



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2146721 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
A01N 43/00 (2006.01)
A61K 31/55 (2006.01)
A61K 31/553 (2006.01)
A61K 31/554 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2013.11.04
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2013.07.10
(86)	Europeisk søknadsnr	08755284.0
(86)	Europeisk innleveringsdag	2008.05.12
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2010.01.27
(30)	Prioritet	2007.05.15, US, 938089 P
(84)	Utpekte stater	AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL NO PL PT RO SE SI SK TR
(73)	Innehaver	Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., 2-9, Kanda-Tsukasamachi Chiyoda-ku, Tokyo 101-8535, Japan
(72)	Oppfinner	LIU, Yongge, c/o Otsuka Maryland Medicinal Laboratories, Inc.9900 Medical Center Drive, Rockville, Maryland 20850, USA KAMBAYASHI, Junichi, c/o Otsuka Maryland Medicinal Laboratories, Inc.9900 Medical Center Drive, Rockville, Maryland 20850, USA
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Metoder for å anvende vasopressin antagonister med antracyklin kjemoterapimidler for å redusere kardiotoksisitet og/eller forbedre overlevelse
(56)	Anførte publikasjoner	US-A- 5 744 455 US-A1- 2005 187 210 GHEORGHIAD E T AL.: 'Vasopressin V2-Receptor Blockade With Tolvaptan in Patients With Chronic Heart Failure' CIRCULATION vol. 107, 2003, pages 2690 - 2696, XP008129732 JOHNSTON C I E T AL: "ROLE OF VASOPRESSIN IN EXPERIMENTAL CONGESTIVE CARDIAC FAILURE" JOURNAL OF CARDIOVASCULAR PHARMACOLOGY, vol. 8, no. SUPPL. 7, 1986, pages S96-S100, XP002586384 & SWISS HYPERTENSION WORKSHOP ON VASOPRESSIN, MONTREUX, SWITZERLAND, OCTOBER 10-12, 1985. J CARDIOVASC ISSN: 0160-2446 LEMMENS-GRUBER R E T AL: "Vasopressin antagonists" CMLS CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES, BIRKHÄUSER-VERLAG, BA LNKD- DOI:10.1007/S00018-006-6054-2, vol. 63, no. 15, 23 June 2006 (2006-06-23) , pages 1766-1779, XP019419194 ISSN: 1420-9071 TAKEUCHI M E T AL: "Effects of long-term oral treatment with selective vasopressin V2 receptor antagonist (OPC-31260) on adriamycin-induced heart failure in rats" INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL LNKD- DOI:10.1016/J.IJCARD.2005.05.009, vol. 108, no. 2, 4 April 2006 (2006-04-04) , pages 231-236, XP025035217 ISSN: 0167-5273 [retrieved on 2006-04-04]

Beskrivelse

Denne søknad krever prioritet fra US Provisional Application Serial No. 60/938,089, innsendt 15. mai 2007, som er innlemmet heri ved referanse.

5

Teknisk område

Den foreliggende oppfinnelse angår tolvaptan eller et farmasøytisk aksepterbart salt derav, for anvendelse i en metode for å redusere kardial toksisitet og/eller forbedre overlevelse i pasienter behandlet med doksorubicin (Adriamycin®), som omfatter administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av et preparat som omfatter tolvaptan som en aktiv bestanddel, samtidig eller før administrering av doksorubicin, og vedrører preparater som omfatter tolvaptan eller et farmakologisk aksepterbart salt derav, for slik anvendelse.

Bakgrunn for oppfinnelsen

Antrasyklinmidler er antineoplastiske midler og anvendes innen kjemoterapi for behandling av et bredt spekter av hematogene og faste humane maligniteter, som inkluderer brystcancer og leukemier. Anvendbarheten av antrasykliner slik som doksorubicin (Adriamycin®) er imidlertid begrenset ved kumulativ og doserelatert myokardial skade, som kan føre til kongestiv hjertesvikt (CHF).^{1,2} Det er blitt estimert at opptil 20 % av pasientene behandlet med doksorubicin kan utvikle CHF.³

I tillegg til en kumulativ dose, er alder, kombinasjonsterapi, hypertensjon, leversykdom, brystveggbestråling fra tidligere cancerbehandling og preeksisterende kardial sykdom ytterligere risikofaktorer for doksorubicin-indusert CHF.⁴

Til tross for dens kjente kardiotoksisitet, er doksorubicin ett av de mest omfattende anvendte kjemoterapimidler på grunn av dets effektivitet for å forlenge livet til cancerpasienter. Det er blitt estimert at mer enn 50 % av langtidsoverlevende for barnekreft ble behandlet med doksorubicin eller annet antrasyklin.⁵ Mange av de overlevende som ble behandlet med doksorubicin har imidlertid langtidsproblemer, ofte manifestert som hjertesykdommer. De fremvises ofte som EKG-forandringer og arytmier, eller som kardiomyopati som fører til CHF, så vel som økt risiko for plutselig død eller død fra hjerteårsaker.⁶

35

Doksorubicinindusert kardiotoksisitet er relatert til en pasients kumulative livstidsdose av doksorubicin. CHF er kjennetegnet ved hjertets reduserte evne til å pumpe blod,

som resulterer i fluidretensjon og skadelig nevrohormonell aktivering. Dersom ubehandlet, har CHF-pasienter en svært høy dødelighetsrate. Den underliggende mekanismen for denne doksorubicininduserte kardiotoxisitet er ikke klar. Den eneste effektive strategi for å redusere doksorubicin kardiotoxisiteten er å begrense eksponeringen for doksorubicin. Men dette begrenser også effektiviteten av doksorubicin for å behandle canceren.

Deksrazoksan (Zinecard[®]) er nå den eneste godkjente legemiddelbehandling for å redusere antrasyklinindusert kardiotoxisitet med svært begrensede fordeler.⁶⁻⁸ Der er således et presserende og udekket medisinsk behov for å utvikle behandlinger som kan redusere doksorubicinindusert kardiotoxisitet. Redusering av toksisitet vil også tillate at høyere doser av doksorubicin kan administreres på sikker måte til cancerpasienter.

Vasopressin (også kjent som antidiuretisk hormon (ADH)) er et lite ni-aminosyre peptid syntetisert i hypotalamus i supraoptiske og paraventrikulære kjerner, og lagres i bakre del av hypofysen. Dets frigivelse reguleres ved plasmaosmolaritet og volum/trykk.⁹ Vasopressin bevirker vasokonstriksjon via V₁-reseptorer i vaskulære glatte muskelceller, og vannretensjon via V₂-reseptorer i nyrenes samlerør.¹⁰

Vasopressinnivåer er ofte økt i cancerpasienter.¹¹⁻¹⁴ Hyponatremi, som skyldes unormalt høye nivåer av vasopressin, er også svært vanlig i pasienter med cancer.^{12,15} Videre er høye serumvasopressinnivåer blitt vist til å være i samsvar med den lave overlevelseshraten hos pasienter med småcellet lungecancer,¹⁶ som indikerer en skadelig rolle for vasopressin i cancerpasienter.

Studier har vist at doksorubicin kan øke nivået av vasopressin. I doksorubicinbehandlede rotter, er ekspresjonen av vasopressin og akvaporin-2 vannkanaler, som transporterer vann fra et samlerør i nyren til blodsirkulasjonen, økt.¹⁷ Videre har doksorubicinbehandlede kaniner en økt sensitivitet overfor vasopressin.¹⁸

Akkumulerende bevis foreslår at vasopressin kan spille en viktig rolle i utviklingen og progresjonen av CHF: vasopressin og akvaporin-2 vannkanalnivåer er økt i CHF¹⁹⁻²² og V₂-antagonister har vist fordeler med hensyn til å nedsette kongestion og forbedre symptomer i individer med CHF.^{23,24} Vannretensjon og systemisk ødem er kjennetegnene på CHF.

Tidligere har noen få studier undersøkt potensialet hos vasopressinantagonister til å redusere doksorubicinindusert kardial skade og fremme overlevelse i forsøksdyr. Det ble funnet at vasopressinantagonister kan lindre symptomene på CHF¹⁸ bevirket ved doksorubicininjeksjon. I en tidligere studie hadde imidlertid OPC-31260, en vasopressin V₂-reseptorantagonist, en liten, men ikke signifikant reduksjon av dødelighetsrate i doksorubicinbehandlede rotter.²⁵ Således, skjønt visse studier viste fordeler for vasopressinantagonister med hensyn til å behandle doksorubicinindusert toksisitet, var effektene ikke bemerkelsesverdige. I disse tidligere studier, ble vasopressinantagonister gitt i flere uker etter administreringen av doksorubicin. Således kan permanent myokardial skade allerede ha forekommet før initieringen av vasopressinantagonistterapi. Modeller av disse tidligere studier vil hovedsakelig ikke på korrekt måte reprodusere et økt vasopressinmiljø som man ofte finner i cancerpasienter, da kun normale friske rotter ble anvendt. En forsøksmodell med økt vasopressin kan være ideell for evalueringen av det terapeutiske potensial av V₂-antagonister.

Effektene av langtids oral behandling med selektiv vasopressin V₂-reseptorantagonist (OPC-32160) på adriamycinindusert hjertesvikt i rotter er beskrevet i M. Takeuchi, et al., International Journal of Cardiology, bind 108 (2006), sidene 231-236. C.I. Johnston et al. diskuterer vasopressins rolle i eksperimentell kongestiv hjertesvikt i the Journal of Cardiovascular Pharmacology, bind 9, 1986, sidene S96-S100.

Oppsummering av oppfinnelsen

De foreliggende oppfinnere har funnet at tolvaptan er effektiv for å redusere kardiotoxiskitet og/eller forbedre overlevelse i individer behandlet med doksorubicin-kjemoterapibehandlinger, dersom tolvaptan administreres samtidig med eller før doksorubicinadministrering.

Den foreliggende oppfinnelse angår således tolvaptan eller farmasøytisk aksepterbare salter derav for anvendelse i en metode for å redusere kardiotoxiskitet og/eller forbedre overlevelse, som omfatter administrering av tolvaptan samtidig med eller før administrering av doksorubicin til en pasient med behov derfor. Tolvaptan og preparater som omfatter tolvaptan ifølge den foreliggende oppfinnelse kan anvendes for å redusere kjemoterapirelaterte bivirkninger slik som kardial skade, særlig hjertesvikt. Tolvaptan og preparater som omfatter tolvaptan ifølge den foreliggende oppfinnelse kan også anvendes for å forbedre overlevelse med doksorubicinterapi.

De foreliggende oppfinnere har også funnet at vasopressin ytterligere øker mortalitetsraten i individer behandlet med antrasykliner, slik som doksorubicin. Vasopressinantagonistforbindelsen tolvaptan er således særlig anvendbar og effektiv i doksorubicinbehandlede pasienter med økt vasopressin.

Den foreliggende oppfinnelse inkluderer således de etterfølgende forskjellige utførelsesformer.

I en første utførelsesform tilveiebringer den foreliggende oppfinnelse tolvaptan eller et farmasøytisk aksepterbart salt derav for anvendelse i en metode for å redusere kardiotoxisitet og/eller forbedre overlevelse fra doksorubicin kjemoterapi hvor tolvaptan eller et farmasøytisk aksepterbart salt derav administreres samtidig med eller før doksorubicinadministrering.

I en andre utførelsesform tilveiebringer den foreliggende oppfinnelse tolvaptan ifølge den første utførelsesform for anvendelse i en metode for å redusere kardiotoxisitet.

I en tredje utførelsesform tilveiebringer den foreliggende oppfinnelse tolvaptan i henhold til en første utførelsesform for anvendelse i en metode for å forbedre overlevelse.

I en fjerde utførelsesform tilveiebringer den foreliggende oppfinnelse et farmasøytisk preparat som omfatter tolvaptan eller et farmasøytisk aksepterbart salt derav for anvendelse i en metode for å redusere kardiotoxisitet og/eller forbedre overlevelse fra doksorubicin kjemoterapi, hvor tolvaptan eller et farmasøytisk aksepterbart salt derav administreres samtidig med eller før doksorubicinadministrering.

Kort beskrivelse av tegningene

Fig. 1 viser en Kaplan-Meier overlevelsesanalyse med Log-Rank-testen for tolvaptanbehandlede rotter.

Fig. 2 er et diagram som viser resultater av tolvaptanbehandling som starter etter fullføringen av doksorubicinbehandling.

Fig. 3 viser protokollen for DDAVP (en vasopressinagonist [deamino-Cys], D-Arg8)-vasopressin)-studien i eksempel 2.

Fig. 4 viser en Kaplan-Meier overlevelsesanalyse med Log-Rank-testen for doksorubicinbehandlede rotter.

5 Fig. 5 viser legemiddelbehandlingsprotokollen og blodprøveprotokollen for å bestemme doksorubicinkonsentrasjon i eksempel 3.

Fig. 6 er et diagram som viser resultatene av effekten av tolvaptan på plasmakonsentrasjonen av doksorubicin.

10

Fig. 7 er et diagram som viser effekten av tolvaptan på myelosuppresjonseffekten av doksorubicin.

15

Fig. 8 er et diagram som viser prosentandelen av fraksjonell forkorting av venstre ventrikkel etter tolvaptanbehandling ved en intravenøs injeksjonsmodell.

Fig. 9 er et diagram som viser ejeksjonsfraksjonen av venstre ventrikkel etter tolvaptanbehandling i en intravenøs injeksjonsmodell.

20

Fig. 10 er et diagram som viser venstre ventrikkel endediastolisk volum/vekt regulert i doksorubicinbehandlede rotter.

Fig. 11 er et diagram som viser venstre ventrikkel endediastolisk diameter/vekt regulert i doksorubicinbehandlede rotter.

25

Fig. 12 viser forbedring av kontraktilitetsindeksen for tolvaptanbehandlede rotter.

Fig. 13 viser studieprotokollen i eksempel 5 for å undersøke om en V_2 -agonist forverrer doksorubicintoksisitet.

30

Fig. 14 viser en Kaplan-Meier overlevelsesanalyse av rotter behandlet med tolvaptan med økt vasopressinfrigivelse.

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

35

Antrasyklinmidler er antineoplastiske midler anvendt i kjemoterapi for behandling av et bredt spekter av hematogene og faste humane maligniteter som inkluderer brystcancer og leukemier. Anvendbarheten av antrasykliner slik som doksorubicin

(Adriamycin®), er imidlertid begrenset ved kumulativ og doserelatert myokardial skade.² Doksorubicinrelatert toksisitet ses ofte som EKG-forandringer og arytmier, eller som en kardiomyopati som fører til CHF, så vel som en økt risiko for plutselig død og død fra hjerteårsaker.⁶

5

Forbindelsene og preparatene ifølge den foreliggende oppfinnelse er egnet for anvendelse i en metode for å behandle et individ som er rammet av hvilken som helst av neoplasier/cancer. De neoplastiske celler som drepes ved metoden ifølge oppfinnelsen inkluderer celler av tumorer, neoplasmer, karsinomer, sarkomer, papillomer, leukemier, lymfomer og liknende. Faste tumorer er av særlig interesse.

10

Som anvendt her, omfatter betegnelsen "cancer" en hvilken som helst celle eller celler hvis normale vekstkontrollmekanismer er forstyrret, som derved tilveiebringer et potensial for ukontrollert celleproliferasjon. Betegnelsen "cancer" inkluderer både benigne og maligne neoplastiske celler/tumorer i både nervesystemet og periferien, hvor periferien skal bety alle andre deler av kroppen utenfor hjernen eller ryggmargen.

15

En "pasient" som beskrevet her inkluderer én som har cancer slik som leukemier, lymfomer, brystcancer, uterin cancer, ovariecancer eller lungecancer, og som behandles med et antrasyklinmiddel.

20

Den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer også forbindelser og preparater for anvendelse i en metode for å forebygge og/eller behandle pattedyr-hjertevevsskade slik som kardiotoxiskitet bevirket ved antrasyklin-antineoplastika slik som doksorubicin.

25

"Kardiotoxiskitet" som anvendt her omfatter klinisk hjertesvikt, klinisk kardiotoxiskitet slik som akutt hjertesvikt og kongestiv hjertesvikt og/eller kardiale arytmier og subklinisk kardiotoxiskitet slik som detektert ved patologiske forandringer ved kardial biopsi og/eller blodkjemi, eller fall i ventrikulære ejeksjonsfraksjoner.

30

Forbindelsene og preparatene ifølge den foreliggende oppfinnelse kan også anvendes i en metode for å øke overlevelse av individer under og etter en anti-cancerbehandling.

35

I en første utførelsesform av den foreliggende oppfinnelse er den aktive bestanddel, anvendt i metoden for å redusere antrasyklinbehandlingsrelatert kardiotoxisitet, tolvaptan eller farmasøytisk aksepterbare salter derav.

5 Tolvaptan anvendes i form av et konvensjonelt farmasøytisk preparat. Preparatet fremstilles ved å anvende konvensjonelle fortynningsmidler eller bærere slik som fyllstoffer, fortykningsmidler, bindemidler, fuktemidler, desintegrerende midler, surfaktanter, smøremidler og liknende. De farmasøytiske preparatene kan velges fra forskjellige former, i overensstemmelse med de ønskede anvendeligheter, og de
10 representative former er tabletter, piller, pulvere, oppløsninger, suspensjoner, emulsjoner, granuler, kapsler, stikkpiller, injeksjoner (oppløsninger, suspensjoner, osv.) og liknende.

For å danne tabletter anvendes det vel kjente farmasøytiske bærere slik som vehikler
15 (f.eks. laktose, hvitt sukker, natriumklorid, glukose, urea, stivelse, xylitol, mannitol, erytritol, sorbitol, kalsiumkarbonat, kaolin, krystallinsk cellulose, kiselsyre, osv.), bindemidler (f.eks. vann, etanol, propanol, enkel sirup, glukoseoppløsning, stivelsesoppløsning, gelatinoppløsning, karboksymetylcellulose, skjellakk, metylcellulose, kaliumfosfat, polyvinylpyrrolidon, osv.), desintegrerende midler (f.eks.
20 tørr stivelse, natriumalginat, agarpulver, laminaranpulver, natriumhydrogenkarbonat, kalsiumkarbonat, polyoksyetylen sorbitanfettsyreestre, natriumlaurylsulfat, stearinsyremonoglyserid, stivelse, laktose, osv.), desintegreringsinhibitorer (f.eks. hvitt sukker, stearin, kakaosmør, hydrogenert olje, osv.), absorpsjonsfremmere (f.eks. kvaternær ammoniumbase, natriumlaurylsulfat, osv.), fuktemidler (f.eks.
25 glyserin, stivelser, osv.), adsorpsjonsmidler (f.eks. stivelser, laktose, kaolin, bentonitt, kolloidale silikater, osv.), smøremidler (f.eks. rensset talkum, stearater, borsyrepulver, polyetylglykol, osv.), og liknende. Dessuten kan tabletter også være i form av en konvensjonell belagt tablett slik som sukkerbelagte tabletter, gelatinbelagte tabletter, enterisk belagte tabletter, filmbelagte tabletter, tabletter med doble eller multiple lag.
30 I fremstillingen av piller, kan de konvensjonelle bærere anvendes og inkludere f.eks. vehikler (f.eks. glukose, laktose, stivelser, kakaosmør, hydrogenerte vegetabiliske oljer, kaolin, talkum, osv.), bindemidler (f.eks. gummi-arabikum pulver, tragakantpulver, gelatin, etanol, osv.), desintegrerende midler (f.eks. laminaran, agar, osv.). I fremstilling av stikkpiller kan konvensjonelle bærere anvendes og inkludere
35 f.eks. polyetylglykol, kakaosmør, høyere alkohol, høyere alkoholestere, gelatin, semi-syntetiske glyserider. Kapsler kan fremstilles ved å innføre en blanding av forbindelsen ifølge oppfinnelsen og de ovennevnte bærere i harde gelatinkapsler,

myke kapsler eller hydroksypropylmetylcellulosekapsler (HPMC-kapsler) på vanlig måte. Ved fremstillingen av injeksjoner, blir oppløsninger, emulsjoner og suspensjoner sterilisert, og gjøres foretrukket isotonisk med blodet. Ved fremstillingen av disse oppløsninger, emulsjoner og suspensjoner anvendes der konvensjonelle

5 fortynningsmidler slik som vann, etylalkohol, makrogol, propylenglykol, etoksyliert isostearylalkohol, polyoksyliert isostearylalkohol, polyoksyetylen sorbitan-fettsyreestere. I dette tilfellet kan de farmasøytiske preparater også være innlemmet sammen med natriumklorid, glukose eller glyserin i en mengde som er tilstrekkelig til å gjøre dem isotoniske, og kan også være innlemmet med konvensjonelle

10 solubilisierende midler, buffere og anestesimidler. Dessuten kan de farmasøytiske preparater eventuelt innlemme fargestoffer, konserveringsmidler, parfymer, smaksstoffer, søtningsmidler og andre medikamenter, om nødvendig.

Mengden av vasopressinantagonistforbindelsen tolvaptan eller et farmasøytisk

15 aksepterbart salt derav som skal innlemmes i det farmasøytiske preparatet ifølge oppfinnelsen, kan velges fra et bredt område. Vanligvis er mengden foretrukket i området fra 1-70 vekt%, mer foretrukket 5-50 vekt%, basert på vekten av preparatet.

20 En passende metode for administrering av preparatene ifølge oppfinnelsen kan bestemmes i overenstemmelse med de forskjellige former av preparater, alder, kjønn og andre tilstander hos pasienten, grad av alvorlighet av sykdommer og liknende. Tabletter, piller, oppløsninger, suspensjoner, emulsjoner, granuler og kapsler administreres f.eks. oralt. Injeksjoner er intravenøst administrert alene eller sammen

25 med et konvensjonelt flytende hjelpestoff (f.eks. glukose, aminosyreoppløsninger), og administreres eventuelt ytterligere alene ved intramuskulær, intrakutan, subkutan eller intraperitoneal rute, om nødvendig. Stikkpiller administreres ved intrarektal rute.

Dosen av vasopressinantagonistforbindelsen tolvaptan eller et farmasøytisk

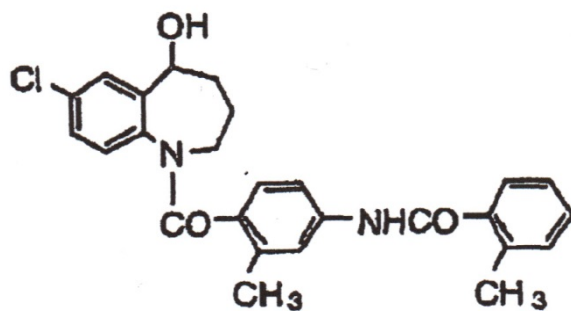
30 akseptabelt salt derav, kan velges i overenstemmelse med anvendelsen, alder, kjønn og andre tilstander hos pasienten, grad av alvorlighet av sykdommen og liknende. En passende dose er i området fra 0,1 mg til 1000 mg/kroppsvekt pr. dag, foretrukket fra 0,5 mg til 500 mg/kroppsvekt pr. dag, mer foretrukket fra 1 mg til 100 mg/kroppsvekt pr. dag.

35

Valg av dosen av tolvaptanforbindelsen og doksorubicin er det som kan gi lindring til pasienten som målt ved en reduksjon av kardiotoxisitet fra doksorubicinbehandling

alene og/eller en forbedring av effektiviteten av cancerbehandlingen. Som det er vel kjent, vil dosen av hver komponent avhenge av en rekke faktorer slik som styrken på den valgte spesifikke forbindelsen, administreringsmåte og alder og vekt hos pasienten, alvorligheten av tilstanden som skal behandles. Dette betraktes å være
 5 innenfor området til en fagkyndig på området, og man kan gå gjennom den eksisterende litteraturen med hensyn til hver komponent for å bestemme optimal dosering.

Tolvaptan, også kalt 7-klor-5-hydroksy-1-[2-metyl-4-(2-metylbenzoyl-
 10 amino)benzoyl]-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzazepin, er en selektiv vasopressin V₂-antagonist. Tolvaptan er representert ved den etterfølgende struktur:



15 Tolvaptan danner økt, doseavhengig produksjon av fortynnet urin uten å endre serumelektrolyttbalanse, og uten aktivering av renin-angiotensinsystem.

For anvendelse i medisin, kan farmasøytisk aksepterbare salter være anvendbare i fremstillingen av vasopressin-antagonistforbindelsene ifølge oppfinnelsen. Uttrykket
 20 "farmasøytisk aksepterbare salter" inkluderer både farmasøytisk aksepterbare syreaddisjonssalter og farmasøytisk aksepterbare kationiske salter.

Betegnelsen "terapeutisk effektiv mengde" som anvendt her refererer til en tilstrekkelig mengde av forbindelsen til å redusere infarkt, slik som f.eks. hjerteinfarkt,
 25 ved et rimelig fordel/risiko-forhold anvendbart til en hvilken som helst medisinsk behandling.

Det spesifikke terapeutisk effektive dosenivå for en hvilken som helst særlig pasient vil avhenge av en rekke faktorer som inkluderer alvorligheten av tilstanden,
 30 aktiviteten av den spesifikke forbindelsen som anvendes, det spesifikke preparat som anvendes og individets alder. Noe variasjon i dosering vil imidlertid nødvendigvis

forekomme, avhengig av tilstanden til individet som behandles. Personen som er ansvarlig for administrering vil i alle tilfeller bestemme den passende dosen for det individuelle individ.

5 En kombinasjon av tolvaptan og doksurubicin kan administreres på en standard måte slik som oralt, parenteralt, transmukosalt (f.eks. sublingual eller via bukkal administrering), topisk, transdermal, rektal, via inhalasjon (f.eks. nese- eller dyp lungeinhalasjon). Parenteral administrering inkluderer, men er ikke begrenset til, intravenøs, intraarteriell, intraperitoneal, subkutan, intramuskulær, intratekal og
10 intraartikulær, eller via en høytrykksteknikk, slik som Powderject™.

For bukkal administrering kan preparatet være i form av tabletter eller pastiller formulert på vanlig måte. Tabletter og kapsler for oral administrering kan f.eks. inneholde konvensjonelle eksipienser slik som bindemidler (f.eks. sirup, akasie,
15 gelatin, sorbitol, tragakant, planteslim av stivelse eller polyvinylpyrrolidon), fyllstoffer (f.eks. laktose, sukker, mikrokrySTALLinsk cellulose, maisstivelse, kalsiumfosfat eller sorbitol), smøremidler (f.eks. magnesiumstearat, stearinsyre, talkum, polyetylglykol eller silika), desintegrerende midler (f.eks. potetstivelse eller natriumstivelsesglykolat), eller fuktemidler (f.eks. natriumlaurylsulfat). Tabletter kan belegges i
20 henhold til metoder som er vel kjent innen teknikken.

I tillegg kan preparatene ifølge oppfinnelsen formuleres for parenteral administrering ved injeksjon eller kontinuerlig infusjon. Formuleringer for injeksjon kan være i form av suspensjoner, oppløsninger eller emulsjoner i oljeaktige eller vandige vehikler, eller
25 kan inneholde formuleringsmidler slik som suspensjonsmidler, stabiliseringsmidler og/eller dispergeringsmidler. Alternativt kan den aktive bestanddel være i pulverform for konstituering med en passende vehikkel (f.eks. sterilt, pyrogenfritt vann) før bruk.

For oral administrering kan et farmasøytisk preparat være i form av oppløsninger, suspensjoner, tabletter, piller, kapsler, pulvere. Tabletter som inneholder forskjellige eksipienser slik som natriumsitrat, kalsiumkarbonat og kalsiumfosfat anvendes sammen med forskjellige desintegrerende midler slik som stivelse, foretrukket potetstivelse eller tapiokastivelse, og visse komplekse silikater, sammen med bindingsmidler slik som polyvinylpyrrolidon, sukrose, gelatin og akasie. I tillegg blir
30 smøremidler slik som magnesiumstearat, natriumlaurylsulfat og talkum svært ofte anvendt for tableteringsformål. Faste preparater av en tilsvarende type benyttes også som fyllstoffer i myke og harde fylte gelatinkapsler, og materialer i denne forbindelse

inkluderer foretrukket også laktose eller melkesukker, så vel som høymolekylvekt-polyetylenglykoler.

Alternativt kan forbindelsene ifølge oppfinnelsen være innlemmet i orale flytende preparater slik som f.eks. vandige eller oljeaktige suspensjoner, oppløsninger, emulsjoner, siruper eller eliksirer. Dessuten kan formuleringer som inneholder disse forbindelser være i form av et tørt produkt for konstituering med vann eller annen passende vehikkel før bruk. Slike flytende preparater kan inneholde konvensjonelle tilsetningsstoffer slik som suspensjonsmidler, slik som sorbitolsirup, syntetiske og naturlige gummier slik som tragakant, akasie, alginat, dekstran, natriumkarboksymetylcellulose, metylcellulose, polyvinylpyrrolidon eller gelatin, glukose/sukkersirup, gelatin, hydroksyetylcellulose, hydroksypropylmetylcellulose, aluminiumstearatgel, emulgeringsmidler slik som lecitin, sorbitanmonooleat eller akasie; ikke-vandige vehikler (som kan inkludere spiselige oljer), slik som mandelolje, fraksjonert kokosnøttolje, oljeaktige estere, propylenglykol og etylalkohol, og konserveringsmidler slik som metyl- eller propyl-p-hydroksybenzoat og sorbinsyre. De flytende formene hvor preparatet ifølge oppfinnelsen kan være innlemmet for administrering oralt eller ved injeksjon inkluderer vandige oppløsninger, passende smakssatte siruper, vandige suspensjoner eller oljesuspensjoner, og smakssatte emulsjoner med spiselige oljer slik som bomullsolje, sesamolje, kokosnøttolje eller jordnøttolje, så vel som eliksirer og tilsvarende farmasøytiske vehikler.

Når vandige suspensjoner og/eller eliksirer er ønsket for oral administrering, kan forbindelsene ifølge oppfinnelsen kombineres med forskjellige søtningsstoffer, smaksmidler, fargestoffer, emulgeringsmidler og/eller suspensjonsmidler, så vel som slike fortynningsmidler som vann, etanol, propylenglykol, glyserin og forskjellige kombinasjoner derav. Passende dispersjonsmidler og suspensjonsmidler for vandige suspensjoner inkluderer syntetiske og naturlige gummier slik som tragakant, akasie, alginat, dekstran, natriumkarboksymetylcellulose, metylcellulose, polyvinylpyrrolidon eller gelatin.

En kombinasjon av vasopressinantagonisten tolvaptan og doksorubicin kan også administreres i en formulering med regulert frigivelse slik som en formulering med sakte frigivelse eller en hurtig frigivelse. Slike formuleringer med regulert frigivelse av kombinasjonen ifølge oppfinnelsen kan fremstilles ved å anvende metoder som er vel kjent for de fagkyndige på området. Administreringsmåten vil bestemmes av den

behandlende legen eller annen fagperson etter evaluering av pasientens tilstand og behov.

5 De farmasøytiske preparater ifølge oppfinnelsen kan bestå av en kombinasjon av egenskaper med umiddelbar frigivelse og regulert frigivelse. Slike preparater kan være i form av kombinasjoner av de aktive bestanddeler som varierer i størrelse fra nanopartikler til mikropartikler, eller i form av en pluralitet av pelleter med forskjellige frigivelseshastigheter.

10 Kombinasjonene ifølge denne oppfinnelse kan også administreres i parenteral form. For parenteral administrering kan oppløsninger i sesamolje eller jordnøttolje eller i vandig propylenglykol benyttes, så vel som sterile vandige oppløsninger av de tilsvarende vannoppløselige salter. Slike vandige oppløsninger kan passende bufres om nødvendig, og det flytende fortynningsmiddel kan først gjøres isotonisk med
15 tilstrekkelig saltvann eller glukose. Disse vandige oppløsningene er særlig egnet for intravenøs, intramuskulær, subkutan og intraperitoneal injeksjon. I denne forbindelse er de anvendte sterile vandige medier alle enkelt oppnåelige ved hjelp av standard teknikker som er vel kjent for de fagkyndige på området.

20 Fremgangsmåter for fremstilling av forskjellige farmasøytiske preparater ved en bestemt mengde aktive bestanddeler er kjente, eller vil være tydelige for en fagkyndig på området i lys av denne beskrivelse.

25 Farmasøytiske preparater ifølge oppfinnelsen kan inneholde 0,1 % til 95 % av de terapeutiske midler ifølge oppfinnelsen, foretrukket fra 1 % til 70 %. I alle tilfeller vil preparatet eller formuleringen som skal administreres inneholde en mengde av ett eller flere terapeutiske midler ifølge oppfinnelsen i en mengde som er effektiv for å behandle tilstanden eller sykdommen hos individet som behandles.

30 De to forskjellige forbindelsene i denne oppfinnelse, dvs. vasopressinantagonist-forbindelsen tolvaptan og antrasyklinet doksorubicin kan også ko-administreres samtidig, eller tolvaptan kan administreres først etterfulgt av doksorubicin.

35 Den foreliggende oppfinnelse er illustrert mer detaljert ved hjelp av de etterfølgende eksempler.

Eksempler

Eksempel 1**Metoder:**

- 5 Gjentatt injeksjon av doksorubicin i dyr er kjent til å bevirke hjerteskaade og øke mortalitet. En studie ble designet for å undersøke effekten av tolvaptan på doksorubicinindusert kardial toksisitet og dyredød. Fire grupper av rotter ble evaluert, alle med 6 injeksjoner av doksorubicin (2,5 mg/kg hver) under en to ukers periode. For å teste tolvaptans evne til å forhindre toksisitet, ble tolvaptan (10 mg/kg oralt)
- 10 gitt daglig til én gruppe av rotter (Tol+Dox). En annen gruppe av rotter ble daglig gitt kun vehikkel (Veh+Dox). For å teste tolvaptans evne til å reversere toksisiteten, ble tolvaptan (10 mg/kg oralt) gitt daglig til én gruppe av rotter, med start etter fullføring av doksorubicinadministrering (Dox+Tol). En annen gruppe av rotter ble gitt kun vehikkel (Dox+Veh). Tabell 1 oppsummerer gruppebetegnelse:

15

Tabell 1: Behandlingsgrupper for modellen av intraperitoneal injeksjon av doksorubicin

Dox: doksorubicin, Tol: tolvaptan, Veh: vehikkel.

	Gruppenavn	Legemiddeldose	Antall rotter
1	Veh+Dox	Doksorubicin ble injisert 6 ganger (2,5 mg/kg hver, intraperitonealt) i løpet av en 13 dagers periode. Oral vehikkel ble gitt daglig, og starter med den første injeksjon av doksorubicin.	12
2	Tol+Dox	Doksorubicin ble injisert 6 ganger (2,5 mg/kg hver, intraperitonealt) i løpet av en 13 dagers periode. Oral tolvaptan (10 mg/kg) ble gitt daglig, og starter med den første injeksjon av doksorubicin	12
3	Dox+Veh	Doksorubicin ble injisert 6 ganger (2,5 mg/kg hver, intraperitonealt) i løpet av en 13 dagers periode. Oral vehikkel ble gitt daglig, og starter den neste dag etter fullføringen av 6 injeksjoner av doksorubicin.	12
4	Tol+Dox	Doksorubicin ble injisert 6 ganger (2,5	12

		mg/kg hver, intraperitonealt) i løpet av en 13 dagers periode. Oral tolvaptan (10 mg/kg) ble gitt daglig, og starter på den neste dag etter fullføringen av 6 injeksjoner av doksorubicin.	
--	--	--	--

Rottene ble observert i 12 uker. Overlevelse ble analysert ved å anvende Kaplan-Meier overlevelsesanalyse med Log-Rank-testen.

5

Figur 1 viser at graden av mortalitet var signifikant redusert ved tolvaptanbehandling ($p < 0,001$).

10

Når behandlingen med tolvaptan ble initiert etter fullføringen av 6 injeksjoner av doksorubicin, var den beskyttende effekten av tolvaptan stort sett tapt som det fremgår i figur 2. Der var kun en liten utsettelse av rottetød ved tolvaptan. I de to gruppene av rotter som ble gitt doksorubicin og tolvaptan, og rottene som ble gitt doksorubicin og kun vehikkel, mottok totalt 24 rotter doksorubicininjeksjon. Etter fullføringen av doksorubicinadministrering, fremstod et signifikant antall rotter som svært syke, og det ble ansett at selv en effektiv terapi ikke ville kunne reversere skaden i de svært syke rottene. Kun 10 av disse rottene ble valgt til å motta tolvaptan (5 rotter) eller vehikkel (5 rotter) behandling.

15

20

Resultatene som vist i figur 2 foreslår at tolvaptan er svært effektiv for å forebygge doksorubicinbevirket mortalitet dersom tolvaptan ko-administreres med doksorubicin. Evnen til å redusere mortalitet er i stor grad tapt dersom behandlingen kun initieres etter fullføringen av 6 doksorubicininjeksjoner. Således er et nytt funn i forbindelse med denne studien at vasopressinantagonister må gis enten før eller samtidig med kjemoterapimidlene for å ha en beskyttende effekt.

25

Eksempel 2

30

De foreliggende oppfinnere undersøkte om aktivering av V_2 -reseptorer kan akselerere doksorubicinindusert mortalitet. En kontinuerlig subkutan infusjon av 1 ng/t av DDAVP (deamino-Cys1, D-Arg-vasopressin) pr. dyr ble gjennomført ved å anvende en osmotisk minipumpe (infusjonshastighet: 0,5 μ l/t, ALZET modell 2002, DURECT Corporation, Cupertino, CA) i 14 dager. Protokollen for denne studien er vist i fig. 3. På dag 0 ble en osmotisk minipumpe implantert subkutan. "Sham"-kontrollrottene

hadde den samme kirurgiske prosedyren men med kun saltvann i minipumpen. Rottene ble oppdelt i to grupper: én med seks intraperitoneale injeksjoner av doksorubicin (2,5 mg/kg) under en 13 dagers periode, og én med injeksjoner av saltvann. Rottene ble fôret med flytende næring gjennom forsøket. Med den
5 kontinuerlige infusjon av DDAVP, vil fôring med flytende næring øke systemisk volumoverbelastning og ødem, forhold som ofte observeres i CHF-pasienter.

Som understøttelse av den skadelige rollen til vasopressin V_2 -reseptorer i doksorubicinindusert toksisitet, økte DDAVP statistisk og signifikant doksorubicinets
10 toksisitet, og akselererte signifikant dødeligheten fra doksorubicin sammenlignet med den til rotter behandlet med doksorubicin alene ($p < 0,001$), Log-Rank-test) som vist i figur 4. Således, i pasienter behandlet med doksorubicin, kan økte vasopressinnivåer forverre toksisiteten ytterligere.

15 **Eksempel 3**

For å bestemme om tolvaptan påvirker plasmakonsentrasjonen av doksorubicin, ble plasmaprøver oppnådd etter den første (dag 1) og den sjette (dag 13) injeksjon av doksorubicin med vehikkel eller tolvaptan, og plasmakonsentrasjonen av doksorubicin ble målt. Figur 5 viser legemiddelbehandlingsprotokollen og protokollen for blodprøver
20 for denne studien.

Som vist i figur 6 påvirker tolvaptan ikke plasmakonsentrasjonen av doksorubicin.

Antrasykliner som inkluderer doksorubicin er kjent til å føre til myelosuppresjon som skyldes deres evne til å bli innskutt i DNA, og til å inhibere syntese av nye proteiner
25 og celleproliferasjon i benmargen (tilsvarende mekanismer involvert ved inhibering av cancercelleproliferasjon). Myelosuppresjon ble anvendt som en indeks for doksorubicinets evne til å inhibere celleproliferasjon og anti-cancer-effekt. Tolvaptan påvirker ikke den myelosuppressive effekt av doksorubicin som vist i figur 7, som
30 viser at en tretten dagers behandling med doksorubicin signifikant reduserte totale hvite blodceller (WBC) og lymfocytt (LY) tall. Blodprøver ble tatt etter 1 og 13 dagers behandling med doksorubicin. Nedgangene i antall blodceller var tilsvarende mellom vehikkelbehandlede rotter og tolvaptanbehandlede rotter. En dags behandling med doksorubicin påvirket ikke antall blodceller.

35

Disse resultater foreslår at det er lite trolig at tolvaptan påvirker anti-cancereffekten av doksorubicin.

Eksempel 4

I en klinisk sammenheng administreres doksorubicin intravenøst til cancerpasienter. Videre er den viktigste bivirkningen forbundet med doksorubicinbehandling kardial dysfunksjon og utvikling av CHF. Effekten av tolvaptan på CHF ble derfor evaluert i en rottemodell med intravenøs injeksjon av doksorubicin. Kardial funksjon ble bestemt ved å anvende høyoppløsnings-ultrasonografi.

Metoder:

Rotter ble oppdelt i 3 grupper som beskrevet i tabell 2, og observert i 10 uker.

Tabell 2: Behandlingsgrupper for modellen med intravenøs injeksjon av doksorubicin

Dox: doksorubicin, Tol: tolvaptan, Veh: vehikkel.

	Gruppenavn	Legemiddeldose eller konsentrasjon	Antall rotter inkludert i dataanalyser
1	Kontroll	Ingen behandling	8
2	Dox+Veh-Echo (Echo-studie)	Doksorubicin ble injisert 3 ganger (3 mg/kg hver, intravenøst hver annen dag). Oral vehikkel ble gitt daglig	13
3	Dox+Tol-Echo (Echo-studie)	Doksorubicin ble injisert 3 ganger (3 mg/kg hver, intravenøst hver annen dag). Oral tolvaptan (10 mg/kg) ble gitt daglig	12

Kontrollrotter ble ikke behandlet. For grupper 2 og 3 med doksorubicinbehandling fikk rottene tre injeksjoner intravenøst av doksorubicin (3 mg/kg hver) hver annen dag (total dose på 9 mg/kg). En lavere dose av doksorubicin ble valgt i dette forsøk (sammenlignet med dosen i eksempel 1) for å tillate utvikling av CHF under 10-ukers perioden. Rottene ble gitt enten vehikkel eller tolvaptan (10 mg/kg) daglig med start på den første dag av doksorubicininjeksjon. På dagene med ko-administrering av doksorubicin og tolvaptan, ble tolvaptan gitt ved oral sonde 45 minutter før den intravenøse injeksjon av doksorubicin.

Kardial funksjon ble evaluert ved å anvende ekkokardiografi (Vevo 770, Visualsonics Inc., Toronto, Canada). Ekkobilder ble tatt én gang pr. uke i ti påfølgende uker. Rotter ble bedøvet med isofluran og parasternal lang og kort akse ekkobilder ble registrert. Offline-analyse av kardial funksjon (ejeksjonsfraksjon og fraksjonell forkorting) og anatomiske data for hjertet (LV og diastolisk diameter og volum) ble gjennomført. På slutten av ti ukers perioden ble kardial kontraktilitet (LVdp/dtmax/ip) målt invasivt.

Resultater:

Data er presentert som gjennomsnitt $\pm$ SD (standardavvik). Doksorubicinbehandling nedsatte progressivt både fraksjonell forkorting og ejeksjonsfraksjon av venstre ventrikkel, som indikerer hjertesvikt, som vist i figurer 8 og 9. Tolvaptan forbedret signifikant kardial funksjon, og forsinket utviklingen av hjertesvikt.

I tillegg til kardial dysfunksjon, inkluderer kjennetegn på CHF også omforming av venstre ventrikkel: kamre blir større og dilatert. Ekkoavbildingsdata viste faktisk at venstre ventrikkel diastolisk volum og diameter økte progressivt med doksorubicinbehandling som vist i figurer 10 og 11. Tolvaptan sakket omformingsprosessen.

Invasive hemodynamiske målinger ble gjennomført på slutten av ti ukers perioden. Kontraktilitetsindeksen, som definert ved normaliseringen av LVdp/dtmax til øyeblikkelig LV-trykk ved LVdp/dtmax, var høyere i de tolvaptanbehandlede rottene sammenlignet med det for de vehikkelbehandlede rottene som vist i figur 12.

Eksempel 5

De foreliggende oppfinnere undersøkte om tolvaptan kan forbedre overlevelse i løpet av en vedlikeholdt aktivering av V_2 -reseptor (ved kontinuerlig infusjon av en V_2 -agonist DDAVP) tilstand i rotter behandlet med intravenøs injeksjon av doksorubicin. Denne tilstand kan være relevant for enkelte cancerpasienter som har økt vasopressinfrigivelse og som gjennomgår kjemoterapi, slik som med doksorubicin.

To grupper av rotter ble studert, og protokollen er beskrevet i figur 13. Rotter ble injisert intravenøst med doksorubicin (3 mg/kg) tre ganger, én gang hver annen dag for totalt 9 mg/kg (samme som beskrevet i eksempel 4). En gruppe (Dox + DDAVP) ble gitt vehikkel, og den andre gruppen (Dox + DDAVP + Tol) fikk administrert tolvaptan (10 mg/kg) én gang daglig. En osmotisk minipumpe (infusjonshastighet: 0,15 μ l/t, ALZET modell 2006, ALZA Corporation) ble implantert i hver rotte for

kontinuerlig subkutan infusjon av 1 ng/t av DDAVP (en vasopressin V_2 -agonist [deamino-Cys1, D-Arg8]-vasopressin).

- 5 Kaplan-Meier overlevelsesanalysen er vist i figur 14. Mens infusjon av DDAVP gjorde doksorubicinet svært toksisk og rotter døde innen 2 uker, forbedret tolvaptan overlevelse signifikant. Disse data foreslår at toksisiteten av doksorubicin er økt under forhold med forhøyet vasopressin. Tolvaptan kan særlig være anvendbar for å redusere doksorubicintoksitet i cancerpasienter med forhøyet vasopressin.

Referanseliste

- (1) Christiansen S, Autschbach R. Doxorubicin in experimental and clinical heart failure. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006 October;30(4):611-6.
- (2) Iarussi D, Indolfi P, Casale F, Martino V, Di Tullio MT, Calabro R. Anthracycline-induced cardiotoxicity in children with cancer: strategies for prevention and management. *Paediatr Drugs* 2005;7(2):67-76.
- (3) Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer* 2003 June 1;97(11):2869-79.
- (4) Singal PK, Iliskovic N. Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1998 September 24;339(13):900-5.
- (5) Krischer JP, Epstein S, Cuthbertson DD, Goorin AM, Epstein ML, Lipshultz SE. Clinical cardiotoxicity following anthracycline treatment for childhood cancer: the Pediatric Oncology Group experience. *J Clin Oncol* 1997 April;15(4):1544-52.
- (6) Lipshultz SE, Rifai N, Dalton VM et al. The effect of dexrazoxane on myocardial injury in doxorubicin-treated children with acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2004 July 8;351(2):145-53.
- (7) Cvetkovic RS, Scott LJ. Dexrazoxane : a review of its use for cardioprotection during anthracycline chemotherapy. *Drugs* 2005;65(7):1005-24.
- (8) Swain SM, Whaley FS, Gerber MC et al. Cardioprotection with dexrazoxane for doxorubicin-containing therapy in advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 1997 April;15(4):1318-32.
- (9) Brenner B, Rector F. *The Kidney*. 7th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2004.
- (10) Tang WH, Bhavnani S, Francis GS. Vasopressin receptor antagonists in the management of acute heart failure. *Expert Opin Investig Drugs* 2005 May;14(5):593-600.

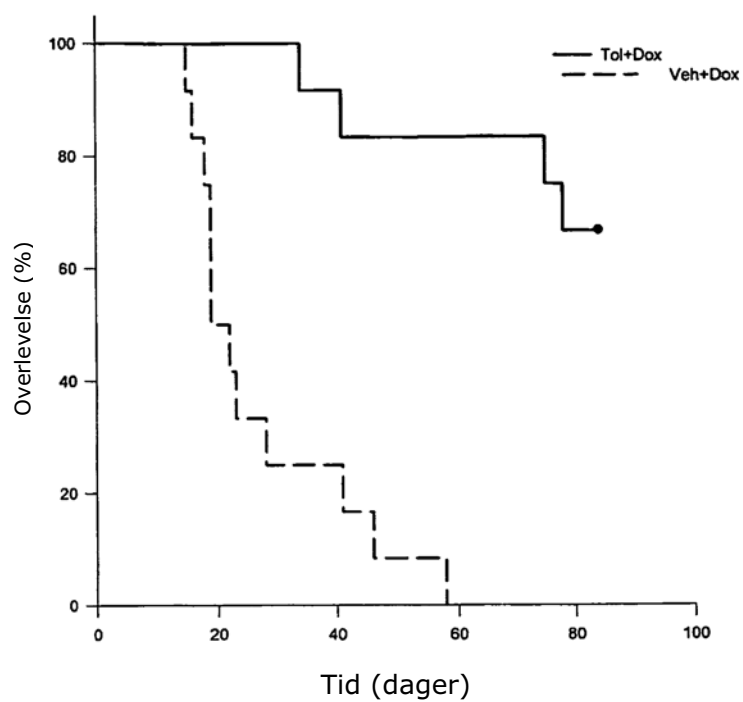
- (11) Campling BG, Sarda IR, Baer KA et al. Secretion of atrial natriuretic peptide and vasopressin by small cell lung cancer. *Cancer* 1995 May 15;75(10):2442-51.
- (12) Mizobuchi M, Kunishige M, Kubo K, Komatsu M, Bando H, Saito S. Syndrome of inappropriate secretion of ADH (SIADH) due to small cell lung cancer with extremely high plasma vasopressin level. *Intern Med* 1994 August;33(8):501-4.
- (13) North WG. Gene regulation of vasopressin and vasopressin receptors in cancer. *Exp Physiol* 2000 March;85 Spec No:27S-40S.
- (14) North WG, Pai S, Friedmann A, Yu X, Fay M, Memoli V. Vasopressin gene related products are markers of human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1995 June;34(3):229-35.
- (15) Talmi YP, Hoffman HT, McCabe BF. Syndrome of inappropriate secretion of arginine vasopressin in patients with cancer of the head and neck. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992 November;101(11):946-9.
- (16) Umemura S, Segawa Y, Ueoka H et al. Serum level of arginine-vasopressin influences the prognosis of extensive-disease small-cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007 August;133(8):519-24.
- (17) Ma J, Fan S, Chen J, Gu Y, Lin S. Messenger RNA expressions of vasopressin system and aquaporin-2 in adriamycin-induced nephrotic rats and effects of astragalus membranaceus. *Chin Med J (Engl)* 1999 December;112(12):1068-72.
- (18) Johnston CI, Arnold L, Abrahams J, McGrath B. Role of vasopressin in experimental congestive cardiac failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986;8 Suppl 7:S96-100.
- (19) Price JF, Towbin JA, Denfield SW et al. Arginine Vasopressin Levels Are Elevated and Correlate With Functional Status in Infants and Children With Congestive Heart Failure. *Circulation* 2004 May 17.
- (20) Burrell LM, Phillips PA, Risvanis J, Chan RK, Aldred KL, Johnston CI. Long-term effects of nonpeptide vasopressin V2 antagonist OPC-31260 in heart failure in the rat. *Am J Physiol* 1998 July;275(1 Pt 2):H176-H182.
- (21) Francis GS, Tang WH. Vasopressin receptor antagonists: will the "vaptans" fulfill their promise? *JAMA* 2004 April 28;291(16):2017-8.

- (22) Xu DL, Martin PY, Ohara M et al. Upregulation of aquaporin-2 water channel expression in chronic heart failure rat. *J Clin Invest* 1997 April 1;99(7):1500-5.
- (23) Burrell LM, Risvanis J, Johnston CI, Naitoh M, Balding LC. Vasopressin receptor antagonism--a therapeutic option in heart failure and hypertension. *Exp Physiol* 2000 March;85 Spec No:259S-65S.
- (24) Gheorghiade M, Niazi I, Ouyang J et al. Vasopressin V2-receptor blockade with tolvaptan in patients with chronic heart failure: results from a double-blind, randomized trial. *Circulation* 2003 June 3;107(21):2690-6.
- (25) Takeuchi M, Lee JD, Shimizu H, Ueda T. Effects of long-term oral treatment with selective vasopressin V2 receptor antagonist (OPC-31260) on adriamycin-induced heart failure in rats. *Int J Cardiol* 2006 April 4;108(2):231-6.

PATENTKRAV

1. Tolvaptan eller et farmasøytisk aksepterbart salt derav for anvendelse i en metode for å redusere kardiotoxisitet og/eller forbedre overlevelse fra doksorubicin kjemoterapi hvor tolvaptan eller et farmasøytisk aksepterbart salt derav administreres samtidig med eller før doksorubicinadministrering.
5
2. Tolvaptan ifølge krav 1, for anvendelse i en metode for å redusere kardiotoxisitet.
10
3. Tolvaptan ifølge krav 1, for anvendelse i en metode for å forbedre overlevelse.
4. Farmasøytisk preparat som omfatter tolvaptan eller et farmasøytisk aksepterbart salt derav for anvendelse i en metode for å redusere kardiotoxisitet og/eller forbedre overlevelse fra doksorubicin kjemoterapi, hvor tolvaptan eller et farmasøytisk aksepterbart salt derav administreres samtidig med eller før doksorubicinadministrering.
15

1/14

Figur 1

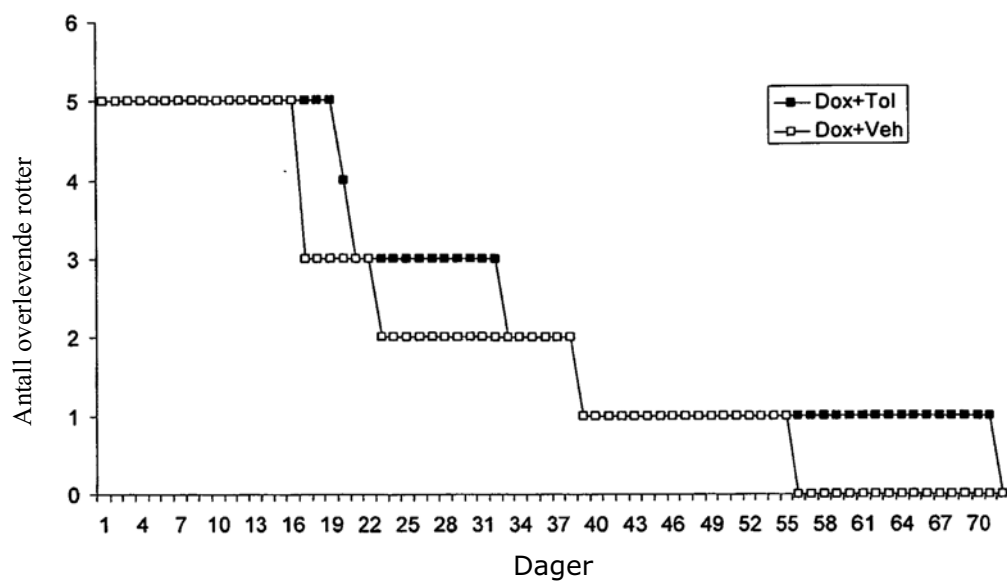
Dox: doksorubicin. Tol: tolvaptan. Veh: vehikkel

Kaplan-Meier overlevelsesanalyse for tolvaptanbehandlede rotter.

2/14

Figur 2

5



Dox: dokсорubicin. Tol: tolvaptan. Veh: vehikkel

3/14

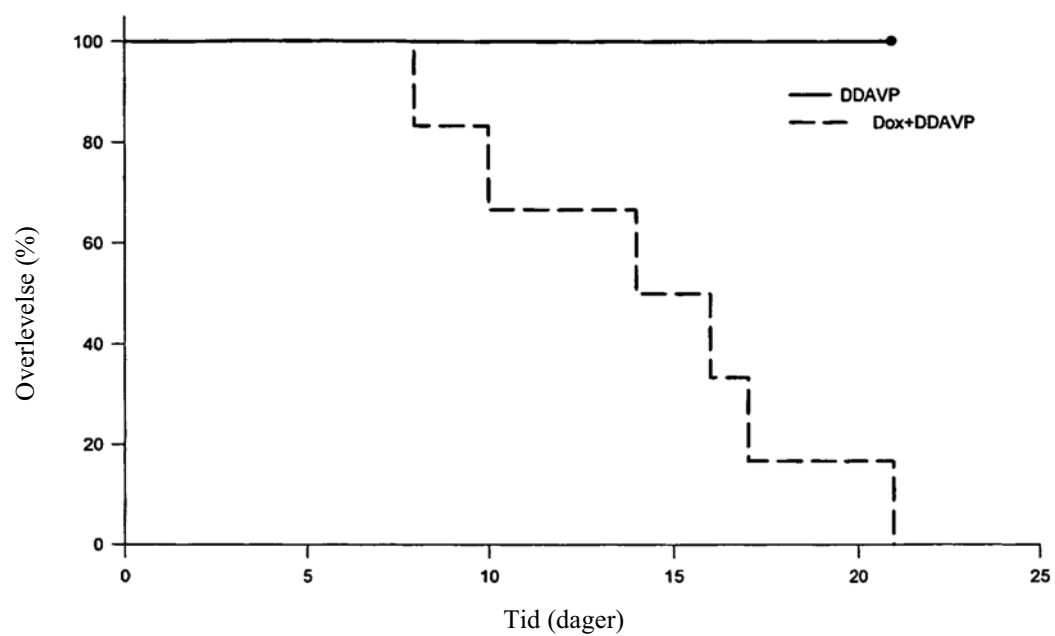
Figur 3

Dag	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Dox	Saltvann osmotisk pumpe (0,5 µl/t)																	
Dox+DDAVP	DDAVP osmotisk pumpe (1 ng/t i 28 dager)																	
Næring	Flytende næring 70 ml/dag																	

Protokoll for DDAVP studien

Dox: doksorubicin

4/14

Figur 4

Dox: doksorubicin

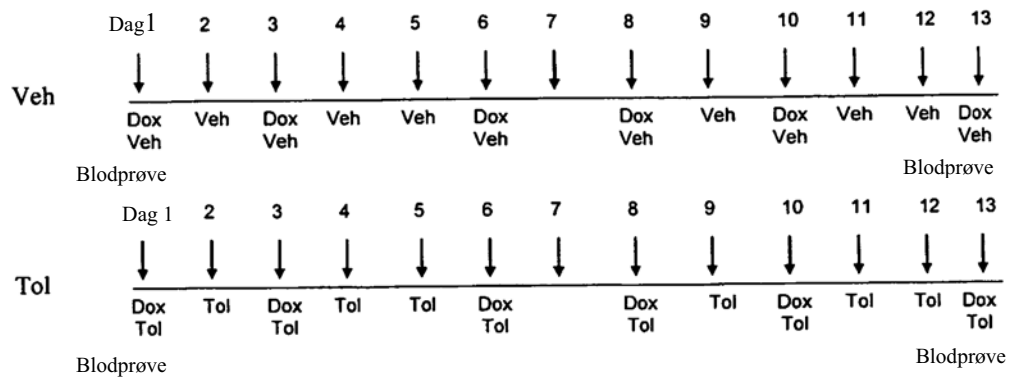
Kaplan-Meier overlevelsesanalyse for doksorubicinbehandlede rotter

5/15

5

Figur 5

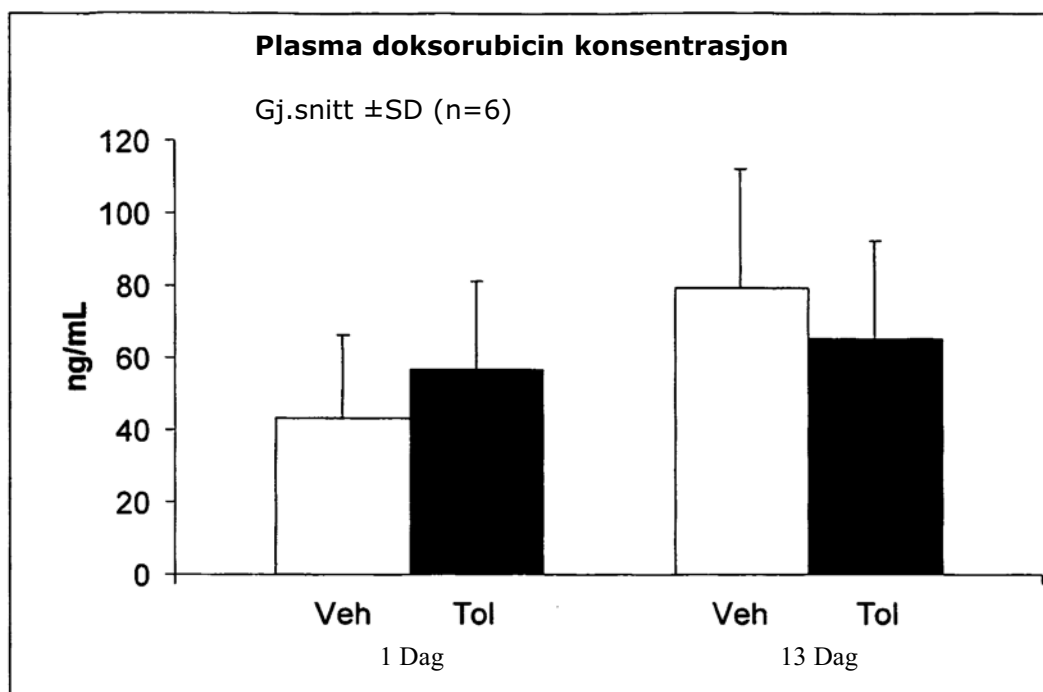
Blodprøveprotokoll



- Dox: doksorubicin 2,5 mg/kg intraperitoneal injeksjon 20 min før Veh eller Tol
- Tol: tolvaptan 10 mg/kg. Veh: vehikkel 1% hydroksypropylmetylcellulose
- Hepariniserte blodprøver tatt 20 min etter Tol eller Veh på dag 1 eller dag 13.

6/14

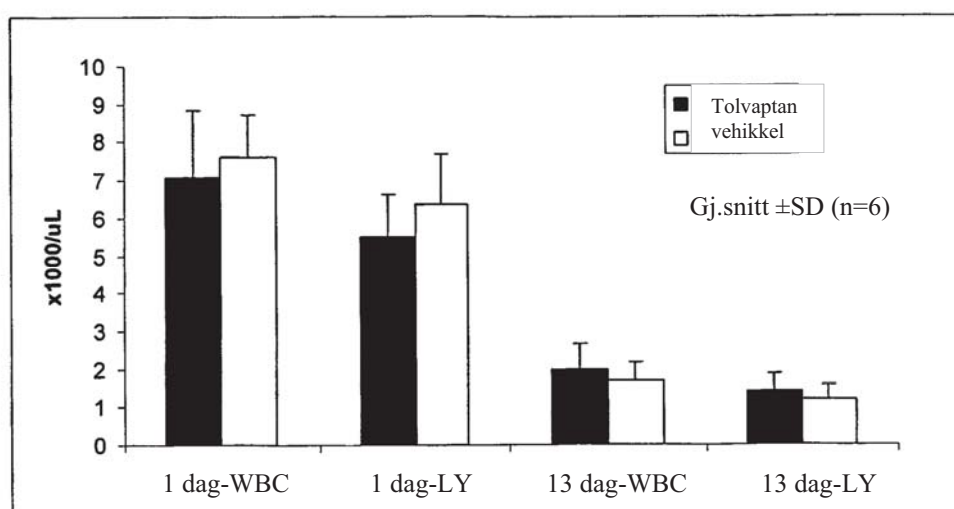
Figur 6



Veh: vehikkel, Tol: tolvaptan

7/14

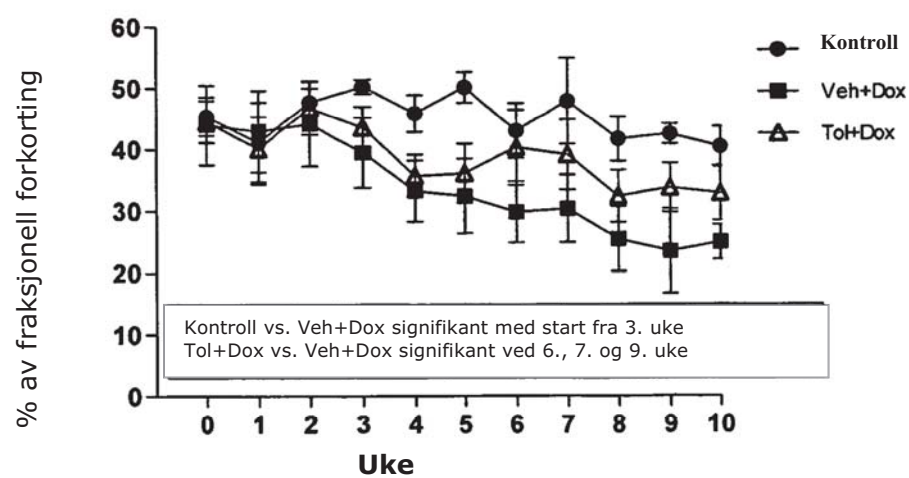
Figur 7



8/14

5

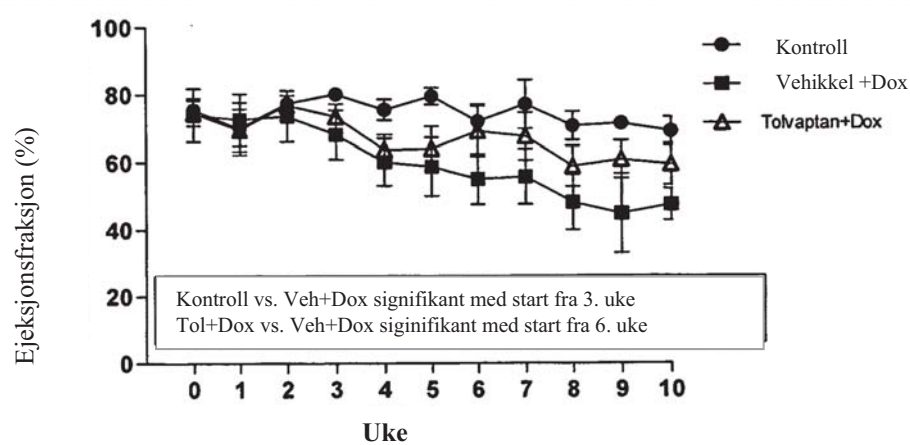
Figur 8



Tox: tolvaptan. Dox: doksorubicin Veh: vehikkel

9/14

Figur 9

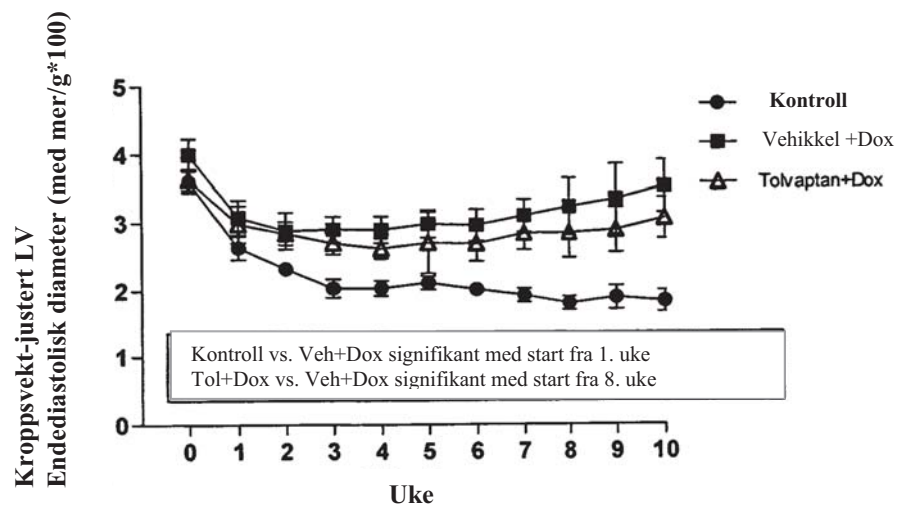


Dox: doksorubicin. Veh: vehikkel

Ejeksjonsfraksjon for venstre ventrikk

10/14

Figur 10

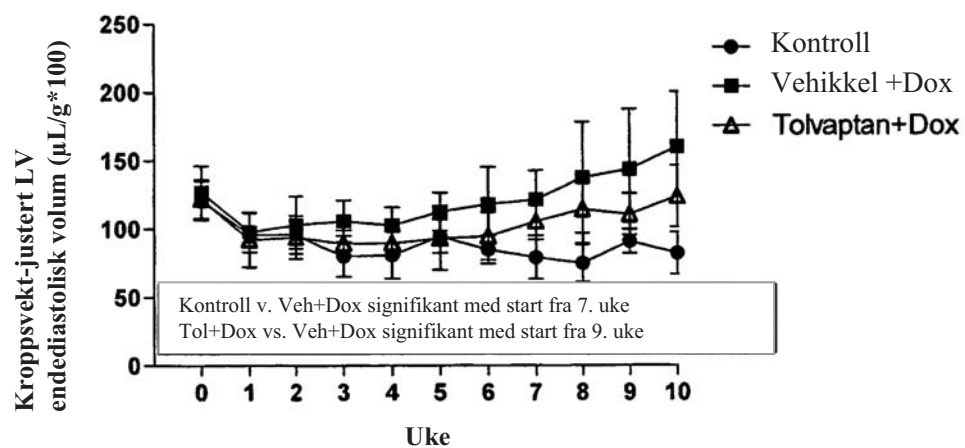


Tox: tolvaptan. Dox: doksorubicin. Veh: Vehikkel

Venstre ventrikkel endediastolisk volum/vekt justert.

11/14

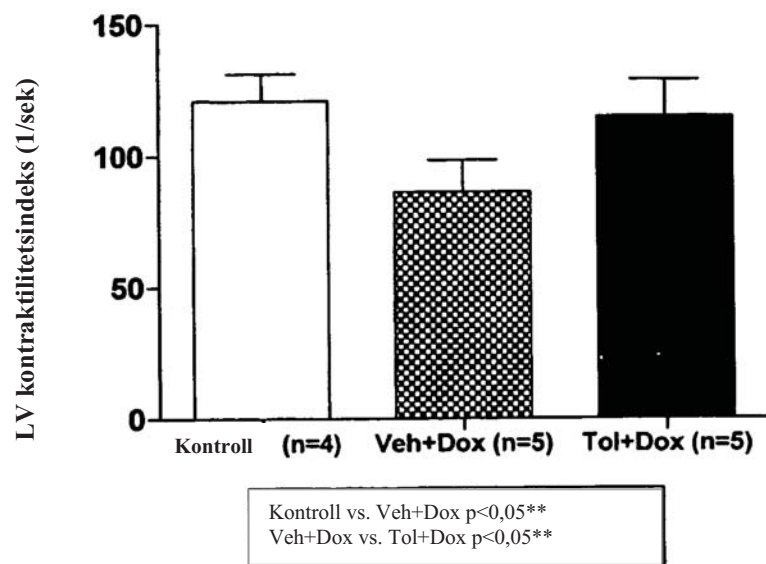
Figur 11



Tol: tolvaptan. Dox: doksorubicin. Veh: vehikkel
Venstre ventrikkel endediastolisk diameter/vekt justert

12/14

Figur 12



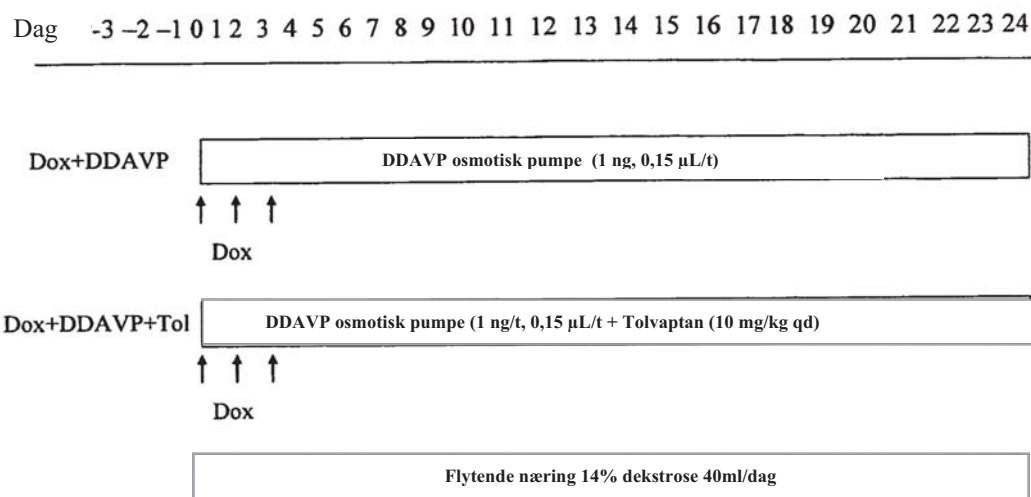
Tol: tolvaptan. Dox: doksorubicin. Veh: vehikkel

Forbedring av kontraktilitetsindeks

13/14

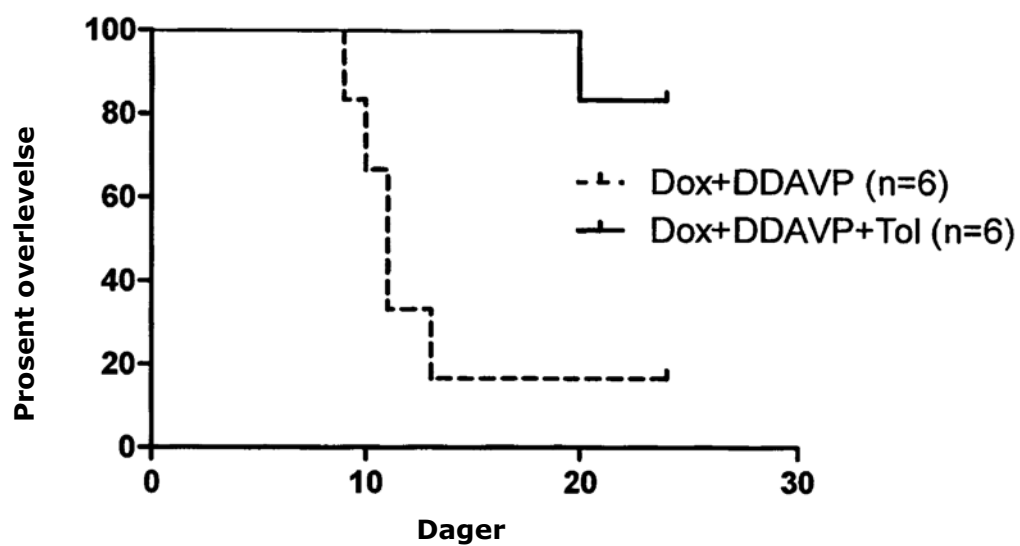
Figur 13

Protokoll



14/14

Figur 14



Tol: tolvaptan. Dox: doksorubicin. $P < 0,02$ når overlevelsesrater ble sammenliknet ved anvendelse av Log-Rank testen.

Kaplan Meier overlevelsesanalyse