (*Holmes a kol., J. Nat. Cancer Inst.* 83: 1797, 1991) a byl také schválen k léčení rakoviny prsu. Je potenciálním kandidátem pro léčení neoplázií kůže (*Enzig a kol., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 20: 46), rakoviny plic a karcinomů hlavy a krku (*Forastire a kol., Sem. Oncol.* 20: 56, 1990). Tato sloučenina jeví potenciál k léčení polycystické nemoci ledvin (*Woo a kol., Nature* 368: 750, 1994) a malárie.

Paclitaxel je slabě rozpustný ve vodě, což představuje značný problém ve vývoji vhodných přípravků pro injekce a infúze užitečné v protinádorové terapii. Některé přípravky paclitaxelu pro intravenózní infúze byly formulovány pomocí CREMOPHOR EL (polyethoxylovaný ricinový olej) jakožto nosiče vzhledem k nerozpustnosti paclitaxelu ve vodě. Tak například paclitaxel používaný v klinických testech pod záštitou NCI byl formulován v 50% CREMOPHOR EL a 50% dehydratovaném alkoholu. Avšak CREMOPHOR EL, pokud se podává intravenózně,

je sám toxický a u psů způsobuje vazodilataci, ztížené dýchání, letargii, hypotenzi a smrt. Má se za to, že je alespoň z části zodpovědný za reakci alergického typu pozorovanou při podávání paclitaxelu, ačkoliv existují i jisté důkazy, že paclitaxel sám může vyvolat akutní reakci i bez účasti Cremophoru.

Ve snaze o zvýšení rozpustnosti paclitaxelu a o vývoj klinicky bezpečnějších přípravků se prováděly studie s cílem syntetizovat analogy paclitaxelu, kde poloha 2' a/nebo 7 je derivatizovaná skupinami, které zvyšují rozpustnost ve vodě. Tyto pokusy vedly k vytvoření sloučenin vhodných jako předléky (prekurzory léčiv), které byly rozpustnější než původní sloučeniny, a které po aktivaci vykazovaly cytotoxické vlastnosti. K jedné důležité skupině takových předléků patří 2'-oniové soli paclitaxelu a docetaxelu, zvláště pak 2'-methylpyridinium-methansulfonátové (2'-MPM) soli.

Paclitaxel je velmi slabě absorbován, pokud je podáván perorálně (méně než 1%) - viz *Eiseman a kol., Second NCI Workshop on Taxol and Taxus, Sept. 1992, Suffness a kol., in Taxil Science and Applications, CRC Press, 1995*. Eisemann a kol. ukázali, že biologická dostupnost paclitaxelu při perorálním podávání je 0 % a Suffness a kol. ukázali, že perorální dávkování paclitaxelu není možné, neboť nebyla prokázána protinádorová aktivita při perorálním podávání až do dávky 160 mg/kg/den. Avšak nebyla nalezena žádná účinná metoda, které by umožnila perorální podávání paclitaxelu (to znamená způsob, jak zvýšit jeho biologickou dostupnost při perorálním podávání) nebo jiných taxanů nebo analogů paclitaxelu jako je například docetaxel, který projevuje protinádorovou aktivitu. Z tohoto důvodu nebyl paclitaxel dosud podáván perorálně pacientům v humánní medicíně,

a jistě ne v průběhu léčení nemocí odpovídajících na paclitaxel.

Docetaxel (to znamená N-debenzoyl-N-terc-butoxykarbonyl-10-deacetyl paclitaxel) je komerčně dostupný pod chráněnou značkou TAXOTERE (od firmy Rhone-Poulenc-Rorer, S.A.) v parenterální formě k léčení rakoviny prsu. Dodnes neexistuje v odborné literatuře žádný údaj o perorální absorpci docetaxelu u zvířat nebo u lidí.

Uvažovalo se o tom, že v některých případech malá nebo nulová biologická dostupnost léku jako je paclitaxel po perorálním podání je důsledkem aktivity mnohalékového přenašeče ("multidrug transporter"), což je na membránu vázaný P-glykoprotein, který pracuje jako na energii závislý přenašeč nebo tak zvaná výtoková pumpa, která snižuje intracelulární akumulaci léku tím, že vylučuje xenobiotika z buňky ven. Tento P-glykoprotein byl nalezen v normální tkáni sekrečního endotelia, jako je biliární výstelka, řasinkový lem proximálních tubulů v ledvinách a vnitřní povrch střeva, a také v endotelových buňkách cévní výstelky hematoencefalické bariéry, placenty a varlat.

Má se za to, že výtoková pumpa tvořená P-glykoproteinem brání některým farmaceutickým sloučeninám v průchodu buňkami sliznice tenkého střeva a tudíž zabraňuje tomu, aby tyto látky byly absorbovány do systémového oběhu. Bylo prokázáno, že řada farmakologických činidel, která nejsou cytotoxická, inhibuje P-glykoprotein, mezi jinými také cyklosporin A (označovaný také jen cyklosporin), verapamil, tamoxifen, chinidin a fenothiaziny. Mnoho těchto studií bylo prováděno s cílem dosáhnout větší akumulace intravenózně podávaných cytotoxických léčiv uvnitř nádorových buněk. Byly provedeny klinické studie ke zjištění účinku cyklosporinu na

farmakokinetiku a toxicitu paclitaxelu (*Fischer a kol., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 13: 143, 1994*), doxorubicinu (*Barlett a kol., J. Clin. Onc. 12: 835-842, 1994*) a etoposidu (*Lum a kol., J. Clin. Onc. 10: 1635-42, 1995*), přičemž ve všech případech jde o léky, u kterých se projevuje mnohaléková rezistence ("multidrug resistance", MDR). Tyto experimenty ukázaly, že pacienti, kteří dostali intravenózně cyklosporin, buďto před a nebo společně s protirakovinným lékem, měly vyšší krevní hladinu tohoto léku, pravděpodobně díky nižší clearance v těle, a požadovaná toxicita se projevovala při podstatně nižších dávkách. Tato zjištění ukazují, že společné podávání cyklosporinu potlačilo MDR účinek P-glykoproteinu, což umožnilo vyšší akumulaci terapeutického činidla. Pro obecnou diskusi o farmakologických důsledcích klinického použití inhibitorů P-glykoproteinu viz *Lum a kol., Drug Resist. Clin. Onc. Hematol. 9, 319-336, 1995*, *Shinkel a kol., Eur. J. Cancer 31A: 1295-1298, 1995*.

Ve výše zmíněných studiích, týkajících se použití cyklosporinu ke zvýšení krevní hladiny farmaceutických činidel, se podávala aktivní protinádorová činidla a cyklosporin intravenózně. V žádné z těchto publikací se neobjevil nápad, že cyklosporin by se mohl podávat perorálně, aby se podstatně zvýšila biologická dostupnost perorálně podávaných protirakovinných léků a dalších farmaceutických činidel, která jsou sama o sobě jen špatně absorbována ve střevu, aniž by měly vysoce toxické vedlejší účinky. A skutečně, v roce 1995 v publikaci citované výše, Lum a kol. ukázali, že společné intravenózní podávání inhibitorů MDR a chemoterapeutik, která jsou cílem MDR, vedlo ke zvýšení hladiny toxicity a zhoršení vedlejších účinků u pacientů. Shinkel a kol. stručně zmínili fakt, že MDR1 a P-glykoprotein se hojně vyskytují v buňkách sliznice

střeva a že tak tudíž může být ovlivněna biologická dostupnost perorálně podávaných léčiv, která jsou substrátem P-glykoproteinu, ale neodvodili ani nepředpokládali možnost, že perorální podávání látek potlačujících MDR by mohlo zlepšit biologickou dostupnost činidel, které jsou po perorálním podávání biologicky nedostupná. Navíc jak Lum a kol. tak i Shinkel a kol. varovali, že inhibitory P-glykoproteinu dramaticky zvyšují cytotoxicitu u pacientů léčených chemoterapií a musí se proto užívat opatrně.

V dřívější publikaci Schinkel a kol. ukázali, že absorpce perorálně podaného ivermektinu byla vyšší u myší homozygotních v poškození genu MDR1 ve srovnání s normálními myšmi, což ukazovalo, že P-glykoprotein hraje hlavní roli ve snížení biologické dostupnosti tohoto činidla (*Cell* 77: 491-502, 1994). Kromě toho tato studie také ukázala, že penetrace vinblastinu do různých tkání byla zvýšena u mutovaných myší.

Žádná z publikovaných studií neposkytla režim pro implementaci účinného perorálního podávání člověku léků se špatnou biologickou dostupností jako je například paclitaxel, například uvedením toho, jaké jsou vhodné rozsahy dávek a termíny podávání pro specifické cílové léky a činidla zlepšující biologickou dostupnost ke zlepšení absorpce po perorálním podání cílového léku nebo třídy léků.

Způsoby zvyšující gastrointestinální absorpci léků do té doby podávaných parenterálně, které tvoří dosavadní stav techniky, se zaměřovaly na použití látek zesilujících propustnost a rozpustnost jakožto podporujících činidel, a nebo na společné podávání inhibitorů P-glykoproteinu intraluminální perfúzí v tenkém střevu nebo intravenózně, viz například *Leu a kol., Cancer Chemoter. Pharmacol.* 35:

432-436, 1995 (perfúze nebo intravenózní infúze chinidinu potlačuje přenos etoposidu z krevního oběhu do lumenu gastrointestinálního traktu). Avšak tyto způsoby mají celou řadu nevýhod. Činidla zesilující permeabilitu nebo rozpustnost jsou často buďto nepraktická nebo neúčinná při perorálním podávání v požadovaných dávkách, a také mohou vzájemně reagovat nežádoucím způsobem s farmakologickou aktivitou cílového léku. Parenterální podávání inhibitorů P-glykoproteinu člověku v terapeutických dávkách (nebo dávkách blízkých terapeutickým dávkám) způsobuje vážné klinické následky. Tak například v případě chinidinu intravenózní podávání způsobuje arytmie, periferní vazodilataci, gastrointestinální podráždění apod. Ale nejdůležitější je, že žádný z dokumentů stavu techniky neukazuje, jak podávat člověku protinádorová činidla perorálně.

V publikované mezinárodní PCT patentové přihlášce WO 95/20980 (10. srpna 1995), autoři Benet a kol., se popisuje způsob, jak zvýšit biologickou dostupnost perorálně podávaných hydrofobních farmaceutických přípravků. Tento způsob spočívá v tom, že se tyto látky podávají pacientovi perorálně společně s tzv. biozesilovačem (bioenhancerem), který obsahuje inhibitor enzymu 3A cytochromu P450 nebo inhibitor membránového transportu zprostředkovaného P-glykoproteinem. Avšak Benet a kol. ve skutečnosti neuvádějí žádné prostředky, jak identifikovat, která činidla zesilující biologickou dostupnost zlepší dostupnost specifického cílového farmaceutického prostředku, ani nepodávají návod pro specifické dávky či režim podávání zesilujících a cílových činidel. Ve skutečnosti, ačkoliv Benet a kol. uvádějí seznam řady potenciálních enhancerů (inhibitory P450 3A) a cílových léků (substráty P450 3A), jedinou kombinací enhanceru a cílového činidla, která je



podepřena experimentálním i důkazy v této přihlášce, je ketoconazol jako enhancer a cyklosporin A jako cílový lék.

Při popisu obecných charakteristik sloučenin, které se mohou užít jako biozesilovače tím, že redukují transportní aktivitu P-glykoproteinu, Benet a kol. popsali tyto sloučeniny jako hydrofobní sloučeniny, které obecně, i když ne nezbytně, obsahují dva koplanární aromatické kruhy, dusíkovou skupinu s kladným nábojem nebo karbonylovou skupinu, což je třída obsahující mimořádné množství sloučenin, z nichž většina by neměla žádoucí aktivitu zvyšující (zlepšující) absorpci v případě specifického cílového činidla. Kromě toho, třídy cílových činidel popsaných v práci Beneta a kol., obsahují valnou většinu farmaceutických činidel obsažených v publikaci "*Physicians Desk Reference*", takže tato kritéria nemají žádný praktický význam pro lékaře, který hledá bezpečný, praktický a účinný způsob pro perorální podání určitého farmaceutického prostředku.

Dalším nedostatkem toho, co popisují Benet a kol., je standard použitý k určení toho, zda se zlepšila biologická dostupnost léku, který je špatně absorbován po perorálním podávání. Benet a kol. ukazují, že jakékoliv činidlo inhibující P-glykoprotein, které, je-li přítomno v gastrointestinálním traktu v dané koncentraci, snižuje transmembránový transport Rhodaminu 123 zprostředkovaný P-glykoproteinem v membránových vesikulech řasinkového lemu nebo buňkách obsahujících P-glykoprotein o 10 % nebo více, je možné považovat za činidlo zesilující (zlepšující) biologickou dostupnost (biozesilovač, bioenhancer) v této koncentraci a lze ho užít k provádění jejich vynálezu. Ale zvýšení absorpce ze střeva o pouhých 10 % jinak neabsorbovatelného činidla je zcela nedostatečné k dosažení

terapeuticky významné hladiny činidla pro jakýkoliv účel. A skutečně podle pokynů FDA (federální úřad pro potraviny a léčiva) dva farmaceutické přípravky obsahující stejnou účinnou látku, ale lišící se v hladině biologické dostupnosti o -20%/+25% jsou považovány za bioekvivalentní, neboť u většiny léků rozdíl v koncentraci účinné látky v rozmezí -20%/+25% není klinicky významný (viz *Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluation, Dept. of HSS, 14th ed., 1994*). Pokud FDA rozhodne, že farmaceutické přípravky jsou bioekvivalentní, pak je lékaři a lékárníci považují za vzájemně zcela volně zaměnitelné.

Lze tedy shrnout, že Benet a kol. neposkytli žádný návod, který by odborník v oboru lékařství nebo farmacie mohl následovat a který by mu umožnil identifikovat vhodnou kombinaci bioenhancer/cílový lék nebo umožnil navrhnout specifický režim a léčebné schéma, které by vedlo k dosažení terapeutického účinku po perorálním podání u člověka. Benet a kol. neposkytly také žádné vysvětlení, pokud se týče toho, jak by se mohly podávat paclitaxel a další taxany perorálně lidem při dosažení terapeutické účinnosti a přijatelné toxicity.

V tomto oboru tedy existuje stálá potřeba bezpečného a přitom účinného způsobu, jak zvýšit systémovou dostupnost po perorálním podání člověku, léku, který se dosud podává pouze parenterálně, neboť není dostatečně nebo konsistentně absorbován po perorálním podání, neboť způsob v dosavadním stavu techniky neexistuje.

#### Podstata vynálezu

Jedním z aspektů předmětného vynálezu je použití taxanu k přípravě farmaceutického prostředku k perorálnímu

podávání v účinném množství k léčení člověku jako pacienta trpícího nemocí reagující na taxan.

Dalším z aspektů předmětného vynálezu je použití paclitaxelu k přípravě farmaceutického prostředku k perorálnímu podávání v účinném množství k léčení člověka jako pacienta trpícího nemocí reagující na paclitaxel.

Dalším z aspektů předmětného vynálezu je použití docetaxelu k přípravě farmaceutického prostředku k perorálnímu podávání v účinném množství k léčení člověka jako pacienta trpícího nemocí reagující na docetaxel.

Dalším z aspektů předmětného vynálezu je použití derivátu, analogu nebo předléku paclitaxelu nebo docetaxelu k přípravě farmaceutického prostředku k perorálnímu podávání v účinném množství pro léčení nemoci reagující na tento derivát, analog nebo předlék.

V případě použití předléku paclitaxelu nebo docetaxelu je výhodně uvedeným předlékem je paclitaxel-2'-MPM nebo docetaxel-2'-MPM.

Uvedeným účinným množstvím paclitaxelu je množství odpovídající asi 2 až asi 30 mg/kg tělesné hmotnosti pacienta, ještě výhodněji je uvedeným účinným množstvím 2 až 6 mg/kg.

V případě použití paclitaxelu je uvedené účinné množství paclitaxelu výhodně v rozmezí od asi 20 do asi 1000 mg/m<sup>2</sup> povrchu těla pacienta, ještě výhodně je uvedené účinné množství v rozmezí od asi 50 do asi 200 mg/m<sup>2</sup>.

V případě použití taxanu je perorálně podávaný taxan upraven na biologicky dostupný pro člověka jako pacienta v hladině dostatečné k léčení stavu nemoci jako reakce na taxan současným podáváním tomuto pacientovi účinného množství taxanu dostatečného k léčení nemoci společně s účinným množstvím činidla zesilujícího perorální dostupnost, přičemž toto činidlo je vybráno ze skupiny zahrnující cyklosporiny A až Z, (Me-Ile-4)-cyklosporin, dihydrocyklosporin A, dihydrocyklosporin C a acetylcyklosporin A.

Činidlo zesilující biologickou dostupnost je výhodně vybráno ze skupiny zahrnující cyklosporin A, cyklosporin C, cyklosporin D, cyklosporin F, dihydrocyklosporin A, dihydrocyklosporin C a acetylcyklosporin A.

Při tomto použití se pacientovi podá zesilující činidlo výhodně v množství asi 0,1 až asi 20 mg/kg tělesné hmotnosti pacienta, ještě výhodněji v množství asi 5 mg/kg.

Výhodně se při tomto použití rovněž pacientovi podává asi 2 až asi 30 mg/kg nebo asi 20 až asi 1000 mg/m<sup>2</sup> paclitaxelu společně s asi 0,1 až asi 20 mg/kg cyklosporinu A.

Výhodně se uvedené zesilující činidlo se podává buďto

- (a) asi 0,5 až asi 72 hodin před,
- (b) méně než 0,5 hodiny před, společně s nebo méně než 0,5 hodiny po, nebo
- c) oběma způsoby, jak asi 0,5 až asi 72 hodin před tak i méně než 0,5 hodiny před, společně s nebo méně než 0,5 po podání taxanu.

Při tomto použití je výhodně uvedeným taxanem paclitaxel a zesilujícím činidlem je cyklosporin A.

Taxan a zesilující činidlo jsou výhodně podávány každý v samostatné perorální lékové formě nebo jsou taxan a zesilující činidlo podány společně ve sdružené perorální lékové formě.

Uvedený stav nemoci je vybrán ze skupiny zahrnující rakoviny, nádory, maligní onemocnění, sekundární nekontrolovanou proliferaci tkání nebo buněk po poranění tkáně, polycystické onemocnění ledvin a malárii, přičemž rakovinou může být hepatocelulární karcinom, jaterní metastázy, rakoviny gastrointestinálního traktu, pankreatu, prostaty a plic a Kaposiho sarkom.

Dalším aspektem předmětného vynálezu je použití taxanu pro přípravu farmaceutického prostředku pro perorální podávání k prevenci nebo snížení hypersenzitivity a alergických reakcí u lidí jako pacientů léčených taxany na nemoce reagující na taxany.

Uvedený taxan se podává pacientovi bez předchozího podání léků k prevenci hypersenzitivity nebo alergických reakcí na taxany.

Podle dalšího provedení se při tomto použití taxan podává společně s účinným množstvím činidla zesilujícího biologickou dostupnost, přičemž toto činidlo je vybráno ze skupiny zahrnující cyklosporiny A až Z, (Me-Ile-4)-cyklosporin, dihydrocyklosporin A, dihydrocyklosporin C a acetylcyklosporin A, výhodně se jedná o cyklosporin A, cyklosporin C, cyklosporin D, cyklosporin

F, dihydrocyklosporin A, dihydrocyklosporin C a acetylcyklosporin A, nejvýhodněji je tímto činidlem zesilující biologickou dostupnost cyklosporin A.

Podle předmětného vynálezu bylo překvapivě zjištěno, a také experimentálně prokázáno, že antineoplastická činidla třídy taxanů, zvláště paclitaxel, mohou být člověku podávány perorálně s dosažením značné a terapeutické hladiny v krvi a bez nežádoucí toxicity či jiných škodlivých vedlejších účinků, a to dokonce bez jakékoliv premedikace k prevenci nežádoucích vedlejších reakcí.

Podle předmětného vynálezu je tedy možno perorálně podávat některý taxan nebo kombinace taxanů člověku, trpícímu nemocí, která reaguje na tuto látku. Výhodným provedením předkládaného vynálezu je zvyšování (zlepšování) perorální dostupnosti taxanů, které jsou špatně absorbovány nebo nejsou absorbovány vůbec z gastrointestinálního traktu nebo střeva u člověka, předběžným a/nebo společným podáváním člověku perorálně jednoho činidla nebo kombinace činidel ("enhancerů" neboli zesilujících činidel), která účinně inhibují buněčnou vícelékovou rezistenci (MDR). Pokud se užije předběžné podávání, jedno nebo několik činidel zesilujících biologickou dostupnost se musí podat v dostatečném množství a v dostatečně krátké době před podáním taxanu, jehož biologická dostupnost se má zvýšit (cílový lék nebo též cílové činidlo), tak, aby zůstala v místě absorpce dostatečná hladina zesilujícího činidla v okamžiku podání cílového činidla, což účinně potlačí aktivitu vícelékového transportního mechanismu, metabolických enzymů a/nebo dalších faktorů, které zabraňují nebo inhibují absorpci cílového činidla ve střevu.

Podle vynálezu je možno léčit pacienty trpící nemocí reagující na taxan, a sice perorálním podáváním taxanů, které byly předtím dostupné pouze parenterálním podáváním. Rovněž je možno dosáhnout prevence nebo snížení hypersenzitivity a alergické reakce u pacientů, u kterých probíhá terapie taxanem.

#### Popis připojených obrázků

Obr. 1 je graf znázorňující hladiny paclitaxelu v oběhu při odběru vzorků:

(a) spodní křivka - po dobu 6 až 8 hodin u jedné skupiny potkanů, kterým se podával perorálně pouze paclitaxel,

(b) horní křivka - po dobu 24 hodin u druhé skupiny, které byl podán perorálně hodinu před společným perorálním podáním cyklosporinu A a paclitaxelu.

Obr. 2 je graf znázorňující hladinu paclitaxelu ve vzorcích plazmy u pacienta po perorálním podání paclitaxelu následujícím po dvou perorálních dávkách cyklosporinu A, kdy první dávka byla podána hodinu před dávkou paclitaxelu a druhá dávka byla podána bezprostředně před paclitaxelem.

Obr. 3 je graf znázorňující hladinu paclitaxelu ve vzorcích plazmy u dalšího pacienta po perorálním podání paclitaxel se stejným režimem, jak byl popsán u obr. 2.

Obr. 4 je graf znázorňující srovnání křivky hladiny paclitaxelu v plazmě sledované po 24 hodin u potkanů (obr. 1) a lidí (obr. 2 a 3) po perorálním podání paclitaxelu následujícím dvě perorální dávky cyklosporinu A.

Hlavním aspektem předkládaného vynálezu je perorální podávání antineoplazických činidel třídy taxanů, zvláště paclitaxelu a jeho derivátů, analogů nebo předléků (neboli prekurzorů léčiv), anebo semisyntetického analogu paclitaxelu doceraxelu (N-debenzoyl-N-terc-butoxykarbonyl-10-deacetyl paclitaxel) pacientům trpícím nemocí, která reaguje na taxany. Výhodné provedení vynálezu obsahuje

(a) perorální podávání taxanů dosud podávaných pouze parenterálně, které vykazují dostatečnou biologickou dostupnost k dosažení terapeutické hladiny v krvi,

(b) léčení lidí trpících nemocí reagující na taxany perorálním podáváním taxanů,

(c) prevence nebo snížení hypersenzitivity a alergické reakce u pacientů, u kterých probíhá léčení taxany.

Termín "biologická dostupnost" zde slouží k označení systémové dostupnosti (tj. hladiny v krvi/plazmě) pro dané množství léčiva podaného pacientovi.

Podle vynálezu bylo zjištěno, že taxany, které vykazují špatný absorpční profil po perorálním podání, mohou být podávány pacientům perorálně s dostatečnou systémovou absorpcí a perorální biologickou dostupností pro dosažení terapeutické hladiny v plazmě. Skutečně byl podle vynálezu podáván taxan paclitaxel perorálně pacientům trpícím různými druhy rakoviny a bylo ověřeno, že bylo dosaženo u těchto pacientů dlouhodobě terapeutické hladiny paclitaxelu v krvi.

Ve studiích na zvířatech bylo podle vynálezu pozorováno, že určitá činidla jako je například cyklosporin A, pokud jsou podávána perorálně bezprostředně po a/nebo před podáním léku jako je paclitaxel, překvapivě zvyšují absorpci léku (tj. paclitaxelu) ve střevu



v nebývalém rozsahu, což umožňuje dosáhnout terapeutické hladiny. Avšak není dosud jasné, zda tyto pozorované výsledky jsou důsledkem potlačení P-glykoproteinové pumpy.

Je třeba zdůraznit, že předkládaný vynález se neomezuje na použití konkrétního činidla zvyšujícího biologickou dostupnost po perorálním podání pro společné perorální podávání s taxany, aby se u lidí zvýšila biologická dostupnost taxanů. Vynález široce zahrnuje perorální podávání taxanů pacientům a neomezuje se na žádný specifický enhancer (zesilující činidlo), dávku nebo dávkovací režim nebo využití určitého biologického mechanismu nebo farmaceutického způsobu k tomu, aby se taxany staly biologicky dostupné po perorálním podávání.

Ve výhodném provedení předkládaného vynálezu perorální podávání paclitaxelu, jeho derivátů, analogů a předléků a jiných taxanů v humánní medicíně zahrnuje perorální podání činidla, které zvyšuje biologickou dostupnost nebo absorpci po perorálním podání pacientovi společně, nebo před, nebo jak současně tak i před perorálním podáním, aby se zvýšilo množství intaktního cílového činidla absorbovaného do krve.

K perorálně podávaným zesilujícím činidlům, která lze užít ve výhodném provedení předkládaného vynálezu, patří (příčemž tento výčet není omezující):

Cyklosporiny, včetně cyklospirionů A až Z, zejména však cyklosporin A (cyclosporine), cyklosporin F, cyklosporin D, dihydro cyklosporin A, dihydrocyklosporin C, acetylcyklosporin A, PSC 833 a SDZ-NIM 811 (tj. (Me-Ile-4)cyklosporin, antivirový, neimunosupresivní cyklosporin) od firmy Sandoz Pharmaceutical Corp. (struktura

cyklosporinů A až Z je popsána v následující tabulce 1.

Do třídy perorálně podávaných cílových terapeutických činidel, jejichž absorpce po perorálním podávání je zvýšena pomocí zesilujících činidel patří (příčemž tento výčet není omezující):

Paclitaxel, další taxany, docetaxel, a jejich deriváty a předléky (prekurzory léčiv), zvláště jejich 2'-MPM soli a další 2'-methylpyridiniové soli.

Cyklosporiny představují skupinu nepochárních cyklických oligopeptidů (z nichž některé mají imunosupresivní aktivitu), které jsou tvořeny houbami rodu *Topycladium*, např. *Topycladium inflatum* Gams (dříve označována *Trichoderma polysporum*), *Topycladium terricola* a dalšími ze skupiny *Fungi imperfecti*. Hlavní složka, cyklosporin A (CsA) byl identifikován společně s mnoha dalšími méně významnými metabolity, například cyklosporiny B až Z, z nichž některé mají podstatně nižší imunosupresivní aktivitu než cyklosporin A. Byla také připravena celá řada syntetických a semisyntetických analogů. Pro obecný přehled viz Jegerov a kol., *Phytochemistry* 38: 403-407, 1995. Předkládaný vynález se týká jak přírodních tak i semisyntetických a syntetických analogů cyklosporinů.

Tabulka 1

Cyklosporiny A až Z

Cyclosporin	Aminokyseliny											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Cy-												
CyA	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyB	Mebmt	Ala	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyC	Mebmt	Thr	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyD	Mebmt	Val	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyE	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	Val	
CyF	Desoxy-Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyG	Mebmt	Nva	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyH	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	D-Mev	
CyI	Mebmt	Val	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	Leu	MeVal	
CyK	Desoxy-Mebmt	Val	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyL	Bmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyM	Mebmt	Nva	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyN	Mebmt	Nva	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	Leu	MeVal	
CyO	MeLeu	Nva	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyP	Bmt	Thr	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyQ	Mebmt	Abu	Sar	Val	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyR	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	Leu	Ala	D-Ala	MeLeu	Leu	MeVal	
CyS	Mebmt	Thr	Sar	Val	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyT	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	Leu	MeVal	
CyU	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	Leu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyV	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyW	Mebmt	Thr	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	Val	
CyX	Mebmt	Nva	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	Leu	MeLeu	MeVal	
CyY	Mebmt	Nva	Sar	MeLeu	Val	Leu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	
CyZ	MeAminoacetyl	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal	

Cyklosporiny jsou neutrální, lipofilní, cyklické undekapeptidy s molekulovou hmotností přibližně 1200. používají se intravenózně nebo perorálně jako imunosupresiva, zejména při orgánových transplantacích a případně některých nemocech. Cyklosporiny, zejména cyklosporin A, jsou známy jako inhibitory P-glykoproteinové výtokové pumpy a jiných transportních pump a také P450 degradativních enzymů, ale dosud nebyl nalezen žádný účinný režim klinického využití těchto vlastností a rovněž nebyl vyvinut do stadia klinické a komerční použitelnosti, přičemž ani nebyl takový návrh předložen ke schválení.

Jedním z překvapivých zjištění podle předmětného vynálezu je to, že imunosuprese pozorovaná u některých cyklosporinů není neoddelitelně spojena se zlepšením biologické dostupnosti terapeutického činidla po perorálním podání. Tudíž cyklosporin F zvyšuje biologickou dostupnost paclitaxelu i přes to, že podle zpráv v odborné literatuře neprojevuje imunosupresivní aktivitu (*Stewart a kol. Transplantation Proceedings 20 (Supp.3) 989-992, 1988, Granelli-Piperno a kol., Transplantation 46: 53S-60S, 1988*).

Dalším možným vysvětlením pozorovaného zvýšení biologické dostupnosti paclitaxelu je to, že může existovat interakce na úrovni enzymů metabolismu cyklosporinu a paclitaxelu. Je známo, že obě tyto látky jsou metabolizovány systémem cytochromu P-450 (např. P-450 3A), který je soustředěn v játrech a v tenkém střevu. Lze se domnívat, že cyklosporin, který byl podán první, inhibuje tyto enzymy, takže potom paclitaxel, který je nepolární a lipofilní, může být absorbován. Pokud nedojde k této lokální inhibici, paclitaxel bude metabolizován na nějaký polárnější metabolit, který není přenášen buňkami sliznice.

Tato teoretická inhibice metabolismu cílového léku ve střevu nemá žádný, nebo má jen malý, vliv na zvýšení systémové krevní hladiny, pokud je cílový lék podáván intravenózně. Avšak jelikož primárním účinkem činidla zvyšující perorální absorpci může být právě lokální účinek v lumen střeva, dávky, které jsou subterapeutické (z hlediska imunosuprese) mohou být účinné k dosažení tohoto účinku. To je závažná úvaha v případě zesilujících činidel jako jsou cyklosporiny, které mají silnou imunosupresivní aktivitu, a mohly by představovat značnou toxicitu v případě podávání ve velkých dávkách. Velký klinický význam má zjištění podle předmětného vynálezu, že cyklosporiny, které nejsou imunosupresivní, jako je například cyklosporin F, mohou přesto účinkovat jako činidla zesilující absorpci po perorálním podání.

Je důležité poznamenat, že podle vynálezu je sice předkládáme hypotézu týkající se mechanismus účinku, který je podstatou vynálezu, ale ve skutečnosti mechanismu zodpovědný za překvapivé nálezy popsané v tomto popisu nejsou přesně známé, což nijak nebrání odborníkovi v tom, aby vynález mohl v praxi provádět. Je možné, že žádný z navrhovaných mechanismů, nebo jen některé anebo všechny mechanismy se společně podílejí na zvýšení biologické dostupnosti taxanů po perorálním podání, které bylo experimentálně i klinicky ověřeno.

Rozmezí dávek zesilujícího činidla podávaného společně s cílovým činidlem je podle vynálezu 0,1 až 20 mg/kg tělesné hmotnosti pacienta. "Společným podáváním" zesilujícího činidla se rozumí v podstatě současné společné podávání s cílovým činidlem (tj. buďto méně než 0,5 hodiny před nebo

méně než 0,5 hodiny po nebo dohromady), nebo podání 0,5 až 72 hodin před podáním cílového činidla, nebo obojí, tzn. podání jedné nebo několika dávek stejného nebo jiného zesilujícího činidla nejméně 0,5 hodiny před a jedné dávky v podstatě současně s cílovým činidlem (tj. buďto dohromady nebo bezprostředně před a nebo po). Kromě toho "společné podávání" zahrnuje také podání více než jedné dávky cílového činidla během 72 hodin po podání dávky zesilujícího činidla, jinými slovy, zesilující činidlo se nemusí podávat znovu před každým podáním cílového činidla, ale lze ho podávat přerušovaně v průběhu léčení.

Rozmezí dávek perorálně podávaných taxanů se liší pro různé sloučeniny v závislosti na jejich terapeutickém indexu, léčeném stavu, stavu léčeného subjektu, a podobně. Způsob podle vynálezu dovoluje podávat paclitaxel a další taxany perorálně v dávkách  $20 \text{ mg/m}^2$  až  $1000 \text{ mg/m}^2$  (povrchu pacientova těla) nebo 2 až 30 mg/kg (tělesné hmotnosti pacienta) v jediné denní dávce nebo rozděleně na 2 až 3 denní dávky, což umožňuje udržet plazmatickou hladinu paclitaxelu u pacientů dlouhodobě (například 8 až 12 hodin) po každé perorální dávce v rozmezí 50 až 500 ng/ml. Tyto hladiny jsou přinejmenším srovnatelné s hladinami, kterých se dosáhne 96-hodinovou intravenózní terapií (která způsobuje pacientovi značné nepříjemnosti, nepohodlí, ztrátu času a je potenciálním zdrojem infekce). Kromě toho takové plazmatické hladiny paclitaxelu jsou víc než dostatečné k dosažení požadovaných farmakologických účinků na cílový lék, například inhibici rozkladu tubulinu (ke kterému dochází při koncentraci 0,1 M nebo 85 ng/ml) a inhibici isoprenylace proteinů (ke které dochází při koncentraci 0,03 M nebo 25 ng/ml), které jsou bezprostředně spojeny s protinádorovým účinkem, kdy se inhibuje funkce onkogenů

a dalších proteinů podílejících se na signální transdukcii, které hrají zásadní roli v regulaci buněčného růstu.

Výhodná perorální dávka paclitaxelu nebo jiných taxanů podávaná podle předkládaného vynálezu je 50 až 200 mg/m<sup>2</sup> nebo 2 až 6 mg/kg.

V některých případech může být vhodné podat pacientovi vyšší počáteční dávku cílového činidla k dosažení vrcholové hladiny v krvi, po které následují nižší udržovací dávky.

Dvě nebo více různých zesilujících činidel a/nebo dvě nebo více cílových činidel se mohou podávat dohromady, střídavě nebo přerušovaně ve všech možných provedeních způsobů podle vynálezu.

Řešením podle vynálezu je možno léčit pacienta trpícího rakovinou, nádorem, Kaposiho sarkomem, zhoubným bujením, nekontrolovanou proliferací tkáně nebo buněk, ke které došlo druhotně po poranění tkáně, nebo jinou nemocí, reagující na paclitaxel, taxany, docetaxel a/nebo jejich předléky a deriváty jako je paclitaxel 2'-MPM a docetaxel 2'-MPM, a sice perorálně podávanou jednotkovou lékovou formou, která obsahuje jedno nebo několik z těchto činidel.

Ke karcinomům, které lze léčit zvláště účinně perorálním podáváním paclitaxelu, docetaxelu a jiných taxanů a jejich předléků a derivátů, patří hepatocelulární karcinom a jaterní metastázy, rakoviny gastrointestinálního traktu, pankreatu, prostaty a plic a také Kaposiho sarkom. Příkladem jiných nemocí kromě rakovin, které mohou být účinně léčeny perorálním podáváním látek podle vynálezu, jsou nekontrolované proliferace buněk a tkání následující po

primárním poškození tkáně, polycystická nemoc ledvin, zánětlivé nemoci (například artritida) a malárie, včetně malarických parazitů rezistentních na chlochin a pyrimetamin (Pouvelle a kol., *J. Clin. Invest.* 44: 413-417, 1994).

Protinádorové látky, které byly dosud pacientům podávány pouze parenterálně, mohou být nyní při použití řešení podle vynálezu podávány perorálním způsobem, a přitom je dosaženo dostatečné biologické dostupnosti k dosažení farmakologicky účinné koncentrace v krvi, která je zvláště účinná pro léčení pacientů s primárními nádory a metastázami. Účinné látky procházejí střevní stěnou v důsledku předchozího a/nebo současného podání cyklosporinového zesilujícího činidla a jsou rychle absorbovány portálním oběhem, což vede k počáteční vysoké lokální koncentraci chemoterapeutického činidla v játrech (to znamená k vyšší lokální koncentraci než jaké je běžně dosahováno při intravenózní terapii) než je systémová koncentrace v oběhu nebo ve většině ostatních orgánů. Kromě toho je třeba připomenout, že vyšší hladina paclitaxelu v játrech po perorálním podání se nemusí nutně promítnout do vyšší hladiny v plazmě v důsledku účinku prvního průchodu v játrech. Řešení podle vynálezu, kdy se selektivně vytváří vysoká koncentrace protinádorového činidla v krvi, je zvláště vhodné k léčení rakovin jater (hepatocelulárního karcinomu a jaterních metastáz), gastrointestinálních rakovin (například tlustého střeva a rekta) a plicních rakovin.

Plazmatické hladiny účinného cílového činidla podávaného perorálně se vhodným zesilujícím činidlem podle předkládaného vynálezu jsou překvapivě blízké hladinám pozorovaným po intravenózním podání. Série studií na



experimentálních zvířatech ukázala, že stálé plazmatické hladiny paclitaxelu bylo dosaženo po perorálním společném podání CsA třetí den léčebného režimu. Hladiny cílového činidla dosažené v ustáleném stavu byly srovnatelné s hladinami u pacientů, kteří obdrželi 96-hodinovou infúzi paclitaxelu. Byla zjištěna 27% míra selhání u pacientů s metastazující rakovinou prsu na taxan po léčení kontinuální 96-hodinovou infúzí jednou za tři týdny (*Saidman a kol., J. Clin. Oncol. 14: 1877, 1996*). Je možno předpokládat, že obdobných výsledků lze dosáhnout také podle vynálezu, a to bez nepohodlí a nepříjemností pro pacienta a bez nebezpečí, která skýtá dlouhodobá intravenózní infúze.

Údaje uvedené na obr. 1 až 4 jsou zvláště významné a překvapující. Jak bude ještě podrobněji popsáno v následujících příkladech, údaje uvedené na obr. 1 byly získány při experimentu s potkany, ale údaje uvedené na obr. 2 a 3 odrážejí skutečné průběhy koncentrace paclitaxelu v plazmě u dvou osob po perorálním podání paclitaxelu při použití řešení podle vynálezu, to znamená společným podáváním s cyklosporinovým zesilujícím činidlem. Data získaná na pacientech jsou pozoruhodná nejen proto, že ukazují vůbec poprvé, vzhledem k dosavadní literatuře, že paclitaxel byl podán perorálně pacientům, kteří potřebovali léčení paclitaxelem, ale také to, že bylo dosaženo terapeutické hladiny koncentrace v plazmě a ta se udržela po 24 hodin, a skutečně, hladina léčiva v plazmě byla srovnatelná s hladinami, které jsou dosahovány po intravenózním podání a přitom způsob podání nezpůsobil žádné vážnější lokální nebo systémové vedlejší účinky.

Kromě dat získaných při pokusech na zvířatech popsaných v dále uvedených příkladech a výsledcích uvedených

na obr.1 a 4 byly podle vynálezu provedeny rozsáhlé série experimentů na potkanech, při kterých byly perorálně podávány paclitaxel a další taxany společně s cyklosporinem A a dalšími cyklosporiny C, D, F a G zvyšujícími biologickou dostupnost. Kromě toho byly účinky perorálně podávaných taxanů, zejména paclitaxelu zvířatům současně s perorálními dávkami cyklosporinu A srovnány také s podáváním samotného cílového činidla intravenózně nebo parenterálně a také s podáváním jiných potenciálních, i když méně účinných, činidel zvyšujících biologickou dostupnost společně s cílovým činidlem. Ve všech výše uvedených aspektech je třeba proto odkázat na současně podanou přihlášku vynálezu č. 08/733142.

Podle vynálezu bylo prokázáno, že farmakokinetický profil paclitaxelu podávaného perorálně společně s cyklosporinem A u potkanů je zcela srovnatelný s profilem u lidí léčených stejným režimem. A skutečně, obr. 4 ukazuje porovnání ve stejném grafu křivky plazmatických koncentrací paclitaxelu v průběhu 24-hodinového období po perorálním společném podání se dvěma dávkami zesilujícího činidla (cyklosporinu A) v rozmezí jedné hodiny s tím, že paclitaxel byl perorálně podán po druhé dávce cyklosporinu. Uvedená data byla získána z 24-hodinové studie s potkanem popsané na obr. 1 a ze studií na člověku popsanych na obr. 2 a 3. Je vidět, že všechny tři závislosti na obr. 4 (jedna pro potkana dvě pro člověka) mají velmi podobný charakter, což ukazuje, že výsledky na lidech potvrzují výsledky získané v pokusu na zvířatech.

To nijak nezmenšuje význam výsledků získaných na potkanech. Laboratorní potkan je široce akceptovaný model pro testování farmakokinetiky a absorpčních profilů

chemoterapeutických činidel. Avšak vzhledem ke známým mezidruhovým rozdílům, žádný lékař by nemohl s důvěrou podávat paclitaxel nebo jiné taxany člověku pouze na základě pokusů na zvířatech, aniž by byly provedeny klinické zkoušky na lidech. Předkládaný vynález poskytuje metodu perorálního podávání taxanů lidem bezpečným a účinným způsobem. Z lékařského hlediska je předkládaný vynález obrovským zlepšením dosavadního stavu techniky a vysvětluje, že farmakokinetické vlastnosti taxanů jako je paclitaxel lze využít v klinické praxi bez potřeby intravenózních katetrů a hospitalizace nebo klinické chemoterapie, bez nákladů na personál, bez nepohodlí a nepříjemností pro pacienta, a také bez nebezpečí infekce, a dokonce bez premedikace k zabránění hypersenzitivní nebo alergické reakce a potenciálních nežádoucích vedlejších účinků premedikace samotné.

Perorální léková forma cílového činidla, jehož biologická dostupnost se zvyšuje společným podáváním se zesilujícím činidlem, může být jak konvenční forma jako tablety, tobolky (měkké želatinové nebo tvrdé, systémy "caplets" a "gelcaps"), pilulky, nebo tekutá forma (roztoky, suspenze, elixíry), prášek, pastilky, mikronizované částice nebo osmotické dávkovací systémy nebo jakákoliv jiná léková forma známá v oboru farmacie. Tekuté přípravky mohou obsahovat např. paclitaxel nebo jiné taxany ve vehikulu, které obsahuje CREMOPHOR E1 nebo jiný druh polyethoxylovaného ricinového oleje, alkohol a/nebo polyethoxylovaný sorbitanmonooleát (např. TWEEN 80, ICI Americas, Inc.) s chuťovým a vonným korigenciem nebo bez. Každá léková forma obsahuje účinné množství taxanového cílového činidla a farmaceuticky inertní přísady, např. konvenční excipienty, vehikula, plnidla, pojidla,

dezintegrační činidla, rozpouštědla, solubilizační činidla, sladidla, barviva a další neúčinné přísady, které se obvykle přidávají do lékových forem pro perorální podávání. Mnoho takových lékových forem včetně vehikul pro perorální podávání a také seznam inaktivních přísad lze nalézt v příručce *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17. vydání, 1985.

Přesné množství každého z cílových činidel v perorální lékové formě závisí na věku, hmotnosti, nemoci a stavu pacienta. Např. paclitaxel nebo jiná léková forma obsahující taxan obsahuje dostatečné množství cílového činidla, aby poskytla denní dávku 20 až 1000 mg/m<sup>2</sup> (povrchu těla pacienta) nebo 2 až 30 mg/kg (tělesné hmotnosti pacienta) v jedné nebo 2 až 3 denních dávkách. Výhodná dávka je 50 až 200 mg/m<sup>2</sup> nebo 2 až 6 mg/kg.

Dávkovací schéma pro léčení podle předkládaného vynálezu, např. léčení nemoci reagující na paclitaxel perorální lékovou formou paclitaxelu podávanou společně se zesilujícím činidlem, se může obdobně upravit vzhledem k vlastnostem pacienta a jeho zdravotnímu stavu. Výhodné dávkovací schéma podle předkládaného vynálezu je například denní podávání pacientovi, který takové léčení potřebuje, 1 až 3 perorálních dávek, které poskytují 20 až 1000 mg/m<sup>2</sup> (na povrch těla pacienta) a výhodně 50 až 200 mg/m<sup>2</sup>, přičemž toto denní podávání pokračuje 1 až 4 následující dny každé 2 až 3 týdny, nebo jednodenní podávání jednou za týden.

První uvedený způsob je srovnatelný s 96-hodinovou infúzí paclitaxelu jednou za 2 až 3 týdny, který byla dosud považována za výhodný režim intravenózního léčení.

Perorální podávání taxanů podle předkládaného vynálezu může skutečně snížit toxické vedlejší účinky ve srovnání s intravenózní terapií používanou v současné době. Absorpce účinné látky střevní stěnou (podporovaná zesilujícím činidlem) vede k postupnému pronikání do krevních cév a k udržení dlouhodobě stálé hladiny v ideálním nebo velmi blízkém rozsahu, na rozdíl od náhlého vytvoření vysoké koncentrace v krvi, což je obvyklé při intravenózní infúzi.

Podle dalšího aspektu podle předkládaného vynálezu se používají sdružené lékové formy, které obsahují stále množství alespoň jednoho zesilujícího činidla a alespoň jednoho cílového činidla. Takovou lékovou formou mohou být tablety, tobolky, systémy "caplets" a "gelcaps", pilulky, tekuté přípravky, pastilky a jakákoliv jiná obvyklá perorální léková forma, která obsahuje jako účinné látky podíl protinádorového nebo antineoplazického činidla účinné ke zvýšení perorální biologické dostupnosti, a vhodně inaktivní přísady. Jeden takový kombinovaný produkt obsahuje 0,1 až 20 mg/kg jednoho nebo několika cyklosporinů A, D, C, F a G, dihydro-CsA, dihydro-CsC a acetyl-CsA společně s 20 až 1000 mg/m<sup>2</sup> (na průměrnou plochu těla pacienta), výhodně 50 až 200 mg/m<sup>2</sup> paclitaxelu, docetaxelu nebo jiných taxanů nebo derivátů paclitaxelu nebo docetaxelu jako paclitaxel-2'-MPM nebo docetaxel-2'-MPM.

Společné podávání zesilujícího činidla s cílovým lékem nejen že podporuje biologickou dostupnost cílového léku, ale také umožňuje použití tohoto léku k léčení nádorů na místech, která jsou chráněna vysokou mírou MDR, např. ve varlatech nebo mozku. Dalším aspektem předkládaného vynálezu je proto podávání protinádorových léků na místa chráněná MDR prostřednictvím společného perorálního podávání zesilujícího

činidla a protinádorového činidla, což umožňuje léčit i nádory mozku jako je multifornní glioblastom.

Další výhody předkládaného vynálezu spočívají v oblasti bezpečnosti. Vzhledem ke svým fyzikálně-chemickým vlastnostem musí být paclitaxel rozpouštěn ve směsi Cremophor/ethanol, přičemž toto vehikulum může způsobovat přinejmenším nějaké alergické reakce, jak ukazují zkušenosti pacientů léčených paclitaxelem. Byla použita i jiná rozpouštědla, ale žádné nebylo tak vhodné jako Cremophor/ethanol. Paclitaxel se musí pacientům podávat velmi pomalu, přičemž zdravotnický personál musí být stále připraven na silnou hypersenzitivní reakci. Pro standardní intravenózní režimy se většinou užívá premedikace H-1 a H-2 blokátory a steroidy. Dokonce i když se nepoužije jako rozpouštědlo Cremophor/ethanol, i tak intravenózně podávané taxany způsobují silné reakce. Tak například podávání docetaxelu je spojeno s edémem a jinými reakcemi. Takže je zřejmé, že terapie, která by eliminovala nebo snížila potřebu premedikace by byla klinicky velmi cenná.

Předkládaný vynález také v jednom ze svých výhodných provedení poskytuje metodu prevence nebo snížení hypersenzitivity a alergických reakcí u lidí léčených taxany. Při tomto postupu se použije perorálního podávání taxanů pacientům. V případě perorálního podávání podle vynálezu je mnohem menší pravděpodobnost vyvolání vedlejších škodlivých reakcí než při intravenózním podávání. Při experimentálních pokusech podle vynálezu byl proto paclitaxel podáván pacientům (viz příklady 2 a 3) bez premedikace (H-1 nebo H-2 blokátory nebo steroidy), přičemž nebyla pozorována žádná hypersenzitivní reakce, i když bylo dosaženo terapeutické hladiny v oběhu.

Použití paclitaxelu je spojeno s řadou projevů toxicity a vedlejších účinků. Dvěma nejvýznamnějšími projevy toxicity jsou neutropenie a neuropatie. Řada klinických údajů ukázala, že je žádoucí udržet plazmatickou koncentraci v určitém intervalu ("okně"), aby se dosáhlo maximálního protinádorového účinku a přitom se minimalizovaly vedlejší účinky, zejména neutropenie. Předpokládá se, že u mnoha typů nádorů vystavení nádoru působení nízké koncentrace po dlouhou dobu přináší lepší klinické výsledky. Má se za to, že 0,03M hladina v plazmě inhibuje isoprenylaci proteinů nádorových buněk a 0,1M hladina již blokuje rozpad mikrotubulů. Existují klinické údaje ukazující, že konstantní intravenózní podávání po dobu několika dnů k dosažení "okna" 0,05 až 0,1 M v oběhu může minimalizovat toxicitu a vést k regresi nádoru, někdy dokonce i u pacientů, jejichž nádory nereagovaly na 3hodinový infúzní režim. Tento 3-hodinový infúzní režim paclitaxelu, který byl v současnosti schválen pro klinické použití, vede k vrcholové koncentraci v plazmě, která značně převyšuje tyto hladiny.

Předkládaný vynález také umožňuje podávat paclitaxel v denních dávkách s relativně malou frekvencí (například dvakrát denně) a podle takového schématu, který by při intravenózním podávání nebyl možný. Použití zesilujícího činidla (například cyklosporinu A) podporuje perorální absorpci paclitaxelu v první dávce, a pokud je třeba dát druhou dávku paclitaxelu později tentýž den, použití dalšího cyklosporinu už dokonce není nutné. Takže paclitaxel se může podávat přerušovaně jako jednotlivá dávka dle pevného schématu (jednou týdně, jednou za dva týdny a podobně, nebo stále po několik po sobě jdoucích dnů (např. 4 dny) každé

2 až 4 týdny s cílem udržet hladiny v bezpečném a účinném "okně".

### Příklady provedení vynálezu

Následující příklady ilustrují různé aspekty předkládaného vynálezu a demonstrují neočekávané, podstatné zvýšení absorpce po perorálním podání paclitaxelu. Tyto příklady nijak vynález neomezují ani specificky nevymezují zesilující nebo cílová činidla, dávky, dávkovací režimy, testovací procedury a další parametry, kterých je výlučně třeba použít k provádění předkládaného vynálezu, nýbrž tyto příklady je třeba považovat pouze za ilustrativní.

#### **P ř í k l a d      1**

V pokusu bylo užito 6 zdravých potkanů kmene Sprague Dawley s hmotností 225 až 275 gramů stáří 6 až 8 týdnů, kteří dostali jednu perorální dávku paclitaxelu 9 mg/kg.

Vzorky krve byly odebírány z ocasu každého potkana 0,5, 1, 2, 3, 4 a 6 hodin po podání paclitaxelu. Každý vzorek byl centrifugován a bylo odděleno sérum. V každém z uvedených okamžiků bylo 6 zmíněných vzorků sloučeno do jednoho reprezentativního vzorku. Všechny vzorky pak byly testovány na koncentraci nezměněného paclitaxelu metodou LC/MS se spodním limitem kvantifikace 50 pg/ml.

Výsledky této studie jsou graficky znázorněny dolní křivkou na obr. 1, který ukazuje, že biologická dostupnost perorálně podávaného paclitaxelu v séru byla nižší než 1 %.



## P ř í k l a d 2

V pokusu bylo užito 10 zdravých potkanů kmene Sprague Dawley se stejnými charakteristikami jako v příkladu 1, kterým byl podán perorálně cyklosporin A v dávce 5 mg/kg a hodinu později následovalo podání další perorální dávky cyklosporinu A společně s perorální dávkou 9 mg/kg paclitaxelu.

Vzorky krve byly odebírány z ocasu každého potkana 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 a 24 hodin po podání paclitaxelu. Po příslušném zpracování vzorků a sloučení do jednoho reprezentativního vzorku pro skupinu byla plazma testována na koncentraci nezměněného paclitaxelu.

Výsledky této studie jsou graficky znázorněny horní křivkou na obr. 1. Je vidět, že plazmatická koncentrace u této skupiny byla několikanásobně vyšší v průběhu prvních šesti hodin než u potkanů v pokusu v příkladu 1, které dostaly samotný paclitaxel, přičemž hladiny terapeutické nebo vyšší cílového činidla se udržela po 8 hodin po podání dávky a významná hladina v plazmě se udržela dokonce po celé 24 hodinové období.

## P ř í k l a d 3

71 let starý muž s rakovinou prostaty souhlasil s tím, že dostal perorální dávku paclitaxelu a zesilujícího činidlem v podobě cyklosporinu A. Povrch jeho těla byl 2,04 m<sup>2</sup> a hmotnost 84 kg.

Po nočním hladovění dostal tento pacient dvě perorální dávky cyklosporinu A (Sandimmune 5 mg/kg) v rozmezí jedné

hodiny. Ihned po druhé dávce vypil pacient dávku paclitaxelu v roztoku se základem cremophor/ethanol, obsahující 180 mg paclitaxelu rozpuštěného ve 120 ml 5% dextrózy ve vodě, tj. 2,0 mg/kg tělesné hmotnosti nebo 90 mg/m<sup>2</sup> plochy těla. Standardní premedikace, která by se použila v případě krátkodobé infúze taxanů, nebyla užita. Po vypití roztoku pacient poznamenal, že chuť nebyla příjemná. Po několik hodin měl pak pacient řídkou stolicí. Projevilo se u něho také na několika místech zarudnutí, což lze zřejmě přičítat důsledku dočasného vysazení anti-hypersenzitivní medikace. Jinak nedošlo k žádným výrazným klinickým změnám.

Vzorky plazmy byly získány v intervalech po podání paclitaxelu a byly analyzovány technikou LC/MS/MS. Hodnoty v plazmě v průběhu času jsou znázorněny na obr. 2. Vrcholové hodnoty byly dosaženy po 4 hodinách po podání a hladiny 0,07 M byly dosaženy jednu hodinu až pět hodin po podání. Hladiny srovnatelné s uvedenými byly zjištěny u pacientů s karcinomem prsu po 96-hodinové infúzní terapii paclitaxelem (0,05 M) po dobu 10 až 12 hodin (*Seidman a kol., J. Clin. Oncol. 14: 1877, 1996*).

#### P ř í k l a d 4

75 let starý muž s rakovinou prostaty diagnostikovanou před několika lety dostal perorální dávku paclitaxelu a cyklosporinu A. Povrch jeho těla byl 1,82 m<sup>2</sup> a hmotnost 72 kg.

Po nočním hladovění byl tento pacient vystaven stejnému režimu s cyklosporinem A (Sandimmune 5 mg/kg) a perorálním paclitaxelem (180 mg) jako pacient v příkladu 1, to znamená 2,5 mg/kg nebo 100 mg/m<sup>2</sup> paclitaxelu u tohoto

pacienta. Ani v tomto případě nebyla užita standardní premedikace, která by se normálně použila v případě krátkodobých infúzí taxanů. Po vypití roztoku pacient poznamenal, že chuť nebyla příjemná. Po několik hodin měl pak pacient řídkou stolici. Bylo také zjištěno mírné snížení krevního tlaku po podání, což může souviset s vasovagální reakcí na hladovění a na odběr krve. Jako protiopatření pacient dostal 100 ml fyziologického roztoku intravenózně. Po konzumaci oběda se pacient cítil mnohem lépe a celý další průběh byl klinicky bez problémů.

Vzorky plazmy byly získány v intervalech po podání paclitaxelu a byly analyzovány technikou LC/MS/MS. Hodnoty v plazmě v průběhu času jsou znázorněny na obr. 3. Vrcholové hodnoty téměř 0,3 M byly dosaženy po 4 hodinách po podání. Hladiny 0,07 M byly dosaženy jednu hodinu až deset hodin po podání. Hladiny srovnatelné s uvedenými byly zjištěny u pacientů s karcinomem prsu po 96hodinové infúzní terapii paclitaxelem (0,05 M) po dobu 12 až 15 hodin.

Jak bylo již uvedeno výše, obr. 4 představuje porovnání časového průběhu koncentrací paclitaxelu u potkanů (vrchní křivka z obr. 1) a lidí (křivky z obr. 2 a 3) po perorálně podaném paclitaxelu, kterému předcházely dvě perorální dávky cyklosporinu s intervalem 1 hodiny, to znamená způsobem podle předkládaného vynálezu. Je patrné, že pozorované dosažené koncentrace nejenže poprvé potvrdily účinnost předkládaného vynálezu v tom, že umožňuje biologickou dostupnost paclitaxelu po perorálním podání, ale koncentrace u lidí dokonce přesáhly hodnoty pozorované na modelových potkanech. Tyto výsledky jsou neočekávané a překvapivé a nebylo možné je předvídat pouze na základě dostupných informací o cyklosporinu či jiných potenciálních

zesilujících činidel nebo paclitaxelu, jeho derivátů, analogů a předléků nebo jiných taxanů, dokud nebyla demonstrována klinická účinnost metody podle vynálezu na lidech. Bylo tedy ukázáno, že různé aspekty předkládaného vynálezu jsou využitelné.

Vzhledem k tomu, že jsou možná různá provedení předkládaného vynálezu a že je možné provádět různé modifikace v rámci tohoto vynálezu, je třeba zdůraznit, že příklady zde uvedené jsou pouze ilustrativní a nelze je interpretovat v žádném případě jako omezující.

## P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1. Použití taxanu k přípravě farmaceutického prostředku k perorálnímu podávání v účinném množství k léčení člověku jako pacienta trpícího nemocí reagující na taxan.

2. Použití paclitaxelu k přípravě farmaceutického prostředku k perorálnímu podávání v účinném množství k léčení člověka jako pacienta trpícího nemocí reagující na paclitaxel.

3. Použití docetaxelu k přípravě farmaceutického prostředku k perorálnímu podávání v účinném množství k léčení člověka jako pacienta trpícího nemocí reagující na docetaxel.

4. Použití derivátu, analogu nebo předléku paclitaxelu nebo docetaxelu k přípravě farmaceutického prostředku k perorálnímu podávání v účinném množství pro léčení nemoci reagující na tento derivát, analog nebo předlék.

5. Použití předléku paclitaxelu nebo docetaxelu podle nároku 4, kde uvedeným předlékem je paclitaxel-2'-MPM nebo docetaxel-2'-MPM.

6. Použití podle nároku 2, při kterém účinným množstvím paclitaxelu je asi 2 až asi 30 mg/kg tělesné hmotnosti pacienta.

7. Použití nároku 6, při kterém účinným množstvím je 2 až 6 mg/kg.

8. Použití podle nároku 2, při kterém uvedené účinné množství paclitaxelu je v rozmezí od asi 20 do asi 1000 mg/m<sup>2</sup> povrchu těla pacienta.

9. Použití podle nároku 1, při kterém uvedené účinné množství je v rozmezí od asi 50 do asi 200 mg/m<sup>2</sup>.

10. Použití podle nároku 1, při kterém perorálně podávaný taxan je upraven na biologicky dostupný pro člověka jako pacienta v hladině dostatečné k léčení stavu nemoci jako reakce na taxan současným podáváním tomuto pacientovi účinného množství taxanu dostatečného k léčení nemoci společně s účinným množstvím činidla zesilujícího perorální dostupnost, přičemž toto činidlo je vybráno ze skupiny zahrnující cyklosporiny A až Z, (Me-Ile-4)-cyklosporin, dihydrocyklosporin A, dihydrocyklosporin C a acetylcyklosporin A.

11. Použití podle nároku 10 nebo 29, při kterém uvedeným taxanem je paclitaxel.

12. Použití podle nároku 10 nebo 29, při kterém uvedeným taxanem je docetaxel.

13. Použití podle nároku 10 nebo 29, při kterém uvedeným taxanem je derivát, analog nebo předlék paclitaxelu nebo docetaxelu.

14. Použití podle nároku 13, při kterém uvedeným taxanem je předlék paclitaxel-2'-MPM nebo předlék docetaxel-2'-MPM.

15. Použití podle nároku 10, při kterém je činidlo zesilující biologickou dostupnost vybráno ze skupiny zahrnující cyklosporin A, cyklosporin C, cyklosporin D, cyklosporin F, dihydrocyklosporin A, dihydrocyklosporin C a acetylcyklosporin A.

16. Použití podle nároku 15, se pacientovi podá zesilující činidlo v množství asi 0,1 až asi 20 mg/kg tělesné hmotnosti pacienta.

17. Použití podle nároku 16, při kterém se podá zesilující činidlo v množství asi 5 mg/kg.

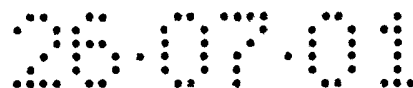
18. Použití podle nároku 11, při kterém účinné množství paclitaxelu je asi 2 až asi 30 mg/kg tělesné hmotnosti pacienta.

19. Použití podle nároku 18, při kterém uvedené účinné množství je v rozmezí od asi 2 do asi 6 mg/kg.

20. Použití podle nároku 11, při kterém uvedené účinné množství paclitaxelu je v rozmezí od asi 20 do asi 1000 mg/m<sup>2</sup> povrchu těla pacienta.

21. Použití podle nároku 10, při kterém uvedené účinné množství paclitaxelu je v rozmezí od asi 50 do asi 200 mg/m<sup>2</sup>.

22. Použití podle nároku 10, při kterém se pacientovi podává asi 2 až asi 30 mg/kg nebo asi 20 až asi 1000 mg/m<sup>2</sup> paclitaxelu společně s asi 0,1 až asi 20 mg/kg cyklosporinu A.



23. Použití podle nároku 10, při kterém se zesilující činidlo se podává buďto

(a) asi 0,5 až asi 72 hodin před,

(b) méně než 0,5 hodiny před, společně s nebo méně než 0,5 hodiny po, nebo

c) oběma způsoby, jak asi 0,5 až asi 72 hodin před tak i méně než 0,5 hodiny před, společně s nebo méně než 0,5 po podání taxanu.

24. Použití podle nároku 23, při kterém je taxanem paclitaxel a zesilujícím činidlem je cyklosporin A.

25. Použití podle nároku 10, při kterém jsou taxan a zesilující činidlo podány každý v samostatné perorální lékové formě.

26. Použití podle nároku 10, při kterém jsou taxan a zesilující činidlo podány společně ve sdružené perorální lékové formě.

27. Použití podle nároků 10 nebo 11, při kterém uvedený stav nemoci je vybrán ze skupiny zahrnující rakoviny, nádory, maligní onemocnění, sekundární nekontrolovanou proliferaci tkání nebo buněk po poranění tkáně, polycystické onemocnění ledvin a malárii.

28. Použití podle nároku 27, při kterém uvedenou nemocí je rakovina vybraná ze skupiny obsahující hepatocelulární karcinom, jaterní metastázy, rakoviny gastrointestinálního traktu, pankreatu, prostaty a plic a Kaposiho sarkom.

29. Použití taxanu pro přípravu farmaceutického



prostředku pro perorální podávání k prevenci nebo snížení hypersenzitivity a alergických reakcí u lidí jako pacientů léčených taxany na nemoce reagující na taxany.

30. Použití podle nároku 29, při kterém se uvedený taxan podává pacientovi bez předchozího podání léků k prevenci hypersenzitivity nebo alergických reakcí na taxany.

31. Použití podle nároku 29, při kterém se taxan podává společně s účinným množstvím činidla zesilujícího biologickou dostupnost, přičemž toto činidlo je vybráno ze skupiny zahrnující cyklosporiny A až Z, (Me-Ile-4)-cyklosporin, dihydrocyklosporin A, dihydrocyklosporin C a acetylcyklosporin A.

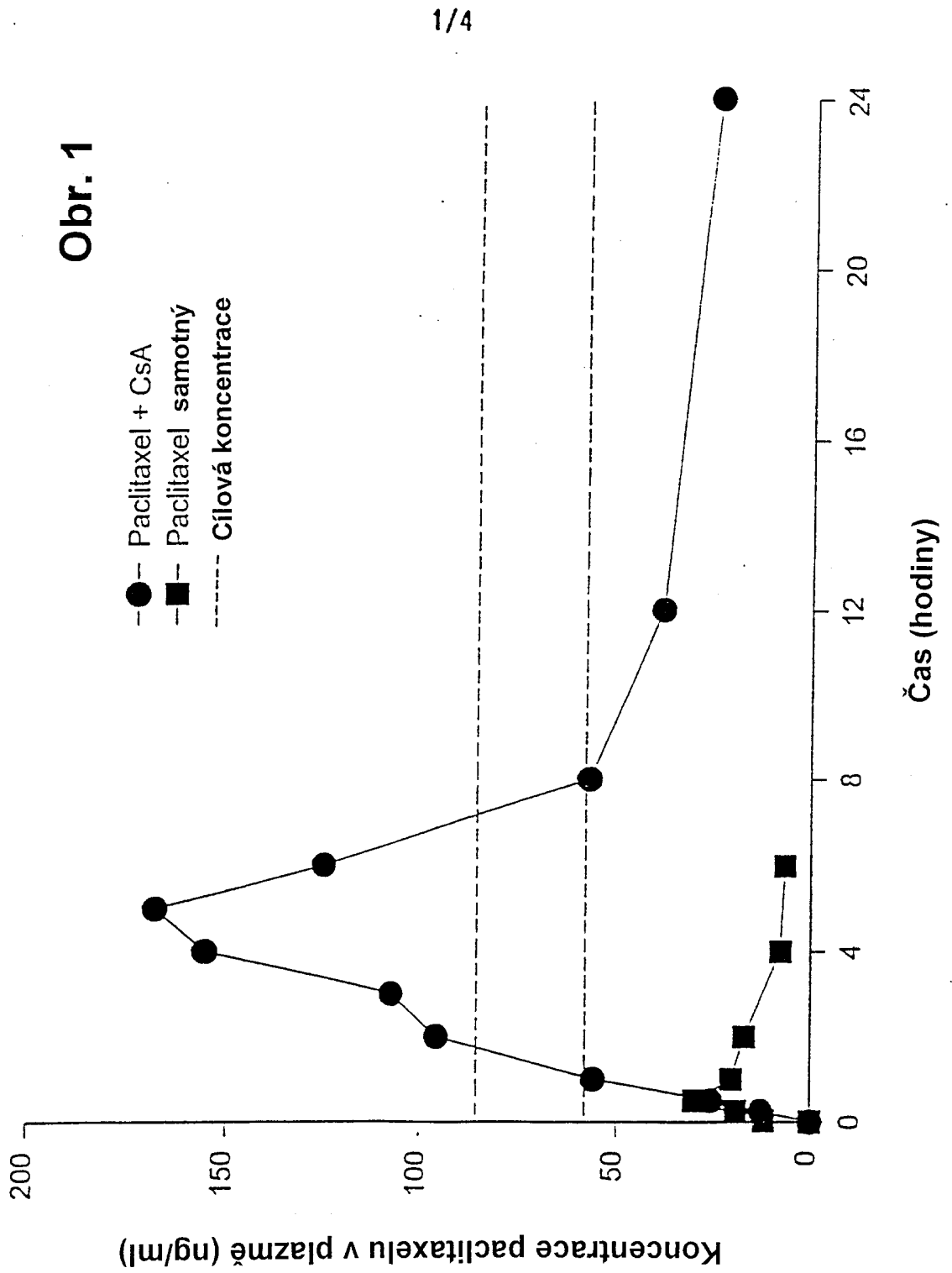
32. Použití podle nároku 31, při kterém je činidlo zesilující biologickou dostupnost vybráno ze skupiny zahrnující cyklosporin A, cyklosporin C, cyklosporin D, cyklosporin F, dihydrocyklosporin A, dihydrocyklosporin C a acetylcyklosporin A.

33. Použití podle nároku 32, při kterém toto činidlo zesilující biologickou dostupnost je cyklosporin A.

Zastupuje :

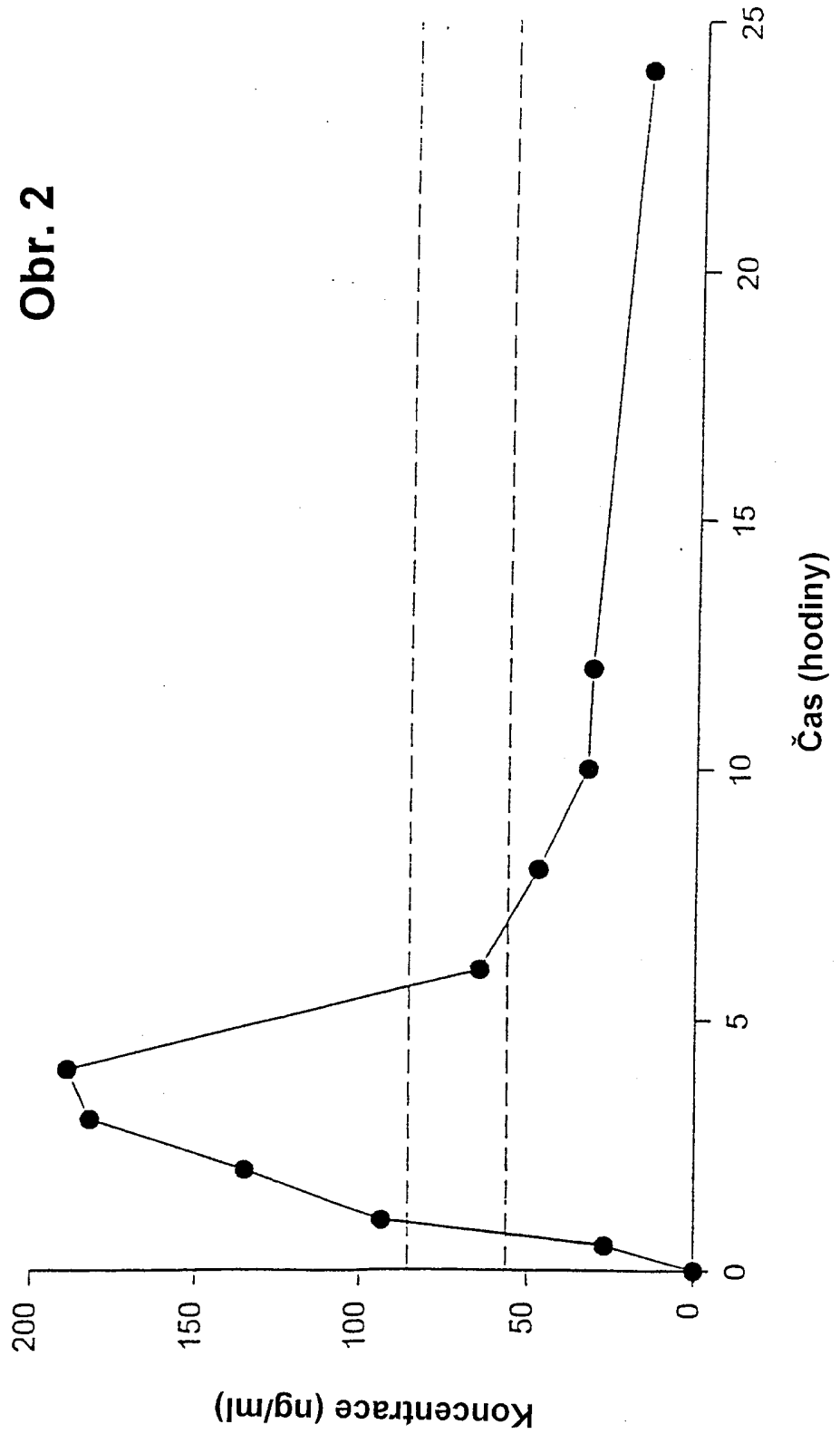
Dr. Miloš Vsetečka

Obr. 1



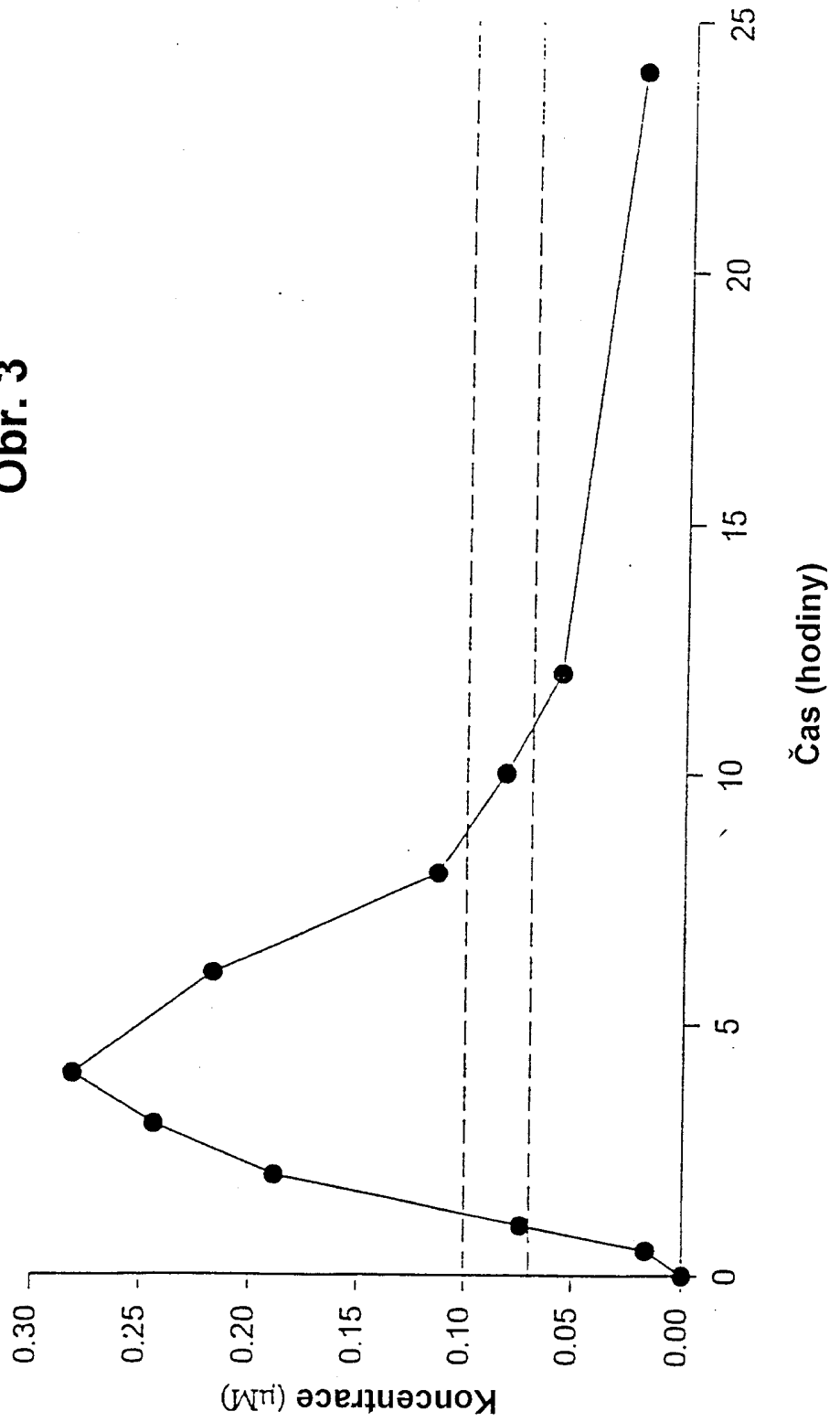
2/4

Obr. 2



3/4

Obr. 3



4/4

Obr. 4

