



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **90658** (13) **C2**

(51) **МПК (2009)**

A61K 31/337

A61K 31/555

A61K 38/17

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) КОМПОЗИЦІЯ АНТАГОНІСТА VEGF І АНТИПРОЛІФЕРАТИВНОГО ЗАСОБУ

1

(21) a200601970

(22) 23.07.2004

(24) 25.05.2010

(86) PCT/US2004/023815, 23.07.2004

(31) 60/490,002

(32) 25.07.2003

(33) US

(31) 60/493,971

(32) 08.08.2003

(33) US

(46) 25.05.2010, Бюл.№ 10, 2010 р.

(72) ХОУЛАШ ДЖОСЛІН, US, ДЖАФФ РОБЕРТ, US, ХУ ЛІМІНЬ, US, ЯНКОПУЛОС ДЖОРДЖ Д., US

(73) РІДЖЕНЕРОН ФАРМАСЬОТІКАЛЗ, ІНК., US, ДЗЕ РІДЖЕНТС ОФ ДЗЕ ЮНІВЕРСІТІ ОФ КАЛІФОРНІЯ, US

(56) US 6342219 B1, 29.01.2002

KABBINAVAR FAIROOZ ET AL: "Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer." JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY : OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY. 1 JAN 2003, vol. 21, no. 1, 1 January 2003 (2003-01-01), pages 60-65

FERRARA NAPOLEONE ET AL: "The biology of VEGF and its receptors." NATURE MEDICINE, vol. 9, no. 6, June 2003 (2003-06), pages 669-676

WO 00/75319 A1, 14.12.2000

HOLASH JOCELYN ET AL: "VEGF-Trap: A VEGF blocker with potent antitumor effects." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, US, vol. 99, no. 17, 20 August 2002 (2002-08-20), pages 11393-11398

HUANG JIANZHONG ET AL: "Regression of established tumors and metastases by potent vascular endothelial growth factor blockade." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 100, no. 13, 24 June 2003 (2003-06-24), pages 7785-7790

2

LIMIN HU ET AL: "Vascular endothelial growth factor immunoneutralization plus paclitaxel markedly reduces tumor burden and ascites in athymic mouse model of ovarian cancer" AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY, vol. 161, no. 5, November 2002 (2002-11), pages 1917-1924

(57) 1. Застосування поєднання антагоніста фактора росту ендотелію судин (VEGF) і антипроліферативного засобу, призначеного для лікування злоякісної пухлини, для приготування лікарського засобу для лікування злоякісної пухлини, де антагоніст VEGF являє собою пастку VEGF, вибрану з VEGFR1R2-FcΔC1(a) і Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1(a), при цьому антипроліферативний засіб являє собою засіб, який стабілізує мікротрубочки, вибраний з групи, яка включає паклітаксел, доцетаксел або їх суміш, або антипроліферативний засіб являє собою хіміотерапевтичний засіб на основі платини, вибраний з групи, яка включає цисплатин, карбоплатин і іпроплатин.

2. Застосування за п. 1, де антагоніст VEGF являє собою VEGFR1R2-FcΔC1(a), і антипроліферативний засіб являє собою паклітаксел або доцетаксел.

3. Застосування за п. 1 або 2, де індивідуюмом є людина.

4. Застосування поєднання антагоніста VEGF і антипроліферативного засобу для приготування лікарського засобу, що зменшує ріст пухлини в індивідуюма, де антагоніст VEGF являє собою пастку VEGF, вибрану з VEGFR1R2-FcΔC1(a) і Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1(a), при цьому антипроліферативний засіб являє собою засіб, який стабілізує мікротрубочки, вибраний з групи, яка включає паклітаксел, доцетаксел або їх суміш, або антипроліферативний засіб являє собою хіміотерапевтичний засіб на основі платини, вибраний з групи, яка включає цисплатин, карбоплатин і іпроплатин.

5. Спосіб інгібування або зменшення росту пухлини у потребууючого цього індивідуюма, який включає введення індивідуюму антагоніста фактора росту ендотелію судин (VEGF), у поєднанні з антипроліферативним засобом, інгібуючи ріст пухли-

(13) **C2**

(11) **90658**

(19) **UA**

ни, де антагоніст VEGF являє собою пастку VEGF, вибрану з VEGFR1R2-FcΔC1(a) і Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1(a), при цьому антипроліферативний засіб вибирають з групи, яка включає паклітаксел, доцетаксел або суміш паклітакселу і хіміотерапевтичного засобу на основі платини, вибраного з групи, яка включає цисплатин, карбоплатин і іпроплатин.

6. Фармацевтична композиція, яка містить антагоніст фактора росту ендотелію судин (VEGF), антипроліферативний засіб і фармацевтично прийнятний носій, у якому антагоніст VEGF являє собою пастку VEGF, вибрану з VEGFR1R2-FcΔC1(a) і Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1(a), при цьому антипроліферативний засіб являє собою засіб, який стабілізує мікротрубочки, вибраний з групи, яка включає паклітаксел, доцетаксел або їх суміш, або антипроліферативний засіб являє собою хіміотерапевтичний засіб на основі платини, вибраний з групи, яка включає цисплатин, карбоплатин і іпроплатин.

7. Застосування поєднання антагоніста VEGF і хіміотерапевтичного засобу для лікування злоякісної пухлини, де поєднання знижує кількість хіміотерапевтичного засобу, необхідну для досягнення бажаного ефекту, для приготування лікарського засобу для лікування злоякісної пухлини, де антагоніст VEGF являє собою пастку VEGF, вибрану з VEGFR1R2-FcΔC1(a) і Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1(a), при цьому антипроліферативний засіб являє собою засіб, який стабілізує мікротрубочки, вибраний з групи, яка включає паклітаксел, доцетаксел або їх суміш, або антипроліферативний засіб являє со-

бою хіміотерапевтичний засіб на основі платини, вибраний з групи, яка включає цисплатин, карбоплатин і іпроплатин.

8. Застосування за п. 7, де необхідна для досягнення бажаного терапевтичного ефекту кількість хіміотерапевтичного засобу знижена щонайменше на 20 %.

9. Застосування за п. 8, де необхідна для досягнення бажаного терапевтичного ефекту кількість хіміотерапевтичного засобу знижена приблизно на 30-50 %.

10. Набір для лікування злоякісної пухлини, який містить:

(а) пакувальний матеріал; і

(б) фармацевтичний засіб, який міститься в пакувальному матеріалі, де фармацевтичний засіб містить щонайменше одну дозу пастки фактора росту ендотелію судин (VEGF) і щонайменше один антипроліферативний засіб, і де на пакувальному матеріалі вказано, що антагоніст VEGF і антипроліферативний засіб можна застосовувати для лікування злоякісної пухлини або зменшення росту пухлини, при цьому антагоніст VEGF являє собою пастку VEGF, вибрану з VEGFR1R2-FcΔC1(a) і Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1(a), і антипроліферативний засіб являє собою засіб, який стабілізує мікротрубочки, вибраний з групи, яка включає паклітаксел, доцетаксел або їх суміш, або антипроліферативний засіб являє собою хіміотерапевтичний засіб на основі платини, вибраний з групи, яка включає цисплатин, карбоплатин і іпроплатин.

Галузь техніки, якої стосується винахід

Галузь винаходу стосується способів лікування злоякісних пухлин у ссавців із застосуванням антагоніста фактора росту ендотелію судин (VEGF) в поєднанні з антипроліферативним засобом, і фармацевтичних композицій, що містять антагоніст VEGF і антипроліферативний засіб.

Рівень техніки

Фактор росту ендотелію судин визнаний найважливішим фактором, що стимулює ангіогенез при патологічних станах. Підходи до способів блокування VEGF включають застосування розчинних конструктів рецептора, антисмислових молекул, аптамерів РНК і антитіл. Для опису пастки на основі антагоністів рецептора VEGF див., наприклад, РСТ WO/0075319.

Для лікування злоякісних пухлин широко застосовують протипухлинні засоби, як окремо, так і в поєднанні з хірургічним втручанням і/або променевою терапією. Відомі способи комбінованого лікування (див., наприклад, США 6342219), із застосуванням антитіла проти VEGF і хіміотерапевтичних засобів, таких як паклітаксел (Таксол™).

Розкриття винаходу

В одному з аспектів винахід стосується способу лікування злоякісних пухлин в індивідуума, потребуючого такого лікування, який включає введення індивідууму антагоніста фактора росту ендотелію судин (VEGF) в поєднанні з антипроліферативним засобом, здійснюючи лікування зля-

кисної пухлини. Хоча індивідуум, якому проводять лікування, може відноситися до будь-якого виду ссавців, переважно, потребуючим індивідуумом є людина, що страждає злоякісною пухлиною.

В окремому здійсненні антагоніст VEGF являє собою пастку VEGF, здатну до високоафінного зв'язування з VEGF. Більш конкретно, пастка VEGF являє собою Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1(a) (SEQ ID NO:1-2) або VEGFR1R2-FcΔC1(a) (SEQ ID NO:3-4). В окремому здійсненні антипроліферативний засіб являє собою засіб, що стабілізує мікротрубочки, такий як паклітаксел або таке його похідне, аналог, як доцетаксел (Таксотер®), або їх суміш; такі хіміотерапевтичні сполуки на основі платини, як цисплатин, карбоплатин, іпроплатин і споріднені сполуки; або інші загальноприйняті цитотоксичні сполуки. Таксол™ (Bristol-Myers Squibb) являє собою одну з доступних торгових форм паклітакселу.

У другому аспекті винахід стосується способу зменшення, сповільнення або інгібування росту пухлини, у потребуючого цього індивідуума, який включає введення індивідууму антагоніста фактора росту ендотелію судин (VEGF) в поєднанні з антипроліферативним засобом, здійснюючи зменшення, сповільнення або інгібування росту злоякісної пухлини.

У третьому аспекті винахід стосується способу зменшення кількості хіміотерапевтичного засобу, необхідного для досягнення бажаного терапевтичного ефекту, що включає введення хіміотерапев-

тичного засобу з антагоністом VEGF. Більш конкретно, хіміотерапевтичний засіб являє собою такий антипроліферативний засіб, як паклітаксел або його похідне, аналог, або їх суміш; такі хіміотерапевтичні сполуки на основі платини, як цисплатин, карбоплатин, іпроплатин і споріднені сполуки; або інші загальноприйняті цитотоксичні сполуки; і антагоніст VEGF являє собою пастку VEGF. В одному з варіантів здійснення кількість хіміотерапевтичного засобу, необхідна для досягнення бажаного терапевтичного ефекту, такого як, наприклад, інгібування росту пухлини, знижена щонайменше на 20% при спільному введенні з пасткою VEGF. У більш окремому здійсненні необхідна кількість хіміотерапевтичного засобу знижена приблизно на 40-50% в присутності пастки VEGF.

У четвертому аспекті винахід стосується фармацевтичної композиції, що містить антагоніст фактора росту ендотелію судин (VEGF), антипроліферативний засіб і фармацевтично прийнятний носій. У більш конкретному здійсненні антагоніст VEGF являє собою пастку VEGF, здатну до високоафінного зв'язування з VEGF, і антипроліферативний засіб являє собою засіб, що стабілізує мікротрубочки, такий як паклітаксел або його похідне, аналог, або їх суміш. Ще більш конкретно, пастка VEGF являє собою Flt1D2.Fk1D3.FcΔCl(a) (SEQ ID NO:1-2), VEGFR1R2-FCΔCl(a) (SEQ ID NO:3-4) або їх функціональний еквівалент. У переважному здійсненні фармацевтична композиція являє собою VEGFR1R2-FcΔCl(a) (SEQ ID NO:3-4) і паклітаксел.

Інші задачі і переваги будуть очевидні з огляду подальшого детального опису.

Короткий опис малюнків

Фігури 1-2 являють собою гістограми, на яких показане зменшення пухлини (фіг. 1) і об'єм асцитичної рідини (фіг. 2) у тварин, яким проводили лікування тільки індивідуальною речовиною (плацебо) (як контроль), тільки пасткою VEGF, тільки ТаксолTM або пасткою VEGF разом з ТМ ТаксолTM.

Детальний опис

Перед описом даних способів і композицій необхідно розуміти, що даний винахід не обмежується конкретними способами і описаними експериментальними станами, оскільки такі способи і стани можуть змінюватися. Також необхідно розуміти, що термінологія, яка використовується в даному описі представлена тільки з метою опису конкретних здійснень і не має на увазі обмежень об'єму даного винаходу, який обмежується тільки прикладеною формулою винаходу.

Як використано в даному описі і прикладений формулі винаходу, форма однини термінів "деякий" і "цей" також стосується і множини, доти, поки в контексті явно не вказане інше. Таким чином, наприклад, посилання на "спосіб" включає один або більше способів, і/або стадій способу, вказаного і/або очевидного для фахівців в даній галузі після прочитання цієї інформації і т. д.

Як використовується в даному описі, всі технічні і наукові терміни, доти, поки не визначені інакше, мають те ж значення, в якому їх, як правило, розуміє фахівець в галузі, якої стосується даний

винахід. Цим описують переважні способи і речовини, хоча для практичного використання або перевірки даного винаходу можна застосовувати будь-які способи і речовини, що являють собою еквіваленти або подібні до тих, які описані в даному описі. Всі публікації, що цитуються включені в даний опис як посилання для опису способів і/або речовин, в зв'язку з якими цитовані вказані публікації.

Загальний опис

Винахід оснований на відкриттях, що поєднане введення антагоніста VEGF, наприклад, пастки VEGF VEGFR1R2-FcΔCl(a), разом з антипроліферативним засобом, наприклад, таксолTM, приводить в результаті до значного інгібування росту пухлини. Несподівано; взаємопосилувальна дія поєднання пастки VEGF і паклітаксела (ТаксолTM) на ріст пухлини забезпечує багатообіцяючий терапевтичний підхід до лікування злоякісних пухлин у людини. Для опису пасток VEGF на основі антагоніста рецептора VEGF Flt1D2.Fk1D3.FcΔCl(a) (SEQ ID NO:1-2) і VEGFR1R2-FCΔCl(a) (SEQ ID NO:3-4) див. PCT WO/0075319, зміст якого повністю приведений в даному описі як посилання.

Паклітаксел являє собою дитерпенову протипухлинну сполуку, спочатку отриману з кори дерева *Taxus brevifolia* (тихоокеанський тис) (Wani et al. (1971) J. Am. Chem. Soc. 93:2325-2327). ТаксолTM являє собою доступну торгову форму паклітакселу. Інші хіміотерапевтичні сполуки, що застосовуються за способом винаходу в поєднанні з антагоністом VEGF, включають, але не обмежуються ними, доцетаксел (Таксотер®; Aventis Antony, Франція); нітрозосечовину, циклофосфамід, доксорубіцин, епірубіцин, 5-фторурацил, топотекан і іринотекан, кармустин і естрамустин. Переважні хіміотерапевтичні засоби включають такі сполуки на основі платини, як цисплатин, карбоплатин і іпроплатин. Інші, подібні загальноприйняті цитотоксичні хімічні сполуки описані Wiemann et al. (1985) в Medical Oncology (Calabresi et al., eds.), розділ 10, McMillan Publishing.

Способи введення

Винахід надає способи лікування, що включають введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить такий антагоніст VEGF, як пастка VEGF, і такий антипроліферативний засіб, як паклітаксел. Відомі різні системи доставки, які можна застосовувати для введення композиції за винаходом, наприклад, інкапсулювання в ліпосоми, мікрочастинки, мікрокапсули, рекомбінантні клітини, здатні експресувати сполуку, опосередкований рецептором ендотин-3 (див., наприклад, Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429-4432), конструкцію нуклеїнової кислоти як частину ретровірусного або іншого вектора і т. д. Способи введення можуть бути ентеральними або парентеральними і включають, але не обмежуються ними, внутрішньошкірні, внутрішньом'язові, внутрішньочеревинні, внутрішньовенні, підшкірні, інтраназальні, внутрішньоочні і пероральні способи введення. Сполуки можна вводити разом з іншими біологічно активними речовинами і будь-яким зручним способом, наприклад, за допомогою інфузії або болюсної ін'єкції, всмоктування

через епітеліальну або шкірно-слизову оболонку (наприклад, слизову оболонку порожнини рота, слизову оболонку кишечника, включаючи пряму кишку і т. д.). Введення може бути системним або місцевим. Введення може бути однократним або тривалим (наприклад, щодобовим, щотижневим, щомісячним і т. д.), або в поєднанні з іншими засобами. Також можна застосовувати інгаляційне введення, наприклад, використовуючи інгалятор або розпилювачі і препарат з аерозольним засобом.

В іншому здійсненні активну речовину можна доставляти у везикулі, особливо в ліпосомі, в системах з контрольованим вивільненням або в насосі. В іншому здійсненні, де активна речовина за винаходом являє собою нуклеїнову кислоту, що кодує білок, нуклеїнову кислоту для забезпечення експресії білка, що кодується нею, можна вводити *in vivo* за допомогою конструювання її як частини відповідної нуклеїнової кислоти вектора експресії і введення її таким чином, щоб вона попала всередину клітини, наприклад, застосовуючи ретровірусний вектор (див., наприклад, патент США №4980286), прямою ін'єкцією, або застосовуючи бомбардування мікрочастинками, або покриття ліпідами або рецепторами клітинної поверхні, або засобами для трансфекції, або введенням її, пов'язаної з гомеобокс-подібним пептидом, для якого відомо, що він проникає в ядро (див., наприклад, Joliet et al, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868) і т. д. Альтернативно, для експресії нуклеїнову кислоту можна вводити внутрішньоклітинно і включати за допомогою гомологічної рекомбінації в ДНК клітини хазяїна.

В окремому здійсненні може бути бажане місце введення фармацевтичних композицій за винаходом в необхідну для лікування ділянку; цього можна досягнути, і не шляхом обмеження, наприклад, місцевою інфузією протягом хірургічного втручання, місцевим застосуванням, наприклад, ін'єкцією за допомогою катетера або за допомогою імплантату, де імплантат складається з пористої, непористої або гелеподібної речовини, включаючи мембрани, такі як мембрани з силіконової гуми, волокна або комерційні замінники шкіри.

Композиція, придатна для практичного здійснення способів за винаходом, може являти собою рідину, що містить в розчині, в суспензії або в них обох засіб за винаходом. Термін "розчин/суспензія" стосується рідкої композиції, де перша порція активної речовини знаходиться в розчині, а друга порція активної речовини знаходиться у вигляді частинок, в суспензії рідкого розчину. Рідка композиція також включає гель. Рідка композиція може бути водною або у вигляді мазі.

Водна суспензія або розчин/суспензія, придатна для практичного застосування способів за винаходом, можуть містити як суспендуючі засоби один або більше полімери. Придатні полімери включають такі водорозчинні полімери, як полімери целюлози, і такі водонерозчинні полімери, як карбоксилвмісні полімери з поперечними зв'язками. Водна суспензія або розчин/суспензія згідно з даним винаходом переважно є в'язкими або муко-

адгезивними або, ще більш переважно, і в'язкими, і мукоадгезивними.

Метрономна хіміотерапія

Метрономна хіміотерапія розвивається як поліпшений спосіб проведення хіміотерапії. Традиційну хіміотерапію проводили разовими дозами або короткими курсами лікування, застосовуючи максимально можливу за відсутності досягнення загрозливого для життя рівня токсичності дозу, наприклад, максимально переносиму дозу (МПД). Лікування МПД вимагає тривалих пауз тривалістю 2-3 тижні між наступними один за іншим циклами лікування. Незважаючи на численне проведення такої хіміотерапії і велику кількість клінічних випробувань, зроблених для її перевірки, був досягнутий незначний, з точки зору лікування або значного продовження життя пацієнтів зі злоякісною пухлиною, прогрес (Kerbel & Kamen (2004) *Nature Reviews Cancer* 4: 423-436).

Метрономна хіміотерапія стосується частого, навіть щодобового, проведення хіміотерапії в дозах, значно нижчих за МПД, без тривалих пауз за відсутності лікарського засобу. Крім зниження разової токсичності, уявляється, що ефективність метрономної хіміотерапії підвищується при застосуванні в поєднанні з такими специфічними протиангіогенними лікарськими засобами, як інгібітори VEGF (Kerbel & Kamen (2004), вище). Відповідно, даний винахід відноситься до метрономної хіміотерапії для лікування злоякісних пухлин у індивідуума, потребуючого такого лікування, що включає введення індивідууму антагоніста фактора росту ендотелію судин (VEGF) в поєднанні з антипроліферативним засобом, здійснюючи лікування злоякісної пухлини. У цьому варіанті здійснення винаходу антагоніст VEGF і антипроліферативний засіб можна вводити разом або послідовно, через відносно короткий проміжок часу, наприклад, 1-12 тижнів, з подальшим регулярним введенням антипроліферативного засобу протягом тривалого періоду часу, наприклад, 6-24 місяців.

Фармацевтичні композиції

Даний винахід надає фармацевтичні композиції, що містять антагоніст VEGF, антипроліферативний засіб і фармацевтично прийнятний носій. Термін "фармацевтично прийнятний" означає затверджений контрольними органами федерального уряду або уряду штату, або вказаний в фармакопеї США або іншій загальноновизнаній фармакопеї, для застосування для тварин і, більш конкретно, для людини. Термін "носії" стосується розчинника, допоміжного лікарського засобу, ексципієнта або індиферентної речовини, з якою вводять лікарський засіб. Такі фармацевтичні носії можуть являти собою стерильні рідини, такі як вода і масла, що включає масла нафтового, тваринного, рослинного або синтетичного походження, такі як арахісова олія, соєва олія, мінеральне масло, кунжутна олія і подібні до них. Прийнятні фармацевтичні ексципієнти включають крохмаль, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, борошно, крейду, силікагель, стеарат натрію, моностеарат гліцерину, тальк, хлорид натрію, сухе збиране молоко, гліцерин, пропіленгліколь, воду, етанол і подібні до них. За бажання, композиція

може також містити незначні кількості зволожувачів або емульгаторів, або рН буферних речовин. Ці композиції можуть бути у вигляді розчинів, суспензій, емульсій, таблеток, драже, капсул, порошків, препаратів тривалого вивільнення і подібних до них. Приклади прийнятних фармацевтичних носіїв описані в "Remington's Pharmaceutical Sciences" E.W. Martin.

Композиція за винаходом може бути отримана у вигляді нейтральної речовини або у вигляді солі. Фармацевтично прийнятні солі включають такі утворені вільними аміногрупами солі, як похідні хлористоводневої, фосфорної, оцтової, щавлевої, винної кислот і т. д., і такі утворені вільними карбоксильними групами солі, як похідні ізопропіламіну, триетиламіну, 2-етиламіноетанолу, гістидину, прокаїну, гідроксидів натрію, калію, амонію, кальцію, заліза і т. д.

Ефективну для передбачуваного застосування в лікувальних цілях кількість композиції за винаходом можна визначати стандартними клінічними способами на основі даного опису. Крім того, для визначення оптимальних діапазонів доз можна, не обов'язково, застосовувати аналізи *in vitro*. Загалом, прийнятні для внутрішньовенного введення діапазони доз, як правило, приблизно становлять 20-500 мікрограм активної сполуки на кілограм маси тіла. Як правило, прийнятні для інтраназального введення діапазони доз складають приблизно від 0,01 пг/кг маси тіла до 1 мг/кг маси тіла. Величини ефективних доз можна отримати екстраполяцією кривих доза-відповідь, отриманих *in vitro* або з систем перевірки на тваринних моделях.

Терапевтично ефективну дозу для системного введення спочатку можна оцінювати, опираючись на аналізах *in vitro*. Наприклад, дозу для досягнення діапазону циркулюючих концентрацій, яка включає IC_{50} , визначену на культурі клітин, можна скласти на тваринних моделях. Таку інформацію можна застосовувати для більш точного визначення придатних для людини доз. Також первинні дози можна оцінювати на основі даних, отриманих *in vivo*, наприклад, на тваринних моделях, застосовуючи добре відомі в даній галузі способи. Опіраючись на даних тваринних моделей, фахівець в даній галузі може легко підібрати оптимальне введення лікарського засобу людині.

Щоб забезпечити достатній для підтримки терапевтичного ефекту рівень сполук в плазмі, кількість дози і інтервал між ними можна визначати індивідуально. У випадках місцевого введення або виборчого засвоєння ефективна місцева концентрація сполук може не співвідноситися з концентрацією в плазмі. Фахівець в даній галузі може без зайвих експериментів визначити оптимальні терапевтично ефективні місцеві дози.

Кількість сполуки, що вводиться, звичайно, залежить від індивідуума, якому проводять лікування, від маси індивідуума, тяжкості захворювання, способу введення і оцінки призначаючого лікування терапевта. Лікування можна періодично повторювати, поки симптоми виявляють або навіть коли їх не виявляють. Лікування можна проводити окремо або в поєднанні з іншими лікарськими засобами.

Набори

Також винахід надає набір, що включає пакувальний матеріал і фармацевтичний засіб, що міститься в пакувальному матеріалі, де фармацевтичний засіб містить щонайменше один антагоніст VEGF і щонайменше один антипроліферативний засіб, і де пакувальний матеріал містить ярлик або листок-вкладиш, в якому вказано, що антагоніст VEGF і антипроліферативний засіб можна застосовувати для лікування злоякісних пухлин або зниження росту пухлини.

Конкретні варіанти здійснення

Як вказано в прикладі 1, для мишей, яким вводили інокуляцію клітини OVCAR3, проводили лікування тільки індиферентною речовиною (як контроль), тільки пасткою VEGF, тільки Таксолотм або пасткою VEGF разом з Таксолотм. З результатів виходило, що у мишей, які отримували пастку VEGF окремо або в поєднанні з Таксолотм, був відсутній доступний для спостереження асцит. Поєднання пастки VEGF з Таксолотм приводило до підвищення придушення пухлини на 97%, і миші, яким проводили комбіноване лікування, виглядали такими ж здоровими і вільними від побічних ефектів, як звичайні, не маючи пухлини тварини. Також в цьому експерименті було виявлено, що додання пастки VEGF веде до зменшення необхідної для досягнення інгібування росту пухлини кількості антипроліферативного засобу. Крім того, як описано в прикладі 2, три з п'яти тварин, яким проводили комбінування лікування (60%), залишаються живими і здоровими на цей момент часу, після завершення періоду лікування.

Інші ознаки винаходу будуть очевидні в ході подальших описів прикладів здійснень, що ілюструють винахід і не мають на увазі його обмеження.

ПРИКЛАДИ

Наступний приклад приведений для надання фахівцям в даній галузі повної інформації і опису здійснення і застосування способів і композицій за винаходом і не має на увазі обмеження об'єму того, що автори розглядають як свій винахід. Вживали заходів для забезпечення точності відносно чисел, що використовуються (наприклад, кількостей, температури і т. д.), але потрібно брати до уваги деякі експериментальні помилки і відхилення. Частки являють собою масові частки, молекулярна маса являє собою середню молекулярну масу, температура являє собою температуру по стоградусній шкалі Цельсія, і тиск являє собою атмосферний або близький до нього.

Приклад 1. Лікування пухлини із застосуванням пастки VEGF з Таксолотм і без нього.

Схема експерименту. Два експерименти, кожний з 4 групами безтимусних самиць голих мишей (5-7 тижнів, 20 миша/експеримент, загальне $n=40$), яким інокуляцією внутрішньочеревинно вводили клітини OVCAR3. Через два тижні після інокуляції 1 групі, протягом 4 тижнів, вводили підшкірно пастку VEGF, два рази на тиждень, і внутрішньочеревинно паклітаксел, три рази на тиждень. Другій групі вводили тільки пастку VEGF. Третій групі вводили тільки паклітаксел. Групі, що залишилася, вводили індиферентну речовину. У кінці експериментів мишей піддавали евтаназії, вимірювали

об'єм асцитичної рідини і видаляли і зважували всю видиму пухлину.

Контроль росту пухлини. У порівнянні з контрольними зразками при застосуванні пастки VEGF з паклітакселом виявлене достовірне зменшення пухлинної маси на 97,7% ($p < 0,01$). У групах, де застосовували тільки пастку VEGF і тільки паклітаксел, в порівнянні з контрольними зразками виявлене зменшення пухлинної маси на 55,7% ($p < 0,05$) і 54,8% ($p < 0,05$), відповідно, (фіг. 1) (таблиця 1).

Контроль розвитку асциту. У групах, де проводили комбіноване лікування або лікування тільки пасткою VEGF, асцит, по суті, не розвивався (фіг. 2). У порівнянні з контрольними зразками при застосуванні тільки паклітакселу виявлене достовірне зниження розвитку асциту на 85,5% ($p < 0,01$). У морфологічних дослідженнях показали, що в групі, де застосовували пастку VEGF з паклітакселом, бліді плямисті пухлини були значною мірою некротизовані і позбавлені судин. Дев'яносто процентів мишей в контрольній групі, в якій не проводили лікування, і групі, де застосовували тільки пастку VEGF, і 80% мишей в групі, де застосовували тільки паклітаксел, мали пухлини на діафрагмі. Дев'яносто процентів мишей в контрольній групі і 60% мишей в групах, де застосовували тільки пастку VEGF і тільки паклітаксел, мали пухлини у воротах печінки. Однак в групах, де застосовували поєднання пастки VEGF з паклітакселом, пухлин в цих ділянках не виявили. Зовнішній вигляд і поведінка мишей з групи, де застосовували пастку VEGF з паклітакселом, зовсім не відрізнялися від таких у звичайних мишей того ж віку, яким не проводили інокуляцію. Ці дані дозволяють передбачити, що комбіноване лікування пасткою VEGF з паклітакселом може являти собою ефективний спосіб значного зменшення як пухлинної маси, так і розвитку асциту при поширеному епітеліальному раку яєчника, з мінімально помітними побічними ефектами.

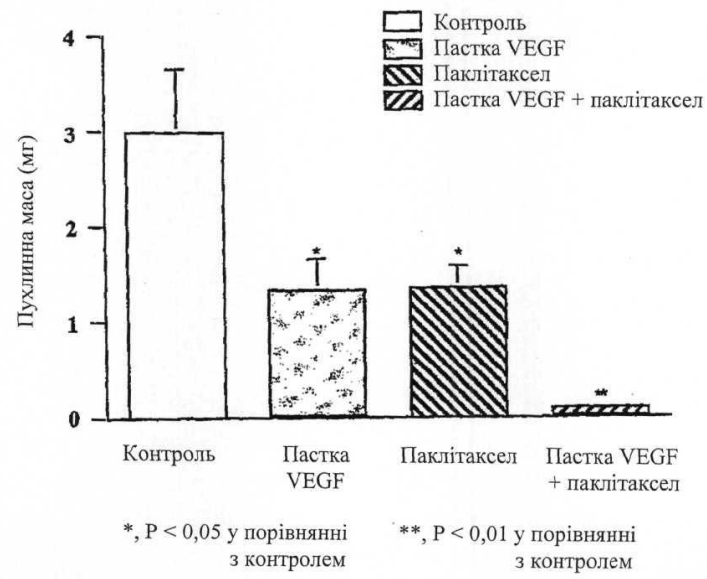
Таблиця 1

	Та- хол™	Пас- тка VEGF	Пастка VEGF+Тахол™
% знижен- ня розвитку асциту	85,4	96,5	100
% змен- шення пухлин- ної маси	55,9	56,7	97,7

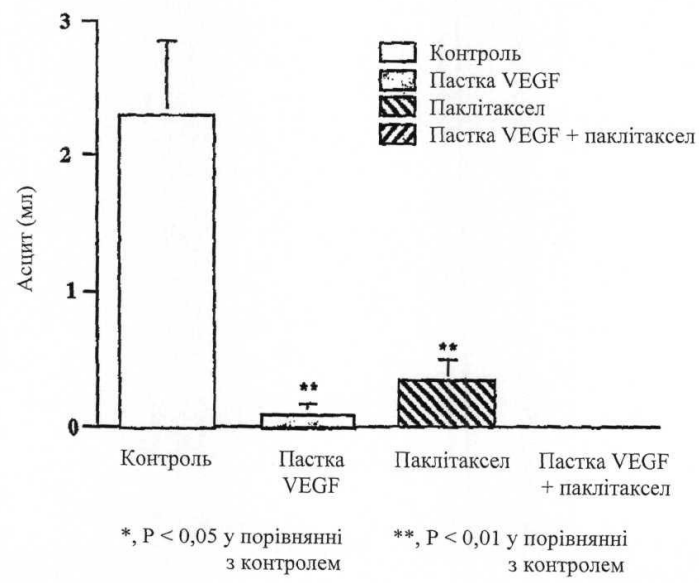
Приклад 2. Вплив на час виживання лікування із застосуванням пастки VEGF з Таксолом™ і без нього.

У дослідженні виживання двом групам безтисних мишей вводили інокуляцією клітини клітинної лінії раку яєчника людини і через два тижні вводили протягом чотирьох тижнів поєднання пастки VEGF з паклітакселом або індіферентну речовину (як контроль), як описано вище в прикладі 1. Однак замість умертвіння мишей в кінці чотирьох тижнів, їх спостерігали протягом 110 днів з часу інокуляції ракової клітини або до виникнення необхідності в евтаназії. Всіх мишей з контрольної групи піддавали евтаназії через 5-13 днів після припинення лікування. Навпаки, в групі мишей, де застосовували пастку VEGF з паклітакселом, три з п'яти мишей в першій групі залишаються живими на 110 добу після інокуляції ракової клітини (68 днів після припинення лікування), із звичайними їжею і фізичною поведінкою. Одна з них має в ділянці інокуляції пухлину 0,5 x 0,6 мм. Четверту мишу, що мала пухлину навколо трахеї внаслідок дихальної недостатності, піддали евтаназії на 89 добу після інокуляції ракової клітини, і п'яту, що мала геморагічний асцит і пухлинну масу 0,53 г, піддали евтаназії на 81 добу після інокуляції ракової клітини. Поведінка мишей другої групи, що в цей час досліджується на виживання, схожа з такою в першій групі.

Даний винахід можна здійснити іншими специфічними способами, не відходячи від суті або його невід'ємних властивостей.



Фіг. 1



Фіг. 2

Список последовательностей

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.
The Regents of the University of California

<120> Композиції агоніста VEGF і антипроліферативного засобу

<130> REG 715B-WO

<140> Для визначення

<141> Для визначення

<150> 60/493,971

<151> 2003-08-08

<160> 2

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 1377

<212> ДНК

<213> homo sapiens

<400> 1

```

atgggtcagct actgggacac cggggctcctg ctgtgcgcgc tgctcagctg tctgcttctc 60
acaggtatcta gttccgggaag tgataccggg agactcttct tagagatgta cagtgaatc 120
cccgaaatta tacacatgac tgaagggaag gagetctgta ttccctgccc ggttaactca 180
cctaaacatca ctgttacttt aaaaaagttt ccacttgaca ctttgatccc tgatggaaaa 240
cgcataatctt gggacagtag aaagggtctt atcatatcaa atgcaacgta caaagaata 300
gggcttctga cctgtgaagc aacagtcact gggcatttgt ataagacaaa ctatctcaca 360
catcgacaaa ccaatacaat catagatgtg gttctgagtc cgtctcatgg aattgaacta 420
tctgttggag aaaaacttgt cttaaatgtt acagcaagaa ctgaactaaa tgggggatt 480
gacttcactt gggataccc ttcttogaag catcagcata agaaacttgt aaaccgagac 540
ctaaaaaccc agtctgggag tgagatgaag aaatttttga gcaccttaac tatagatggt 600
gtaacccgga gtgaccaaag attgtacacc tgtgcagcat ccagtgggtt gatgaccag 660
aagaacagca catttgtcag ggtccatgaa aaggacaaa ctacacatg cccaccgtgc 720
ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac 780
accctcatga ttcccccgtc ccctgaggtc acatgcgttg tggtygacgt gagccacgaa 840
gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgttg aggtgcataa tgcacagaca 900
aagccggggg agggacagta caacagcacg taccgtgttg tcagcgtcct caocgtctg 960
caccaggact ggctgaatgg caaggagtag aagtgcaggg tctccacaa agccctccca 1020
gccccctag agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccggagacc acaggtgtac 1080
accctgccc catcccgga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgctctggtc 1140
aaaggcttct atcccgaga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaa 1200

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct cctttctctt ctacagcaag 1260
ctcacccgtg acaagagcag gtggcagcag gggaaactct tctcatgctc cgtgatgcat 1320
gaggctctgc acnaccacta caccgagaag agcctctccc tgtctccggy taaatga 1377

```

<210> 2

<211> 458

<212> білок

<213> homo sapiens

<400> 2

Met Val Ser Tyr Trp Asp Thr Gly Val Leu Leu Cys Ala Leu Leu Ser

1	5	10	15
Cys Leu Leu Thr Gly Ser Ser Ser Gly Ser Asp Thr Gly Arg Pro			
20	25	30	
Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu			
35	40	45	
Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr			
50	55	60	
Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys			
65	70	75	80
Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr			
85	90	95	
Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His			
100	105	110	
Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln Thr Asn Thr Ile Ile			
115	120	125	
Asp Val Val Leu Ser Pro Ser His Gly Ile Glu Leu Ser Val Gly Glu			
130	135	140	
Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr Glu Leu Asn Val Gly Ile			
145	150	155	160
Asp Phe Asn Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys His Gln His Lys Lys Leu			
165	170	175	
Val Asn Arg Asp Leu Lys Thr Gln Ser Gly Ser Glu Met Lys Lys Phe			
180	185	190	
Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu			
195	200	205	
Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys Asn Ser Thr			
210	215	220	
Phe Val Arg Val His Glu Lys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys			
225	230	235	240
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
245	250	255	
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
260	265	270	
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
275	280	285	
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
290	295	300	
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
305	310	315	320
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
325	330	335	
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
340	345	350	
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu			
355	360	365	
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
370	375	380	
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
385	390	395	400
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
405	410	415	
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
420	425	430	
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
435	440	445	
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
450	455		