

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043782**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.06.22

(51) Int. Cl. *A61K 47/61* (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
202190614

(22) Дата подачи заявки
2019.10.23

(54) **КОНЬЮГАТ ПАКЛИТАКСЕЛА И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЛЕЧЕНИИ
МЫШЕЧНО-НЕИНВАЗИВНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**

(31) **102018000009731**

(32) **2018.10.25**

(33) **IT**

(43) **2021.06.30**

(86) **PCT/IB2019/059073**

(87) **WO 2020/084525 2020.04.30**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ФИДИЯ ФАРМАЧЕУТИЧИ С.П.А.
(IT)**

(72) Изобретатель:
**Москони Джорджо, Ябес Даниела,
Пиццокарро Карло (IT)**

(74) Представитель:
Носырева Е.Л. (RU)

(56) BASSI P F ET AL.: "Paclitaxel-Hyaluronic Acid for Intravesical Therapy of Bacillus Calmette-Guerin Refractory Carcinoma In Situ of the Bladder: Results of a Phase I Study", JOURNAL OF UROLOGY, LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, BALTIMORE, MD, US, vol. 185, no. 2, 1 February 2011 (2011-02-01), pages 445-449, XP027595068, ISSN: 0022-5347, DOI: 10.1016/J.JURO.2010.09.073 [retrieved on 2011-01-09] page

446, column 1, paragraph 3 page 446, column 2, last paragraph abstract

WO-A2-2004035629

ISABELLA MONIA MONTAGNER ET AL.:

"Paclitaxel-hyaluronan hydrosoluble bioconjugate: Mechanism of action in human bladder cancer cell lines", UROLOGIC ONCOLOGY: SEMINARS AND ORIGINAL INVESTIGATIONS, vol. 31, no. 7, 1 October 2013 (2013-10-01), pages 1261-1269, XP055414808, AMSTERDAM, NL ISSN: 1078-1439, DOI: 10.1016/j.urolonc.2012.01.005 page 1267, column 1, paragraph 3

ROSATO A ET AL.: "HYTAD1-p20: A new paclitaxel-hyaluronic acid hydrosoluble bioconjugate for treatment of superficial bladder cancer", UROLOGIC ONCOLOGY: SEMINARS AND ORIGINAL INVESTIGATIONS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 24, no. 3, 1 May 2006 (2006-05-01), pages 207-215, XP028071920, ISSN: 1078-1439, DOI: 10.1016/J.UROLONC.2005.08.020 [retrieved on 2006-05-01]

MONICA CAMPISI ET AL.: "ONCOFID(TM)-P a Hyaluronic Acid Paclitaxel Conjugate for the Treatment of Refractory Bladder Cancer and Peritoneal Carcinosis", CURRENT BIOACTIVE COMPOUNDS, vol. 7, no. 1, 1 March 2011 (2011-03-01), pages 27-32, XP055599334, ISSN: 1573-4072, DOI: 10.2174/157340711795163848

(57) Описана фармацевтическая композиция, по сути состоящая из пролекарства на основе паклитаксела, в сочетании с фармакологически приемлемыми разбавителями/вспомогательными веществами для применения в лечении мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (NMIBC) посредством внутривезикулярных инстилляций в соответствии с одной дозой в неделю, составляющей 600 мг, указанного пролекарства или двумя дозами в неделю, в сумме составляющими 1200 мг, в течение 12 или 6 последовательных недель лечения. Применяемое пролекарство на основе паклитаксела получено в соответствии со способом непрямого синтеза с использованием молекул гиалуроновой кислоты (НА) и паклитаксела посредством введения спейсера (4-броммасляной кислоты) между гиалуроновой кислотой и химиотерапевтическим средством.

B1**043782****043782 B1**

Объект изобретения

В изобретении описана фармацевтическая композиция, по сути состоящая из пролекарства на основе паклитаксела, в сочетании с фармакологически приемлемыми разбавителями/вспомогательными веществами для применения в лечении мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (NMIBC) посредством внутрипузырных инстилляций в соответствии с терапевтической схемой, которая включает введение одной дозы в неделю, составляющей 600 мг, указанного пролекарства, или двух доз в неделю, в сумме составляющих 1200 мг, в течение 12 или 6 последовательных недель лечения.

Применяемое пролекарство на основе паклитаксела получено в соответствии со способом непрямого синтеза с использованием молекул гиалуроновой кислоты (НА) и паклитаксела посредством введения спейсера (4-броммасляной кислоты) между гиалуроновой кислотой и химиотерапевтическим средством.

Область техники, к которой относится изобретение

Злокачественные опухоли мочевого пузыря обычно образуются из его эпителиальной ткани и, следовательно, являются видами карциномы. Только в очень немногих случаях рак мочевого пузыря имеет другое происхождение и, следовательно, он относится к видам меланомы, лимфомы или саркомы. Большинство опухолей мочевого пузыря представляют собой переходные (или уротелиальные) виды карциномы, поскольку они возникают из переходного эпителия. Виды плоскоклеточной карциномы и аденокарциномы мочевого пузыря встречаются гораздо реже.

Опухоль, которая поражает детрузорную мышцу, называется мышечно-инвазивной карциномой (MIBC), поскольку она имеет склонность к метастазированию путем распространения в лимфатические узлы или другие органы, однако приблизительно 75-85% впервые диагностированных пациентов имеют мышечно-неинвазивную карциному мочевого пузыря (NMIBC), которая классифицируется как:

Та, папиллярная карцинома, ограниченная поверхностью слизистой оболочки (приблизительно 70% NMIBC);

T1, папиллярная карцинома, которая проходит через слизистую оболочку (приблизительно 20% NMIBC);

CIS (карцинома in situ), плоская опухоль, ограниченная слизистой оболочкой, зачастую множественная (приблизительно 10% NMIBC), с высокой степенью анаплазии, считается предшественником мышечно-инвазивной карциномы.

Наиболее распространенным симптомом рака мочевого пузыря является гематурия (кровь в моче), у 78,3% пациентов проявляется макрогематурия или макроскопическая гематурия, видимая невооруженным глазом. Подозрение на карциному также может наблюдаться у пациентов с неспецифическими симптомами, поражающими нижние отделы мочевыводящих путей, ассоциированными с усилением побуждения к мочеиспусканию и его частотой с дизурией (затрудненным мочеиспусканием). Эти симптомы чаще встречаются у пациентов с CIS в отношении папиллярных опухолей, во всех случаях они указывают на необходимость урологического обследования. Отсутствие специфических маркеров опухолей и вариабельность, с которой возникает гематурия, являются одними из основных причин недостаточного выявления данной опухоли. Подтверждение диагноза получают при гистологическом исследовании с применением трансуретральной биопсии.

Стандартом лечения рака мочевого пузыря является трансуретральная резекция опухоли мочевого пузыря (TURBT). Эндоскопическая операция может включать следующее.

В случае NMIBC: внутрипузырные инстилляциии химиотерапевтических лекарственных средств, таких как, например, митомицин С, или средств иммунотерапии, таких как бацилла Кальметта-Герена (BCG). Лечение с помощью BCG в настоящее время является лучшим видом терапии карциномы in situ. Целью этих инстилляций является предотвращение рецидивов, которые возникают с частотой 30-60% и которые требуют наблюдения за пациентом не менее 5 лет.

В случае MIBC: цистэктомия и лучевая терапия, часто в сочетании с химиотерапией. Радикальная цистэктомия представляет собой хирургическую процедуру, которая включает удаление мочевого пузыря и, возможно, других органов малого таза.

Классификация рисков рецидива и прогрессирования заболевания, которую получают при гистологическом исследовании, позволяет определить возможность следующих видов лечения вспомогательными лекарственными средствами:

пациенты с низким риском рецидива подвергаются TURBT для удаления всех видимых поражений, затем они получают (в течение первых нескольких часов после операции) однократную интраоперационную дозу внутрипузырной химиотерапии;

пациенты со средним риском рецидива и низким риском прогрессирования подвергаются введению однократной интраоперационной дозы внутрипузырной химиотерапии с последующей вспомогательной терапией на основе внутрипузырной химиотерапии или инстилляций иммунотерапевтического средства (BCG);

пациенты с высоким риском прогрессирования (особенно с CIS) всегда подвергаются внутрипузырной вспомогательной терапии с помощью BCG, однако у высокого процента пациентов развивается устойчивость к данному лечению. Для пациентов, которые не реагируют на BCG или являются рефрактерными к BCG, единственным терапевтическим вариантом, который вследствие этого остается, является

радикальная цистэктомия с сопутствующим отводом мочи, в противном случае карцинома переходит в инвазивную форму.

BCG представляет собой плохо переносимое лекарственное средство, которое может вызывать различные побочные эффекты, такие как простатит, орхит, артрит и в редких случаях также непроходимость уретры. Пациент, у которого отсутствует реакция на BCG, является пациентом, которому данная терапия не приносит пользы, он/она обычно принадлежит к группе пациентов, которые ранее подвергались лечению с помощью BCG, но впоследствии у них больше не наблюдается реакция на ту же терапию, тогда как пациенты, определяемые как рефрактерные, являются пациентами, для которых токсические эффекты лекарственного средства значительно перевешивают пользу.

Лечение рака мочевого пузыря является одним из наиболее дорогих из-за высокой частоты рецидивов, что, следовательно, требует стратегий интенсивного наблюдения с периодическими обследованиями (цистоскопия, анализы крови и мочи).

В частности, лечение мышечно-неинвазивных опухолей (NMIBC) является более дорогим, чем лечение инвазивных опухолей (MIBC), в особенности из-за высокой частоты местных рецидивов, включающих повторные вмешательства, представляющие собой резекции, и контрольные анализы в дополнение к циклам внутривезикулярных инстилляций химиотерапевтических или иммунотерапевтических лекарственных средств; наконец, следует отметить, что в случае, когда CIS не реагирует на лечение с помощью BCG, единственным терапевтическим вариантом остается радикальная цистэктомия, крайне инвазивное вмешательство, которое имеет серьезные последствия для качества жизни пациента.

В Италии ежегодные затраты на контроль этого заболевания составляют 7% от всех расходов на здравоохранение, поскольку рак мочевого пузыря в странах Запада находится на 5-ом месте по заболеваемости среди раковых заболеваний и на 2-ом среди опухолей мочевыводящих путей после карциномы простаты.

Паклитаксел (таксол®) представляет собой противоопухолевое средство (Huizing MT et al., *Cancer Inv.*, 1995, 13: 381-404), которое оказывает свое антипролиферативное действие путем воздействия на организацию микротрубочек системы цитоскелета клеток с предотвращением ее нормальной реорганизации во время митотического деления (Manfredi JJ et al., *J Cell Biol.*, 1982, 94: 688-696).

Основными терапевтическими показаниями для паклитаксела являются лечение распространенного рака молочной железы, рака легкого, рака яичника, устойчивого к стандартному химиотерапевтическому лечению, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы и эндометрия. Из-за его высокой липофильности введение данного химиотерапевтического средства вызывает множество проблем, однако, из-за его эффективности он безусловно также является вариантом для местного лечения рака мочевого пузыря; в то же время, высокие концентрации лекарственного средства, используемые для инстилляций в мочевой пузырь, вызывают проникновение паклитаксела в уретелы, что приводит к значительной системной токсической абсорбции данного лекарственного средства.

Солюбилизирующий растворитель, применяемый в настоящее время в обычных клинических протоколах введения паклитаксела, представляет собой Cremophor EL, который, однако, вызывает множественные реакции гиперчувствительности.

В последние годы были предприняты многочисленные экспериментальные попытки решения проблем, возникающих в результате составления паклитаксела в Cremophor, как для обеспечения его растворимости в воде, так и для определения новых способов введения. Были предприняты попытки, например, инкапсулировать вышеупомянутое противораковое средство в липосомы, нанокапсулы и микросферы, состоящие из полимерной стенки, образованной биоразлагаемыми сополимерами (такими как полимолочная кислота или полифосфоэфир) и небiorазлагаемыми сополимерами (такими как этиленвинилацетат).

Также были предприняты попытки получить мицеллы путем совместного осаждения паклитаксела с фосфатидилхолином/солями желчных кислот в органическом растворителе (Nuijen B et al., *Investigational New Drugs*, 2001, 19: 143-153).

Были предприняты различные попытки солюбилизовать вышеупомянутое лекарственное средство с помощью циклодекстринов, но новые составы не дали желаемых результатов (Nuijen B et al., *Investigational New Drugs*, 2001, 19: 143-153).

Также известно применение PEG (полиэтиленгликоля) для дериватизации вышеупомянутого химиотерапевтического лекарственного средства посредством его эстерификации, однако новая молекула оказалась чрезвычайно водорастворимой, но с ограниченной стабильностью.

Наконец, была разработана система высвобождения паклитаксела путем конъюгирования его с белком сывороточного альбумина (HSA): обнаружили, что конъюгат паклитаксел-HSA является чрезвычайно водорастворимым, способным нести до 30 молекул химиотерапевтического средства, однако эксперименты *in vitro* показали более низкую противоопухолевую эффективность по сравнению с паклитакселом как таковым (Nuijen B et al., *Investigational New Drugs*, 2001, 19: 143-153).

Также недавно был синтезирован конъюгат паклитаксела с гиалуроновой кислотой (HA), дериватизированный с помощью молекул гидразида, связанных с карбоксильной группой HA амидной связью (Luo Y et al., *Biomacromolecules*. 2000, 1 (2): 208-218).

Связь между паклитакселом и НА позволяет лекарственному средству непосредственно достигать поверхности мембраны опухолевой клетки, при этом указанная клетка характеризуется сверхэкспрессией рецептора НА CD44. Следовательно, паклитаксел, конъюгированный с НА, оказывается способным специфически связываться с CD44 опухолевой клетки, что позволяет ему проникать в клеточную цитоплазму, где он активируется за счет гидролиза связи лекарственное средство/НА. Данный механизм избирательной транспортировки лекарственного средства называется "нацеливанием" на клетку-мишень.

НА представляет собой гетерополисахарид, состоящий из чередующихся остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина. Она представляет собой полимер с линейной цепью с молекулярной массой, находящейся в диапазоне от 50000 до 13×10^6 Да, в зависимости от источника, из которого он получен, и применяемых способов получения. В природе она присутствует в перичеллюлярной жидкости, в основном веществе соединительной ткани позвоночных организмов (одним из основных компонентов которого она является), в синовиальной жидкости суставов, в стекловидном теле и в пуповине.

В настоящем изобретении предлагается преодоление недостатков уровня техники, описанных выше, и оно относится к фармацевтической композиции, по сути состоящей из пролекарства на основе паклитаксела в сочетании с фармакологически приемлемыми разбавителями/вспомогательными веществами, для применения в лечении неинвазивного рака мочевого пузыря путем внутрипузырных инстилляций в соответствии с терапевтической схемой, которая включает введение одной дозы в неделю, составляющей 600 мг, указанного пролекарства, или двух доз в неделю, в сумме составляющих 1200 мг, в течение 12 (в случае 600 мг в виде однократной дозы) или в течение 6 (в случае 1200 мг в виде двух доз в неделю) последовательных недель лечения.

Пролекарство на основе паклитаксела, применяемое в терапевтической схеме, описанной выше, получено в соответствии со способом непрямого синтеза с использованием молекул гиалуроновой кислоты (НА) и паклитаксела посредством введения спейсера (4-броммасляной кислоты) между гиалуроновой кислотой и химиотерапевтическим средством. Данный синтез описан в EP 2045270, в котором изложено, что конъюгирование с НА делает паклитаксел растворимым: его введение, следовательно, может происходить без множественных реакций гиперсенсibilизации, которые обычно возникают во время использования лекарственного средства из-за присутствия Stenophor EL, солюбилизующего растворителя, применяемого в настоящее время в обычных клинических протоколах введения паклитаксела в качестве жирорастворимого лекарственного средства.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, состоящей из пролекарства на основе паклитаксела в сочетании с фармакологически приемлемыми разбавителями/вспомогательными веществами, для применения в лечении мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (NMIBC) путем внутрипузырной инстилляции, в частности карциномы мочевого пузыря *in situ* (CIS), и предпочтительно в лечении CIS, не реагирующей на лечение с помощью бациллы Кальметта-Герена (BCG) или рефрактерной к нему, где указанная фармацевтическая композиция вводится:

a) в виде одной дозы в неделю, составляющей 600 мг, в течение 12 последовательных недель лечения или

b) в виде двух доз в неделю, в сумме составляющих 1200 мг композиции в неделю, в течение 6 последовательных недель лечения,

где пролекарство на основе паклитаксела состоит из химического конъюгата между паклитакселом и гиалуроновой кислотой посредством 4-броммасляной кислоты, при этом указанная НА опосредованно связана с паклитакселом посредством сложноэфирной связи между карбоксилем НА и спейсером, представляющим собой 4-броммасляную кислоту, в свою очередь связанным сложноэфирной связью через его карбоксил с гидроксильной группой при атоме углерода в C2' паклитаксела, со степенью дериватизации, находящейся в диапазоне 18-21% вес./вес., предпочтительно равной 20% вес./вес.

Фармацевтическая композиция для применения в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно предназначена для применения в лечении CIS, не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему, и пролекарство паклитаксел-НА состоит из химического конъюгата между паклитакселом и гиалуроновой кислотой со степенью дериватизации в диапазоне 18-21% вес./вес.

Фармацевтическая композиция для применения в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно предназначена для применения в лечении мышечно-неинвазивной карциномы мочевого пузыря (NMIBC), в частности карциномы мочевого пузыря *in situ* (CIS), и предпочтительно в лечении CIS, не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему, и при этом пролекарство паклитаксел-НА состоит из химического конъюгата между паклитакселом и гиалуроновой кислотой со степенью дериватизации, равной 20% вес./вес.

Фармацевтическая композиция для применения в соответствии с настоящим изобретением даже более предпочтительно предназначена для применения в лечении карциномы мочевого пузыря *in situ* (CIS), не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему.

В предпочтительном варианте осуществления фармацевтическая композиция для применения в соответствии с настоящим изобретением предназначена для применения в лечении карциномы мочевого пузыря *in situ* (CIS), не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему, где указан-

ная фармацевтическая композиция вводится в виде одной дозы в неделю, составляющей 600 мг, в течение 12 последовательных недель лечения и указанное пролекарство состоит из химического конъюгата между паклитакселом и НА, имеющей средневесовую молекулярную массу, находящуюся в диапазоне от 160000 до 230000 Да, предпочтительно со степенью дериватизации, равной 20% вес./вес.

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления фармацевтическая композиция для применения в соответствии с настоящим изобретением предназначена для применения в лечении карциномы мочевого пузыря *in situ* (CIS), не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему, где указанная фармацевтическая композиция вводится в виде двух доз в неделю, в сумме составляющих 1200 мг композиции в неделю, в течение 6 последовательных недель лечения, и при этом указанное пролекарство состоит из химического конъюгата между паклитакселом и НА, имеющей средневесовую молекулярную массу, находящуюся в диапазоне от 160000 до 230000 Да, предпочтительно со степенью дериватизации, равной 20% вес./вес.

В фармацевтической композиции для применения в соответствии с настоящим изобретением пролекарство на основе паклитаксела предпочтительно составлено в стерильной изотонической воде, содержащей 5% глюкозы.

Следовательно, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, состоящей из пролекарства на основе паклитаксела в сочетании с фармакологически приемлемыми разбавителями/вспомогательными веществами, для применения в лечении рака мочевого пузыря путем внутривезикулярной инстилляции, где указанная фармацевтическая композиция вводится (т.е. инстиллируется в мочевой пузырь):

в виде одной дозы в неделю, составляющей 600 мг, в течение 12 последовательных недель лечения или в виде двух доз в неделю, т.е. 600 мг + 600 мг, в сумме составляющих 1200 мг композиции в неделю, т.е. с помощью двукратных внутривезикулярных инстилляций в течение 6 последовательных недель лечения,

где указанное пролекарство на основе паклитаксела состоит из химического конъюгата между паклитакселом и гиалуроновой кислотой (далее в данном изобретении определяемого как пролекарство паклитаксел-НА или просто пролекарство) посредством 4-броммасляной кислоты со степенью дериватизации в диапазоне 18-21% вес./вес. (вес./вес.), предпочтительно равной 20% вес./вес., где рак мочевого пузыря представляет собой мышечно-неинвазивную карциному (NMIBC), в частности карциному мочевого пузыря *in situ* (CIS), предпочтительно в лечении CIS, не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему.

В настоящем изобретении предполагается, что с помощью степени дериватизации вышеупомянутого пролекарства авторы настоящего изобретения определяют процент по весу паклитаксела по сравнению с весом пролекарства паклитаксел-НА, следовательно, 100 мг указанного пролекарства со степенью дериватизации, находящейся в диапазоне от 18% до 21% вес./вес., будут содержать 18, 19, 20 или 21 мг вышеуказанного химиотерапевтического средства, представляющего собой паклитаксел, в зависимости от указанной степени дериватизации, следовательно, для дополнительной иллюстрации при степени дериватизации 20% вес./вес. в 100 мг пролекарства содержится 20 мг паклитаксела.

Однако для специалиста в данной области очевидно, что в результате указанных процессов промышленного синтеза всегда может присутствовать небольшое изменение весовых соотношений между молекулами, следовательно, авторы настоящего изобретения далее описывают и заявляют диапазон степени дериватизации вышеуказанного пролекарства как составляющий от 18% до 21% вес./вес., при этом предполагается, что заявляются все процентные значения, включающие ||| 1%, в качестве примера, считается, что степень 20% вес./вес., следовательно, составляет 20% ||| 1%.

Пролекарство паклитаксел-НА, применяемое в терапевтической схеме, описанной выше, получено в соответствии со способом непрямого синтеза (описанным в EP 2045270) с использованием молекулам гиалуроновой кислоты и паклитаксела посредством введения молекулы 4-броммасляной кислоты в качестве спейсера между гиалуроновой кислотой и вышеуказанным химиотерапевтическим средством, и его краткое изложение ниже в общих чертах является следующим:

карбоксильная группа спейсера активируется с помощью активирующего средства, такого как, например, карбодиимид и, таким образом, становится пригодной для эстерификации гидроксильной функциональной группы при атоме углерода в C2' паклитаксела; при этом связь, которая образуется таким образом между спейсером и паклитакселом, относится к сложноэфирному типу. Затем обеспечивается нуклеофильное замещение карбоксила НА бромом указанного спейсера (т.е. 4-броммасляной кислоты) путем прямого контакта НА в безводной среде с солью ТВА (тетрабутиламмония). Таким образом, в этом случае также создается сложноэфирная связь между НА и спейсером, ранее связанным с паклитакселом; в качестве альтернативы, нуклеофильное замещение карбоксила НА бромом спейсера может происходить до связывания самого спейсера с таксановым компонентом.

Вкратце, пролекарство паклитаксел-НА, заявленное авторами настоящего изобретения, имеет сложноэфирную связь между карбоксилем вышеупомянутого полисахарида и спейсером, в свою очередь связанным (также сложноэфирной связью) через свой карбоксил с гидроксильной группой при атоме углерода в C2' паклитаксела.

НА, применяемую для синтеза пролекарства паклитаксел-НА, можно получать из любого источника, например, путем экстракции из петушиных гребней (например, в соответствии с EP0138572 или WO2018020458), или с помощью технологических средств (например, в соответствии с EP2614088 или EP2614087), или предпочтительно путем ферментации (например, в соответствии с EP0716688), и она имеет средневесовую молекулярную массу, находящуюся в диапазоне от 400 до 3×10^6 Да, в частности от 400 до 1×10^6 Да, еще более конкретно от 160000 до 230000 Да (средневесовая молекулярная масса относится к средневесовой молекулярной массе, рассчитанной согласно способу определения "характеристической вязкости" (Terbojevich et al., Carbohydr Res, 1986, 363-377)).

Пролекарство паклитаксел-НА со степенью дериватизации, находящейся в диапазоне от 18% до 21% вес./вес., описанное и заявленное авторами настоящего изобретения, предпочтительно получают из НА ферментационного происхождения со средневесовой молекулярной массой, находящейся в диапазоне от 160000 до 230000 Да; является предпочтительным пролекарство со степенью дериватизации 20% вес/вес, также полученное из НА ферментационного происхождения со средневесовой молекулярной массой, находящейся в диапазоне от 160000 до 230000 Да, следовательно, 600 мг вышеуказанного пролекарства паклитаксел-НА содержат 120 мг химиотерапевтического средства, представляющего собой паклитаксел.

Пролекарство паклитаксел-НА, заявленное авторами настоящего изобретения для лечения мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, следовательно, имеет сложноэфирную связь между карбоксилем НА и спейсером, представляющим собой 4-броммасляную кислоту, в свою очередь связанным сложноэфирной связью посредством его карбоксила с гидроксильной группой при атоме углерода в C2' паклитаксела, при этом степень дериватизации находится в диапазоне от 18% до 21% вес./вес.; пролекарство, применяемое в описанном ниже испытании *in vivo*, получено из НА ферментационного происхождения со средневесовой молекулярной массой, находящейся в диапазоне от 160000 до 230000 Да, и со степенью дериватизации 20% вес./вес.

Описанное и заявленное пролекарство паклитаксел-НА получают в виде фармацевтической композиции с фармакологически приемлемыми разбавителями/вспомогательными веществами; указанное пролекарство предпочтительно получают в стерильной изотонической воде, содержащей 5% глюкозы, для получения данной композиции в виде стерильного и изотонического водного раствора, по сути состоящего из самого пролекарства.

Пример получения пролекарства паклитаксел-НА со степенью дериватизации 20% вес./вес.

Получение производного сложного эфира НА (НА, применяемая для данного синтеза, имеет средневесовую молекулярную массу, находящуюся в диапазоне от 160000 до 230000 Да), с паклитакселом со степенью эстерификации карбоксила 20% вес/вес:

185,2 мг 4-броммасляной кислоты, 254,6 мг EDC (1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида) и 32,4 мг DMAP (4-диметиламинопиридина) добавляли к 308,7 мг паклитаксела, растворенного в 15 мл дихлорметана. Затем к раствору добавляли воду: органическую фазу, отделенную от водной фазы (содержащей остаток бромида), собирали, при этом водную фазу удаляли. К полученному органическому раствору добавляли 25 мл N-гептана при 10°C с обеспечением кристаллизации промежуточного продукта, который далее выделяли путем фильтрации и затем высушивали. Таким образом получали 301 мг сухого промежуточного продукта. 164 мг данного промежуточного соединения добавляли к раствору 566 мг НА-ТВА (соли НА с тетрабутиламмонием), растворенных в 26 мл NMP. Через 2 дня осуществления реакции при T 38°C в раствор добавляли 1 мл насыщенного бромида натрия. Через 1 ч медленно по каплям добавляли этанол. Полученный продукт затем осаждали в чистом этаноле и промывали в смеси этанол-вода (8,5/1,5), повторно промывали с помощью 100% этанола, затем высушивали при 40°C. Продукт анализировали посредством анализа с помощью HPLC для контроля фактической степени дериватизации и степени чистоты полученного пролекарства.

В клиническом испытании, описанном ниже, авторы настоящего изобретения продемонстрировали, как лечение посредством внутривезикулярной инстилляции пролекарства при 20% (описано выше) у пациентов с CIS, не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему, в виде однократного введения в еженедельной дозе, составляющей 600 мг, в течение 12 последовательных недель лечения, вызвало полное исчезновение карциномы CIS у 15 пациентов из 20, получавших лечение, таким образом, исключив для них потребность в радикальной цистэктомии, которая в ином случае необходима для предотвращения прогрессирования данной карциномы в ее метастатическую форму.

Клинические испытания.

Цели.

1. Оценка эффективности способа лечения рака мочевого пузыря NMIBC, в частности карциномы *in situ* (CIS), не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему, посредством внутривезикулярной инстилляции фармацевтической композиции, по сути состоящей из пролекарства паклитаксел-НА, вводимой в виде одной дозы в неделю, составляющей 600 мг, в течение 12 последовательных недель, где указанное пролекарство имеет степень дериватизации 20% вес./вес.; данную оценку проводят с помощью цистоскопии мочевого пузыря по завершению лечения и соответствующей биопсии слизистой

оболочки мочевого пузыря с цитологическим исследованием его уротелия. "Пациент с полным положительным ответом" (CR) определяется как пациент, у которого после 12 инстилляций результаты как биопсии с цитологическим исследованием, так и соответствующей цистоскопии отрицательны, т.е. опухолевые клетки не присутствуют или не обнаруживаются во всей толщине слизистой оболочки.

2. Оценка безопасности и переносимости лечения с помощью указанного пролекарства путем анализа/регистрации не только всех нежелательных явлений, которые возникают во время и по завершению лечения, но также оценки возможной системной абсорбции паклитаксела после введения пролекарства. С этой целью пациенты периодически подвергаются проведению гематологических анализов с анализом мочи и медицинским обследованием.

Получение фармацевтической композиции на основе пролекарства паклитаксел-НА.

Конечная фармацевтическая форма была представлена в виде раствора для внутривезикулярной инстилляцией, состоящего из 600 мг пролекарства паклитаксел-НА, описанного ранее, полученного в 50 мл стерильной изотонической воды, содержащей 2,5 мг глюкозы (следовательно, пролекарство было получено в 5% глюкозе).

Данный раствор имел конечную концентрацию пролекарства в глюкозе, составляющую 12 мг/мл.

Лечение.

По завершению исследования осуществляли набор 20 пациентов с CIS, не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему, т.е. пациентов, которые являлись кандидатами на радикальную цистэктомия, поскольку лечение пациента с помощью бациллы Кальметта-Герена не дало какого-либо положительного ответа на данную иммунотерапию. Их подвергали лечению в соответствии с описанным и заявленным протоколом, т.е. путем внутривезикулярной инстилляцией одной дозы в неделю, составляющей 600 мг, пролекарства паклитаксел-НА (описано ранее) в течение 12 последовательных недель лечения. Раствор в глюкозе, содержащий пролекарство, медленно вводили в мочевой пузырь (в течение 5 мин) с помощью внутривезикулярного катетера, после чего лекарственное средство удерживали в мочевом пузыре в течение времени, составляющего 120 мин; во время данного лечения пациенту указывали повернуться на правый бок с чередованием с поворотом на левый бок каждые 30 мин, чтобы обеспечить полный контакт композиции со всей внутренней поверхностью мочевого пузыря.

О любом нежелательном явлении незамедлительно сообщали врачу, который проводил периодические осмотры. Также брали образцы крови как в начале испытания, так и по завершению каждой инстилляцией для оценки системной абсорбции паклитаксела. По завершению испытания каждый пациент проходил медицинское обследование с цистоскопией и биопсией слизистой оболочки мочевого пузыря с цитологическим исследованием уротелия, анализом гематологических образцов и мочи для окончательной клинической оценки.

Результаты.

1. Оценка эффективности способа лечения CIS, не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему:

15 из 20 пациентов, подвергнутых лечению, были классифицированы как пациенты с полным положительным ответом и, следовательно, определены как CR: таким образом, данный результат показал, что 75% пациентов, подвергнутых лечению, при этом все являлись потенциальными кандидатами на радикальную цистэктомия для снижения риска трансформации опухоли из NMIBC в MIBC, были CR, поскольку они являлись пациентами, получившими отрицательные результаты как эндоскопического обследования, так и биоптического анализа, поскольку у них не было опухолевых клеток, обнаруживаемых на уровне мочевого пузыря после цитологического исследования слизистой оболочки и уротелия.

2. Оценка безопасности и переносимости лечения с помощью данного пролекарства: анализ крови пациентов, получавших лечение для оценки возможной системной абсорбции паклитаксела, не показал количественных показателей присутствия лекарственного средства; кроме того, не было никаких нежелательных явлений, зарегистрированных как "серьезные", а также не сообщалось о каком-либо значительном изменении гематологических и клинических показателей, периодически измеряемых у указанных пациентов, и каких-либо изменениях показателей их жизненно важных функций.

Данное клиническое испытание однозначно продемонстрировало эффективность способа лечения, являющегося объектом настоящего изобретения, поскольку он позволил пациентам с CIS, не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему, избежать радикальной цистэктомии.

Согласно настоящему изобретению авторы описывают и заявляют фармацевтическую композицию, по сути состоящую из пролекарства паклитаксел-НА в сочетании с фармакологически приемлемыми разбавителями/вспомогательными веществами, для применения в лечении мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (NMIBC) путем внутривезикулярной инстилляцией, в частности карциномы мочевого пузыря *in situ* (CIS), предпочтительно в лечении CIS, не реагирующей на лечение с помощью BCG или рефрактерной к нему, где данная фармацевтическая композиция вводится:

в виде одной дозы в неделю, составляющей 600 мг, в течение 12 последовательных недель лечения или

в виде двух доз в неделю, т.е. 600 мг + 600 мг, в сумме составляющих 1200 мг композиции в неделю, в течение 6 последовательных недель лечения,

где указанное пролекарство состоит из химического конъюгата между паклитакселом и НА, предпочтительно имеющей средневесовую молекулярную массу, находящуюся в диапазоне от 160000 до 230000 Да, где указанная НА опосредованно связана с паклитакселом посредством сложноэфирной связи между карбоксилем НА и спейсером, представляющим собой 4-броммасляную кислоту, в свою очередь связанным сложноэфирной связью через его карбоксил с гидроксильной группой при атоме углерода в С2' паклитаксела, со степенью дериватизации, находящейся в диапазоне 18-21% вес./вес. (определяемой как процент по весу паклитаксела по сравнению с весом пролекарства паклитаксел-НА) и предпочтительно равной 20% вес./вес.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (NMIBC) путем внутривезикулярной инстилляции фармацевтической композиции, состоящей из пролекарства на основе паклитаксела и фармацевтически приемлемых разбавителей/вспомогательных веществ, где указанная фармацевтическая композиция вводится

в виде одной дозы в неделю, составляющей 600 мг, в течение 12 последовательных недель лечения, где пролекарство на основе паклитаксела состоит из конъюгата, образованного паклитакселом и гиалуроновой кислотой посредством 4-броммасляной кислоты, при этом указанная НА опосредованно связана с паклитакселом посредством сложноэфирной связи между карбоксилем НА и спейсером, представляющим собой 4-броммасляную кислоту, в свою очередь связанным сложноэфирной связью через его карбоксил с гидроксильной группой при атоме углерода в С2' паклитаксела, при этом указанное пролекарство имеет степень дериватизации, находящуюся в диапазоне 18-21% вес./вес.

2. Способ по п.1, где пролекарство паклитаксел-НА состоит из химического конъюгата между паклитакселом и гиалуроновой кислотой, при этом указанное пролекарство имеет степень дериватизации, равную 20% вес./вес.

3. Способ по любому из пп.1, 2, где мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря (NMIBC) представляет собой карциному мочевого пузыря *in situ* (CIS).

4. Способ по любому из пп.1, 2, где мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря (NMIBC) представляет собой карциному мочевого пузыря *in situ* (CIS), не реагирующую на лечение с помощью BCG или рефрактерную к нему.

5. Способ по п.1, где мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря (NMIBC) представляет собой карциному мочевого пузыря *in situ* (CIS), не реагирующую на лечение с помощью BCG или рефрактерную к нему, и где указанное пролекарство состоит из химического конъюгата между паклитакселом и НА, имеющей средневесовую молекулярную массу, находящуюся в диапазоне от 160000 до 230000 Да.

6. Способ по п.4, где пролекарство паклитаксел-НА состоит из химического конъюгата между паклитакселом и гиалуроновой кислотой, при этом указанное пролекарство имеет степень дериватизации, равную 20% вес./вес.

7. Способ по любому из предыдущих пунктов, где пролекарство на основе паклитаксела составлено в стерильной изотонической воде, содержащей 5% глюкозы.

