

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

(19) **BG**

(11) **65597 B1**



ОПИСАНИЕ КЪМ ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

(51) Int.Cl.

A 61 K 31/138 (2006.01)

A 61 P 13/08 (2006.01)

A 61 P 35/00 (2006.01)

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Заявителски № 105022

(22) Заявено на 05.12.2000

(24) Начало на действие
на патента от: 07.05.1999

Приоритетни данни

(31) 60/084,602 (32) 07.05.1998 (33) US

(41) Публикувана заявка в
бюлетин № 7 на 31.07.2001

(45) Отпечатано на 27.02.2009

(46) Публикувано в бюлетин № 2
на 27.02.2009

(56) Информационни източници:
US 4696949; US5491173; US5571534;
US5605700; US 4990538; US 5595722;
US5599844; US 5629007; US 5635197;
US 5595985; US 4329364; US 4474813

(62) Разделена заявка от рег. №

(73) Патентоприетел(и):

THE UNIVERSITY OF TENNESSEE RESEARCH
CORPORATION, KNOXVILLE, TN 37996-1527,
SUITE 403, 1534 WHITE AVENUE (US)

(72) Изобретател(и):

Mitchell S. Steiner
Sharon Raghov

Germantown, TN 38138 (US)

(74) Представител по индустриална
собственост:

Красимира Дамянова Цоцова, 1113 София,
ул. "Ген. Щерю Атанасов" 5

(86) № и дата на PCT заявка:

PCT/US1999/010146, 07.05.1999

(87) № и дата на PCT публикация:

WO1999/056739, 11.11.1999

(54) **ИЗПОЛЗВАНЕ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕН СЪСТАВ ЗА ПОЛУЧАВАНЕ НА СРЕДСТВО ЗА ПРОФИЛАКТИКА, ПОТИСКАНЕ ИЛИ ИНХИБИРАНЕ НА ПРОСТАТНА КАНЦЕРОГЕНЕЗА**

(57) Методът се състои в лечение на пациенти с ефективна доза от химиопрофилактично средство, торемифен и негови производни аналози или метаболити за предпазване от възникването и потискане или инхибиране на простатната канцерогенеза. Методът е сигурен и ефективен за потискане или инхибиране на латентния рак на простата и е особено полезен за лечение на пациенти с повишен риск от развитие на рак на простата, например, които са с доброкачествена хиперплазия на простатата, интраепителиална неоплазия на простатата (PIN) или ненормално високо ниво на циркулиращи специфични антители на простата (PSA), или които са фамилно обременени с тази болест.

18 претенции, 6 фигури

BG 65597 B1

**(54) ИЗПОЛЗВАНЕ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕН
СЪСТАВ ЗА ПОЛУЧАВАНЕ НА СРЕДСТВО
ЗА ПРОФИЛАКТИКА, ПОТИСКАНЕ ИЛИ
ИНХИБИРАНЕ НА ПРОСТАТНАТА КАНЦЕ-
РОГЕНЕЗА**

Област на техниката

Изобретението се отнася до химиопрофи-
лактиката на рака на простатата и по-точно, до
използване на фармацевтичен препарат за полу-
чаване на средство за профилактика на
възникване, на потискане или инхибиране на
простатната канцерогенеза, чрез въвеждане на
даден субект/пациент на ефективна доза от
средството.

Техническа същност на изобретението

Ракът на простатата е един от най-често
възникващия рак сред мъжете в Съединените
щати, със стотици хиляди новооткрито диагнос-
тицирани случаи всяка година. За съжаление, ус-
тановено е, че над 60 % от новооткритите слу-
чайи на рак на простатата са патологично
напреднали, без възможност за лечение и с ло-
ша прогноза. Един опит да се доближим до този
проблем е да открием по-рано рака на простата-
та чрез скрининг програми и по този начин да
намалим броя на пациентите с напреднал рак на
простатата. Друга стратегия, обаче, е развитието
на лекарства за профилактика на рака на
простатата. Една трета от всички мъже над 50-
годишна възраст имат латентна форма на рака
на простатата, която може да бъде активирана в
живогозастрашаваща клинична форма на рак на
простатата. Показано е, че честотата на латент-
ните тумори на простатата нараства съществено
с всяко десетилетие от 50-те (5,3-14%) до 90-те
(40-80%). Броят на хора с латентен рак на про-
статата е еднакъв по отношение на култура, на-
родност и раса, докато честотата на клинично
агресивния рак е забележимо различна. Това
предполага, че факторите на средата могат да иг-
раят роля при активиране латентния рак на
простатата. Така, развитието на химиопрофилак-
тични стратегии срещу рака на простатата може
да има най-голямото цялостно влияние, както
медицински, така и икономически, върху рака
на простатата.

Поради високата честота и смъртност от
рак на простатата, развитието на химиопрофи-
лактични стратегии срещу това опустошително
заболяване е наложително. Разбирането на тези
фактори, които спомагат за простатната канце-
рогенеза, включително започването, първоначал-
ното проявяване и напредването на рака на
простатата, ще осигури доказателства на моле-
кулярно ниво за точните моменти на намеса за
профилактика или спиране на процеса на
канцерогенеза. Нужни са спешно нови подходи,
както на фундаментално научно, така и на кли-
нично ниво, за намаляване честотата на рака на
простатата, а също така за спиране или намаля-
ване латентния рак на простатата. Тъй като чес-
тотата на рака на простатата се покачва драма-
тично в същата възраст, когато мъжете са под-
ложени на други, конкуриращи се с тази, при-
чини за смъртността, както по-подходяща, така
и по-ефективна здравна стратегия, може да бъ-
де просто забавяне напредването на процеса на
аденокарцинома на простатата.

Съществуват различни начини на химиопро-
филактика на рака на простатата. Greenwald
"Expanding Horizons in Breast and Prostate Cancer
Prevention and Early Detection" в J. Cancer
Education, 1993, Vol.48, N 2, p. 91-107, разглеж-
да изпробването на инхибитори на 5 α -редукта-
зата, такива като финастерид, за предпаз-
ването от рака на простатата. Brawley et al.
"Chemoprevention of Prostate Cancer" в Urology,
1994, Vol. 43, N 5, също споменава инхибитори-
те на 5 α -редуктазата, както и дифлуормети-
лорнитин и ретиноидите, като потенциални хи-
миопрофилактични средства.

Kelloff et al., "Introductory Remarks:
Development of Chemopreventive Agents for
Prostate Cancer" в Journal of Cellular Biochemistry,
1992, Supplement 16H: 1-8, описва доклинични-
те изследвания на Националния институт по ра-
кови заболявания за седем вещества: всичките
транс-N-(4-хидроксифенил)ретинамид,
дифлуорметилорнитин, дехидроепиандростерон,
лиарозол, ловестатин, олтипраз и финастерид.

Lucia et al., "Chemopreventive Activity of
Tamoxifen, N-(4-Hydroxyphenyl)retinamid, and the
Vitamin D Analogue Ro24-553 1 for Androgen-
promoted Carcinomas of the Rat Seminal Vesicle
and Prostate" в Cancer Research, 1995, Vol. 55,
p. 5621-5627, съобщава за химиопрофилактика

на карциноми на простатата при Lobund-Wistar плъхове чрез тамоксифен, модификатор на естрогеновия отговор.

Както се обсъжда в Potter et al., "A mechanistic hypothesis for DNA adduct formation by tamoxifen following hepatic oxidative metabolism" в *Carcinogenesis*, 1994, Vol. 15, N 3, p. 439-442, тамоксифен причинява чернодробна канцерогенеза при плъхове, което се свързва с образуването на ковалентни ДНК продукти на присъединяване. Там се съобщава също, че тамоксифеновият аналог торемифен, който показва много по-ниско ниво на образуване на чернодробни ДНК продукти на присъединяване, отколкото тамоксифен, е неканцерогенен.

Торемифенът е пример за трифенилалкеново съединение, описано в US 4,696,949 и 5,491,173 на Toivola et al., разкритията на който са включени тук чрез позоваване. Парентералното и локалното приложение върху бозайници на средства, съдържащи торемифен, са описани в US 5,571,534 на Jalonen et al., и в US 5,605,700 на De Gregorio et al., чиито разкривания са включени тук чрез позоваване.

Средства, съдържащи торемифен за напълно променяне на полилекарствената резистентност към раковите клетки към цитотоксично лекарство, са описани в US 4,990,538 на Harris et al., чието разкриване е включено тук чрез позоваване. US 5,595,722 и US 5,599,844 на Grainger et al., чиито разкривания са включени тук чрез позоваване, описват методи за идентифициране на средства, които увеличават нивата на TGFR и орално приложените средства, съдържащи активатори на TGFR и стимулатори на произвеждането на TGFR за профилактика и лечение на условия, характеризирани се с ненормална пролиферация на гладкомускулни клетки, например, съдова травма. Разкритите вещества за увеличаване нивата на TGFR включват тамоксифен и неговия аналог - торемифен.

US 5,629,007 и US 5,635,197 на Audia et al., чиито разкрития са включени тук чрез позоваване, описват метод за предпазване развитието на рак на простатата при риск от развитие на такъв рак, например, пациент, имащ доброкачествена хиперплазия на простатата, чрез въвеждането на пациента на октахидробензо[f]хинолин-3-он съединение.

US 5,595,985 на Labrie, чието разкритие е

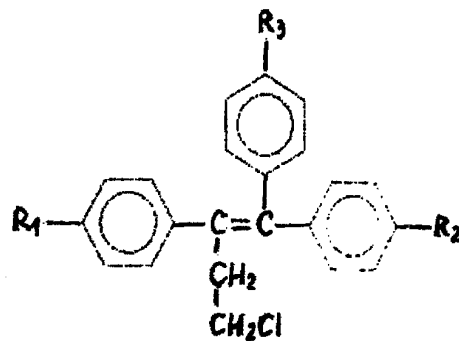
включено тук чрез позоваване, също описва метод за лечение на доброкачествена хиперплазия на простатата, използвайки съчетание на инхибитор на 5 α -редуктаза и съединение, което свързва и блокира достъпа до андрогеновите рецептори. Един пример на съединение, което блокира андрогеновите рецептори, е флутамид.

US 4,329,364 и US 4,474,813 на Neri et al., чиито разкрития са включени тук чрез позоваване, описват фармацевтични препарати, съдържащи флутамид за забавяне и/или предпазване от проява на карцином на простатата. Препаратът може да бъде под формата на капсула, таблетка, супозитории или елексир. Освен тези разработвания, има постоянна нужда от средства и методи, ефективни за предпазване от рак на простатата. Настоящото изобретение е насочено към задоволяване на тази потребност.

Резюме на изобретението

Изобретението се отнася до използване на фармацевтичен препарат за получаване на средство за профилактика на възникване на потискане или инхибиране на простатната канцерогенеза, чрез въвеждане на даден субект/пациент на ефективна доза от химиопрофилактичното средство торемифен и негови аналози или метаболити, за предпазване от възникване на лечение, потискане или инхибиране на простатната канцерогенеза.

Съгласно изобретението на пациент се въвежда фармацевтичен препарат от химиопрофилактично средство с формула



където R_1 и R_2 са еднакви или различни и са H или OH, R_3 е $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NR}_4\text{R}_5$, където R_4 и R_5 , са еднакви или различни и са H или алкилна група с 1 до около 4 въглеродни атоми; и техните фармацевтично приемливи

носители, разредители, соли, естери или N-оксиди и производните им смеси.

Средството по изобретението осигурява потискане или инхибиране на латентния рак на простатата и е особено полезно за третиране на субекти с повишен риск от развитие на рак на простатата, например, тези с доброкачествена хиперплазия на простатата, интраепителиална неоплазия на простатата (PIN), или аномално високо ниво на циркулиращи специфични антитела на простатата (PSA), или тези, които са фамилно обременени с рак на простатата.

Пояснение на приложените фигури

Фигура 1 представлява графика, показваща химиопрофилактичните ефекти на торемифен при TRAMP модела;

фигури 2A-2C - H&E срезове, показващи вентрални простатни клетки при нормални мишки и карцином на простатата при TRAMP мишки, включени в изследването;

фигура 3 - ефект на торемифен върху вентралното развитие на простатата при TRAMP мишка;

фигура 4 - ефект на торемифен върху възникването на тумор при TRAMP мишки;

фигура 5 - ефект на торемифен върху развитието на тумор при TRAMP модела;

фигури 6A-6B - сравнение на ефектите на плацебо с тези на торемифен върху туморното нарастване.

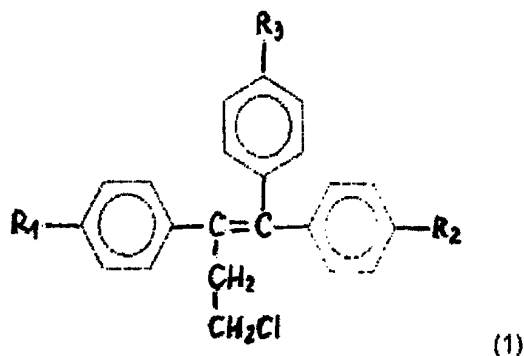
Подробно описание на изобретението

Изобретението се отнася до използване на фармацевтичен препарат за получаване на средство за предпазване от простатната канцерогенеза, за потискане или инхибиране на рака на простатата, за намаляване риска от развитие на рак на простатата, и за увеличаване честотата на преживяемост на субекти / пациенти, използващи простатно химиопрофилактично средство, торемифен, негови аналози и метаболити.

Както е показано, торемифен е простатно химиопрофилактично средство. В проведените опити, простатните жлези били действително разрязани и оценката е както хистологична, така и чрез цялостен хистологичен анализ. Торемифен е изпробван, също така, за лечението на рака на простатата чрез обработване на LNCaP ксеноп-

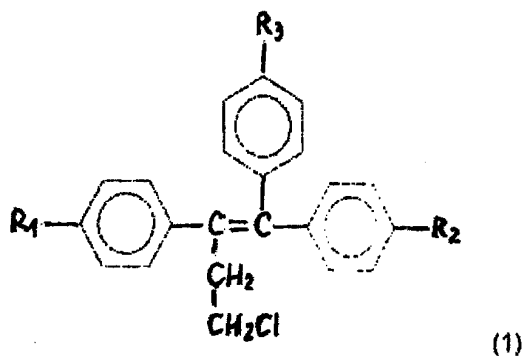
рисадки при голи мишки. Както е показано, данните са твърде явни не само за това, че торемифен е потиснал растежа, но че торемифен действително е бил в състояние да предизвика намаляване на туморите.

Съгласно изобретението се получава средство за профилактика на простатната карциногенеза, осъществяваща се чрез въвеждането на бозайници на фармацевтичен препарат на химиопрофилактично средство с формула



където R_1 и R_2 , които могат да бъдат еднакви или различни, са H или OH, R_3 е $OCH_2CH_2NR_4R_5$, където R_4 и R_5 , които могат да бъдат еднакви или различни, са H или алкилна група с 1 до около 4 въглеродни атоми; и техните фармацевтично приемливи носители, разредители, соли, естери или N-оксиди и производните им смеси.

Настоящото изобретение осигурява използването на фармацевтичен състав за профилактика на възникване, потискане или инхибиране на простатната канцерогенеза или увеличаване честотата на оцеляване на субектите с рак на простатата, съдържащ химиопрофилактично средство с формула



където R_1 и R_2 , които могат да бъдат ед-

накви или различни, са Н или ОН, R₃ е OCH₂CH₂NR₄R₅, където R₄ и R₅, които могат да бъдат еднакви или различни, са Н или алкилна група с 1 до около 4 въглеродни атоми; и техните фармацевтично приемливи носители, разреждатели, соли, естери или N-оксиди и производните им смеси.

Настоящото изобретение осигурява средство за потискане или инхибиране на латентния рак на простатата и е особено полезен за третиране на субекти с повишен риск от развитие на рак на простатата, например, тези с доброкачествена хиперплазия на простатата, интраепителиална неоплазия на простатата (PIN), или ненормално високо ниво на циркулиращи специфични антитела на простатата (PSA), или тези, които са фамилно обременени с рак на простатата.

Съединението 4-хлор-1,2-дифенил-1-[4-[2-(N,N-диметиламино)етокси]фенил]-1-бутен с формула (1), където R₁ и R₂ са Н и R₄ и R₅ са метил, се нарича торемифен. Показано е, че торемифен е сигурно и ефективно противотуморно съединение и притежава хормонални ефекти като естрогенно или антиестрогенно средство, в зависимост от използваната доза. При въвеждане, торемифен има няколко метаболити, които също са биологично активни.

Това изобретение осигурява също за използване аналози или производни метаболити на торемифен, които са добре известни на специалистите в областта. Други примери на химиопрофилактични средства с формула (1) са следните: 4-хлор-1,2-дифенил-1-[4-[2-(N-метиламино)етокси]фенил]-1-бутен; 4-хлор-1,2-дифенил-1-[4-[2-(N,N-диетиламино)етокси]фенил]-1-бутен; 4-хлор-1,2-дифенил-1-[4-(аминоетокси)фенил]-1-бутен; 4-хлор-1-(4-хидроксифенил)-1-[4-[2-(N,N-диметиламино)етокси]фенил]-2-фенил-1-бутен; 4-хлор-1-(4-хидроксифенил)-1-[4-[2-(N-метиламино)етокси]фенил]-2-фенил-1-бутен; и 4-хлор-1,2-бис(4-хидроксифенил)-1-[4-[2-(N,N-диметиламино)етокси]фенил]-1-бутен.

Това изобретение обхваща чисти (Z)- и (E)-изомери на съединенията и производните им смеси, както и чисти двойки на (RR,SS)- и (RS,SR)-енантиомерни двойки и производните им смеси.

Съединенията на веществото с формула (1) могат да бъдат приготвени съгласно процедури,

описани в US 4,696,949 и US 5,491,173 на Toivola et al.

Изобретението включва фармацевтично приемливи соли на аминокзаместени съединения с органични и неорганични киселини, например, лимонена киселина и солна киселина. Изобретението включва също N-оксиди на аминокзаместители на съединенията с формула (1). Фармацевтично приемливи соли могат да бъдат приготвени също от фенолни съединения чрез третиране с неорганични бази, например, натриев хидроксид. Също така, естери на фенолните съединения могат да бъдат направени с алифатни и ароматни карбоксилни киселини, например, оцетна киселина и естери на бензоената киселина.

Както се използва тук, "фармацевтичен състав" означава терапевтично ефективни количества от средството заедно с подходящи разреждатели, консерванти, разтворители, емулгатори, добавки и/или носители. "Терапевтично ефективно количество", както се използва тук, се отнася до това количество, което осигурява терапевтичен ефект при дадени условия и режим на въвеждане. Такива състави са течности или лиофилизирани или изсушени по друг начин средства и включват разреждатели с различно буферно съдържание (например, Трис-НСl, ацетат, фосфат), рН и йонна сила, добавки, такива като албумин или желатин за предотвратяване абсорбция към повърхности, детергенти (например, Tween 20, Tween 80, Pluronic F68, соли на жлъчна киселина), разтварящи вещества (например, глицерол, полиетиленглицерол), антиоксиданти (например, аскорбинова киселина, натриев метабисулфит), консерванти (например, тимезорал, бензилов алкохол, парабени), обемни пълнители или тонусни регулатори (например, лактоза, манитол), ковалентно свързване на полимери, такива като полиетиленгликол към белтъка, образуване на комплексни съединения с метални йони или обединяване на веществото във или с особени препарати на полимерни съединения, такива като полиоцетна киселина, полигликолова киселина, хидрогелове и други, или върху липозоми, микроемулсии, мицели, еднослойни или многослойни везикули, следи на еритроцити или сферопласти. Такива състави ще повлияят на физическото състояние, разтворимостта, стабилността, скоростта на освобождаване *in vivo* и скоростта на клирънс *in vivo*. Съставите, ко-

ито се освобождават контролирано или поддържано включват средство в липофилни депа (напр. мастни киселини, парафини, масла). Също така, приети от изобретението са определени състави, покрити с полимери (напр. полуксамери или полуксамини). Друга страна на съставите на изобретението включва особени форми на защитни покрития, инхибитори на протеаза или такива, усилващи проникването за различни начини на въвеждане, включително парентерален, белодробен, назален или орален. От една страна, фармацевтичният състав се въвежда парентерално, около тумора, трансмукозно, трансдермално, мускулно, венозно, интрадермално, подкожно, интраперитонеално, интравентрикуларно, интракраниално и интратуморно.

По-нататък, както се използват тук, "фармацевтично допустими носители" са добре известни на специалистите в областта и включват, но не се ограничават само до 0,01-0,1 M и за предпочитане 0,05 M фосфатен буфер или 0,8% физиологичен серум. Освен това, такива фармацевтично приемливи носители, могат да бъдат водни или неводни разтвори, суспензии или емулсии. Примери на неводни разтворители са пропиленгликол, полиетиленгликол, растителни масла, такива като зехтин и органични естери за инжектиране, такива като етилолеат. Водните носители включват вода, алкохолни/водни разтвори, емулсии или суспензии, включвайки физиологичен разтвор и буферна среда. Парентералните пълнители включват разтвор на натриев хлорид, Рингерова декстроза, декстроза и натриев хлорид, Рингерови лактати или фиксирани масла. Венозните пълнители включват течни и хранителни напълнители, електролитни напълнители, такива като тези на основата на Рингерова декстроза и подобните. Може да има също такива консерванти и други добавки като, например, антимикуробни, антиоксидантни, свързващи вещества, инертни газове и подобните.

Терминът "добавка" се отнася до съединение или смес, която усилва имунния отговор на антиген. Добавката може да служи като тъканно депо, което бавно освобождава антигена и също като активатор на лимфната система, който неспецифично усилва имунния отговор (Hood et al., *Immunology*, Second Ed., 1984, Benjamin**Cummings*: Menlo Park, California, p. 384). Често, първоначалният конфликт само с

антиген, при отсъствието на добавка, няма да успее да предизвика хуморален или клетъчен имунен отговор. Добавката включва, но не се ограничава само до това, пълна добавка на Freund, непълна добавка на Freund, сапонин, минерални гелове, такива като алуминиев хидроксид, повърхностно активни вещества, такива като лизолецитин, сериен многовалентен алкохол(и), полианиони, пептиди, масла или хидрокарбонатни емулсии, хемоцианини, динитрофенол и добавки, които могат да се използват при хората, такива като BCG (*bacille Calmette-Guenin*) и *Corynebacterium parvum*. За предпочитане е добавките да са фармацевтично приемливи.

Съставите с контролирано или поддържано освобождаване включват средства в липофилни депа (напр. мастни киселини, парафини, масла). Също възприети от изобретението са определени състави, покрити с полимери (напр. полуксамери или полуксамини) и съединението, свързано към антигела срещу тъканно-специфични рецептори, лиганди или антигени или свързано към лиганди на тъканно-специфични рецептори.

Други страни на съставите на изобретението обхващат определени форми на защитни покрития, протеазни инхибитори или форми, усилващи проникването за различни начини на въвеждане, включително парентерален, белодробен, назален или орален. Известно е, че съединенията, модифицирани от ковалентното прикрепване на водно-разтворими полимери, такива като полиетиленгликол, кополимери на полиетиленгликол и полипропиленгликол, карбоксиметилова целулоза, декстран, поливинилалкохол, поливинилпирилодон или полипролин, показват съществено по-дълъг живот в кръвта след венозно инжектиране, отколкото това правят съответните немодифицирани съединения (Abuchowski et al., 1981; Newmark et al., 1982; и Katre et al., 1987). Такива модификации могат също да усилят разтворимостта във воден разтвор на съединението, да отстранят агрегацията, да усилят физическата и химическата стабилност на съединението.

От друга страна, фармацевтичният състав може да бъде предоставен в система за контролирано освобождаване. Например, средството може да бъде приложено, използвайки венозна инфузия, имплантираща се осмотична

помпа, трансдермален пластир, липозоми или други начини на приложение. От друга страна, може да бъде използвана помпа (виж Langer, supra; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)). От друга страна, могат да бъдат използвани полимерни вещества. От друга страна, проксимално на терапевтичната мишена, т.е. мозък, може да бъде поставена система за контролирано освобождаване, така че е необходимо само фракция на системната доза (виж напр. Goodson, в Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)). За предпочитане е да се въведе уред за контролирано освобождаване в субекта проксимално на страната на неподходяща имунна активация или тумора. В обзора на Langer (Science 249:1527-1533 (1990)) се обсъждат други системи за контролирано освобождаване.

Средството по настоящото изобретение осигурява профилактика на простатната канцерогенеза чрез въвеждане на субект на бозайници на фармацевтичен препарат, съдържащ химиопрофилактично средство или негов производен метаболит или сол. Фармацевтичният препарат може да се състои само от химиопрофилактично средство или може да включва освен това фармацевтично приемлив носител и може да бъде в твърда или течна форма, такава като таблетки, прахове, капсули, пилули, разтвори, суспензии, елексири, емулсии, гелове, кремове или супозитории, включително ректални и уретрални супозитории. Фармацевтично приемливи носители включват смоли, скорбяли, захарни целулозни материали и техни смеси, фармацевтичният препарат, съдържащ химиопрофилактичното средство, може да бъде въведен на субект чрез, например, подкожно имплантиране на пилули; в следващия момент пилулята осигурява контролирано освобождаване на химиопрофилактичното средство за определен период от време. Препаратът също може да бъде приложен чрез венозно, артериално или мускулно инжектиране на течен препарат, орално въвеждане на течен или твърд препарат или чрез локално въвеждане. Въвеждането може да бъде извършено чрез използването на ректален супозитории или уретрален супозитории. Фармацевтичният препарат може да бъде също в парентерално средство: от една страна, средството се състои от липозома,

която включва комплекс на химиопрофилактично средство, такова като, например, торемифен и циклодекстриново съединение, както е описано в US 5,571,534 на Jalonon et al.

5 Фармацевтичните препарати на изобретението могат да бъдат приготвени чрез известни процеси на разтваряне, смесване, гранулиране или образуване на таблета. За орално въвеждане, химиопрофилактичните средства или техните физиологично допустими производни, такива като естери, N-оксиди и подобните, се смесват с добавки, обичайни за тази цел, такива като пълнители, стабилизатори или инертни разредители, и се превръщат чрез обичайни методи в подходяща за въвеждане форма, такава като таблетки, филм-таблети, твърди или меки желатинови капсули, водни, алкохолни или маслени разтвори. Примери за подходящи инертни пълнители са стандартни таблетни основи, такива като лактоза, захароза или царевично нишесте в съчетание със свързващи вещества, такива като акация, царевично нишесте, желатин или разпадащи средства, такива като царевично нишесте, картофено нишесте, алгинова киселина, или с лубрикант, като стеаринова киселина или магнезиев стеарат. Примери на подходящи маслени пълнители или разтворители са растителни или животински масла, такива като слънчогледово масло или рибено масло. Препаратите могат да бъдат ефективни, както като сухи, така и като мокри гранули. За парентерално въвеждане (подкожна, венозна, артериална или мускулна инжекция), химиопрофилактичните средства или техните физиологично допустими производни, такива като соли, естери, N-оксиди и подобните, са превърнати в разтвор, суспензия или емулсия, ако е желателно с вещества, обичайни и подходящи за тази цел, например, разтворители или други спомагателни вещества. Примери са стерилни течности, такива като вода и масла, със или без добавяне на повърхностно активно вещество и други фармацевтично приемливи добавки. Показателни масла са петроленото, животинското, растителното или със синтетичен произход, например, фъстъчено масло, соево масло или минерално масло. Като цяло, водата, физиологичният разтвор, водната декстроза и свързаните захарни разтвори и гликолите, такива като пропиленгликоли или полиетиленгликол са предпочитани течни носители, особено за раз-

твори за инжектиране.

Приготвянето на фармацевтични състави, които съдържат активна съставка, е добре известно на специалистите в областта. Обичайно, такива състави се приготвят като аерозол на полипептид, прилаган към назофаринкса или като инжекции, било като течни разтвори или суспензии, обаче твърдите форми, подходящи за разтвори или суспензии за инжектиране, също могат да бъдат приготвени като предварително са втечнени. Препаратът може да бъде също емулгиран. Активната терапевтична съставка често е смесена с инертни пълнители, които са фармацевтично приемливи и съвместими с активната съставка. Подходящи инертни пълнители са, например, вода, физиологичен серум, декстроза, глицерол, етанол или подобни и техни комбинации. Освен това, ако е желателно, съставът може да съдържа много малки количества от спомагателни вещества, такива като умокрящи или емулгиращи средства, рН буферни средства, които усилват ефективността на активната съставка.

Активна съставка може да бъде включена в състава на съединението като неутрализирани фармацевтично приемливи соли форми. Фармацевтично приемливи соли включват киселите адитивни соли (образувани със свободните аминоксидни групи на полипептида или молекулата на антигена) и които са образувани с неорганични киселини, такива като, например, солна или фосфорна киселина, или такива органични киселини като оцетна, оксалова, винена, бадемова и подобните. Солите, образувани от свободните карбоксилни групи също могат да бъдат производни на неорганични основи, такива като, например, натриева, калиева, амониева, калциева или железни хидроксиди и такива органични основи като изопропиламин, триметиламин, 2-етиламино етанол, хистидин, прокаин и подобните.

За локално въвеждане към телесните повърхности, използвайки, например, кремове, гелове, капки и подобните, химиопрофилактичните средства или техните физиологично допустими производни, такива като соли, естери, N-оксиди и подобните, се приготвят и прилагат като разтвори, суспензии или емулсии във физиологично приемлив разтворител, със или без фармацевтичен носител.

От друга страна, активната съставка може да бъде във везикула, в частност в липосома (виж Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat et al., в Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, пак там, pp. 317-327; виж изцяло пак там).

Фармацевтичните смеси на настоящото изобретение са особено полезни за лечение на субект, който е с повишен риск от развитие на рак на простатата. Високорискови субекти включват, например, тези, които имат доброкачествена хиперплазия на простатата, простатна интраепителиална неоплазия (PIN) или ненормално високо ниво на циркулиращи простатни специфични антитела (PSA) или които са фамилно обременени с рак на простатата.

Освен това, простатното химиопрофилактично средство може да бъде въведено в съчетание с други цитокинини или фактори на растежа, включително, но не само: IFN гама или алфа, IFN-бета; интерлевкин (IL) 1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, туморен некротичен фактор (TNF) алфа, TNF-бета, фактор, стимулиращ гранулоцитната колония (G-CSF), фактор, стимулиращ колонията на гранулоцити/макрофаги (GM-CSF); допълнителни молекули, включващи членове на интегриновата суперфамилия и членове на Ig суперфамилия, такива като, но не ограничени само до тях, LFA-1, LFA-3, CD-22 и B7-1, B7-2 и ICAM-1 T-клетъчни костимулаторни молекули.

Химиопрофилактичното средство може да предшества или да следва лечение с ДНК разрушаващо средство с интервали от няколко минути до седмици. Протоколите и методите са известни на специалистите в областта. ДНК разрушаващите средства или фактори са известни на специалистите в областта и означават всяко химично съединение или метод на лечение, който включва ДНК разрушаване, когато се приложи към клетка. Такива средства и фактори включват облъчване и вълни, които включват ДНК разрушаване, такива като гама облъчване, рентгеново лъчи, УВ облъчване, микровълни, електронни излъчвания и подобните. Разнообразни химични съединения, описани също като "химиопрофилактични средства", действат за предизвикване на ДНК разрушаване, като всички

са с цел използване в комбинирани лечебни методи, разкрити тук. Химиотерапевтичните средства, които се възнамерява да бъдат използвани, включват, например, адриамицин, 5-флуорурацил (5FU), етопозид (VP-16), камптотетин, актиномицин-D, митомицин С, цисплатин (CDDP) и даже водороден пероксид. Изобретението обхваща също използването на съчетание на едно или повече ДНК разрушаващи средства, било на основата на облъчване или действителни съединения, такава като използването на рентгенови лъчи с цисплатин или използването на цисплатин с етопозид.

От друга страна, локализираната туморна страна може да бъде облъчена с ДНК разрушаващо облъчване, такава като рентгенови лъчи, УВ светлина, гама лъчи или дори микровълни. Друга възможност е туморните клетки да бъдат в контакт с ДНК разрушаващо вещество чрез въвеждане на субекта на терапевтично ефективно количество от фармацевтичен състав, съдържащ ДНК разрушаващо съединение такава като адриамицин, 5-флуорурацил, етопозид, камптотетин, актиномицин-D, митомицин С или по-за предпочитане, цисплатин. Средствата, които разрушават ДНК, включват също съединения, които се намесват в репликацията, митозата и хромозомното разделяне на ДНК. Такива химиотерапевтични съединения включват адриамицин, също известен като доксорубицин, етопозид, верапамил, подофилоксин и подобните. Други фактори, които предизвикват ДНК разрушаване и са широко използвани, включват известните често като гама лъчи, рентгенови лъчи и/или насоченото освобождаване на радиоизотопи към туморните клетки. Разглеждат се също други форми на ДНК разрушаващи фактори, такива като микровълни и УВ облъчване. Най-вероятно е всички тези фактори да влияят в широки граници на разрушаването на ДНК, на предшествениците на ДНК, репликацията и възстановяването на ДНК, както и обединяването и поддържането на хромозомите.

Както веднага може да бъде оценено от един обикновен специалист в областта, методите и фармацевтичните състави на настоящото изобретение са особено подходящи за въвеждане на бозайници, за предпочитане на човешки субект.

Междинните крайни биомаркери са изме-

рими биологични изменения в тъканите, които възникват между началното и крайното развитие на изразената неоплазия. Допуска се, че моделирането на един или повече междинни крайни биомаркери чрез химиопрофилактично средство може да отрази истинското потискане на канцерогенезата. Биомаркер трябва да бъде утвърден като такъв, ако крайната точка, раковото разпространение, също бъде намалено чрез предполагаемото химиопрофилактично средство. Междинните биомаркери при рака могат да бъдат класифицирани в следните групи: хистологични, пролиферативни, диференциращи и биохимични маркери. При всяка химиопрофилактична тактика, наличността на хистологично разпознати и възприети преканцерозни увреди образуват важен начален момент. За простатата, възможен хистологичен маркер е простатната интраепителиална неоплазия (PIN), която е преканцерозен предшественик на простатния аденокарцином. PIN се появява като патологична пролиферация в самите простатни канали на премалигнени фокуси на клетъчна дисплазия и карцином *in situ* без инвазия на стромата. PIN и хистологичният рак на простатата са морфометрично и фенотипично подобни. Така, развитието на високостепенна интраепителиална неоплазия, може да отразява важен етап в напредването на патологията, докато нормалната простата развива интраепителиална неоплазия, хистологичен рак на простатата, инвазивен клиничен рак на простатата и метастази.

Следните примери са представени с цел по-пълно да илюстрират предпочитаните страни на изобретението. Те не бива, обаче, в никакъв случай да се тълкуват като ограничаващи обхвата на изобретението.

Раздел на експерименталните подробности

Пример 1. Простата на трансгенна мишка с аденокарцином

Изследването на химиопрофилактиката на рака на простатата е било спъвано от липсата на подходящи животински модели. Последното развитие на модел на простата на трансгенна мишка с аденокарцином (TRAMP) позволи изучаването на химиопрофилактиката. При модела на TRAMP, който е описан в Greenberg et al., "Prostate cancer in a transgenic mouse", Proc. Natl Acad. Sci. USA, 4995, Vol. 92, pp. 3439-3443, PB-

SV40 трансгенът на големия Т антиген (PB-Tag) е изразен специфично в епителниалните клетки на мишката простата. В резултат на това, този модел има няколко предимства над досега съществуващите модели: 1) мишките развиват прогресивни форми на простатна епителниална хиперплазия най-рано на 10-седмична и инвазивен аденокарцином около 18-седмична възраст; 2) моделът на метастазно разпространение на рака на простатата наподобява човешкия рак на простатата с обичайните страни на метастазите в лимфен възел, бял дроб, бъбрек, надбъбречна жлеза и кост; 3) развитието, както и напредването на рака на простатата може да бъде проследено за относително кратък период от 10-30 седмици; 4) туморите се появяват със 100% честота; и 5) животните могат да бъдат изследвани за наличието на трансгена на рака на простатата преди появата на клиничен рак на простатата за директно изпробване на лечението с химиопрофилактични средства, които могат да променят простатната канцерогенеза.

Моделът на трансгенната TRAMP мишка е отличен модел *in vivo* за определяне механизмите на започване и първи прояви на рака на простатата и за изпробване ефективността на потенциалните химиопрофилактични средства. Тези мишки прогресивно развиват епителниална хиперплазия на простатата, PIN и след това рак на простатата в течение на кратък период (< 17 седмици).

Химиопрофилактичното лечение на хибридни TRAMP мишки се започва 30 дни след раждане, използвайки химиопрофилактичните средства до ниво от около 0,5-50 mg/kg телесно тегло/ден, за предпочитане около 6-30 mg/kg телесно тегло/ден. Химиопрофилактичните средства обикновено са предложени в 21-дневни и 90-дневни пилули (приготвени от Innovative Research of America, Sarasota, FL) и освобождаващи се като подкожни импланти. Контролните животни получават плацебо импланти. Във всяка група, лекувана с лекарства, животните се убиват на 5-, 7-, 10-, 15-, 20-, 25-, 30-, 40- и 50-седмична възраст до развитието на тумор, който може да бъде палпиран. Кръвта се събира за етапите на лечение за оценка на промените в серумния тестостерон и естрадиол. Тъканите на простатата се събират за морфометрични, хистологични и молекулни изследвания.

Прилагат се следните опитни процедури.

1. Цялостен анализ на простатата се извършва на серии за определяне промените в морфологията на каналите на простатата за времето със и без лечение; примерите са показани на фиг. 2. Срезове на тъканта се оценяват хистологично чрез H&E и стандартното Masson-trichrome оцветяване. Спешността на PIN се оценява и степенува (I - лека до III - тежка).

2. Нивата на серумния естрадиол и общия тестостерон се измерват (RIA) за всеки възрастов интервал да се оценят всякакви промени в тези хормони като резултат от химиопрофилактичните средства.

Пример 2. Анализ на имунохистохимичните данни

Микроскопските образи на всеки срез на тъканта са оценени чрез използване на компютърно (компютър Mac 9500-132 и монитор) образно количествено определяне (NIH-образ 1,6 PPC), използвайки камера Kodak DCS 460 на микроскоп Nikon Microphot-FX и количествено определяне чрез използване на колориметричен анализ за количествено определяне на системния образ (IPLab Spectrum 3.1, Scanalytics, Inc., VA), който разграничава разликите в цвета на оцветените тъканни срезове. Праговете са нагласени да се идентифицират различните тъканни съставки на простатата. Плътноста на пикселната площ, съответстваща на всеки от тези тъканни съставки, се изчислява за всеки пълнен екран на цветния монитор. Средно се правят общо 5 скрининга на срезове на простатата. Имунохистохимичните образи могат да бъдат дигитализирани и количествено определени, за да е възможна статистическата оценка чрез определяне на корелационните коефициенти на пробата и вероятността (2-tailed).

Пример 3. Изучаване на химиопрофилактичната активност

Извършено е проучване за изследване ефикасността на химиотерапевтичните средства при трансгенни TRAMP животни (PBTag X FVBwt) (извършено от Dr. Norman Greenberg, Baylor College of Medicine, TX). Тези мишки показали предварително признаци на рак на 10-седмична възраст. Трансгенните TRAMP мъжки малки били изследвани цялостно за голям T ag трансген и позитивните мъжки били използвани в проучването. Антиестрогеновият

торемифен, който е бил изследван за възможните му химиопрофилактични ефекти, бил включен в обичайните пилюли (Innovative Research of America, Sarasota, FT) и химиопрофилактичното лечение на мишките било започнато постнатално на 30 ден (средно тегло на мишка 14 g). Четири групи от по 10-12 животни всяко получило подкожни импланти на пилюли, съдържащи торемифен, освобождаващ се 90 дни. Дифундиращата лекарствена доза, приспособена за свързаните с растежа промени в теглото, е направена така, че да отделя или ниска доза (6 mg/kg) или висока доза (30 mg/kg) торемифен. Контролните животни (n = 10) получили плацебо импланти. Ефикасността на лечението се измерва чрез отсъствието на туморна формация, която може да се палпира. Мишите простатни тумори били събирани и оценявани чрез молекулни и хистологични техники.

Използвайки трансгенния TRAMP модел на рака на простатата, при който всяко животно, което е наследило гена на рака на простатата, развива рак на простатата, се показва, че торемифенът увеличава латентния период, както и намалява честотата на рака на простатата.

Както е показано във фигура 1 ефектите и

на ниската и на високата доза на торемифена са ефективни. Туморната формация при венстралната простата на TRAMP мишка е била забелязана на 17 седмица за плацебо групата (n = 10), на 19 седмица за лекуваната с висока доза торемифен група (n = 12), и на 28 седмица за лекуваната с ниска доза торемифен група (n = 12). Така 5 лечения с торемифен съществено увеличават латентния период до 11 седмици за развитието на рак във венстралната простата на TRAMP мишките.

Тъй като животните, лекувани с торемифен не достигат момента на 50% развитие на тумора по време на периода на изследване, времето, в което 25% от животните имат тумор, е било сравнено между групите. Туморите са се палпирани в 25% от 10-те животни на 23 седмица в плацебо групата и на 30-31 седмица в групите, лекувани с високи и ниски дози торемифен, забавяне от 7-8 седмици. Както групата на ниска доза торемифен, така и тази на висока доза торемифен, сравнена с плацебо били достоверни според анализа на Log Rank и според този на Wilcoxon, както е показано по-долу в Таблица 1.

Таблица 1- Статистически анализ

	Log-Rank p	Wilcoxon p
Ниска доза торемифен спрямо плацебо	0.0003*	
0.0004*		
Висока доза торемифен спрямо плацебо	0.0017*	
0.0071*		
*достоверност P < 0.05		

На 33 седмица, момент, когато всички контролни животни са развили тумори, 72% от животните, лекувани с ниски дози торемифен и 60% от тези с високи дози, били все още без тумор. Така, лечението с торемифен, както при ниски, така и при високи дозировки, довежда до голямо понижаване честотата на туморите при TRAMP мишките с вентрална простата.

Тези резултати, получени според настоящото изобретение, не би могло да бъдат предказани от тези, съобщени в предишните доклади на Lucia et al., които описват въвеждане на две нива на дозировка на тамоксифен (близък структурен аналог на торемифена) на Lobund-Wistar плъхове, които имат рак на простатата, предизвикан от лечението със съчетание на причинител и активатор. В позоваването на Lucia et al. се съобщава, че само 22-26% от животните, получаващи по-ниска доза и само 32-50% от тези, получаващи по-висока доза тамоксифен, останали без тумори в предната простата. Трябва да се отбележи, че предната простата на гризач, за разлика от нейната вентрална простата, няма съответстващ сегмент в простатата на човешкия субект.

В Lucia et al. се изтъква по-нататък, че използваното съчетание на причинител-активатор в описаните процедури, въпреки че е ефективно при предизвикване на рак в предната простата на изследваните животни, не е успяло да предизвика рак във вентралната простата. Поради това, няма основание да се очаква химиопрофилактичен ефект върху туморите във вентралната простата чрез въвеждане на тамоксифен на Lobund-Wistar плъхове или на човек.

Както вече беше обсъждано, въвеждането на торемифен предизвиква съществен химиопрофилактичен ефект срещу тумори във вентралната простата на TRAMP мишки. Този резултат е обнадеждаващ за подобен благоприятен ефект върху човешки субекти, чиито простати включват сегмент, съответстващ на вентралната простата на гризачите.

Пример 4. Хистологично изследване на простатната тъкан

Туморите от групата на плацебо и групата, лекувана с висока доза торемифен по време на палпацията били оценени хистологично. Фигура 2А е Н&Е срез на вентралната простата на 17-седмична нормална възрастна мишка. Фигура 2В,

срез на вентралната простата на плацебо лекувана 16-седмична TRAMP мишка, показва, че за разлика от нормалната структура на простатата, очертана във фигура 2А, вентралната простата на TRAMP мишката се характеризира със слоеве недиференцирани, анапластични клетки с висок митотичен индекс. Обратно на това, както е показано на фигура 2С, простатата на 30-седмична TRAMP мишка, лекувана с торемифен, запазва много от нормалната жлезиста структура и на туморите с по-диференцирана структура, като митотичният индекс е много по-нисък от този за животните, лекувани с плацебо. Тези резултати показват, че торемифенът, дори при ниска дозировка, е в състояние да потисне простатната канцерогенеза при TRAMP модела.

Пример 5. Използване на химиопрофилактичната ефикасност на торемифен срещу рака на простатата при модела на TRAMP мишка

Този експеримент потвърждава и демонстрира химиопрофилактичната ефикасност на торемифена. Това настоящо изследване се съсредоточава върху хистологичните и молекулни промени, свързани с развитието на тумор на простатата при контролни животни и механизма на химиопрофилактичното взаимодействие на торемифена с TRAMP животни, които са отгледани, след проведен скрининг, и лекувани с пилули с продължително освобождаване на лекарство. В предварително определено време групи от 5 животни били убивани и техните простати били отделени за анализ. Простатните жлези били оценени за наличието на тумор чрез хистология, цялостни дисекции и имунохистохимия на големия Т антиген. До днес, плацебо и торемифен лечението са били завършени за 7-, 10-, 15- и 20-седмичен период от време и резултатите са описани по-долу.

Резултати: Цялостните простати за 7, 10, 15 и 20 седмици за различните групи са завършени. Цялостният анализ разкри, че мишките, лекувани с плацебо, развиват тумори на простатата на 15-20-седмична възраст подобно на предишни помощни изследвания. Нещо повече, животните, лекувани с торемифен, са с по-късно появяване на рака на простатата до 20 седмици (фигура 3). От 20 седмици, има удивително забавяне на появяването на тумора до 35 седмици в групата, лекувана с торемифен

(Фигура 4). Тези данни потвърждават, че дори с по-чувствителна оценка на онкологичността, торемифенът показва химиопрофилактична активност. За хистологична оценка, тъканните проби били фиксирани, обработени и залети с парафин. Срезове (5 µM дебелина) били направени и оцветени по рутинния H&E метод. Торемифен инхибира развитието на каналите и тъканната диференциация (сравнява 17-седмичен тумор на простатата на TRAMP мишка с този на див тип (Фигура 4); b) хистология на простата, лекувана с торемифен сравнена с плацебо на 15 седмици (фигура 5). Количествено, имунохистохимия на тъкани, лекувани с плацебо и торемифен, показва наличие на Т-антиген във вентралната простата. Така, химиопрофилактичната активност, наблюдавана от торемифен не се явява чрез супресия на туморния активатор при TRAMP модела.

Заключения: Възможността на торемифен да предпази възникването на рак на простатата в TRAMP модела е потвърдена, използвайки по-чувствителни техники за оценка на туморното образуване. Механизмът на химиопрофилактичните ефекти на торемифен не се явява чрез загуба на трансген за белтъка на големия Т-антиген.

Пример 6. Предизвикана от торемифен регресия на установените ракови тумори на простатата при човек в модела на голи мишки

Ракът на простатата остава най-често диагностицирания рак при американските мъже. Обаче, въпросите за етиологията и лечението на това заболяване, особено при напредналите форми, остават. Хормоналната терапия остава стандартния метод на лечение за рецидив и напреднал рак на простатата, независимо от общото развитие на хормон резистентна болест. Поради това, са необходими нови подходи за профилактика и лечение на рака на простатата,

за да приспособят нарастващия брой мъже с тази диагноза. Опитите и резултатите по-долу показват, че торемифенът потиска растежа на хормонално чувствителния LNCaP тумор при голите мишки с липса на тимус.

Материали и методи: Един милион LNCaP клетки в Matrigel били подкожно инжектирани във всеки хълбок на голите мишки с липса на тимус. Общо 40 мишки били инжектирани. След приблизително 3-4 седмици се развили видими тумори. След записване на туморния размер в две измервания, мишките били разделяни на плацебо група и група, лекувана на основата на еквивалентно отежняване на тумора. Единична пилюля (плацебо или торемифен 35 mg) била подкожно имплантирана между скапулите на всяка мишка. Седмичните измервания на размера на тумора се записвали. Обемът на тумора бил изчисляван (обем на тумора = $0.5(L+W) \times L \times W \times 0.5236$, където L = туморната дължина и W = широчина). Туморният обем по време на имплантиране на пилюлята служи като момент на съотношение за по-нататъшното сравнение на варирането на размера на този тумор. Седмичните вариации на всеки обем на тумора се записват като процентна разлика от първоначалното измерване при имплантиране на пилюлята.

Резултати: Две мишки починали скоро след имплантирането на пилюлята в резултат на смъртоносни наранявания от други мишки. Една мишка, лекувана с торемифен, била изключена от изследването в резултат на прекалено голяма хеморагия от тумора и образуването на хематом. Всички мишки развили видими тумори едностранно или двустранно. Всеки тумор е проследен независимо в течение на изследването. 24 тумори били лекувани с плацебо и 28 тумори били лекувани с торемифен. Резултатите са показани в Таблица 2 и фигура 6A и 6B.

Таблица 2

ПЛАЦЕБО ГРУПА

Седмица	N=	% Промяна в обема относно ден 0 на лечение
3	11	9.44
4	8	115.27
5	8	271.71
6	8	600.88

ТОРЕМИФЕН

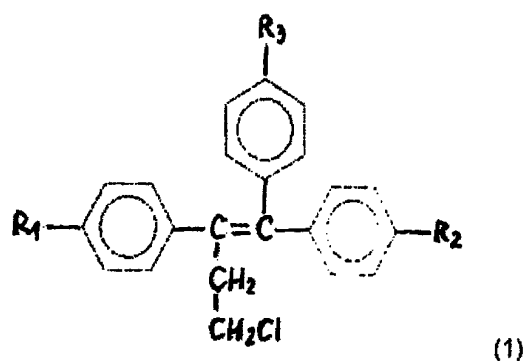
Седмица	N=	% Промяна в обема относно ден 0 на лечение
3	11	-34.58
4	7	-61.01
5	7	-74.51
6	5	-61.72

Интервалите на проследяване ще бъдат разширени при сегашната съобщена популация и ще бъдат събрани данни върху допълнителни животни.

Заклучение: Торемифен потиска и предизвиква регресия на установени LNCaP тумори. Въпреки че механизмът, по който торемифен упражнява този ефект е неизвестен, възможността да създава тези ефекти поддържа използването на торемифен като лечение на рака на простатата и за профилактика на рецидива на рака на простатата при високорискови пациенти с установени микрометастази на рака на простатата.

Патентни претенции

1. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав, съдържащ химическо средство с формула



където R_1 и R_2 са еднакви или различни и са H, или OH; R_3 е $OCH_2CH_2NR_4R_5$, където R_4 и R_5 са еднакви или различни и са H, или алкилова група с 1 до 4 въглеродни атома и техни фармацевтично приемливи соли, естери или N-оксиди и техни смеси за профилактика на рецидив на простатна канцерогенеза.

2. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претен-

ция 1, където споменатият препарат съдържа фармацевтично приемлив носител.

3. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 2, където носителът е избран от групата, състояща се от смола, нишесте, захар, целулозен материал и техни смеси.

4. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 1, където пелета, съдържаща споменатия фармацевтично приготвен състав се имплантира подкожно на пациент.

5. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 4, където пелетата е осигурена за контролирано отделяне на фармацевтичния препарат за период от време.

6. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 1, където споменатият фармацевтичен състав в течна форма се инжектира интравенозно, интраартериално или интрамускулно на пациент.

7. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 1, където течен или твърд препарат, съдържащ споменатия фармацевтичен състав се прилага орално на пациент.

8. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 1, където споменатият фармацевтичен състав се прилага локално на повърхността на кожата на пациент.

9. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 1, където фармацевтичният състав е избран от групата, състояща се от пелета, таблетка, капсула, разтвор, суспензия, емулсия, елексир, гел, крем и супозитории.

10. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 9, където супозиторият е ректален супозиторий, или уретрален супозиторий.

11. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 1, където фармацевтичният състав е парентална формулировка.

12. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 11, където парентерално средство съдържа липосома, съдържаща комплекс от химио-

рофилактично средство и циклодекстриново съединение.

13. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 1, където химиопрофилактичното средство съдържа торемифен, негови N-оксид, фармацевтично приемливи соли и техни смеси.

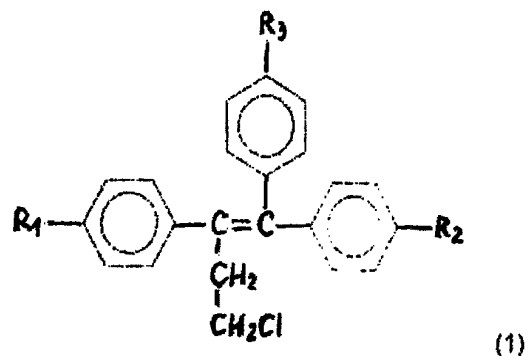
14. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 1, където прилагането се провежда при доза от около 0.5 mg/kg телесно тегло на пациента/ден до около 50 mg/kg телесно тегло на пациента/ден от споменатото химиопрофилактично средство.

15. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 14, където прилагането се провежда при около 6 mg/kg телесно тегло на пациента/ден до около 30 mg/kg телесно тегло на пациента/ден от химиопрофилактичното средство.

16. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 1, където пациентът има повишен риск от рак на простатата.

17. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав съгласно претенция 16, където пациентът има доброкачествена хиперплазия на простатата, интраепителиална неоплазия на простатата (PIN), или аномално високо ниво на циркулиращо специфично анти тяло (PSA).

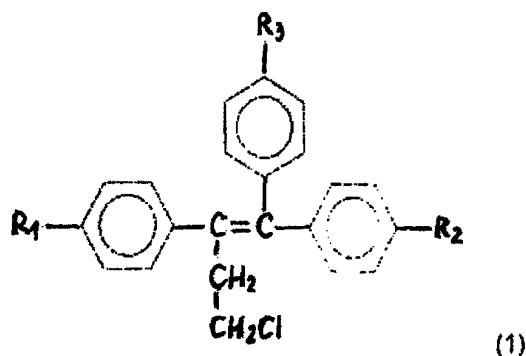
18. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав, съдържащ химиопрофилактично средство с формула



където R_1 и R_2 са еднакви или различни и са H или OH; R_3 е $OCH_2CH_2NR_4R_5$, където R_4 и R_5 са еднакви или различни и са H, или алкилова група с 1 до 4 въглеродни атома и техни фарма-

цветично приемливи соли, естери, или N-оксиди и техни смеси за профилактика на рецидива, за потискане или инхибиране на простатна канцерогенеза при пациент с рак на простатата.

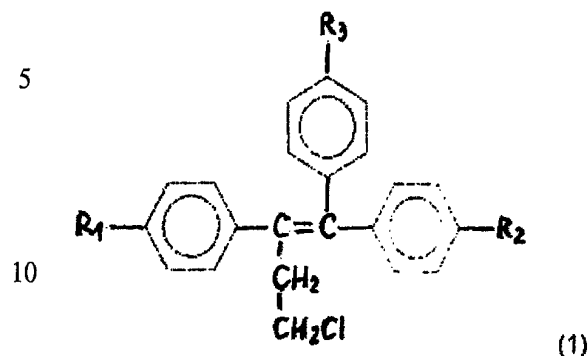
19. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав, съдържащ химиопрофилактично средство с формула



където R_1 и R_2 са еднакви или различни и са H, или OH; R_3 е $OCH_2CH_2NR_4R_5$, където R_4 и R_5 могат да бъдат еднакви или различни и са H, или алкилова група с 1 до 4 въглеродни атома и техни фармацевтично приемливи соли, естери, или N-оксиди и техни смеси за получаване на средство за потискане или инхибиране на пре-канцерогенните прекурсори на рак на простатата.

20. Използване на терапевтично ефективна доза от фармацевтичен състав, съдържащ хи-

миопрофилактично средство с формула



където R_1 и R_2 са еднакви или различни и са H, или OH; R_3 е $OCH_2CH_2NR_4R_5$, където R_4 и R_5 могат да бъдат еднакви или различни и са H, или алкилова група с 1 до 4 въглеродни атома и техни фармацевтично приемливи соли, естери, или N-оксиди и техни смеси за лечение на пре-канцерогенни прекурсори на рак на простатата.

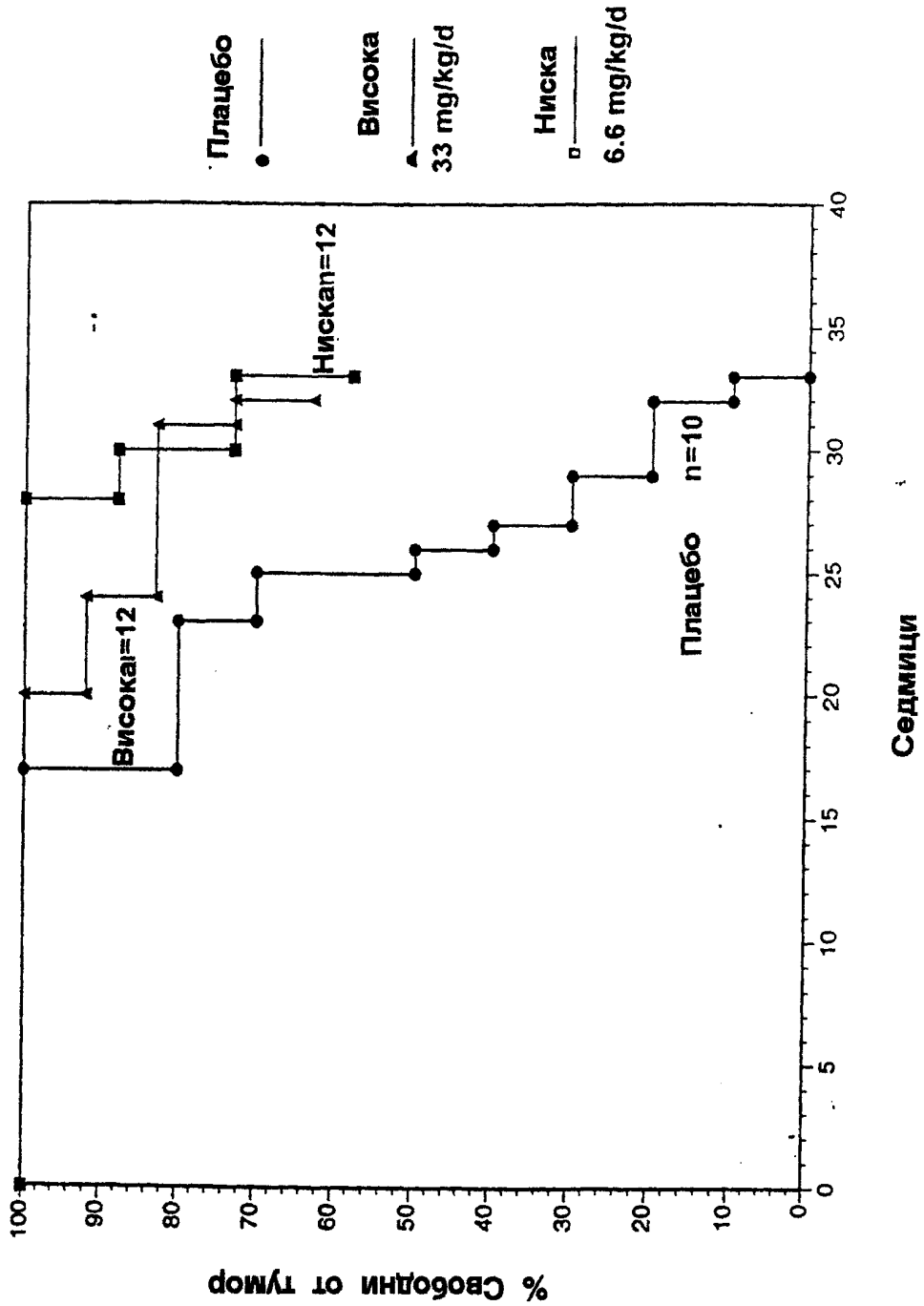
21. Използване съгласно претенция 19 или 20, където пре-канцерогенният прекурсор на простатен аденокарцином е простатна интраепителна неоплазия (PIN).

22. Използване съгласно претенция 21, където простатната интраепителна неоплазия е високо простатна интраепителна неоплазия (HPIN).

Приложение: 6 фигури

ФИГУРА 1

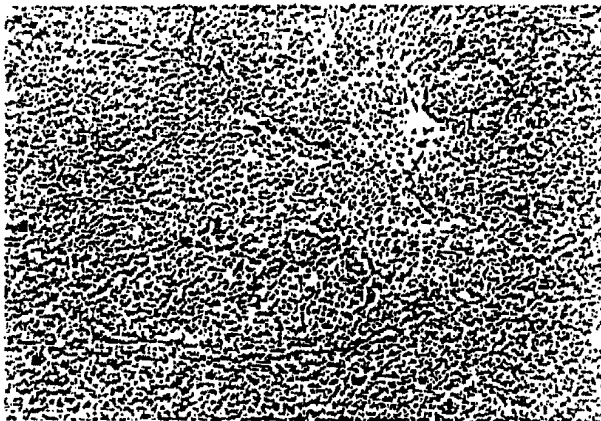
Химиопрофилактични ефекти на торемифен в TRAMP модела



ФИГУРА 2



A. Нормална вентрална простата на възрастна мишка 17 седм (увел. 200 пъти)



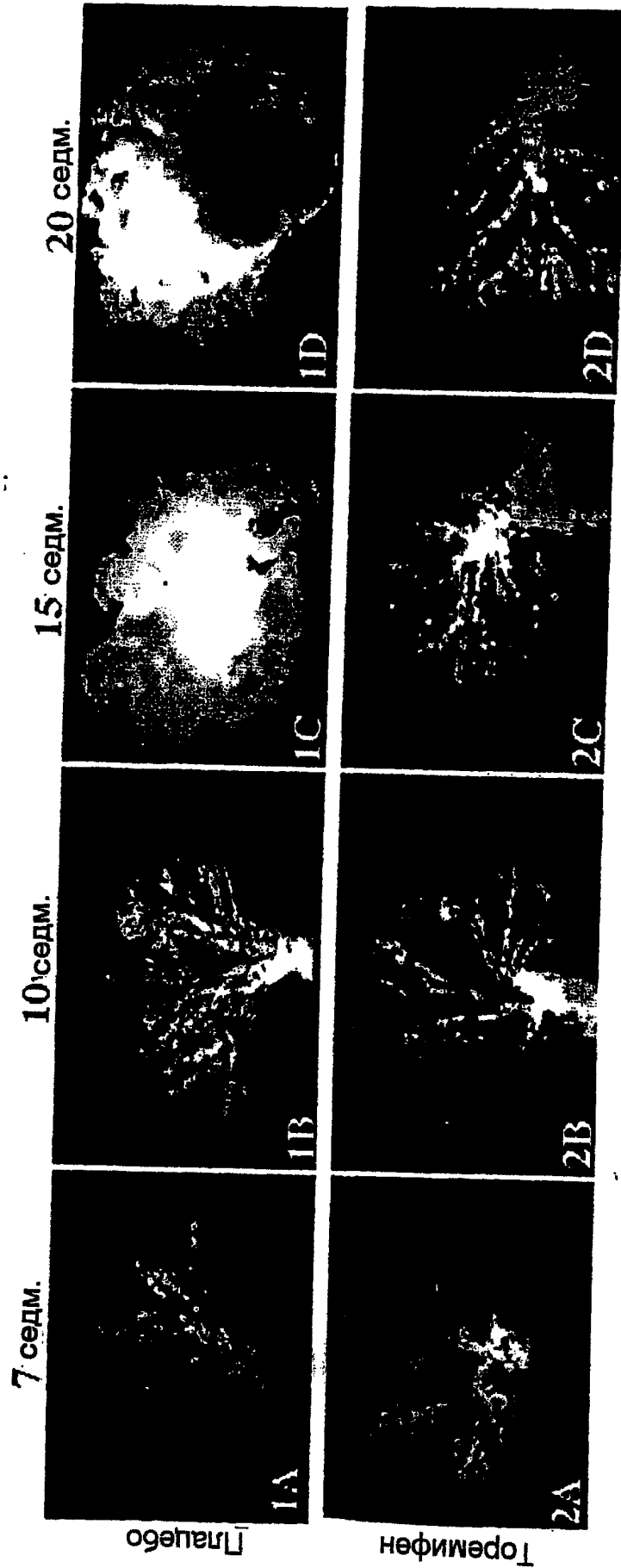
B. Аденокарцином на простатата при TRAMP мишки, лекувани с плацебо 16 седм. (увел. 200 пъти)



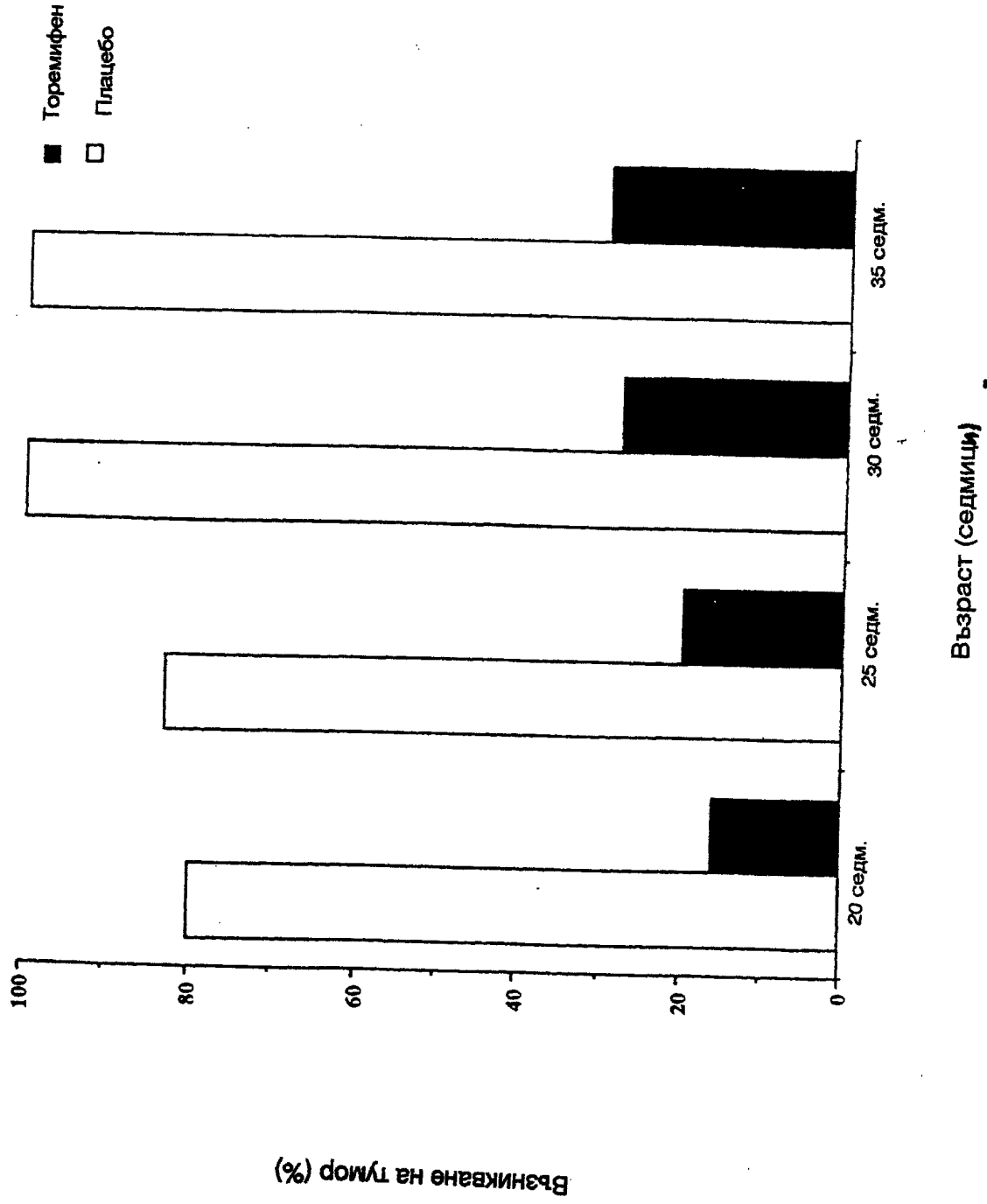
C. Аденокарцином на простатата при TRAMP мишки, лекувани с торемифен 30 седм. (увел. 200 пъти)

ФИГУРА 3

Ефект на Торемифен върху вентралното развитие на простатата при TRAMP мишка



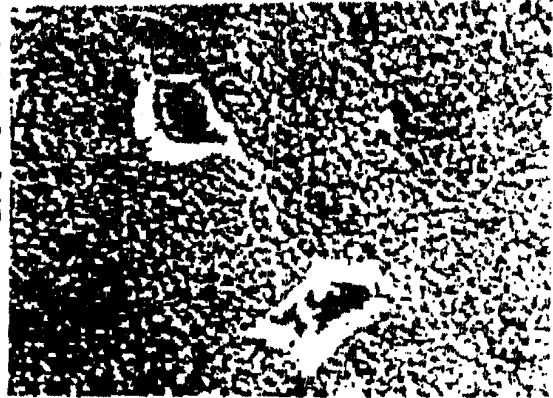
ФИГУРА 4





Див тип - вентрална простата
- 17 седм.

7 седм.



TRAMP - вентрална простата
- 17 седм.

15 седм.

Плацебо



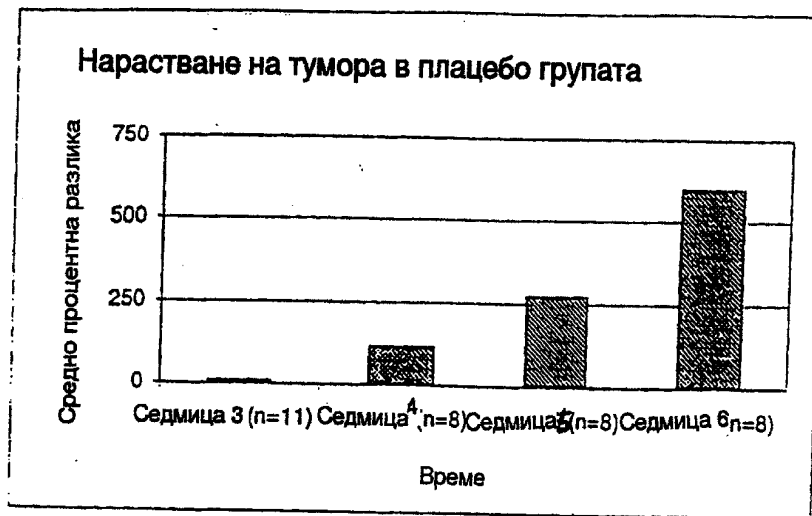
Торемифен



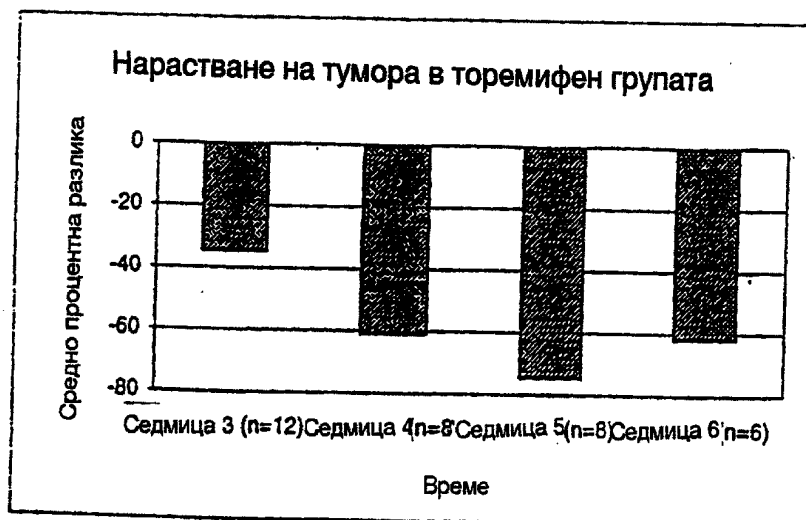
Ефект на Торемифен върху развитието на тумор при TRAMP
модела (H&E оцветяване на тъканта на простатата)

ФИГУРА 5

ФИГУРА 6



Време след лечение	%промяна спрямо ден 0
Седмица 3 (n=11)	9.44
Седмица 4 (n=8)	115.27
Седмица 5 (n=8)	271.71
Седмица 6 (n=8)	600.88



Време след лечение	%промяна спрямо ден 0
Седмица 3 (n=12)	-34.58
Седмица 4 (n=8)	-61.01
Седмица 5 (n=8)	-74.51
Седмица 6 (n=6)	-61.72

Издание на Патентното ведомство на Република България
1797 София, бул. "Д-р Г. М. Димитров" 52-Б

Експерт: К. Аничина

Пор. № 65421

Тираж: 40 СР