



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **100869** (13) **C2**
(51) МПК (2013.01)
A61K 31/166 (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01)
A61P 35/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2010 07214	(72) Винахідник(и): Шерман Баррі М. (US), Бредлі Чарльз (US), Оссовская Валерія С. (US/RU)
(22) Дата подання заявки: 12.11.2008	(73) Власник(и): БАЙПАР САЙЄНСІЗ, ІНК., 55 Corporate Drive Bridgewater, New Jersey 08807 (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 11.02.2013	(74) Представник: Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 60/987,335, 61/012,364, 61/058,528	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 2007/015837 A1, 18.01.2007
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 12.11.2007, 07.12.2007, 03.06.2008	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US, US, US	
(41) Публікація відомостей про заявку: 12.07.2010, Бюл.№ 13	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.02.2013, Бюл.№ 3	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: РСТ/US2008/012757, 12.11.2008	

(54) ЛІКУВАННЯ РАКУ ЯЄЧНИКА ЗА ДОПОМОГОЮ СПОЛУКИ ЙОДОНІТРОБЕНЗАМІДУ В КОМБІНАЦІЇ З ПРОТИПУХЛИННИМИ ЗАСОБАМИ

(57) Реферат:

Винахід стосується лікування прогресуючого раку яєчників у пацієнта-людини із застосуванням ефективної кількості 4-йод-3-нітробензаміду або його фармацевтично прийнятної солі і щонайменше одного інгібітора топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотецину.

UA 100869 C2

Перехресні посилання на споріднені заявки

Дана заявка вимагає перевагу попередньої заявки на патент США № 60/987 335, озаглавленої "Лікування раку матки комбінацією таксану, комплексу платини та інгібітора PARP-1" і поданої 12 листопада 2007 року (досьє повіреного № 28825-742.102); попередньої заявки на патент США № 61/012 364, озаглавленої "Лікування раку комбінаціями інгібіторів топоізомерази та інгібіторів PARP" і поданої 7 грудня 2007 року (досьє повіреного № 28825-747.101); та попередньої заявки на патент США № 61/058 528, озаглавленої "Лікування раку молочної залози, яєчників і матки інгібітором PARP", поданої 3 червня 2008 (досьє повіреного № 28825-757.101), кожна з яких повністю включена у даний опис за допомогою посилання.

Передумови створення винаходу

Рак є групою захворювань, які характеризуються аберантним контролем росту клітин. Щорічна захворюваність на рак, за оцінками, перевищує 1,3 мільйони в одних лише Сполучених Штатах. У той час як для лікування раку використовують хірургічні операції, опромінення, хіміотерапію і гормони, він залишається другою головною причиною смертей у США. Вважають, що більше ніж 560 000 американців щорічно будуть помирати від раку.

Ракові клітини одночасно активують декілька каскадів реакцій, що позитивно і негативно регулюють ріст клітин і клітинну смерть. Ця особливість наводить на думку, що модуляція клітинної смерті і сигналів виживання могла б забезпечити нові стратегії для поліпшення ефективності сучасного хіміотерапевтичного лікування.

Злоякісні новоутворення в матці, що містять як карциноматозні, так і саркоматозні елементи, визначаються у класифікації Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) новоутворень у матці як карциносаркоми. Альтернативним позначенням є злоякісна змішана Мюллерова пухлина (ЗЗМП). Карциносаркоми також виникають в яєчнику/фаллопіївій трубці, шийці матки, очеревині та негінекологічних ділянках, але зі значно нижчою частотою, ніж у матці. Ці пухлини є дуже агресивними і мають несприятливий прогноз. Більшість карциносарком матки є моноклональними, з карциноматозним елементом, що є ключовим елементом, та саркоматозним компонентом, одержаним із карциноми або з стовбурової клітини, що піддається дивергентній диференціації (тобто, метастатичні карциноми). Саркоматозний компонент є або гомологічним (складається з тканин, що звичайно знаходяться у матці), або гетерологічним (містить тканини, що звичайно не знаходяться у матці, найчастіше злоякісний хрящ або скелетний м'яз).

Попередні дослідження, що вивчали ряд окремих засобів при карциносаркомі матки, повідомляли такі показники ефективності: етопозид (6,5 %); доксорубіцин (9,8 %); цисплатин (18 %); іфосфамід (32,2 %); паклітаксел (18,2 %); і топотекан (10 %). Таким чином, три найбільш активні засоби, виявлені до цього часу, включають цисплатин, іфосфамід і паклітаксел. Рандомізоване випробування фази III, що порівнювало іфосфамід з іфосфамідом плюс цисплатин, показало підвищений показник ефективності (36 % проти 54 %), незначне поліпшення у медіані виживаності без прогресування (4 проти 6 місяців, $p=0,02$), але відсутність поліпшення у медіані виживаності (7,6 проти 9,4 місяців, $p=0,07$). Друге рандомізоване випробування оцінювало роль паклітакселу. У даному дослідженні, пацієнтки були рандомізовані, щоб одержувати іфосфамід у порівнянні з комбінацією іфосфаміду та паклітакселу, і показали підвищений показник ефективності (29 % проти 45 %), поліпшення у медіані виживаності без прогресування (3,6 проти 5,8 місяців, $p=0,03$) і поліпшення у медіані виживаності (8,4 проти 13,5 місяців, $p=0,03$). Використання іфосфаміду є обтяжливим і призводить до значної токсичності.

При високо спорідненому захворюванні, ендометріальній карциномі, було проведено декілька рандомізованих досліджень, що зверталися до проблеми оптимальної терапії. Ці дослідження були сфокусовані на трьох активних засобах, ідентифікованих у випробуваннях фази II: доксорубіцині, засобах на основі платини і паклітакселі. В одному дослідженні, 281 жінка була рандомізована для застосування лише доксорубіцину (60 мг/м^2) проти доксорубіцину (60 мг/м^2) плюс цисплатин (50 мг/м^2) (АР). Існує статистично значима перевага для комбінованої терапії стосовно показника ефективності (ПЕ) (25 % проти 42 %; $p=0,004$) і виживаності без прогресування (ВБП) (3,8 проти 5,7 місяців; HR 0,74 [95 % ДІ 0,58, 0,94; $p=0,14$), хоча ніякої різниці у загальній виживаності (ЗВ) (9 проти 9,2 місяців) не спостерігалось. Паклітаксел мав значну активність окремого засобу з показником ефективності 36 % при запущеному або рецидивному ендометріальному раку. Так, 317 пацієнток були рандомізовані для застосування паклітакселу і доксорубіцину або стандартного режиму лікування. Це випробування не змогло продемонструвати суттєву різницю в ПЕ, ВБП або ЗВ між цими двома групами, і АР залишався стандартом лікування. Однак, оскільки як платина, так і паклітаксел продемонстрували високу активність окремого засобу, існує сильна зацікавленість у включенні паклітакселу і цисплатину в

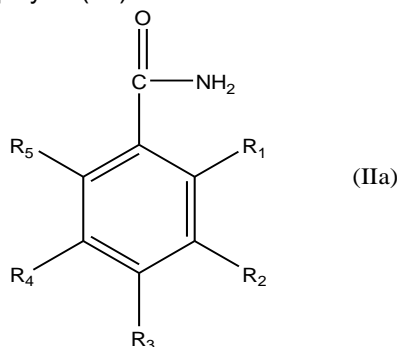
режим першої лінії для запущеного і рецидивного ендометріального раку. Пізніше, ще одне дослідження рандомізувало 263 пацієнтки для АР проти ТАР: доксорубіцин (45 мг/м^2) і цисплатин (50 мг/м^2) у першу добу, супроводжувані паклітакселом (160 мг/м^2 внутрішньовенно протягом 3 годин) на другу добу (з підтримкою гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора). ТАР перевершує АР в показниках СЕТ (57 % проти 34 %; $p < 0,01$), медіани ВБП (8,3 проти 5,3 місяців; $p < 0,01$) і 3В з медіаною 15,3 (ТАР) проти 12,3 місяців (АР) ($p = 0,037$). Ця поліпшена ефективність прибула за рахунок підвищеної токсичності.

Хоча існують обмежені терапевтичні альтернативи для лікування раку, варіанти раку, включаючи рецидивний, запущений або персистентний рак матки і рак яєчників із дефектним BRCA, є особливо складними, оскільки вони можуть бути несприйнятливими до стандартного хіміотерапевтичного або гормонального лікування. Таким чином, існує потреба в ефективному лікуванні раку взагалі і варіантів раку зокрема. Даний винахід звертається до цих потреб і також забезпечує пов'язані з цим переваги.

Стислий опис винаходу

В одному аспекті, даний винахід надає спосіб лікування раку матки або раку яєчників у пацієнтки, що включає введення пацієнтці принаймні одного інгібітора PARP. В іншому аспекті, даний винахід надає спосіб лікування раку яєчників або раку матки у пацієнтки з потребою в такому лікуванні, що включає: (а) одержання зразка від пацієнтки; (b) дослідження зразка для визначення того, чи має пацієнтка дефектний BRCA; (c) якщо дослідження показує, що пацієнтка має дефектний BRCA, лікування пацієнтки принаймні одним інгібітором PARP. В іншому аспекті, даний винахід надає спосіб лікування раку яєчників або раку матки у пацієнтки з потребою в такому лікуванні, що включає: (а) одержання зразка від пацієнтки; (b) дослідження зразка для визначення рівня експресії PARP у зразку; (c) визначення того, чи експресія PARP перевищує заздалегідь встановлений рівень і якщо так, введення пацієнтці принаймні одного інгібітора PARP.

У здійсненні будь-якого зі способів, розкритих у даному описі, у деяких втіленнях, одержують принаймні один терапевтичний ефект, зазначений принаймні один терапевтичний ефект полягає у зменшенні розміру пухлини матки або пухлини яєчників, зменшенні метастазування, повній ремісії, частковій ремісії, патологічній повній ремісії або стабільному захворюванні. У деяких втіленнях, порівняний рівень клінічної користі ($\text{ПКК} = \text{ПР} + \text{ЧР} + \text{СЗ} \geq 6$ місяців) одержують при лікуванні інгібітором PARP у порівнянні з лікуванням протипухлинним засобом. У деяких втіленнях, поліпшення рівня клінічної користі становить принаймні приблизно 30 % протягом лікування лише протипухлинним засобом. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є 4-йод-3-нітробензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є сполукою формули (IIa) або її метаболітом:



Формула (IIa)

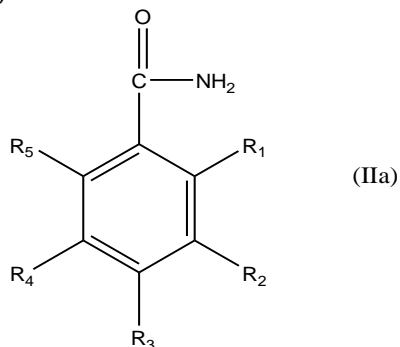
де будь-який: (1) принаймні один із замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 завжди є сірковмісним замісником і замісники R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 , що залишилися, незалежно вибирають із групи, що складається з водню, гідрокси, аміно, нітро, йоду, бром, фтору, хлору, (C_1 - C_6) алкілу, (C_1 - C_6) алкокси, (C_3 - C_7) циклоалкілу і фенілу, де принаймні два з п'яти замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 завжди є воднем; або (2) принаймні один із замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 є не сірковмісним замісником і принаймні один із п'яти замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 завжди є йодом і де зазначений йод завжди є суміжним із групою R_1 , R_2 , R_3 , R_4 або R_5 , що є або нітро, нітросо, гідроксіаміно, гідрокси, або аміно групою; та її фармацевтично прийнятними солями, сольватами, ізомерами, таутомерами, метаболітами, аналогами або проліками. У деяких втіленнях, сполуки (2) є такими, що група йоду завжди є суміжною з групою R_1 , R_2 , R_3 , R_4 або R_5 , яка є нітросо, гідроксіаміно, гідрокси або аміно групою. У деяких втіленнях, сполуки (2) є такими, що група йоду завжди є суміжною з групою R_1 , R_2 , R_3 , R_4 або R_5 , яка є нітросо, гідроксіаміно або аміно групою.

У деяких втіленнях, рак матки є метастатичним раком матки. У деяких втіленнях, рак матки є ендометріальним раком. У деяких втіленнях, рак матки є рецидивним, запущеним, або персистентним. У деяких втіленнях, рак яєчників є метастатичним раком яєчників. У деяких втіленнях, рак яєчників є дефектним за репарацією ДНК гомологічною рекомбінацією. У деяких втіленнях, рак матки є дефектним за репарацією ДНК гомологічною рекомбінацією. У деяких втіленнях, рак матки має дефектний BRCA. У деяких втіленнях, рак яєчників має дефектний BRCA. У деяких втіленнях, дефект BRCA є дефектом BRCA1, або дефектом BRCA2, або дефектом як BRCA1, так і BRCA2. У деяких втіленнях, лікування далі включає (а) встановлення циклу лікування тривалістю від приблизно 10 до приблизно 30 днів; і (б) введення пацієнтці в окремі, з 1 по 10, дні циклу від приблизно 1 мг/кг до приблизно 100 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду, або молярного еквівалента його метаболіту. У деяких втіленнях, 4-йод-3-нітробензамід або його метаболіт вводять перорально, або у вигляді парентеральної ін'єкції або інфузії, або інгаляції. У деяких втіленнях, спосіб далі включає введення пацієнтці інгібітора PARP у поєднанні з принаймні одним протипухлинним засобом. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є протипухлинний алкілювальний агент, протипухлинний антиметаболіт, протипухлинні антибіотики, протипухлинний засіб рослинного походження, протипухлинний комплекс платини, протипухлинне похідне камптотецину, протипухлинний інгібітор тирозинкінази, моноклональне антитіло, інтерферон, модифікатор біологічного відгуку, гормональний протипухлинний засіб, протипухлинний вірусний засіб, інгібітор ангиогенезу, диференціювальний агент, інгібітор PI3K/mTOR/AKT, інгібітор клітинного циклу, інгібітор апоптозу, інгібітор hsp 90, інгібітор тубуліну, інгібітор репарації ДНК, анти-ангіогенний засіб, інгібітор рецепторної тирозинкінази, інгібітор топоізомерази, таксан, засіб, спрямований на Her-2, антагоніст гормону, засіб, спрямований на рецептор фактора росту, або їхня фармацевтично прийнятна сіль. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є цитабін, капецитабін, валопіцитабін або гемцитабін. У деяких втіленнях, протипухлинний засіб вибраний із групи, що складається з Авастину, Сутенту, Нексавару, Рецентину, АВТ-869, Акситинібу, Іринотекану, топотекану, паклітакселу, доцетакселу, лапатинібу, Герцептину, тамоксифену, прогестерону, інгібітора стероїдної ароматази, інгібітора нестероїдної ароматази, Фулвестранту, інгібітора рецептора епідермального фактора росту (EGFR), Цетуксимабу, Панітумімабу, інгібітора рецептора інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF1R) і CP-751871. У деяких втіленнях, спосіб далі включає введення пацієнтці інгібітора PARP у поєднанні з більше ніж одним протипухлинним засобом. У деяких втіленнях, протипухлинний засіб вводять до введення, одночасно з ним, або після введення інгібітора PARP. У деяких втіленнях, спосіб далі включає хірургічні операції, променеву терапію, хіміотерапію, генну терапію, ДНК терапію, ад'ювантну терапію, неоад'ювантну терапію, вірусну терапію, РНК терапію, імунотерапію, нанотерапію або їхні поєднання. У деяких втіленнях, зразок є зразком тканини або рідини організму. У деяких втіленнях, зразок є зразком пухлини, зразком крові, зразком плазми крові, зразком перитонеальної рідини, ексудатом або випотом.

В іншому аспекті, даний винахід надає спосіб лікування раку матки або раку яєчників у пацієнтки, що включає введення пацієнтці комбінації принаймні одного інгібітора PARP і принаймні одного протипухлинного засобу. В іншому аспекті, даний винахід надає спосіб лікування раку яєчників або раку матки у пацієнтки з потребою в такому лікуванні, що включає: (а) одержання зразка від пацієнтки; (б) дослідження зразка для визначення того, чи має пацієнтка дефектний BRCA; (с) якщо дослідження показує, що пацієнтка має дефектний BRCA, лікування пацієнтки принаймні одним інгібітором PARP і принаймні одним протипухлинним засобом. В іншому аспекті, даний винахід надає спосіб лікування раку матки або раку яєчників у пацієнтки, що включає: (а) одержання зразка від пацієнтки; (б) дослідження зразка для визначення рівня експресії PARP у зразку; (с) визначення того, чи експресія PARP перевищує заздалегідь встановлений рівень і якщо так, введення пацієнтці принаймні одного інгібітора PARP і принаймні одного протипухлинного засобу.

У здійсненні будь-якого з досліджуваних способів, розкритих у даному описі, у деяких втіленнях, одержують принаймні один терапевтичний ефект, зазначений принаймні один терапевтичний ефект полягає у зменшенні розміру пухлини матки або пухлини яєчників, зменшенні метастазування, повній ремісії, частковій ремісії, патологічній повній ремісії або стабільному захворюванні. У деяких втіленнях, одержують поліпшення рівня клінічної користі (РКК = ПР + ЧР + СЗ \geq 6 місяців) у порівнянні з лікуванням протипухлинним засобом, але без інгібітора PARP. У деяких втіленнях, поліпшення рівня клінічної користі становить принаймні приблизно 60 %. У деяких втіленнях, рак матки є метастатичним раком матки. У деяких втіленнях, рак матки є ендометріальним раком. У деяких втіленнях, рак матки є рецидивним, запущеним, або персистентним. У деяких втіленнях, рак яєчників є метастатичним раком

яєчників. У деяких втіленнях, рак яєчників є дефектним за репарацією ДНК гомологічною рекомбінацією. У деяких втіленнях, рак матки є дефектним за репарацією ДНК гомологічною рекомбінацією. У деяких втіленнях, рак матки має дефектний BRCA. У деяких втіленнях, рак яєчників має дефектний BRCA. У деяких втіленнях, дефект BRCA є дефектом BRCA1, або
 5 дефектом BRCA2, або дефектом як BRCA1, так і BRCA2. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є бензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є 4-йод-3-нітробензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є сполукою формули (IIa) або її метаболітом:



Формула (IIa)

де будь-який: (1) принаймні один із замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 завжди є сірковмісним замісником і замісники R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 , що залишилися, незалежно вибирають із групи, що складається з водню, гідрокси, аміно, нітро, йоду, броду, фтору, хлору, (C_1 - C_6) алкілу, (C_1 - C_6) алкокси, (C_3 - C_7) циклоалкілу і фенілу, де принаймні два з п'яти замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5
 15 завжди є воднем; або (2) принаймні один із замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 є не сірковмісним замісником і принаймні один із п'яти замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 завжди є йодом і де зазначений йод завжди є суміжним із групою R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , або R_5 , що є або нітро, нітрозо, гідроксіаміно, гідрокси, або аміно групою; та її фармацевтично прийнятними солями, сольватами, ізомерами, таутомерами, метаболітами, аналогами або проліками. У деяких втіленнях, сполуки (2) є
 20 такими, що група йоду завжди є суміжною з групою R_1 , R_2 , R_3 , R_4 або R_5 , яка є нітрозо, гідроксіаміно, гідрокси або аміно групою. У деяких втіленнях, сполуки (2) є такими, що група йоду завжди є суміжною з групою R_1 , R_2 , R_3 , R_4 або R_5 , яка є нітрозо, гідроксіаміно або аміно групою.

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є протипухлинний алкілувальний агент,
 25 протипухлинний антиметаболіт, протипухлинні антибіотики, протипухлинний засіб рослинного походження, протипухлинний комплекс платини, протипухлинне похідне камптотецину, протипухлинний інгібітор тирозинкінази, моноклональне антитіло, інтерферон, модифікатор біологічного відгуку, гормональний протипухлинний засіб, протипухлинний вірусний засіб, інгібітор ангіогенезу, диференціювальний агент, інгібітор PI3K/mTOR/AKT, інгібітор клітинного
 30 циклу, інгібітор апоптозу, інгібітор hsp 90, інгібітор тубуліну, інгібітор репарації ДНК, анти-ангіогенний засіб, інгібітор рецепторної тирозинкінази, інгібітор топоізомерази, таксан, засіб, спрямований на Her-2, антагоніст гормону, засіб, спрямований на рецептор фактора росту, або їхня фармацевтично прийнятна сіль. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є цитабін, капецитабін, валопіцитабін або гемцитабін. У деяких втіленнях, протипухлинний засіб вибраний
 35 із групи, що складається з Авастину, Сутенту, Нексавару, Рецентину, АВТ-869, Акситинібу, Іринотекану, топотекану, паклітакселу, доцетакселу, лапатинібу, Герцептину, тамоксифену, прогестерону, інгібітора стероїдної ароматази, інгібітора нестероїдної ароматази, Фулвестранту, інгібітора рецептора епідермального фактора росту (EGFR), Цетуксимабу, Панітумімабу, інгібітора рецептора інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF1R) і CP-751871. У деяких
 40 втіленнях, спосіб далі включає хірургічні операції, променеву терапію, хіміотерапію, генну терапію, ДНК терапію, ад'ювантну терапію, неоад'ювантну терапію, вірусну терапію, РНК терапію, імунотерапію, нанотерапію або їхні поєднання. У деяких втіленнях, спосіб далі включає вибір циклу лікування тривалістю принаймні 11 днів і: (а) введення пацієнтці в окремі, з 1 по 5, дні циклу від приблизно 100 до приблизно 2000 мг/м² паклітакселу; (b) введення пацієнтці в
 45 окремі, з 1 по 5, дні циклу приблизно 10-400 мг/м² карбоплатину; і (с) введення пацієнтці в окремі, з 1 по 10, дні циклу приблизно 1-100 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду. У деяких втіленнях, паклітаксел вводять у вигляді внутрішньовенної інфузії. У деяких втіленнях, карбоплатин вводять у вигляді внутрішньовенної інфузії. У деяких втіленнях, 4-йод-3-нітробензамід вводять перорально або у вигляді парентеральної ін'єкції або інфузії, або інгаляції. У деяких втіленнях,

зразок є зразком тканини або рідини організму. У деяких втіленнях, зразок є зразком пухлини, зразком крові, зразком плазми крові, зразком перитонеальної рідини, ексудатом або випотом.

Включення за допомогою посилання

Усі публікації та заявки на патент, згадані у даному описі, включені до нього за допомогою посилання так само, як якби кожна окрема публікація або заявка на патент була спеціально та окремо показана бути включеною за допомогою посилання.

Стислий опис малюнків

Нові ознаки винаходу детально викладені у прикладеній формулі винаходу. Краще розуміння ознак і переваг даного винаходу буде одержане, виходячи з нижченаведеного детального опису, в якому викладені ілюстративні втілення, де використовуються принципи винаходу, і супровідні малюнки, з яких:

Фіг. 1 показує позитивну регуляцію експресії гена PARP1 при первинних раках людини. Горизонтальна лінія, медіана експресії PARP1; прямокутник, інтерквартильний розмах; штрихи, стандартне відхилення.

Фіг. 2 показує інгібування PARP 4-йод-3-нітробензамідом на моделі ксенотрансплантата OVCAR-3 у мишей SCID.

Фіг. 3 показує графік Каплана-Мейєра для 4-йод-3-нітробензаміду на моделі пухлини карциноми яєчника OVCAR-3.

Фіг. 4 показує відповідь пухлини після 4 циклів лікування ВА у поєднанні з топотеканом у пацієнтки з раком яєчників.

Фіг. 5 показує інгібування PARP у мононуклеарних клітинах периферичної крові (МКПК) від пацієнток, що одержували 4-йод-3-нітробензамід.

Фіг. 6 показує, що ВА інгібує проліферацію клітин HeLa цервікальної аденокарциноми.

Детальний опис винаходу

Лікування раку яєчників

Рак яєчників, який займає п'яте місце у смертності від раку серед жінок, важко виявити на його ранніх стадіях. Приблизно, лише біля 20 відсотків раку яєчників виявляють до того, як ріст пухлини пошириться на сусідні тканини. Існують три основні типи пухлин яєчників, включаючи епітеліальні пухлини, ембріонально-клітинні пухлини і стромально-клітинні пухлини.

Суттєвий фактор ризику для раку яєчників включає спадкові мутації у генах BRCA1 або BRCA2. Ці гени були спочатку ідентифіковані у родинах із множинними випадками раку молочної залози, але були пов'язані з приблизно 5-10 відсотками раку яєчників.

Хірургічні операції, імунотерапія, хіміотерапія, гормональна терапія, променева терапія, або їхнє поєднання є деякими можливими методами лікування, доступними для раку яєчників. Деякі можливі оперативні втручання включають циторедуктивну операцію та однобічну або двобічну овариєктомію і/або однобічну або двобічну сальпінгектомію. Протипухлинні засоби, які також можуть бути використані, включають циклофосфамід, етопозид, алтретамін та іфосфамід. Гормональну терапію з препаратом тамоксифен також використовують для зменшення пухлин яєчників. Променева терапія необов'язково включає зовнішню дистанційну променеву терапію і/або близькофокусну променеву терапію.

Деякі описані тут втілення надають спосіб лікування раку яєчників у пацієнтки, що включає введення пацієнтці принаймні одного інгібітора PARP. У деяких втіленнях, одержують принаймні один терапевтичний ефект, зазначений принаймні один терапевтичний ефект полягає у зменшенні розміру пухлини яєчників, зменшенні метастазування, повній ремісії, частковій ремісії, патологічній повній ремісії або стабільному захворюванні. У деяких втіленнях, одержують поліпшення рівня клінічної користі (РКК = ПР + ЧР + СЗ \geq 6 місяців) у порівнянні з лікуванням без інгібітора PARP. У деяких втіленнях, поліпшення рівня клінічної користі становить принаймні приблизно 30 %. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є інгібітором PARP-1. В інших втіленнях, інгібітор PARP-1 є бензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, бензамід є 4-йод-3-нітробензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, рак яєчників є метастатичним раком яєчників. У деяких втіленнях, у пацієнтки з раком яєчників визначають дефект у гені BRCA. У деяких втіленнях, ген BRCA є BRCA-1. В інших втіленнях, ген BRCA є BRCA-2. У ще інших втіленнях, ген BRCA є BRCA-1 і BRCA-2. В інших втіленнях, дефект є генетичним дефектом у гені BRCA. У деяких втіленнях, генетичний дефект є мутацією, вставкою, заміною, дуплікацією або делецією гена BRCA.

У деяких втіленнях, способи лікування раку яєчників далі включають введення інгібітора PARP у поєднанні з протипухлинним засобом. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є протипухлинний алкілувальний агент, протипухлинний антиметаболіт, протипухлинні антибіотики, протипухлинний вірусний засіб, протипухлинний засіб рослинного походження, протипухлинний комплекс платини, протипухлинне похідне камптотецину, протипухлинний

інгібітор тирозинкінази, моноклональне антитіло, інтерферон, модифікатор біологічного відгуку, гормональний протипухлинний засіб, інгібітор ангіогенезу, диференціювальний агент, або інший засіб, що виявляє протипухлинну активність, або їхня фармацевтично прийнятна сіль. У деяких втіленнях, комплексом платини є цисплатин, карбоплатин, оксаплатин або оксалиплатин. У деяких втіленнях, антиметаболітом є цитабін, капецитабін, гемцитабін або валопіцитабін. У деяких втіленнях, способи далі включають введення пацієнці інгібітора PARP у поєднанні з більше ніж одним протипухлинним засобом. У деяких втіленнях, протипухлинний засіб вводять до введення, одночасно з ним, або після введення інгібітора PARP. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є анти-ангіогенний засіб, такий як Авастин, або інгібітор рецепторної тирозинкінази, включаючи, але не обмежуючись ними, Сутент, Нексавар, Рецентин, АВТ-869 і Акситиніб. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є інгібітор топоізомерази, включаючи, але не обмежуючись ними, іринотекан, топотекан, або камптотецин. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є таксан, включаючи, але не обмежуючись ними, паклітаксел, доцетаксел і Абраксан. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є засіб, спрямований на Her-2, наприклад, Герцептин або лапатиніб. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є аналог гормону, наприклад, прогестерон. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є тамоксифен, інгібітор стероїдної ароматази, інгібітор нестероїдної ароматази, або Фулвестрант. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є засіб, спрямований на рецептор фактора росту. У деяких втіленнях, таким засобом є інгібітор рецептора епідермального фактора росту (EGFR), включаючи, але не обмежуючись ними, Цетуксимаб і Панітумімаб. У деяких втіленнях, засобом, спрямованим на рецептор фактора росту, є інгібітор рецептора (IGF1R) інсуліноподібного фактора росту (IGF-1), такий як CP-751871. В інших втіленнях, спосіб далі включає хірургічні операції, променеву терапію, хіміотерапію, генну терапію, ДНК терапію, ад'ювантну терапію, неоад'ювантну терапію, вірусну терапію, РНК терапію, імунотерапію, нанотерапію або їхні поєднання.

У деяких втіленнях, лікування включає цикл лікування тривалістю принаймні 11 днів, тобто тривалістю від приблизно 11 до приблизно 30 днів, де пацієнтка в окремі, з 1 по 10, дні циклу одержує від приблизно 1 до приблизно 100 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду або молярного еквівалента його метаболіту. У деяких втіленнях, пацієнтка в окремі, з 1 по 10, дні циклу одержує від приблизно 1 до приблизно 50 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду або молярного еквівалента його метаболіту. У деяких втіленнях, пацієнтка в окремі, з 1 по 10, дні циклу одержує приблизно 1, 2, 3, 4, 6, 8 або 10, 12, 14, 16, 18 або 20 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду.

Деякі описані тут втілення надають спосіб лікування раку яєчників у пацієнтки, що має дефект у гені BRCA, який включає протягом 21-денного циклу лікування введення пацієнці на 1, 4, 8 і 11 дні циклу від приблизно 10 до приблизно 100 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду або молярного еквівалента його метаболіту. У деяких втіленнях, 4-йод-3-нітробензамід вводять перорально або у вигляді парентеральної ін'єкції або інфузії, або інгаляції.

Деякі описані тут втілення надають спосіб лікування раку яєчників у пацієнтки, що має дефект у гені BRCA, який включає: (а) встановлення циклу лікування тривалістю від приблизно 10 до приблизно 30 днів; (b) введення пацієнці в окремі, з 1 по 10, дні циклу від приблизно 1 мг/кг до приблизно 50 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду, або молярного еквівалента його метаболіту. У деяких втіленнях, 4-йод-3-нітробензамід вводять перорально або у вигляді парентеральної ін'єкції або інфузії, або інгаляції.

Деякі передбачені тут втілення включають спосіб лікування раку яєчників у пацієнтки з потребою в такому лікуванні, що включає: (а) одержання зразка від пацієнтки; (b) дослідження зразка для визначення, чи є там дефект у гені BRCA; (c) якщо дослідження показує, що пацієнтка має дефект у гені BRCA, лікування пацієнтки принаймні одним інгібітором PARP; і (d) якщо дослідження не показує, що пацієнтка має дефект у гені BRCA, вибір іншого варіанту лікування. У деяких втіленнях, одержують принаймні один терапевтичний ефект, зазначений принаймні один терапевтичний ефект полягає у зменшенні розміру пухлини яєчників, зменшенні метастазування, повній ремісії, частковій ремісії, патологічній повній ремісії або стабільному захворюванні. У деяких втіленнях, одержують поліпшення рівня клінічної користі ($PKK = PR + CR + S3 \geq 6$ місяців) у порівнянні з лікуванням без інгібітора PARP. У деяких втіленнях, рівень клінічної користі становить принаймні приблизно 30 %. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є інгібітором PARP-1. В інших втіленнях, інгібітор PARP-1 є бензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, бензамід є 4-йод-3-нітробензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, зразок є зразком тканини або рідини організму. У деяких втіленнях, зразок є зразком пухлини, зразком крові, зразком плазми крові, зразком перитонеальної рідини, ексудатом або випотом. У деяких втіленнях, рак яєчників є метастатичним раком яєчників. У деяких втіленнях, ген BRCA є BRCA-1. В інших втіленнях, ген BRCA є BRCA-2. У деяких втіленнях, ген BRCA є

BRCA-1 і BRCA-2. В інших втіленнях, дефект є генетичним дефектом у гені BRCA. У деяких втіленнях, генетичний дефект є мутацією, вставкою, заміною, дуплікацією або делецією гена BRCA.

Деякі втілення надають спосіб лікування раку яєчників у пацієнтки, що включає: (a) дослідження зразка від пацієнтки на експресію PARP; і (b) якщо експресія PARP перевищує заздалегідь встановлений рівень, введення пацієнтці принаймні одного інгібітора PARP. У деяких втіленнях, одержують принаймні один терапевтичний ефект, зазначений принаймні один терапевтичний ефект полягає у зменшенні розміру пухлини яєчників, зменшенні метастазування, повній ремісії, частковій ремісії, патологічній повній ремісії або стабільному захворюванні. У деяких втіленнях, одержують поліпшення рівня клінічної користі ($PKK = PR + CR + S3 \geq 6$ місяців) у порівнянні з лікуванням без інгібітора PARP. У деяких втіленнях, поліпшення рівня клінічної користі становить принаймні приблизно 30 %. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є інгібітором PARP-1. В інших втіленнях, інгібітор PARP-1 є бензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, бензамід є 4-йод-3-нітробензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, рак яєчників є метастатичним раком яєчників.

Лікування раку матки та ендометріального раку

Злоякісні новоутворення в матці, що містять як карциноматозні, так і саркоматозні елементи, визначаються у класифікації Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) новоутворень у матці як карциносаркоми. Альтернативним позначенням є злоякісна змішана Мюллерова пухлина (ЗЗМП). Більшість карциносарком матки є моноклональними, з карциноматозним елементом, що є ключовим елементом, та саркоматозним компонентом, одержаним із карциноми або з стовбурової клітини, що піддається дивергентній диференціації (тобто, метаплатичні карциноми). Саркоматозний компонент є або гомологічним (складається з тканин, що звичайно знаходяться у матці), або гетерологічним (містить тканини, що звичайно не знаходяться у матці, найчастіше злоякісний хрящ або скелетний м'яз).

Попередні дослідження, що вивчали ряд окремих засобів при карциносаркомі матки, повідомляли такі показники ефективності: етопозид (6,5 %); доксорубіцин (9,8 %); цисплатин (18 %); іфосфамід (32,2 %); паклітаксел (18,2 %); і топотекан (10 %). Таким чином, три найбільш активні засоби, виявлені до цього часу, включають цисплатин, іфосфамід і паклітаксел. Рандомізоване випробування фази III, що порівнювало іфосфамід з іфосфамідом плюс цисплатин, показало підвищений показник ефективності (36 % проти 54 %), незначне поліпшення у медіані виживаності без прогресування (4 проти 6 місяців, $p=0,02$), але відсутність поліпшення у медіані виживаності (7,6 проти 9,4 місяців, $p=0,07$). Друге рандомізоване випробування оцінювало роль паклітакселу. У даному дослідженні, пацієнтки були рандомізовані, щоб одержувати іфосфамід у порівнянні з комбінацією іфосфаміду та паклітакселу, і показали підвищений показник ефективності (29 % проти 45 %), поліпшення у медіані виживаності без прогресування (3,6 проти 5,8 місяців, $p=0,03$) і поліпшення у медіані виживаності (8,4 проти 13,5 місяців, $p=0,03$). Використання іфосфаміду є обтяжливим і призводить до значної токсичності.

При високо спорідненому захворюванні, ендометріальній карциномі, було проведено декілька рандомізованих досліджень, що зверталися до проблеми оптимальної терапії. Ці дослідження були сфокусовані на трьох активних засобах, ідентифікованих у випробуваннях фази II: доксорубіцині, засобах на основі платини і паклітакселі. В одному дослідженні, 281 жінка була рандомізована для застосування лише доксорубіцину (60 мг/м^2) проти доксорубіцину (60 мг/м^2) плюс цисплатин (50 мг/м^2) (AP). Існує статистично значима перевага для комбінованої терапії стосовно показника ефективності (ПЕ) (25 % проти 42 %; $p=0,004$) і виживаності без прогресування (ВБП) (3,8 проти 5,7 місяців; HR 0,74 [95 % ДІ 0,58, 0,94; $p=0,14$]), хоча ніякої різниці у загальній виживаності (ЗВ) (9 проти 9,2 місяців) не спостерігалось. Паклітаксел мав значну активність окремого засобу з показником ефективності 36 % при запущеному або рецидивному ендометріальному раку. Так, 317 пацієнток були рандомізовані для застосування паклітакселу і доксорубіцину або стандартного режиму лікування. Це випробування не змогло продемонструвати суттєву різницю в ПЕ, ВБП або ЗВ між цими двома групами, і AP залишався стандартом лікування. Однак, оскільки як платина, так і паклітаксел продемонстрували високу активність окремого засобу, існує сильна зацікавленість у включенні паклітакселу і цисплатину в режим першої лінії для запущеного і рецидивного ендометріального раку. Пізніше, ще одне дослідження рандомізувало 263 пацієнтки для AP проти TAP: доксорубіцин (45 мг/м^2) і цисплатин (50 мг/м^2) у першу добу, супроводжуваний паклітакселом (160 мг/м^2 внутрішньовенно протягом 3 годин) на другу добу (з підтримкою гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора). TAP перевершує AP в показниках СЕТ (57 % проти 34 %; $p<0,01$), медіани ВБП (8,3

проти 5,3 місяців; $p < 0,01$) і 3В з медіаною 15,3 (ТАР) проти 12,3 місяців (АР) ($p = 0,037$). Однак, ця поліпшена ефективність прибула за рахунок підвищеної токсичності.

Пухлини матки

Пухлини матки складаються з групи новоутворень, які можуть бути локалізовані в тілі, перешийку (перехід між слизовою оболонкою каналу шийки матки та тілом матки) і шийці матки. Фаллопієві труби і маткові зв'язки також можуть піддаватися пухлинному переродженню. Пухлини матки можуть уражати ендометрій, м'язи або іншу опорну тканину. Пухлини матки є гістологічно та біологічно різними і можуть бути розподілені на декілька типів. Пухлини матки можуть бути гістологічно класифіковані згідно з декількома системами класифікації. Найчастіше використовувані базуються на Міжнародній гістологічній класифікації пухлин ВООЗ (Всесвітньої організації охорони здоров'я) і на класифікації ISGYP (Міжнародного товариства патогінекологів). Найбільш розповсюдженою стадійною системою є система FIGO (Міжнародної федерації гінекології та акушерства).

Класифікація

Згідно з рекомендаціями ВООЗ, основними категоріями пухлин шийки матки є: епітеліальні пухлини; мезенхімні пухлини; змішані епітеліальні та мезенхімні пухлини; і вторинні пухлини. Основними категоріями пухлин тіла матки, знову згідно з рекомендаціями ВООЗ, є: епітеліальні пухлини, мезенхімні пухлини, змішані епітеліальні та мезенхімні пухлини, трофобластичні пухлини і вторинні пухлини. Найпоширенішим є рак матки, зокрема, ендометріальний рак тіла матки.

Неоплазія тіла матки

Найпоширенішою злоякісною пухлиною тіла матки є ендометріальна карцинома (приблизно 95 %); саркоми становлять лише 4 %; і гетерологічні пухлини, такі як рабдіоміосаркоми, остеосаркоми і хондросаркоми – 1 %, що залишився.

Ендометріальна карцинома має декілька підтипів, що базуються на походженні, диференціації, генетичному оточенні і наслідку захворювання. Ендометріальну карциному визначають як епітеліальну пухлину, звичайно із залозистою диференціацією, що виникає в ендометрії і має потенційну можливість проникати в міометрій і поширюватися на віддалені ділянки. Ендометріальна карцинома може бути класифікована як ендометріоїдна аденокарцинома, серозна карцинома, світлоклітинна карцинома, мукоїдний рак, серозна карцинома, змішані типи карциноми та недиференційована карцинома. Ендометріальна карцинома є гетерогенною нозологічною формою, що включає: тип I: ендометріоїдну карциному – пре- і перименопаузну, естрогензалежну, пов'язану з гіперплазією ендометрію, малорозвинену, що повільно росте, яка становить приблизно 80 % випадків; тип II: серозну карциному – постменопаузну, естрогеннезалежну, пов'язану з атрофічним ендометрієм, розвинену, з агресивною поведінкою, яка становить приблизно 10 % випадків. Серед інших гістологічних типів, тип I включає мукоїдний і секреторний рак, тоді як тип II включає світлоклітинні карциноми і залозисто-плоскоклітинні карциноми (Gurpide E, J Natl Cancer Inst 1991; 83: 405-416; Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract, Kurman R.J. 4th ed. Springer-Verlag. New-York 1994).

Неоплазія шийки матки

У всьому світі інвазивний рак шийки матки є другою найпоширенішою злоякісною пухлиною у жінок після раку молочної залози, з 500 000 нових випадків, що діагностуються щороку. Рак шийки матки має декілька підтипів, таких як епітеліальна неоплазія і мезенхімна неоплазія.

Етіологія

Вважають, що карциноми шийки матки виникають із попередніх уражень, і різні підтипи вірусу папіломи людини (ВПЛ) є головними етіологічними факторами у патогенезі захворювання.

Гетерогенність пухлин матки становить важке завдання для знаходження та оптимізації терапії, щоб лікувати і виліковувати ці типи раку, і хіміотерапевтичний засіб, який є ефективним для інших типів раку, є неефективним для пухлин матки, таких як ендометріальний рак. Одним із прикладів міг би бути Тамоксифен. Тамоксифен, селективний модулятор рецепторів естрогену (РЕ), є найпоширенішою призначуваною гормональною терапією для лікування раку молочної залози. Незважаючи на переваги терапії з тамоксифеном, майже у всіх пацієнток із раком молочної залози, чутливим до тамоксифену, розвинулася резистентність до терапії. До того ж, тамоксифен демонструє естрогеноподібну дію в ендометрії, збільшуючи захворюваність на ендометріальний рак (Fisher B, Costantino JP, Redmond CK, et al. J Natl Cancer Inst 1994; 86:527-37; Shah YM, et al. Mol Cancer Ther. 2005 Aug;4(8):1239-49).

Групою з гінекологічної онкології було проведено дослідження для оцінювання протипухлинної активності тамоксифену у пацієнток із персистентним або рецидивним

неплоскоклітинним раком шийки матки (L. R. Bigler, J. et al. (2004) International Journal of Gynecological Cancer 14 (5), 871-874). Тамоксифен цитрат вводили в дозі 10 мг перорально двічі на добу доти, поки прогресування захворювання або неприйнятні побічні ефекти не перешкоджали подальшій терапії. Всього у даному випробуванні були зареєстровані 34 пацієнтки (середній вік – 49 років); дві були визнані непридатними. У 32 пацієнток оцінювали несприятливі реакції і у 27 оцінювали відповідь. Повідомлялося лише про шість несприятливих реакцій 3 і 4 ступенів: лейкопенію (в однієї пацієнтки), анемію (у двох), блювоту (в однієї), шлунково-кишковий розлад (в однієї) і невropатію (в однієї). Об'єктивний показник ефективності становить 11,1 %, з однією повною і двома частковими відповідями. На завершення, тамоксифен, очевидно, має мінімальну активність при непласкоклітинному раку шийки матки.

Таким чином, деякі описані тут втілення надають спосіб лікування раку матки або ендометріального раку у пацієнтки, що включає введення пацієнтці принаймні одного інгібітора PARP. У деяких втіленнях, одержують принаймні один терапевтичний ефект, зазначений принаймні один терапевтичний ефект полягає у зменшенні розміру пухлини матки, зменшенні метастазування, повній ремісії, частковій ремісії, патологічній повній ремісії або стабільному захворюванні. У деяких втіленнях, одержують поліпшення рівня клінічної користі (PKK = ПР + ЧР + СЗ \geq 6 місяців) у порівнянні з лікуванням без інгібітора PARP. У деяких втіленнях, поліпшення рівня клінічної користі становить принаймні приблизно 30 %. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є інгібітором PARP-1. В інших втіленнях, інгібітор PARP-1 є бензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, бензамід є 4-йод-3-нітробензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, рак матки є метастатичним раком матки. У деяких втіленнях, рак матки є рецидивним, запущеним або персистентним.

У деяких втіленнях, способи лікування раку матки або ендометріального раку далі включають введення інгібітора PARP у поєднанні з протипухлинним засобом. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є протипухлинний алкілувальний агент, протипухлинний антиметаболіт, протипухлинні антибіотики, протипухлинний засіб рослинного походження, протипухлинний комплекс платини, протипухлинне похідне камптотецину, протипухлинний інгібітор тирозинкінази, моноклональне антитіло, інтерферон, модифікатор біологічного відгуку, гормональний протипухлинний засіб, протипухлинний вірусний засіб, інгібітор ангіогенезу, диференціювальний агент, або інший засіб, що виявляє протипухлинну активність, або їхня фармацевтично прийнятна сіль. У деяких втіленнях, комплексом платини є цисплатин, карбоплатин, оксаплатин або оксалиплатин. У деяких втіленнях, антиметаболітом є цитабін, капецитабін, гемцитабін або валопіцитабін. У деяких втіленнях, способи далі включають введення пацієнтці інгібітора PARP у поєднанні з більше ніж одним протипухлинним засобом. У деяких втіленнях, протипухлинний засіб вводять до введення, одночасно з ним, або після введення інгібітора PARP. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є анти-ангіогенний засіб, такий як Авастин, або інгібітор рецепторної тирозинкінази, включаючи, але не обмежуючись ними, Сутент, Нексавар, Рецентин, АВТ-869 і Акситиніб. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є інгібітор топоізомерази, включаючи, але не обмежуючись ними, іринотекан, топотекан, або камптотецин. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є таксан, включаючи, але не обмежуючись ними, паклітаксел, доцетаксел і Абраксан. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є засіб, спрямований на Her-2, наприклад, Герцептин або лапатиніб. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є аналог гормону, наприклад, прогестерон. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є тамоксифен, інгібітор стероїдної ароматази, інгібітор нестероїдної ароматази, або Фулвестрант. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є засіб, спрямований на рецептор фактора росту. У деяких втіленнях, таким засобом є інгібітор рецептора епідермального фактора росту (EGFR), включаючи, але не обмежуючись ними, Цетуксимаб і Панітумімаб. У деяких втіленнях, засобом, спрямованим на рецептор фактора росту, є інгібітор рецептора (IGF1R) інсуліноподібного фактора росту (IGF-1), такий як СР-751871. В інших втіленнях, спосіб далі включає хірургічні операції, променеву терапію, хіміотерапію, генну терапію, ДНК терапію, ад'ювантну терапію, неоад'ювантну терапію, вірусну терапію, РНК терапію, імунотерапію, нанотерапію або їхні поєднання.

У деяких втіленнях, лікування включає цикл лікування тривалістю принаймні 11 днів, тобто тривалістю від приблизно 11 до приблизно 30 днів, де пацієнтка в окремі, з 1 по 10, дні циклу одержує від приблизно 1 до приблизно 100 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду або молярного еквівалента його метаболіту. У деяких втіленнях, пацієнтка в окремі, з 1 по 10, дні циклу одержує від приблизно 1 до приблизно 50 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду або молярного еквівалента його метаболіту. У деяких втіленнях, пацієнтка в окремі, з 1 по 10, дні циклу одержує приблизно 1, 2, 3, 4, 6, 8 або 10, 12, 14, 16, 18 або 20 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду.

Деякі описані тут втілення надають спосіб лікування раку матки або ендометріального раку у пацієнтки, який включає протягом 21-денного циклу лікування введення пацієнтці на 1, 4, 8 і 11 дні циклу від приблизно 1 до приблизно 100 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду або молярного еквівалента його метаболіту. У деяких втіленнях, 4-йод-3-нітробензамід вводять перорально або у вигляді парентеральної ін'єкції або інфузії, або інгаляції.

Деякі описані тут втілення надають спосіб лікування раку матки або ендометріального раку у пацієнтки, що включає: (а) встановлення циклу лікування тривалістю від приблизно 10 до приблизно 30 днів; (b) введення пацієнтці в окремі, з 1 по 10, дні циклу від приблизно 1 мг/кг до приблизно 100 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду, або молярного еквівалента його метаболіту. У деяких втіленнях, 4-йод-3-нітробензамід вводять перорально або у вигляді парентеральної ін'єкції або інфузії, або інгаляції.

Деякі передбачені тут втілення надають спосіб лікування раку матки у пацієнтки з потребою в такому лікуванні, що включає: (а) одержання зразка від пацієнтки; (b) визначення того, чи є рак матки рецидивним, персистентним або запущеним; (с) якщо дослідження показує, що рак матки є рецидивним, персистентним або запущеним, лікування пацієнтки принаймні одним інгібітором PARP; і (d) якщо дослідження не показує, що пацієнтка має рак матки, який є рецидивним, персистентним або запущеним, вибір іншого варіанту лікування. У деяких втіленнях, одержують принаймні один терапевтичний ефект, зазначений принаймні один терапевтичний ефект полягає у зменшенні розміру пухлини матки, зменшенні метастазування, повній ремісії, частковій ремісії, патологічній повній ремісії або стабільному захворюванні. У деяких втіленнях, одержують поліпшення рівня клінічної користі ($PKK = PR + CR + C3 \geq 6$ місяців) у порівнянні з лікуванням без інгібітора PARP. У деяких втіленнях, рівень клінічної користі становить принаймні приблизно 30 %. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є інгібітором PARP-1. В інших втіленнях, інгібітор PARP-1 є бензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, бензамід є 4-йод-3-нітробензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, зразок є зразком тканини або рідини організму. У деяких втіленнях, зразок є зразком пухлини, зразком крові, зразком плазми крові, зразком перитонеальної рідини, ексудатом або випотом. У деяких втіленнях, рак матки є метастатичним раком матки.

Деякі втілення надають спосіб лікування раку матки, ендометріального раку, або раку яєчників у пацієнтки, що включає: (а) дослідження зразка від пацієнтки на експресію PARP; і (b) якщо експресія PARP перевищує заздалегідь встановлений рівень, введення пацієнтці принаймні одного інгібітора PARP. У деяких втіленнях, одержують принаймні один терапевтичний ефект, зазначений принаймні один терапевтичний ефект полягає у зменшенні розміру пухлини матки, зменшенні метастазування, повній ремісії, частковій ремісії, патологічній повній ремісії або стабільному захворюванні. У деяких втіленнях, одержують поліпшення рівня клінічної користі ($PKK = PR + CR + C3 \geq 6$ місяців) у порівнянні з лікуванням без інгібітора PARP. У деяких втіленнях, поліпшення рівня клінічної користі становить принаймні приблизно 30 %. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є інгібітором PARP-1. В інших втіленнях, інгібітор PARP-1 є бензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, бензамід є 4-йод-3-нітробензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, рак матки є метастатичним раком матки. У деяких втіленнях, рак яєчників є метастатичним раком яєчників.

Таким чином, надані у даному описі втілення включають лікування пацієнтки, принаймні одним із яких є інгібітор PARP, де інгібітор PARP необов'язково є інгібітором PARP-1. У деяких втіленнях, одна або більше з цих речовин може бути здатною бути присутньою у цілому ряді фізичних форм – наприклад, вільної основи, солей (особливо фармацевтично прийнятних солей), гідратів, поліморфів, сольватів, тощо. Крім випадків, застережених тут особливо, використання хімічної назви призначене для охоплення всіх фізичних форм зазначеної хімічної речовини. Наприклад, згадування 4-йод-3-нітробензаміду, без подальших уточнень, призначене загалом охоплювати вільну основу, а також фармацевтично прийнятні солі, поліморфи, гідрати, тощо. Де призначено обмежувати розкриття або пункти формули винаходу конкретною фізичною формою сполуки, це буде зрозуміло з контексту уривку або пункту формули винаходу, в якому з'являється посилання на сполуку.

У деяких втіленнях, наведене тут розкриття надає спосіб лікування раку матки, ендометріального раку, або раку яєчників у пацієнтки, що включає введення пацієнтці комбінації принаймні одного протипухлинного засобу і принаймні одного інгібітора PARP. У деяких втіленнях, одержують принаймні один терапевтичний ефект, зазначений принаймні один терапевтичний ефект полягає у зменшенні розміру пухлини, зменшенні метастазування, повній ремісії, частковій ремісії, патологічній повній ремісії або стабільному захворюванні. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є бензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, бензамід є 4-йод-3-нітробензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є

протипухлинний алкілувальний агент, протипухлинний антиметаболіт, протипухлинні антибіотики, протипухлинний засіб рослинного походження, протипухлинний комплекс платини, протипухлинне похідне камптотецину, протипухлинний інгібітор тирозинкінази, моноклональне антитіло, інтерферон, модифікатор біологічного відгуку, гормональний протипухлинний засіб, протипухлинний вірусний засіб, інгібітор ангиогенезу, диференціювальний агент, або інший засіб, що виявляє протипухлинну активність, або їхня фармацевтично прийнятна сіль. У деяких втіленнях, комплекс платини вибраний із групи, що складається з цисплатину, карбоплатину, оксаплатину та оксаліплатину. У деяких втіленнях, комплекс платини є карбоплатином. У деяких втіленнях, таксан є паклітакселом або доцетакселом. У деяких втіленнях, таксан є паклітакселом. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є анти-ангіогенний засіб, такий як Авастин, або інгібітор рецепторної тирозинкінази, включаючи, але не обмежуючись ними, Сутент, Нексавар, Рецентин, АВТ-869 і Акситиніб. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є інгібітор топоізомерази, включаючи, але не обмежуючись ними, іринотекан, топотекан, або камптотецин. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є таксан, включаючи, але не обмежуючись ними, паклітаксел, доцетаксел і Абраксан. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є засіб, спрямований на Her-2, наприклад, Герцептин або лапатиніб. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є аналог гормону, наприклад, прогестерон. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є тамоксифен, інгібітор стероїдної ароматази, інгібітор нестероїдної ароматази, або Фулвестрант. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є засіб, спрямований на рецептор фактора росту. У деяких втіленнях, таким засобом є інгібітор рецептора епідермального фактора росту (EGFR), включаючи, але не обмежуючись ними, Цетуксимаб і Панітумімаб. У деяких втіленнях, засобом, спрямованим на рецептор фактора росту, є інгібітор рецептора (IGF1R) інсуліноподібного фактора росту (IGF-1), такий як CP-751871. У деяких втіленнях, рак є раком матки. У деяких втіленнях, рак є запущеною карциносаркомою матки, персистентною карциносаркомою матки або рецидивною карциносаркомою матки. У деяких втіленнях, рак є ендометріальним раком. У деяких втіленнях, рак є раком яєчників. У деяких втіленнях, рак є метастатичним раком яєчників або раком матки. У деяких втіленнях, спосіб включає вибір циклу лікування тривалістю принаймні 11 днів і: (а) у першу добу циклу, введення пацієнтці приблизно 10-200 мг/м² паклітакселу; (b) у першу добу циклу, введення пацієнтці приблизно 10-400 мг/м² карбоплатину; і (c) у першу добу і двічі на тиждень протягом циклу, введення пацієнтці приблизно 1-100 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду або молярного еквівалента його метаболіту.

У деяких втіленнях, розкриття надає спосіб лікування раку матки, ендометріального раку, або раку яєчників у пацієнтки, що включає: (а) одержання зразка від пацієнтки; (b) дослідження зразка для визначення рівня експресії PARP у зразку; (c) визначення того, чи експресія PARP перевищує заздалегідь встановлений рівень і якщо так, введення пацієнтці принаймні одного таксану, принаймні одного комплексу платини і принаймні одного інгібітора PARP. У деяких втіленнях, спосіб необов'язково далі включає вибір іншого варіанту лікування, якщо експресія PARP у зразку не перевищує заздалегідь встановлений рівень. У деяких втіленнях, спосіб необов'язково далі включає вибір іншого варіанту лікування, якщо експресія PARP у зразку не перевищує заздалегідь встановлений рівень. У деяких втіленнях, рак є раком матки. У деяких втіленнях, рак є запущеною карциносаркомою матки, персистентною карциносаркомою матки або рецидивною карциносаркомою матки. У деяких втіленнях, рак є ендометріальним раком. У деяких втіленнях, рак є раком яєчників. У деяких втіленнях, рак є метастатичним раком яєчників. У деяких втіленнях, таксан є цисплатином, карбоплатином, оксаплатином або оксаліплатином. У деяких втіленнях, таксан є паклітакселом. У деяких втіленнях, комплекс платини є цисплатином або карбоплатином. У деяких втіленнях, комплекс платини є карбоплатином. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є бензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є 4-йод-3-нітробензамідом. У деяких втіленнях, зразок є зразком тканини або зразком рідини організму.

У деяких втіленнях, дане розкриття надає спосіб лікування раку матки, ендометріального раку, або раку яєчників у пацієнтки, що включає протягом 21-денного циклу лікування: (а) у першу добу циклу, введення пацієнтці приблизно 750 мг/м² паклітакселу; (b) у першу добу циклу, введення пацієнтці приблизно 10-400 мг/м² карбоплатину; та (c) у першу добу циклу і після цього двічі на тиждень, введення пацієнтці приблизно 1-100 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду. У деяких втіленнях, паклітаксел вводять у вигляді внутрішньовенної інфузії. У деяких втіленнях, карбоплатин вводять у вигляді внутрішньовенної інфузії. У деяких втіленнях, 4-йод-3-нітробензамід вводять перорально або у вигляді парентеральної ін'єкції або інфузії, або інгаляції. У деяких втіленнях, рак є раком матки, вибраним із запущеної карциносаркоми матки,

персистентної карциносаркоми матки і рецидивної карциносаркоми матки. У деяких втіленнях, рак є раком яєчників.

Деякі описані тут втілення надають спосіб лікування раку матки, ендометріального раку, або раку яєчників у пацієнтки, що включає: (а) встановлення циклу лікування тривалістю від приблизно 10 до приблизно 30 днів; (b) введення пацієнтці в окремі, з 1 по 5, дні циклу від приблизно 100 до приблизно 2000 мг/м² паклітакселу шляхом внутрішньовенної інфузії протягом від приблизно 10 до приблизно 300 хвилин; (с) введення пацієнтці в окремі, з 1 по 5, дні циклу приблизно 10-400 мг/м² карбоплатину шляхом внутрішньовенної інфузії протягом від приблизно 10 до приблизно 300 хвилин; і (d) введення пацієнтці в окремі, з 1 по 10, дні циклу від приблизно 1 мг/кг до приблизно 8 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду протягом від приблизно 10 до приблизно 300 хвилин.

Деякі описані тут втілення надають спосіб лікування раку матки у пацієнтки з потребою в такому лікуванні, що включає: (а) дослідження зразка пухлини матки від пацієнтки для визначення принаймні одного з нижченаведеного: (i) чи є рак матки запущеним; (ii) чи є рак матки персистентним; (iii) чи є рак матки рецидивним; (b) якщо дослідження показує, що рак матки є запущеним, персистентним або рецидивним, лікування пацієнтки комбінацією терапевтичних засобів, де терапевтичні засоби включають принаймні один протипухлинний засіб і принаймні один інгібітор PARP. У деяких втіленнях, одержують принаймні один терапевтичний ефект, зазначений принаймні один терапевтичний ефект полягає у зменшенні розміру пухлини матки, зменшенні метастазування, повній ремісії, частковій ремісії, патологічній повній ремісії або стабільному захворюванні. У деяких втіленнях, інгібітор PARP є бензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, бензамід є 4-йод-3-нітробензамідом або його метаболітом. У деяких втіленнях, комплекс платини вибраний із групи, що складається з цисплатину, карбоплатину, оксаплатину та оксаліплатину. У деяких втіленнях, комплекс платини є карбоплатином. У деяких втіленнях, таксан є паклітакселом або доцетакселом. У деяких втіленнях, таксан є паклітакселом. У деяких втіленнях, рак є запущеною карциносаркомою, персистентною карциносаркомою або рецидивною карциносаркомою. У деяких втіленнях, рак є ендометріальним раком.

У деяких втіленнях, спосіб включає лікування пацієнтки принаймні трьома хімічно різними речовинами, однією з яких є таксан (наприклад, паклітаксел або доцетаксел), однією з яких є платиновмісний комплекс (наприклад, цисплатин або карбоплатин або цисплатин) і однією з яких є інгібітор PARP (наприклад, ВА або його метаболіт). У деяких втіленнях, одна або більше з цих речовин може бути здатною бути присутньою у цілому ряді фізичних форм – наприклад, вільної основи, солей (особливо фармацевтично прийнятних солей), гідратів, поліморфів, сольватів або метаболітів, тощо. Крім випадків, застережених тут особливо, використання хімічної назви призначене для охоплення всіх фізичних форм зазначеної хімічної речовини. Наприклад, згадування 4-йод-3-нітробензаміду, без подальших уточнень, призначене загалом охоплювати вільну основу, а також її фармацевтично прийнятні солі, поліморфи, гідрати і метаболіти. Де призначено обмежувати розкриття або пункти формули винаходу конкретною фізичною формою сполуки, це буде зрозуміло з контексту уривку або пункту формули винаходу, в якому з'являється посилання на сполуку.

Терміни "ефективна кількість" або "фармацевтично ефективна кількість" стосуються кількості засобу, достатньої для забезпечення бажаного біологічного, терапевтичного і/або профілактичного результату. Таким результатом може бути зменшення і/або полегшення ознак, симптомів або причин захворювання, або будь-яка інша бажана зміна біологічної системи. Наприклад, "ефективна кількість" для терапевтичного використання є такою кількістю нітробензамідної сполуки, як розкрито у даному описі по суті, або кількістю композиції, що включає нітробензамідну сполуку, необхідну тут, щоб забезпечити клінічно значиме зменшення захворювання. Відповідна ефективна кількість у будь-якому окремому випадку може бути визначена середнім фахівцем у даній галузі з використанням стандартного експерименту.

Вживаючи терміни "фармацевтично прийнятний" або "фармакологічно прийнятний", мають на увазі матеріал, який не є біологічно або іншим чином небажаним, тобто, цей матеріал може застосовуватися у людини, не спричиняючи суттєвих небажаних біологічних ефектів або не взаємодіючи у шкідливий спосіб із будь-яким з компонентів композиції, в якій він міститься.

Термін "лікування" та його граматичні еквіваленти, як вжиті тут, включають досягнення терапевтичної користі і/або профілактичної користі. Під терапевтичною користю розуміють знищення або поліпшення основної патології, яку лікують. Наприклад, у пацієнтів із раком терапевтична користь включає знищення або поліпшення основного раку. Також терапевтичної користі досягають зі знищенням або поліпшенням одного або більше фізіологічних симптомів, пов'язаних з основною патологією, таким, що у пацієнта спостерігається поліпшення,

незважаючи на той факт, що пацієнт все ще може бути ураженим основною патологією. Для профілактичної користі, спосіб за даним винаходом може бути здійснений на, або композиція за даним винаходом введена пацієнту з ризиком розвитку раку, або пацієнту, що повідомив про один або більше фізіологічних симптомів таких станів, навіть якщо діагноз такого стану міг бути не встановленим.

Протипухлинні засоби

Протипухлинні засоби, які можуть бути використані в даному винаході, включають, але не обмежуються ними, протипухлинні алкілувальні засоби, протипухлинні антиметаболіти, протипухлинні антибіотики, протипухлинні засоби рослинного походження, протипухлинні комплексні сполуки платини, протипухлинні похідні камптотецину, протипухлинні інгібітори тирозинкінази, протипухлинний вірусний засіб, моноклональні антитіла, інтерферони, модифікатори біологічного відгуку та інші засоби, що виявляють протипухлинну активність, або їхні фармацевтично прийнятні солі.

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є алкілувальний агент. Термін "алкілувальний агент" тут звичайно стосується агента, що дає алкільну групу в реакції алкілювання, в якій атом водню органічної сполуки заміщується алкільною групою. Приклади протипухлинних алкілувальних агентів включають, але не обмежуються ними, N-оксид азотистого іприту, циклофосфамід, іфосфамід, мелфалан, бусульфан, мітобронітол, карбоквон, тіотепа, ранімустин, німустин, темозоломід або кармустин.

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є антиметаболіт. Термін "антиметаболіт", вжитий тут, включає, в широкому сенсі, речовини, які порушують нормальний метаболізм, і речовини, які інгібують систему переносу електронів, щоб запобігти продукуванню високоенергетичних інтермедіатів, завдяки їхній структурній або функціональній подібності до метаболітів, що є важливими для живих організмів (таких як вітаміни, коферменти, амінокислоти і сахариди). Приклади антиметаболітів, які мають протипухлинну активність, включають, але не обмежуються ними, метотрексат, 6-меркаптопурин рибозид, меркаптопурин, 5-фторурацил, тегафур, доксифлуридин, кармофур, цитарабін, цитарабін оксфосфат, еноцитабін, S-1, гемцитабін, флударабін або пеметрексед динатрій, і переважними є 5-фторурацил, S-1, гемцитабін, тощо.

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є протипухлинний антибіотик. Приклади протипухлинних антибіотиків включають, але не обмежуються ними, актиноміцин D, доксорубіцин, даунорубіцин, неокарциностанін, блеомицин, пепломицин, мітомицин C, акларубіцин, пірарубіцин, епірубіцин, зіностанін стималамер, ідарубіцин, сиролімус або валрубіцин.

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є протипухлинний засіб рослинного походження. Приклади протипухлинних засобів рослинного походження включають, але не обмежуються ними, вінкрисини, вінбластин, віндезин, етопозид, собузоксан, доцетаксел, паклітаксел і вінорелбін, і переважними є доцетаксел і паклітаксел.

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є похідне камптотецину, що виявляє протипухлинну активність. Приклади протипухлинних похідних камптотецину включають, але не обмежуються ними, камптотецин, 10-гідроксикамптотецин, топотекан, іринотекан або 9-амінокамптотецин, переважними є камптотецин, топотекан та іринотекан. Далі, іринотекан метаболізується *in vivo* і виявляє протипухлинний ефект як SN-38. Механізм дії та активність похідних камптотецину, як вважають, є фактично такими ж самими, як у камптотецину (наприклад, Nitta, et al., Gan to Kagaku Ryoho, 14, 850-857 (1987)).

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є органічна сполука платини або координаційна сполука платини, що має протипухлинну активність. Органічна сполука платини в даному описі стосується платиновмісної сполуки, яка забезпечує платину в іонній формі. Переважні органічні сполуки платини включають, але не обмежуються ними, цисплатин; цис-діаміндіакваплатини (II)-іон; хлор(діетилентриамін)-платини (II) хлорид; дихлор(етилендіамін)-платина (II); діамін(1,1-циклобутандикарбоксилат) платина (II) (карбоплатин); спіроплатин; іпроплатин; діамін(2-етилмалонат)платина (II); етилендіамінмалонатплатина (II); аква(1,2-діамінодихлорогексан)сульфатплатина (II); аква(1,2-діамінодихлорогексан)малонатплатина (II); (1,2-діамінодихлорогексан)малонатплатина (II); (4-карбоксифталат)(1,2-діамінодихлорогексан)платина (II); (1,2-діамінодихлорогексан)-(ізоцитрат)платина (II); (1,2-діамінодихлорогексан)оксалатплатина (II); ормаплатин; тетраплатин; карбоплатин, недаплатин і оксаліплатин, і переважним є карбоплатин або оксаліплатин. Крім того, відомі інші протипухлинні органічні сполуки платини, згадані у даному описі, і вони наявні у продажу і/або можуть бути виготовлені середнім фахівцем у даній галузі за допомогою звичайних методик.

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є протипухлинний інгібітор тирозинкінази. Термін "інгібітор тирозинкінази" в даному описі стосується хімічної речовини, що інгібує "тирозинкіназу", яка переносить λ -фосфатну групу АТФ до гідроксильної групи певного тирозину у білку. Приклади протипухлинних інгібіторів тирозинкінази включають, але не обмежуються

5 ними, гефітініб, іматиніб, ерлотиніб, Сутент, Нексавар, Рецентин, АВТ-869 і Акситиніб.

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є антитіло або зв'язувальна частина антитіла, що виявляє протипухлинну активність. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є моноклональне антитіло. Їхні приклади включають, але не обмежуються ними, абциксимаб, адаліумаб, алемтузумаб, базиликсимаб, бевацизумаб, цетуксимаб, даклізумаб, екулізумаб,

10 ефалізумаб, ібритумомаб, тіуксетан, інфліксимаб, муромонаб-CD3, наталізумаб, омалізумаб, палівізумаб, панітумомаб ранібізумаб, гемтузумаб озогаміцин, ритуксимаб, тозитумомаб, трастузумаб, або будь-які фрагменти антитіла, специфічні для антигенів.

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є інтерферон. Такий інтерферон має протипухлинну активність, і він є глікопротеїном, який продукується і секритується більшістю тваринних клітин у відповідь на вірусну інфекцію. Він має не лише ефект інгібування вірусного

15 росту, але також різні імуноефекторні механізми, включаючи інгібування росту клітин (зокрема, клітин пухлини) і посилення активності натуральних клітин-кілерів, таким чином будучи визначеним як один тип цитокіну. Приклади протипухлинних інтерферонів включають, але не обмежуються ними, інтерферон α , інтерферон α -2a, інтерферон α -2b, інтерферон β , інтерферон γ -1a і інтерферон γ -n1.

У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є модифікатор біологічного відгуку. Це звичайно є загальним позначенням для речовин або препаратів для модифікації захисних механізмів живих організмів або біологічних реакцій, таких як виживання, ріст або диференціація клітин тканини, для того, щоб спрямувати їх бути корисними для індивіду проти

25 пухлини, інфекції або інших захворювань. Приклади модифікатора біологічного відгуку включають, але не обмежуються ними, крестин, лентинан, сизофіран, піцибаніл та убенімекс.

У деяких втіленнях, протипухлинні засоби включають, але не обмежуються ними, мітоксантрон, L-аспарагіназу, прокарбазин, дакарбазин, гідроксикарбамід, пентостатин, третиноїн, алефацепт, дарбепоетин альфа, анастрозол, ексеместан, бікалутамід, лейпрорелін,

30 флутамід, фулвестрант, пегаптаніб октанатрій, денілейкін дифтитокс, алдеслейкін, тиротропін альфа, триоксид арсену, бортезоміб, капецитабін і гесерелін.

Описані вище терміни "протипухлинний алкілувальний агент", "протипухлинний антиметаболіт", "протипухлинний антибіотик", "протипухлинний засіб рослинного походження", "протипухлинна координаційна сполука платини", "протипухлинне похідне камптотецину",

35 "протипухлинний інгібітор тирозинкінази", "моноклональне антитіло", "інтерферон", "модифікатор біологічного відгуку" та "інший протипухлинний засіб" всі відомі і є або наявними у продажу, або можуть бути виготовлені фахівцем у даній галузі за допомогою відомих способів, відомих по суті, або за допомогою загальновідомих або стандартних способів. Процес приготування гефітінібу описаний, наприклад, у патенті США № 5 770 599; процес приготування цетуксимабу описаний, наприклад, у WO 96/40210; процес приготування бевацизумабу описаний, наприклад,

40 у WO 94/10202; процес приготування оксаліплатину описаний, наприклад, у патентах США №№ 5 420 319 і 5 959 133; процес приготування гемцитабіну описаний, наприклад, у патентах США №№ 5 434 254 і 5 223 608; і процес приготування камптотецину описаний у патентах США №№ 5 162 532, 5 247 089, 5 191 082, 5 200 524, 5 243 050 і 5 321 140; процес приготування іринотекану описаний, наприклад, у патенті США № 4 604 463; процес приготування топотекану описаний, наприклад, у патенті США № 5 734 056; процес приготування темозоломіду описаний, наприклад, у JP-B № 4-5029; і процес приготування ритуксимабу описаний, наприклад, у JP-W № 2-503143.

Вищезазначені протипухлинні алкілувальні засоби наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: N-оксид азотистого іприту від Mitsubishi Pharma Corp. як Нітрорин (Nitrorin) (торгова назва); циклофосфамід від Shionogi & Co., Ltd. як Ендоксан (Endoxan) (торгова назва); іфосфамід від Shionogi & Co., Ltd. як Іфомід (Ifomide) (торгова назва); мелфалан від GlaxoSmithKline Corp. як Алкеран (Alkeran) (торгова назва); бусульфан від Takeda Pharmaceutical Co., Ltd. як Маблін (Mablin) (торгова назва); мітобронітол від Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd. як Міеброл (Myebrol) (торгова назва); карбоксон від Sankyo Co., Ltd. як Есквінон (Esquinon) (торгова назва); тіотена від Sumitomo Pharmaceutical Co., Ltd. як Теспамін (Tespamin) (торгова назва); ранімустин від Mitsubishi Pharma Corp. як Саймерин (Cymerin) (торгова назва); німустин від Sankyo Co., Ltd. як Нідран (Nidran) (торгова назва); темозоломід від Schering Corp. як Темодар (Temodar) (торгова назва); і кармустин від Guilford Pharmaceuticals Inc. як Гліадел (Gliadel Wafer) (торгова назва).

60

Вищезазначені протипухлинні антиметаболіти наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: метотрексат від Takeda Pharmaceutical Co., Ltd. як Метотрексат (Methotrexate) (торгова назва); 6-меркаптопурин рибозид від Aventis Corp. як Тіоінозин (Thioinosine) (торгова назва); меркаптопурин від Takeda Pharmaceutical Co., Ltd. як Лейкерин (Leukerin) (торгова назва); 5-фторурацил від Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. як 5-ФУ (5-FU) (торгова назва); тегафур від Taiho Pharmaceutical Co., Ltd. як Футрафур (Futraful) (торгова назва); доксифлуридин від Nippon Roche Co., Ltd. як Фурутулон (Furutulon) (торгова назва); кармофур від Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd. як Ямафур (Yamafur) (торгова назва); цитарабін від Nippon Shinyaku Co., Ltd. як Цилоцид (Cylocide) (торгова назва); цитарабін окфосфат від Nippon Kayaku Co., Ltd. як Страсид (Strasid) (торгова назва); еноцитабін від Asahi Kasei Corp. як Санрабін (Sanrabin) (торгова назва); S-1 від Taiho Pharmaceutical Co., Ltd. як TS-1 (торгова назва); гемцитабін від Eli Lilly & Co. як Гемзар (Gemzar) (торгова назва); флударабін від Nippon Schering Co., Ltd. як Флудара (Fludara) (торгова назва); і пеметрексед динатрій від Eli Lilly & Co. як Алімта (Alimta) (торгова назва).

Вищезазначені протипухлинні антибіотики наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: актиноміцин D від Banyu Pharmaceutical Co., Ltd. як Космеген (Cosmegen) (торгова назва); доксорубіцин від Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. як Адріацин (Adriacin) (торгова назва); даунорубіцин від Meiji Seika Kaisha Ltd. як Дауноміцин (Daunomycin); неокарциностан від Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd. як Неокарциностан (Neocarzinostatin) (торгова назва); блеомицин від Nippon Kayaku Co., Ltd. як Блео (Bleo) (торгова назва); пепромицин від Nippon Kayaku Co., Ltd. як Пепро (Perpro) (торгова назва); мітоміцин C від Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. як Мітоміцин (Mitomycin) (торгова назва); акларубіцин від Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd. як Аклацинон (Aclacinon) (торгова назва); пірарубіцин від Nippon Kayaku Co., Ltd. як Пінорубіцин (Pinorubicin) (торгова назва); епірубіцин від Pharmacia Corp. як Фарморубіцин (Pharmorubicin) (торгова назва); зіностатин стимуламер від Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd. як Сманкс (Smanacs) (торгова назва); ідарубіцин від Pharmacia Corp. як Ідаміцин (Idamycin) (торгова назва); сиролімум від Wyeth Corp. як Рапамун (Rapamune) (торгова назва); і валрубіцин від Anthra Pharmaceuticals Inc. як Валстар (Valstar) (торгова назва).

Вищезазначені протипухлинні засоби рослинного походження наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: вінкрестин від Shionogi & Co., Ltd. як Онковін (Oncovin) (торгова назва); вінбластин від Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd. як Вінбластин (Vinblastine) (торгова назва); віндезин від Shionogi & Co., Ltd. як Філдезин (Fildesin) (торгова назва); етопозид від Nippon Kayaku Co., Ltd. як Ластет (Lastet) (торгова назва); собузоксан від Zenyaku Kogyo Co., Ltd. як Перазолін (Perazolin) (торгова назва); доцетаксел від Aventis Corp. як Таксотер (Taxsotere) (торгова назва); паклітаксел від Bristol-Myers Squibb Co. як Таксол (Taxol) (торгова назва); і вінорелбін від Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. як Навелбін (Navelbine) (торгова назва).

Вищезазначені протипухлинні координаційні сполуки платини наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: цисплатин від Nippon Kayaku Co., Ltd. як Ранда (Randa) (торгова назва); карбоплатин від Bristol-Myers Squibb Co. як Параплатин (Paraplatin) (торгова назва); недаплатин від Shionogi & Co., Ltd. як Акупла (Aqupla) (торгова назва); і оксалиплатин від Sanofi-Synthelabo Co. як Елоксатин (Eloxatin) (торгова назва).

Вищезазначені протипухлинні похідні камптотецину наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: іринотекан від Yakult Honsha Co., Ltd. як Кампто (Campto) (торгова назва); топотекан від GlaxoSmithKline Corp. як Гікамтин (Nycamtin) (торгова назва); і камптотецин від Aldrich Chemical Co., Inc., США

Вищезазначені протипухлинні інгібітори тирозинкінази наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: гефітініб від AstraZeneca Corp. як Іреса (Iressa) (торгова назва); іматиніб від Novartis AG як Глівек (Gleevec) (торгова назва); і ерлотиніб від OSI Pharmaceuticals Inc. як Тарцева (Tarceva) (торгова назва).

Вищезазначені моноклональні антитіла наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: цетуксимаб від Bristol-Myers Squibb Co. як Ербітукс (Erbix) (торгова назва); бевацизумаб від Genentech, Inc. як Авастин (Avastin) (торгова назва); ритуксимаб від Biogen Idec Inc. як Ритуксан (Rituxan) (торгова назва); алемтузумаб від Berlex Inc. як Кемпас (Campath) (торгова назва); і трастузумаб від Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. як Герцептин (Herceptin) (торгова назва).

Вищезазначені інтерферони наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: інтерферон α від Sumitomo Pharmaceutical Co., Ltd. як Суміферон (Sumiferon) (торгова назва); інтерферон α -2a від Takeda Pharmaceutical Co., Ltd. як Канферон-А (Canferon-A) (торгова назва); інтерферон α -2b від Schering-Plough Corp. як Інtron А (Intron A) (торгова назва); інтерферон β від Mochida Pharmaceutical Co., Ltd. як IFN.beta. (торгова назва); інтерферон γ -1a від Shionogi &

Co., Ltd. як Імуномакс-γ (Imunomax-γ) (торгова назва); і інтерферон γ-n1 від Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd. як Огама (Ogamma) (торгова назва).

Вищезазначені модифікатори біологічного відгуку наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: крестин від Sankyo Co., Ltd. як Крестин (Krestin) (торгова назва); лентинан від Aventis Corp. як Лентинан (Lentinan) (торгова назва); сизофіран від Kaken Seiyaku Co., Ltd. як Соніфіран (Sonifiran) (торгова назва); піцибаніл від Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. як Піцибаніл (Picibanil) (торгова назва); і убенімекс від Nippon Kayaku Co., Ltd. як Бестатин (Bestatin) (торгова назва).

Вищезазначені інші протипухлинні засоби наявні у продажу, як підтверджується такими прикладами: мітоксантрон від Wyeth Lederle Japan, Ltd. як Новантрон (Novantrone) (торгова назва); L-аспарагіназа від Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. як Лейназа (Leunase) (торгова назва); прокарбазин від Nippon Roche Co., Ltd. як Натулан (Natulan) (торгова назва); дакарбазин від Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. як Дакарбазин (Dacarbazine) (торгова назва); гідроксикарбамід від Bristol-Myers Squibb Co. як Гідреа (Hydrea) (торгова назва); пентостатин від Kagaku Oyobi Kessei Ryoho Kenkyusho як Кофорин (Coforin) (торгова назва); третиноїн від Nippon Roche Co., Ltd. як Весаноїд (Vesanoid) (торгова назва); алефацепт від Biogen Idec Inc. як Амевів (Amevive) (торгова назва); дарбепоедин альфа від Amgen Inc. як Аранесп (Aranesp) (торгова назва); анастрозол від AstraZeneca Corp. як Аримідекс (Arimidex) (торгова назва); ексеместан від Pfizer Inc. як Аромазин (Aromasin) (торгова назва); бікалутамід від AstraZeneca Corp. як Касодекс (Casodex) (торгова назва); лейпропелін від Takeda Pharmaceutical Co., Ltd. як Лейплін (Leuplin) (торгова назва); флутамід від Schering-Plough Corp. як Ейлексин (Eulexin) (торгова назва); фулвестрант від AstraZeneca Corp. як Фаслодекс (Faslodex) (торгова назва); пегаптаніб октанатрій від Gilead Sciences, Inc. як Макуген (Macugen) (торгова назва); денілейкін дифтитокс від Ligand Pharmaceuticals Inc. як Онтак (Ontak) (торгова назва); алдеслейкін від Chiron Corp. як Пролейкін (Proleukin) (торгова назва); тиротропін альфа від Gфермент Corp. як Тироген (Thyrogen) (торгова назва); триоксид арсену від Cell Therapeutics, Inc. як Трисенокс (Trisenox) (торгова назва); бортезоміб від Millennium Pharmaceuticals, Inc. як Велкад (Velcade) (торгова назва); капецитабін від Hoffmann-La Roche, Ltd. як Кселода (Xeloda) (торгова назва); і госсерелін від AstraZeneca Corp. як Золадекс (Zoladex) (торгова назва). Термін "протипухлинний засіб", як використаний у даному описі, включає описаний вище протипухлинний алкілувальний агент, протипухлинний антиметаболіт, протипухлинний антибіотик, протипухлинний засіб рослинного походження, протипухлинну координаційну сполуку платини, протипухлинне похідне камптотецину, протипухлинний інгібітор тирозинкінази, моноклональне антитіло, інтерферон, модифікатор біологічного відгуку та інші протипухлинні засоби.

Інші протипухлинні засоби або антибластомні засоби можуть бути застосовані у поєднанні зі сполуками кумарину. Такі придатні протипухлинні засоби або антибластомні засоби включають, але не обмежуються ними, 13-цис-Ретиноеву кислоту, 2-CdA, 2-Хлордезоксіаденозин, 5-Азациитидин, 5-Фторурацил, 5-FU, 6-Меркаптопурин, 6-MP, 6-TG, 6-Тіогуанін, Абраксан, Акутан, Актиноміцин-D, Адріаміцин, Адруцил, Агрілін, Ала-Корт, Алдеслейкін, Алемтузумаб, ALIMTA, Алітретиноїн, Алкабан-AQ, Алкеран, All-transretinoic Acid, Альфа-Інтерферон, Алтретамін, Аметоптерин, Аміфостин, Аміноглутетимід, Анагрелід, Анандрон, Анастрозол, Арабінозилцитозин, Ага-С, Аранесп, Аредіа, Аримідекс, Аромазин, Аранон, Триоксид арсену, Аспарагіназа, ATRA, Авастин, Азациитидин, BCG, BCNU, Бендамустин, Бевацизумаб, Бексаротен, ВЕХХАR, Бікалутамід, BiCNU, Бленоксан, Блеоміцин, Бортезоміб, Бусульфан, Бусульфекс, C225, Кальцій Лейковорин, Кемпас, Камптосар, Камптотецин-11, Капецитабін, Карак, Карбоплатин, Кармустин, Кармустин облатки, Касодекс, CC-5013, CCI-779, CCNU, CDDP, CeeNU, Церубідин, Цетуксимаб, Хлорамбуцил, Цисплатин, Цитроворум-Фактор, Кладрибін, Кортизон, Космеген, CPT-11, Циклофосфамід, Цитадрен, Цитарабін, Цитарабін ліпосомний, Цитосар-У, Цитоксан, Дакарбазин, Дакоген, Дактиноміцин, Дарбепоедин Альфа, Дасатиніб, Дауноміцин, Даунорубіцин, Даунорубіцин Гідрохлорид, Даунорубіцин ліпосомний, DaunoXome, Декадрон, Децитабін, Дельта-Кортеф, Дельтазон, Денілейкін Дифтитокс, ДероСут™, Дексаметазон, Дексаметазон Ацетат, Дексаметазон Натрій Фосфат, Дексазон, Дексразоксан, DHAD, DIC, Діодекс, Доцетаксел, Доксил, Доксорубіцин, Доксорубіцин ліпосомний, Droxia™, DTIC, DTIC-Dome, Дуралон, Ефудекс, Елігард, Еленс, Елоксатин, Елспар, Емцит, Епірубіцин, Епоетин Альфа, Ербітукс, Ерлотиніб, Ервінія L-аспарагіназа, Естрамустин, Етіол, Етопозид, Етопозид Фосфат, Ейлексин, Евіста, Ексеместан, Фарестон, Фаслодекс, Фемара, Філграстим, Флоксуридин, Флудара, Флударабін, Флуороплекс, Фторурацил, Фторурацил (крем), Флуоксиместерон, Флутамід, Фолінова кислота, FUDR, Фулвестрант, G-CSF, Gefitinib, Гемцитабін, Гемтузумаб Озогаміцин, Гемзар і Gemzar Side Effects – Chemotherapy Препарати, Глівек, Гліадел облатки, GM-CSF, Госсерелін, Гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор,

Гранулоцитарно-моноцитарний колонієстимулюючий фактор, Галотестин, Герцептин, Гексадрол, Гексален, Гексаметилмеламін, НММ, Гікамтин, Гідреа, Гідрокорт Ацетат, Гідрокортизон, Гідрокортизон Натрій Фосфат, Гідрокортизон Натрій Сукцинат, Гідрокортон Фосфат, Гідроксисечовина, Ібритумомаб, Ібритумомаб Тіуксетан, Ідаміцин, Ідарубіцин, Іфекс, IFN-альфа, Іфосфамід, IL-11, IL-2, Іматиніб Мезилат, Імідазол Карбоксамід, Інтерферон Альфа, Інтерферон Альфа-2b (ПЕГ Кон'югат), Інтерлейкін-2, Інтерлейкін-11, Інtron А (інтерферон альфа-2b), Іреса, Іринотекан, Ізотретиноїн, Іксабепілон, Іксемпра, Кідролаза (t), Ланакорт, Лапатиніб, L-аспарагіназа, LCR, Леналідомід, Летрозол, Лейковорин, Лейкеран, Лейкін, Лейпролід, Лейрокристин, Лейстатин, Ліпосомний Ага-С, Liquid Pred, Ломустин, L-PAM, L-Сарколізин, Лупрон, Лупрон Депо, Матулан, Максидекс, Мехлоретамін, Мехлоретамін Гідрохлорид, Медралон, Медрол, Мегас, Мегестрол, Мегестрол Ацетат, Мелфалан, Меркаптопурин, Месна, Меснекс, Метотрексат, Метотрексат Натрій, Метилпреднізолон, Метикортен, Мітоміцин, Мітоміцин-С, Мітоксантрон, М-Преднізол, МТС, МТХ, Мустарген, Мустин, Мутаміцин, Мілеран, Мілоцел, Мілотаг, Навелбін, Неларабін, Неосар, Нейласта, Ньюмега, Нейпоген, Нексавар, Ніландрон, Нілутамід, Ніпент, Азотистий іприт, Новалдекс, Новантрон, Октреотид, Октреотид Ацетат, Онкоспар, Онковін, Онтак, Онксал, Опрелвекін, Орапред, Оразон, Оксаліплатин, Паклітаксел, Паклітаксел, зв'язаний з білками, Памідронат, Панітумумаб, Панретин, Параплатин, Педіапред, ПЕГ Інтерферон, Пегаспаргаза, Перфілграстим, PEG-INTRON, PEG-L-аспарагіназа, Пеметрексед, Пентостатин, Phenylalanine Mustard, Платинол, Платинол-AQ, Преднізолон, Преднізон, Прелон, Прокарбазин, PROCRIT, Пролейкін, Проліфепроспан 20 з імплантом Кармустину, Пуринол, Ралоксифен, Ревлімід, Ревматрекс, Ритуксан, Ритуксимаб, Роферон-А (Інтерферон Альфа-2a), Рубекс, Рубідоміцин Гідрохлорид, Сандостатин, Сандостатин LAR, Сарграмостим, Солу-Кортеф, Солу-Медрол, Сорафеніб, SPRYCEL, STI-571, Стрептозоцин, SU11248, Сунітиніб, Сутент, Тамоксифен, Тарцева, Таргретин, Таксол, Таксотер, Темодар, Темозоломід, Темсиролімум, Теніпозид, TESPА, Талідомід, Таломід, ТераЦис, Тіогуанін, Тіогуанін таблетки, Тіофосфамід, Тіоплекс, Тіотела, TICE, Топосар, Топотекан, Тореміфен, Торісел, Тозітумомаб, Трастузумаб, Третиноїн, Трехалл™, Трисенокс, TSPA, TYKERB, VCR, Вектибікс, Велбан, Велкад, ВелПесид, Весаноїд, Віадур, Відаза, Вінбластин, Вінбластин Сульфат, Вінкасар Pfs, Вінкрестин, Вінорелбін, Вінорелбін Тартрат, VLB, VM-26, Вориностат, VP-16, Вумон, Кселода, Заносар, Зевалін, Зінекард, Золадекс, Золедроновна кислота, Золінза, Зомета.

Антиметаболіти:

Антиметаболіти є препаратами, які перешкоджають нормальним метаболічним процесам у клітині. Оскільки ракові клітини швидко реплікуються, порушення клітинного метаболізму впливає на ракові клітини у більшій мірі, ніж на клітини-хазяїни. Гемцитабін (4-аміно-1-[3,3-дифтор-4-гідрокси-5-(гідроксиметил)тетрагідрофуран-2-іл]-1Н-піримідин-2-он; реалізується на ринку як Гемзар (GEMZAR®) від Eli Lilly & Company) є аналогом нуклеозиду, який перешкоджає поділу клітини, блокуючи синтез ДНК, таким чином призводячи до клітинної смерті, очевидно, через механізм апоптозу. Дозування гемцитабіну може бути скориговане для конкретного пацієнта. У дорослих, дозування гемцитабіну, коли його використовують у поєднанні з засобом на основі платини та інгібітором PARP, буде знаходитися у діапазоні від приблизно 100 мг/м² до приблизно 5000 мг/м², у діапазоні від приблизно 100 мг/м² до приблизно 2000 мг/м², у діапазоні від приблизно 750 до приблизно 1500 мг/м², від приблизно 900 до приблизно 1400 мг/м² або приблизно 1250 мг/м². Розмірність мг/м² стосується кількості гемцитабіну у міліграмах (мг) на одиницю площі поверхні тіла пацієнта у квадратних метрах (м²). Гемцитабін може бути введений шляхом внутрішньовенної інфузії, наприклад, протягом періоду від приблизно 10 до приблизно 300 хвилин, від приблизно 15 до приблизно 180 хвилин, від приблизно 20 до приблизно 60 хвилин або приблизно 10 хвилин. Термін "приблизно" у цьому контексті показує нормальне використання даного слова; і у деяких втіленнях показує допустиме відхилення ± 10 % або ± 5 %.

Таксани:

Таксани є препаратами, які одержують з гілочок, голок і кори дерев тиса тихоокеанського *Taxus brevifolia*. Зокрема, паклітаксел може бути одержаний з 10-деацетилбакатину за допомогою відомих способів синтезу. Таксани, такі як паклітаксел та його похідне доцетаксел, продемонстрували протипухлинну активність на багатьох типах пухлин. Таксани перешкоджають нормальній функції росту мікротрубочок шляхом гіперстабілізації їхньої структури, тим самим руйнуючи здатність клітини використовувати свій цитоскелет у нормальний спосіб. Зокрема, таксани зв'язуються з β субодиницею тубуліну, який є структурним елементом мікротрубочок. Одержаний у результаті комплекс таксан/тубулін не може розділитися, що призводить до функціонування клітини, яке відхиляється від нормального, і

кінцевої клітинної смерті. Паклітаксел індукує запрограмовану клітинну смерть (апоптоз) у ракових клітинах шляхом зв'язування з апоптоз-інгібуючим білком, що називається Bcl-2 (В-клітинний лейкоз 2), тим самим перешкоджаючи Bcl-2 інгібувати апоптоз. Таким чином, було доведено, що паклітаксел є ефективним лікуванням для різних типів раку, оскільки він пригнічує поділ клітин шляхом переривання нормальної перебудови цитоскелету під час поділу клітини, і він індукує апоптоз через анти-Bcl-2 механізм.

Дозування паклітакселу може змінюватися в залежності від зросту, ваги, фізичного стану, розміру пухлини і стану її прогресування, тощо. У деяких втіленнях, дозування паклітакселу буде знаходитися у діапазоні від приблизно 10 до приблизно 2000 мг/м², від приблизно 10 до приблизно 200 мг/м² або від приблизно 100 до приблизно 175 мг/м². У деяких втіленнях, паклітаксел буде застосовуватися протягом періоду аж до приблизно 10 годин, аж до приблизно 8 годин або аж до приблизно 6 годин. Термін "приблизно" у цьому контексті показує нормальне використання даного слова; і у деяких втіленнях показує допустиме відхилення $\pm 10\%$ або $\pm 5\%$.

Приклади таксанів включають, але не обмежуються ними, доцетаксел, паклітаксел і Абраксан.

Комплекси платини:

Комплекси платини є фармацевтичними композиціями, що використовуються для лікування раку, які містять принаймні один платиновий центр, що утворює комплекс із принаймні однією органічною групою. Карбоплатин ((SP-4-2)-діамін[1,1-циклобутандикарбоксилат(2-)-O, O' платина), як цисплатин і оксалиплатин, є ДНК-алкілувальним агентом. Дозування карбоплатину визначають шляхом розрахунку площі під кривою концентрації у плазмі крові (AUC) способами, відомими фахівцям у галузі хіміотерапії злоякісних пухлин, беручи до уваги швидкість кліренсу креатиніну у пацієнта. У деяких втіленнях, дозування карбоплатину для комбінованої терапії разом із таксаном (наприклад, паклітакселом або доцетакселом) та інгібітором PARP (наприклад, 4-йод-3-нітробензамідом) розраховують так, щоб забезпечити AUC приблизно 0,1-6 мг/мл.хв, приблизно 1-3 мг/мл.хв, від приблизно 1,5 до приблизно 2,5 мг/мл.хв, від приблизно 1,75 до приблизно 2,25 мг/мл.хв, або приблизно 2 мг/мл.хв. (AUC 2, наприклад, є умовним позначенням для 2 мг/мл.хв.) У деяких втіленнях, придатна доза карбоплатину становить від приблизно 10 до приблизно 400 мг/м², наприклад, приблизно 360 мг/м². Комплекси платини, такі як карбоплатин, звичайно вводять внутрішньовенно протягом періоду від приблизно 10 до приблизно 300 хвилин, від приблизно 30 до приблизно 180 хвилин, від приблизно 45 до приблизно 120 хвилин або приблизно 60 хвилин. У цьому контексті, термін "приблизно" показує нормальне використання даного слова. У деяких втіленнях, "приблизно" означає $\pm 10\%$ або $\pm 5\%$.

Інгібітори топоізомерази

У деяких втіленнях, способи за даним винаходом можуть включати введення пацієнці з раком матки або раком яєчників ефективної кількості інгібітора PARP у поєднанні з інгібітором топоізомерази, наприклад, іринотеканом і топотеканом.

Інгібітори топоізомерази є засобами, призначеними перешкоджати дії ферментів топоізомераз (топоізомерази I і II), які є ферментами, що контролюють зміни у структурі ДНК, каталізуючи розрив і приєднання фосфодіефірного каркасу ланцюгів ДНК протягом нормального клітинного циклу. Топоізомерази стали популярними мішенями для хіміотерапевтичного лікування раку. Вважають, що інгібітори топоізомерази блокують етап лігування клітинного циклу, генеруючи одно- і дволанцюгові розриви, які наносять шкоду цілісності геному. Введення цих розривів пізніше призводить до апоптозу і клітинної смерті. Інгібітори топоізомерази часто поділяють згідно з типом ферменту, який він інгібує. На топоізомеразу I, тип топоізомерази, який найчастіше виявляють в еукаріотів, спрямовані топотекан, іринотекан, луртотекан та екзатекан, кожний з яких наявний у продажу. Топотекан доступний від GlaxoSmithKline під торговою назвою Гікамтим (Hycamtin®). Іринотекан доступний від Pfizer під торговою назвою Камптосар (Camptosar®). Луртотекан можна одержати як ліпосомний препарат від Gilead Sciences Inc. Інгібітори топоізомерази можуть застосовуватися в ефективній дозі. У деяких втіленнях, ефективна доза для лікування людини буде знаходитися у діапазоні від приблизно 0,01 до приблизно 10 мг/м²/добу. Лікування може повторюватися щоденно, один раз на два тижні, два рази на тиждень, один раз на тиждень або один раз на місяць. У деяких втіленнях, період лікування може супроводжуватися періодом відпочинку від одного до декількох днів, або від одного до декількох тижнів. У поєднанні з інгібітором PARP-1, інгібітор PARP-1 та інгібітор топоізомерази можуть вводитися в один і той самий день, або можуть вводитися в окремі дні.

Сполуки, що спрямовані на топоізомеразу типу II, поділяють на два основні класи: отрути топоізомерази, які спрямовані на комплекс топоізомераза-ДНК, та інгібітори топоізомерази, які розривають каталітичний цикл. Отрути топоізомерази II включають, але не обмежуються ними, інгібітори еукаріотичної топоізомерази типу II (топо II): амсакрин, етопозид, етопозид фосфат, теніпозид і доксорубіцин. Ці препарати є протипухлинною терапією. Приклади інгібіторів топоізомерази включають ICRF-193. Ці інгібітори спрямовані на N-кінцевий домен АТФази топоізомерази II і запобігають оновленню топо II. Структура цієї сполуки, зв'язаної з доменом АТФази, була вирішена Classen (Proceedings of the National Academy of Science, 2004), який показав, що препарат зв'язується у неконкурентний спосіб і фіксує димеризацію домену АТФази.

Анти-ангіогенні засоби

У деяких втіленнях, способи за даним винаходом можуть включати введення пацієнтці з раком матки, ендометріальним раком або раком яєчників ефективної кількості інгібітора PARP у поєднанні з анти-ангіогенним засобом.

Інгібітор ангіогенезу є речовиною, що інгібує ангіогенез (ріст нових кровоносних судин). Кожна солідна пухлина (на відміну від лейкозу) повинна утворювати кровоносні судини, щоб підтримувати себе, як тільки вона досягає певного розміру. Пухлини можуть рости, лише якщо вони формують нові кровоносні судини. Зазвичай, кровоносні судини не вбудовуються десь в іншому місці в організмі дорослої людини, якщо тільки відновлення тканин не знаходиться в активному процесі. Ангіостатичний засіб ендостатин і споріднені хімічні речовини можуть пригнічувати вбудовування кровоносних судин, запобігаючи необмеженому росту раку. У дослідженнях із пацієнтками, пухлина ставала неактивною і залишалась такою навіть після закінчення лікування ендостатином. Лікування має дуже небагато побічних ефектів, але, здається, має дуже обмежену селективність. Інші ангіостатичні засоби, такі як талідомід і природні речовини рослинного походження, активно досліджуються.

Відомі інгібітори включають препарат бевацизумаб (Авастин), який зв'язує фактор росту ендотелію судин (VEGF), інгібуючи його зв'язування з рецепторами, що стимулюють ангіогенез. Інші анти-ангіогенні засоби включають, але не обмежуються ними, карбоксіамідотриазол, TNF-470, CM101, IFN-альфа, IL-12, тромбоцитарний фактор-4, сурамін, SU5416, тромбоспондин, ангіостатичні стероїди + гепарин, інгібітор ангіогенезу, одержаний із хряща, інгібітори матричної металопротеїнази, ангіостатин, ендостатин, 2-метоксіестрадіол, текогалан, тромбоспондин, пролактин, $\alpha\beta_3$ інгібітори і ліномід.

Терапія, спрямована на Her-2

У деяких втіленнях, способи за даним винаходом можуть включати введення пацієнтці з HER2-позитивним раком матки, ендометріальним раком або раком яєчників ефективної кількості інгібітора PARP у поєднанні з Герцептином.

Надекспресія Her-2 була виявлена при карциномах яєчника, і надекспресія та ампліфікація HER2 асоційовані із запущеним раком яєчників (ЗПЯ) (Hellström et al. Cancer Research 61, 2420-2423, March 15, 2001). Надекспресія HER-2/neu при ендометріальному раку асоційована із захворюванням в пізній стадії (Berchuck A, et al. Am J Obstet Gynecol. 1991 Jan; 164(1 Pt 1):15-21). Герцептин може використовуватися для ад'ювантної терапії раку матки, ендометріального раку або раку яєчників з надекспресією HER2. Герцептин може використовуватися декількома різними способами: як частина схеми лікування, що включає доксорубіцин, циклофосфамід і або паклітаксел, або доцетаксел; з доцетакселом і карбоплатином; або як окремий засіб, дотримуючись основаної на антрацикліні терапії із застосуванням багатьох методів. Герцептин у поєднанні з паклітакселом затверджений для лікування першої лінії при раку матки, ендометріальному раку або раку яєчників з надекспресією HER2. Герцептин як окремий засіб затверджений для лікування раку матки, ендометріального раку або раку яєчників з надекспресією HER2 у пацієнток, які одержували один або більше режимів хіміотерапії для лікування метастазування.

Лапатиніб або лапатиніб дитозилат є перорально активним хіміотерапевтичним препаратом для лікування солідних пухлин, таких як рак молочної залози. Під час розробки він був відомий як мала молекула GW572016. Лапатиніб може зупиняти ріст клітин пухлини, блокуючи деякі ферменти, необхідні для росту клітини. Препарати, використовувані у хіміотерапії, такі як топотекан, працюють різними способами, щоб зупинити ріст клітин пухлини, або вбиваючи клітини, або перешкоджаючи їхньому поділу. Даючи лапатиніб разом із топотеканом, можна мати підвищену протипухлинну ефективність.

Гормональна терапія

У деяких втіленнях, способи за даним винаходом можуть включати введення пацієнтці з раком матки, ендометріальним раком або раком яєчників ефективної кількості інгібітора PARP у поєднанні з гормональною терапією.

Лікування раку матки залежить від стадії захворювання і від загального стану здоров'я пацієнтки. Видалення пухлини (хірургічна резекція) є первинним лікуванням. Променева терапія, гормональна терапія і/або хіміотерапія можуть використовуватися як допоміжне лікування (тобто, на додаток до хірургічних операцій) у пацієнток із метастатичним або рецидивним захворюванням.

Гормональна терапія використовується для лікування метастатичного або рецидивного ендометріального раку. Вона також може використовуватися для лікування пацієнток, які нездатні витримати хірургічні операції або опромінення. Перед лікуванням може бути виконане дослідження рецепторів гормонів, щоб визначити, чи містить ендометріальна тканина ці білки. Гормональна терапія звичайно включає синтетичний тип прогестерону в формі пігулок. Естроген може спричинити ріст епітеліальних ракових клітин в яєчнику. Таким чином, гормональна терапія може використовуватися для лікування раку яєчників.

Тамоксифен – антагоніст гормону

Тамоксифен (реалізується на ринку як Нолвадекс) уповільнює або зупиняє ріст ракових клітин, присутніх в організмі. Тамоксифен є типом лікарського засобу, що називається селективним модулятором рецепторів естрогену (SERM). Він функціонує як антиестроген. Оскільки тамоксифен може стабілізувати швидко прогресуючий рецидивний рак яєчників, необхідно розглянути його роль у первинному лікуванні раку яєчників у поєднанні з цитотоксичною хіміотерапією.

Інгібітор стероїдної та нестероїдної ароматази

Інгібітори ароматази (IA) є класом препаратів, що використовуються при лікуванні раку яєчників у жінок в постменопаузі, які блокують фермент ароматазу. Інгібітори ароматази знижують кількість естрогену у жінок в постменопаузі, що мають гормон-рецептор-позитивний рак яєчників. З меншою кількістю естрогену в організмі, рецептори гормону одержують менше сигналів росту, і ріст раку може бути уповільнений або зупинений.

Лікарські засоби – інгібітори ароматази включають Аримідекс (хімічна назва: анастрозол), Аромазин (хімічна назва: ексеместан) і Фемара (хімічна назва: летрозол). Кожен із них приймають у формі пігулок один раз на добу, протягом періоду до п'яти років. Але для жінок із запущеним (метастатичним) захворюванням, лікування продовжують доти, поки воно добре працює.

IA розподіляють на два типи: необоротні стероїдні інгібітори, такі як ексеместан, що утворюють постійний зв'язок із ароматазним ферментним комплексом; і нестероїдні інгібітори (такі як анастрозол, летрозол), що інгібують фермент шляхом оборотної конкуренції.

Фулвестрант, також відомий як ICI 182 780 і "Фаслодекс", є препаратом для лікування гормон-рецептор-позитивного раку яєчників у жінок у постменопаузі з прогресуванням захворювання після антиестрогенної терапії. Естроген може спричинити ріст епітеліальних ракових клітин в яєчнику. Фулвестрант є антагоністом рецептора естрогену без ефектів агоніста, який працює як шляхом пригнічення, так і шляхом руйнування рецептора естрогену. Його вводять у вигляді щомісячної ін'єкції.

Цільова терапія

У деяких втіленнях, способи за даним винаходом можуть включати введення пацієнтці з раком матки, ендометріальним раком або раком яєчників ефективної кількості інгібітора PARP у поєднанні з інгібітором, спрямованим на рецептор фактора росту, включаючи, але не обмежуючись ними, рецептор епідермального фактора росту (EGFR) і рецептор інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF1R).

EGFR є надекспресованим у клітинах певних типів карцином людини, включаючи, але не обмежуючись ними, рак легенів, молочної залози, матки, ендометріальний рак і рак яєчників. Надекспресія EGFR при раку яєчників була пов'язана з несприятливим прогнозом. До того ж, було показано, що EGFR має високий ступінь експресії у нормальному ендометрії та є надекспресованим у зразках ендометріального раку, де він був пов'язаний з несприятливим прогнозом. Підвищена експресія EGFR може сприяти резистентному фенотипу лікарського засобу. Інгібітор тирозинкінази ZD1839 (Іреса[™]) вивчали як окремий засіб у клінічному випробуванні фази II (GOG 229C) жінок із запущеним ендометріальним раком. Попередній аналіз даних показує, що із зареєстрованих 29 пацієнток, в 1 пацієнтки наступила повна ремісія і декілька інших мали стабільне захворювання протягом 6 місяців (Leslie, K.K.; et al. International Journal of Gynecological Cancer, Volume 15, Number 2, 2005, pp. 409-411(3). Приклади інгібіторів EGFR включають, але не обмежуються ним, цетуксимаб, який є химерним моноклональним

антитілом, що вводиться шляхом внутрішньовенної ін'єкції для лікування раку, включаючи, але не обмежуючись ними, метастатичний рак ободової та прямої кишки і рак голови та шиї. Панітумімаб є ще одним прикладом інгібітора EGFR. Він є гуманізованим моноклональним антитілом проти EGFR. Було показано, що панітумімаб був корисним і кращим, ніж замісна терапія, коли він один використовувався у пацієнтів із запущеним раком ободової кишки, і він був затверджений Управлінням по контролю за продуктами і лікарськими препаратами (FDA) для такого використання.

Активация рецептора інсуліноподібного фактора росту типу 1 (IGF1R) стимулює проліферацію та інгібує апоптоз у багатьох типах клітин. Одним із прикладів інгібітора IGF1R є CP-751871. CP-751871 є людським моноклональним антитілом, що селективно зв'язується з IGF1R, запобігаючи зв'язуванню IGF1 з рецептором і подальшому аутофосфорилюванню рецептора. Інгібування аутофосфорилювання IGF1R може призводити до зменшення експресії рецептора на клітинах пухлини, що експресують IGF1R, зменшення анти-апоптозного ефекта IGF та інгібування росту пухлини. IGF1R є рецептором тирозинкінази, що експресується на більшості клітин пухлини, і є залученим до мітогенезу, ангиогенезу і виживання клітин пухлини.

Каскад реакцій PI3K/mTOR

Дерегулювання каскаду реакцій фосфатидилінозитол-3-кінази (PI3K) є звичайним явищем при раку людини, або через інактивацию фосфатази супресора пухлини і гомолога тенсину, видаленого з хромосоми 10, або через активацию мутацій p110- α . Ці мутації "гарячої точки" призводять до онкогенної активності ферменту і сприяють терапевтичній резистентності до анти-HER2 антитіла трастузумабу. Фосфорилювання Akt і mTOR також часто виявляють при раку яєчників та ендометріальному раку. Таким чином, PI3K каскад реакцій є привабливою мішенню для терапії злоякісних пухлин. Було показано, що NVP-BEZ235, подвійний інгібітор PI3K і розташована по ходу транскрипції мішень рапаміцину у ссавців (mTOR), мають антипроліферативну та протипухлинну активність у ракових клітинах як з p110- α дикого типу, так і з мутованим p110- α (Violeta Serra, et al. Cancer Research 68, 8022-8030, October 1, 2008).

Інгібітори Hsp90

Ці препарати спрямовані на білок теплового шоку 90 (hsp90). Hsp90 є одним із класів білків-шаперонів, нормальна робота яких полягає в тому, щоб допомогти іншим білкам набутися і підтримувати форму, необхідну їм для виконання цими білками своїх функцій. Білки-шаперони працюють, перебуваючи у фізичному контакті з іншими білками. Hsp90 може також зробити можливим виживання ракових клітин і навіть їхнє бурхливе зростання, незважаючи на генетичні дефекти, які звичайно заставляли б такі клітини гинути. Таким чином, блокування функціонування HSP90 і споріднених білків-шаперонів може спричинити загибель ракових клітин, особливо якщо блокування функції шаперонів поєднується з іншими стратегіями блокування виживання ракових клітин.

Інгібітори тубуліну

Тубуліни є білками, що утворюють мікротрубочки, які є ключовими компонентами клітинного цитоскелету (структурною сіткою). Мікротрубочки необхідні для поділу клітини (мітозу), клітинної структури, транспорту, передачі сигналів і рухливості. Враховуючи їхню основну роль у мітозі, мікротрубочки були важливою мішенню для протипухлинних препаратів, які часто називають антимітотичними препаратами, інгібіторами тубуліну і засобами, спрямованими на мікротрубочки. Ці сполуки зв'язуються з тубуліном у мікротрубочках і запобігають проліферації ракових клітин, перешкоджаючи формуванню мікротрубочок, необхідних для поділу клітини. Це втручання блокує послідовність клітинного циклу, призводячи до апоптозу.

Інгібітори апоптозу

Інгібітори апоптозу (ІАП) є родиною функціонально і структурно споріднених білків, що спочатку були охарактеризовані у бакуловірусів, які служать ендегенними інгібіторами апоптозу. Родина ІАП людини складається принаймні з 6 членів, і гомологи ІАП були ідентифіковані в численних організмах. 10058-F4 є с-Мус інгібітором, що викликає зупинку клітинного циклу та апоптоз. Тіазолідинон, здатний проникати у клітину, специфічно інгібує взаємодію с-Мус-Мас і запобігає трансактивації експресії гена-мішені с-Мус. 10058-F4 інгібує ріст клітин пухлини у с-Мус-залежний спосіб як *in vitro*, так і *in vivo*. BI-6C9 є tBid інгібітором і антиапоптичним агентом. GNF-2 належить до нового класу інгібіторів Bcr-abl. GNF-2, очевидно, зв'язується з міристоїл-зв'язувальною "кишенню", алостеричною ділянкою, віддаленою від активної ділянки, стабілізуючи неактивну форму кінази. Це інгібує фосфорилювання Bcr-abl з IC₅₀ 267 нМ, але не інгібує групу з 63 інших кіназ, включаючи природну с-Abl, і показує повну відсутність токсичності у відношенні клітин, що не експресують Bcr-Abl. GNF-2 показує значний потенціал для нового класу інгібіторів, щоб досліджувати активність Bcr-abl і лікувати стійкий хронічний мієлогенний лейкоз (ХМЛ), який спричинений онкогенним білком Bcr-Abl. Піфітрин- α є оборотним інгібітором

p53-опосередкованого апоптозу і p53-залежної транскрипції генів, таких як циклін G, p21/waf1, та експресії mdm2. Піфітрин- α збільшує виживання клітин після генотоксичного стресу, такого як УФ-опромінення і лікування цитотоксичними сполуками, включаючи доксорубіцин, етопосид, паклітаксел і цитозин- β -D-арабінофуранозид. Піфітрин- α захищає мишей від летального γ -опромінення всього організму без підвищення захворюваності на рак.

Інгібітори PARP:

У деяких втіленнях, даний винахід надає спосіб лікування раку матки або раку яєчників шляхом введення пацієнтці з потребою в такому лікуванні принаймні одного інгібітора PARP. В інших втіленнях, даний винахід надає спосіб лікування раку матки або раку яєчників шляхом введення пацієнтці з потребою в такому лікуванні принаймні одного інгібітора PARP у поєднанні з принаймні одним протипухлинним засобом, описаним тут.

Не маючи наміру обмежуватися будь-яким конкретним механізмом дії, вважають, що сполуки, описані тут, мають протипухлинні властивості завдяки модуляції активності полі(АДФ-рибоза)-полімерази (PARP). Цей механізм дії пов'язаний із здатністю інгібіторів PARP зв'язувати PARP і зменшувати його активність. PARP каталізує перетворення β -нікотинамід аденіндинуклеотиду (NAD⁺) на нікотинамід і полі(АДФ-рибозу) (PAR). Як полі(АДФ-рибоза), так і PARP були пов'язані з регуляцією транскрипції, клітинною проліферацією, геномною стабільністю і канцерогенезом (Bouchard V.J. et al. *Experimental Hematology*, Volume 31, Number 6, June 2003, pp. 446-454(9); Herceg Z.; Wang Z.-Q. *Mutation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, Volume 477, Number 1, 2 June 2001, pp. 97-110(14)). Полі(АДФ-рибоза)-полімераза 1 (PARP1) є ключовою молекулою в репарації одноланцюгових розривів ДНК (de Murcia J, et al. 1997, *Proc Natl Acad Sci USA* 94:7303-7307; Schreiber V, Dantzer F, Ame JC, de Murcia G (2006) *Nat Rev Mol Cell Biol* 7:517-528; Wang ZQ, et al. (1997) *Genes Dev* 11:2347-2358). Нокаут репарації одноланцюгових розривів шляхом інгібування функції PARP1 індукує дволанцюгові розриви ДНК, що може стати пусковим механізмом синтетичної летальності у ракових клітинах із порушеною спрямованою на гомологію репарацією дволанцюгових розривів (Bryant HE, et al. (2005) *Nature* 434:913-917; Farmer H, et al. (2005) *Nature* 434:917-921).

BRCA1 і BRCA2 діють як невід'ємний компонент механізму гомологічної рекомбінації (ГР) (Narod SA, Foulkes WD (2004) *Nat Rev Cancer* 4:665-676; Gudmundsdottir K, Ashworth A (2006) *Oncogene* 25:5864-5874).

Клітини, дефектні за BRCA1 або BRCA2, мають дефект у репарації дволанцюгових розривів за механізмом гомологічної рекомбінації (ГР) шляхом конверсії генів (Farmer H, et al. (2005) *Nature* 434:917-921; Narod SA, Foulkes WD (2004) *Nat Rev Cancer* 4:665-676; Gudmundsdottir K, Ashworth A (2006) *Oncogene* 25:5864-5874; Helleday T, et al. (2008) *Nat Rev Cancer* 8:193-204). Дефект у будь-якому з білків схильності до раку молочної залози BRCA1 або BRCA2 індукує глибоку клітинну чутливість до інгібування активності полі(АДФ-рибоза)-полімерази (PARP), призводячи до зупинки клітинного циклу та апоптозу. Повідомлялося, що критична роль BRCA1 і BRCA2 у репарації дволанцюгових розривів шляхом гомологічної рекомбінації (ГР) є основною причиною для цієї чутливості, і дефект RAD51, RAD54, DSS1, RPA1, NBS1, ATR, ATM, CHK1, CHK2, FANCD2, FANCA, або FANCC викликає таку чутливість (McCabe N. et.al. *Deficiency in the repair of DNA damage by homologous recombination and sensitivity to* полі(АДФ-рибоза) полімераза inhibition, *Cancer research* 2006, vol. 66, 8109-8115). Було запропоновано, що інгібування PARP1 може бути специфічною терапією для раку з дефектами в BRCA1/2 або інших компонентах каскаду реакцій ГР (Helleday T, et al. (2008) *Nat Rev Cancer* 8:193-204). Пухлини матки і пухлини яєчників часто приховують дефекти у репарації дволанцюгових розривів ДНК шляхом гомологічної рекомбінації (ГР), такі як дисфункція BRCA1 (Rottenberg S, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008 Nov 4;105(44):17079-84).

Інгібування активності молекули PARP включає зниження активності цих молекул. Термін "інгібує" та його граматичні похідні, такі як "інгібуючий", не призначені вимагати повного зниження активності PARP. У деяких втіленнях, таке зниження становить принаймні приблизно 50 %, принаймні приблизно 75 %, принаймні приблизно 90 %, або принаймні приблизно 95 % від активності молекули за відсутності інгібуючого ефекту, наприклад, за відсутності інгібітора, такого як нітробензамідна сполука за даним винаходом. У деяких втіленнях, інгібування стосується видимого або вимірюваного зменшення активності. При лікуванні деяких сценаріїв, інгібування є достатнім, щоб приносити терапевтичну і/або профілактичну користь при стані, який лікують. Фраза "не інгібує" та її граматичні похідні не вимагають повної відсутності впливу на активність. Наприклад, це стосується ситуацій, де спостерігається зменшення активності PARP на менше ніж приблизно 20 %, менше ніж приблизно 10 % і переважно, менше ніж приблизно 5 % за присутності інгібітора, такого як нітробензамідна сполука за даним винаходом.

Полі(АДФ-рибоза)-полімераза (PARP) є незамінним ферментом у репарації ДНК, таким чином відіграючи потенційну роль у стійкості до хіміотерапії. Вважають, що націлювання на PARP потенційно перериватиме репарацію ДНК, тим самим посилюючи опосередковану таксаном, опосередковану антиметаболітом, опосередковану інгібітором топоізомерази і

опосередковану інгібітором рецептора фактора росту, наприклад, опосередковану інгібітором IGF1R, і/або опосередковану комплексом платини реплікацію і/або репарацію ДНК у ракових клітинах. Інгібітори PARPs можуть також бути високо активними проти раку яєчників, раку матки та ендометріального раку з порушеною функцією BRCA1 і BRCA2 або у тих пацієнток з іншими дефектами каскаду реакцій репарації ДНК.

4-Йод-3-нітробензамід (BA) є малою молекулою, що діє на клітини пухлини, не виявляючи токсичних ефектів у нормальних клітинах. Як вважають, BA досягає свого антибластомного ефекту шляхом інгібування PARP. BA дуже ліпофільний і швидко та широко розподіляється в тканинах, включаючи мозок і спинномозкову рідину. Він активний проти широкого діапазону ракових клітин in vitro, включаючи клітинні лінії, резистентні до лікарського засобу. Фахівець у даній галузі оцінить, що BA може бути введений у будь-якій фармацевтично прийнятній формі, наприклад, як фармацевтично прийнятна сіль, сольват, або комплекс. Крім того, оскільки BA здатний до таутомеризації в розчині, таутомерна форма BA призначена бути охопленою терміном BA (або еквівалентним 4-йод-3-нітробензамід), разом із солями, сольватами або комплексами. У деяких втіленнях, BA може бути введений у поєднанні з циклодекстрином, таким як гідроксипропілбетациклодекстрин. Однак, фахівець у даній галузі оцінить, що інші активні та неактивні засоби можуть бути комбіновані з BA; і згадування BA буде включати, якщо тільки не зазначене інше, всі його фармацевтично прийнятні форми.

Подібний до базального ендометріальний рак має високу схильність до метастазування у мозок; і BA, як відомо, проходить крізь гематоенцефалічний бар'єр. Не бажаючи бути зв'язаними будь-якою конкретною теорією, у той же час вважають, що BA досягає свого антибластомного ефекту шляхом інгібування функції PARP. У деяких втіленнях, BA може бути використаний у лікуванні метастатичного раку яєчників. У деяких втіленнях, BA може бути використаний у лікуванні метастатичного раку матки. У деяких втіленнях, BA може бути використаний у лікуванні метастатичного ендометріального раку. В інших втіленнях, BA може бути використаний у лікуванні пухлин матки, ендометріальних пухлин або пухлин яєчників у поєднанні з протипухлинним засобом. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є антиметаболіт, такий як гемцитабін. У деяких втіленнях, протипухлинним засобом є комплекс платини, такий як карбоплатин. У деяких втіленнях, BA може бути використаний у лікуванні пухлин матки, ендометріальних пухлин або пухлин яєчників у поєднанні з таксаном, таким як паклітаксел. В інших втіленнях, BA може бути використаний у лікуванні пухлин матки, ендометріальних пухлин або пухлин яєчників у поєднанні з анти-ангіогенним засобом. У ще інших втіленнях, BA може бути використаний у лікуванні пухлин матки, ендометріальних пухлин або пухлин яєчників у поєднанні з інгібітором топоізомерази, таким як іринотекан. В інших втіленнях, BA може бути використаний у лікуванні пухлин матки, ендометріальних пухлин або пухлин яєчників у поєднанні з гормональною терапією. У ще інших втіленнях, BA може бути використаний у лікуванні пухлин матки, ендометріальних пухлин або пухлин яєчників у поєднанні з інгібітором рецептора фактора росту, включаючи, але не обмежуючись ними, інгібітор EGFR або IGF1R. У деяких втіленнях, рак матки, ендометріальний рак або рак яєчників є метастатичним раком.

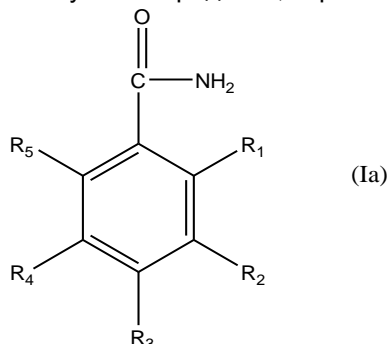
Дозування інгібітора PARP може змінюватися в залежності від віку пацієнтки, її зросту, ваги, загального стану здоров'я, тощо. У деяких втіленнях, дозування BA знаходиться у діапазоні від приблизно 1 мг/кг до приблизно 100 мг/кг, від приблизно 2 мг/кг до приблизно 50 мг/кг, приблизно 2 мг/кг, приблизно 4 мг/кг, приблизно 6 мг/кг, приблизно 8 мг/кг, приблизно 10 мг/кг, приблизно 12 мг/кг, приблизно 15 мг/кг, приблизно 20 мг/кг, приблизно 25 мг/кг, приблизно 30 мг/кг, приблизно 35 мг/кг, приблизно 40 мг/кг, приблизно 50 мг/кг, приблизно 60 мг/кг, приблизно 75 мг/кг, приблизно 90 мг/кг, від приблизно 1 до приблизно 25 мг/кг, від приблизно 2 до приблизно 70 мг/кг, від приблизно 4 до приблизно 100 мг, від приблизно 4 до приблизно 25 мг/кг, від приблизно 4 до приблизно 20 мг/кг, від приблизно 50 до приблизно 100 мг/кг або від приблизно 25 до приблизно 75 мг/кг. BA може бути введений внутрішньовенно, наприклад, шляхом внутрішньовенної інфузії протягом від приблизно 10 до приблизно 300 хвилин, від приблизно 30 до приблизно 180 хвилин, від приблизно 45 до приблизно 120 хвилин або приблизно 60 хвилин (тобто приблизно 1 години). У деяких втіленнях, BA альтернативно може бути введений перорально. У цьому контексті, термін "приблизно" має нормальне значення даного слова. У деяких втіленнях, "приблизно" означає $\pm 10\%$ або $\pm 5\%$.

Синтез ВА (4-йод-3-нітробензаміду) описаний у патенті США № 5 464 871, який повністю включений сюди за допомогою посилання. ВА може бути приготований у концентраціях 10 мг/мл і може бути упакований у зручній формі, наприклад, у флаконах місткістю 10 мл.

Метаболіти ВА:

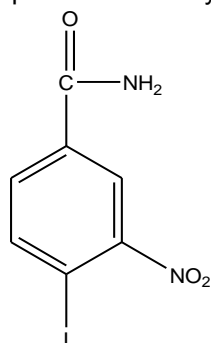
- 5 Як вжито у даному описі, "ВА" означає 4-йод-3-нітробензамід; "BNO" означає 4-йод-3-нітробензамід; "BNHOH" означає 4-йод-3-гідроксіамінобензамід.

Сполуки-попередники, корисні у даному винаході, мають формулу (Ia)



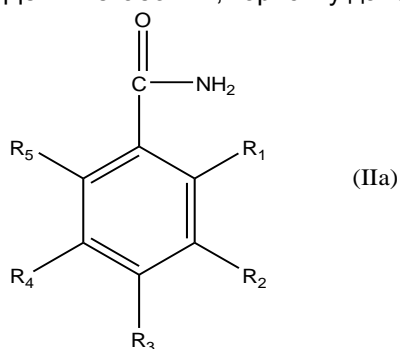
- 10 де R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 є незалежно вибраними з групи, що складається з водню, гідрокси, аміно, нітро, йоду, (C_1 - C_6) алкілу, (C_1 - C_6) алкокси, (C_3 - C_7) циклоалкілу і фенілу, де принаймні два з п'яти замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 завжди є воднем, принаймні один із п'яти замісників завжди є нітро і принаймні один замісник, розташований поряд із нітро, завжди є йодом, та її фармацевтично прийнятні солі, сольвати, ізомери, таутомери, метаболіти, аналоги або проліки. R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 також можуть бути галоїдами, такими як замісники хлор, фтор або бром.

- 15 Переважною сполукою-попередником формули Ia є:



4-йод-3-нітробензамід (ВА).

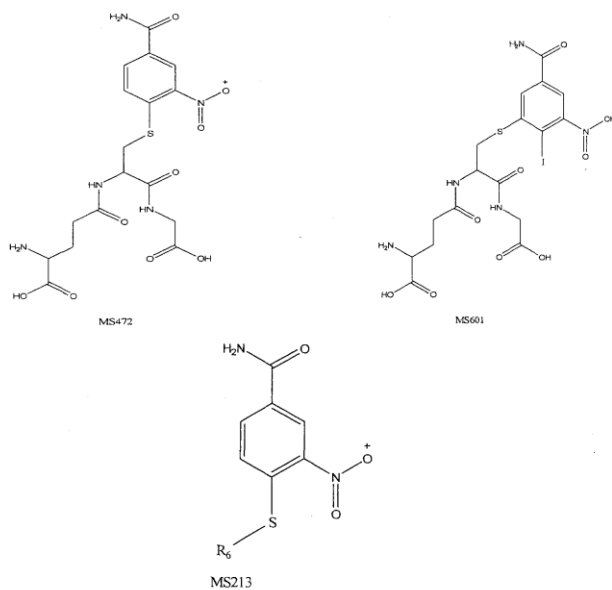
Деякі метаболіти, корисні у даному винаході, мають формулу (IIa):



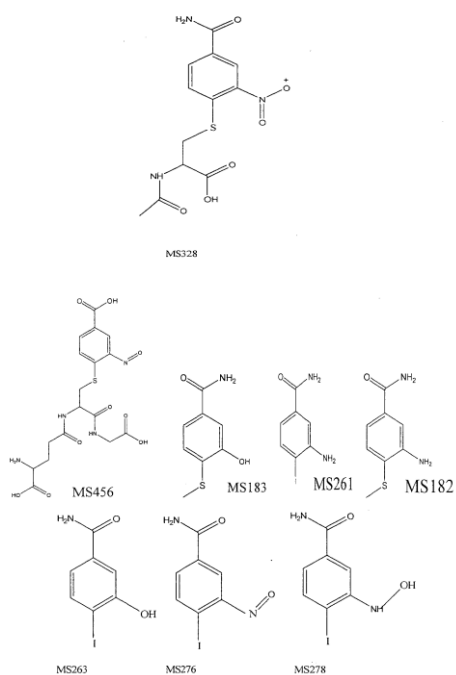
- 20 де будь-який: (1) принаймні один із замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 завжди є сірковмісним замісником і замісники R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 , що залишилися, незалежно вибирають із групи, що складається з водню, гідрокси, аміно, нітро, йоду, бром, фтору, хлору, (C_1 - C_6) алкілу, (C_1 - C_6) алкокси, (C_3 - C_7) циклоалкілу і фенілу, де принаймні два з п'яти замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 завжди є воднем; або (2) принаймні один із замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 є не сірковмісним замісником і принаймні один із п'яти замісників R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 завжди є йодом і де зазначений йод завжди є суміжним із групою R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , або R_5 , що є або нітро, нітрозо, гідроксіаміно, гідрокси, або аміно групою; та її фармацевтично прийнятними солями, сольватами, ізомерами, таутомерами, метаболітами, аналогами або проліками. У деяких втіленнях, сполуки (2) є такими, що група йоду завжди є суміжною з групою R_1 , R_2 , R_3 , R_4 або R_5 , яка є нітрозо,
- 25

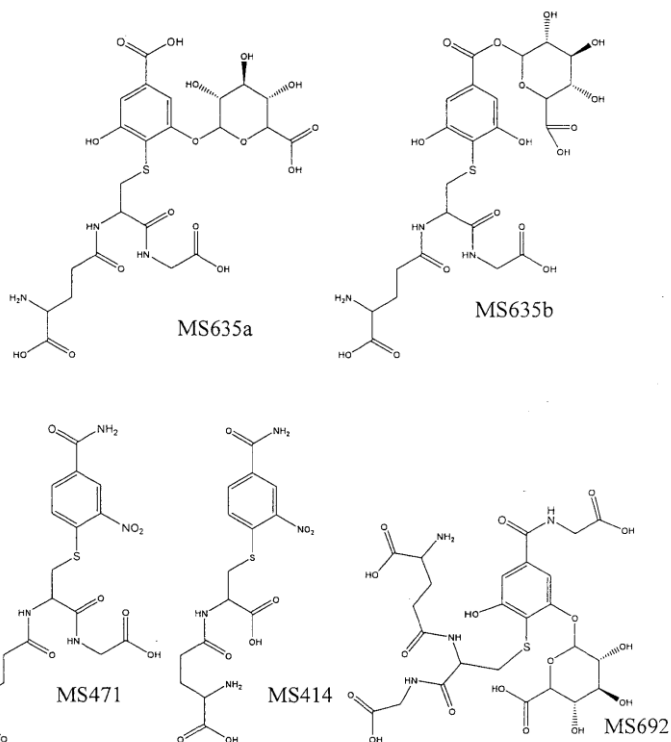
гідроксіаміно, гідрокси або аміно групою. У деяких втіленнях, сполуки (2) є такими, що група йоду завжди є суміжною з групою R₁, R₂, R₃, R₄ або R₅, яка є нітрузо, гідроксіаміно або аміно групою.

5 Нижченаведені композиції є переважними сполуками-метаболітами, кожна з яких представлена хімічною формулою:

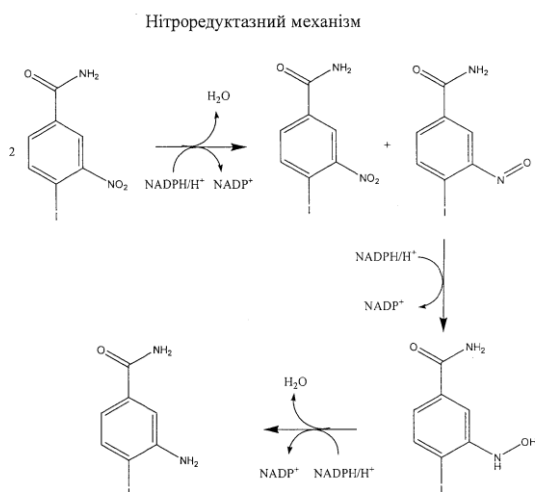


10 R₆ вибирають із групи, що складається з водню, (C₁-C₈) алкілу, (C₁-C₈) алкокси, ізохінолінонів, індолів, тіазолу, оксазолу, оксодіазолу, тіофену або фенілу.



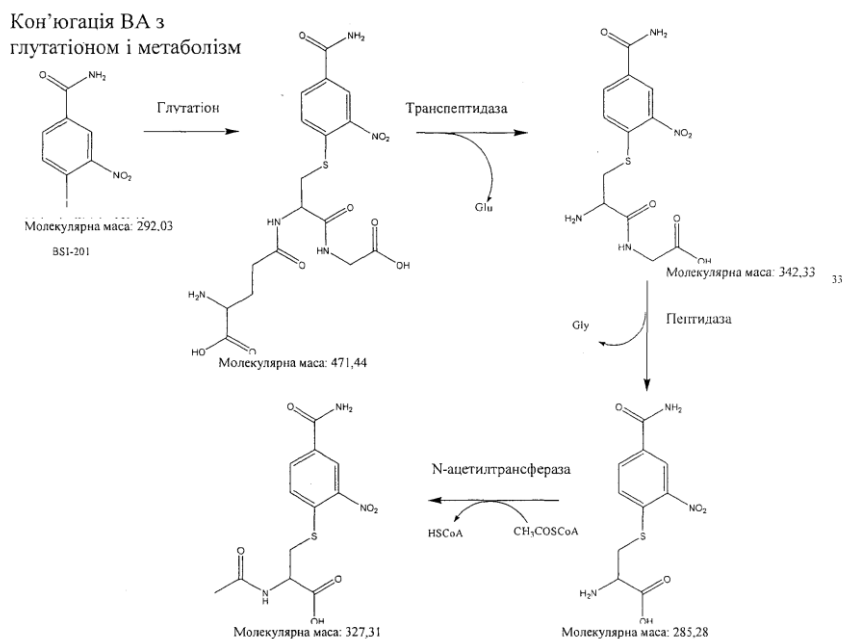


Не будучи обмеженою будь-яким конкретним механізмом, нижченаведена схема надає приклад для метаболізму MS292 за допомогою нітроредуктазного механізму або кон'югації з глутатіоном:



10

Кон'югація ВА з глутатіоном і метаболізм:



Даний винахід передбачає використання вищезазначених сполук-метаболітів нітробензаміду для лікування раку яєчників із генетичним дефектом у гені BRCA, або раку матки, що є рецидивним, запущеним або персистентним.

Повідомлялося, що сполуки-метаболіти нітробензаміду мають селективну цитотоксичність на злоякісних ракових клітинах, але не на доброякісних ракових клітинах. Див. Rice et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7703-7707 (1992), повністю включену у даний опис. В одному втіленні, сполуки-метаболіти нітробензаміду, що використовуються у способах за даним винаходом, можуть демонструвати більш селективну токсичність по відношенню до пухлинних клітин, ніж до не пухлинних клітин. Метаболіти згідно з винаходом можуть, таким чином, бути введені пацієнту з потребою в такому лікуванні у поєднанні з хіміотерапією з принаймні одним таксаном (наприклад, паклітакселом або доцетакселом) на додаток до принаймні одного комплексу платини (наприклад, карбоплатину, цисплатину, тощо). Дозування для таких метаболітів може знаходитися у діапазоні від приблизно 0,0004 до приблизно 0,5 ммоль/кг (мілімолів метаболіту на кілограм маси тіла пацієнта), це дозування відповідає, на молярній основі, діапазону від приблизно 0,1 до приблизно 100 мг/кг ВА. Інші ефективні діапазони дозування для метаболітів становлять 0,0024-0,5 ммоль/кг і 0,0048-0,25 ммоль/кг. Такі дози можуть застосовуватися щоденно, через день, два рази на тиждень, один раз на тиждень, один раз на два тижні, один раз на місяць або за іншим придатним графіком. По суті, для метаболітів можуть використовуватися ті ж самі способи введення, що і для ВА – наприклад, пероральний, внутрішньовенний, внутрішньочеревинний, тощо.

Комбінована терапія

У певних втіленнях даного винаходу, способи за даним винаходом далі включають лікування раку матки, ендометріального раку, або раку яєчників введенням пацієнтці інгібітора PARP з принаймні одним протипухлинним засобом або без нього, у поєднанні з іншою протираковою терапією, включаючи, але не обмежуючись ними, хірургічні операції, променеву терапію (наприклад, рентгенівське випромінювання), генну терапію, ДНК терапію, ад'ювантну терапію, неoad'ювантну терапію, вірусну терапію, імунотерапію, РНК терапію або нанотерапію.

Де комбінована терапія далі включає безмедикаментозне лікування, безмедикаментозне лікування може бути проведене у будь-який придатний час, за умови, що досягається сприятливий ефект від спільної дії поєднання терапевтичних засобів і безмедикаментозного лікування. Наприклад, у відповідних випадках, сприятливий ефект все ще досягається, коли безмедикаментозне лікування тимчасово відділяють від введення терапевтичних засобів значним проміжком часу. Кон'югат та інший фармакологічно активний засіб може бути введені пацієнтці одночасно, послідовно або у поєднанні. Буде оцінено, що коли використовують комбінацію за даним винаходом, сполука за даним винаходом та інший фармакологічно активний засіб можуть знаходитися в тому ж самому фармацевтично прийнятному носії, і, отже, застосовуватися одночасно. Вони можуть знаходитися в окремих фармацевтичних носіях, таких

як звичайні пероральні лікарські форми, які застосовують одночасно. Термін "комбінація" далі стосується випадку, де сполуки надані в окремих лікарських формах і вводяться послідовно.

Променева терапія

Променева терапія (або радіотерапія) є медичним застосуванням іонізуючого випромінювання як частини лікування раку для контролю злоякісних клітин. Радіотерапія може використовуватися для лікувальної або допоміжної терапії раку. Її використовують як паліативне лікування (де вилікування неможливе і метою є місцевий контроль захворювання або симптоматичне полегшення) або як терапевтичне лікування (де терапія має переваги виживання і вона може бути лікувальною). Радіотерапію використовують для лікування злоякісних пухлин і можуть використовувати як первинну терапію. Також поширеним є комбінування радіотерапії з хірургічними операціями, хіміотерапією, гормональною терапією або деяким поєднанням їх трьох. Найпоширеніші типи раку можна лікувати радіотерапією у певний спосіб. Точна мета терапії (лікувальна, ад'ювантна, неоад'ювантна, терапевтична або паліативна) буде залежати від типу пухлини, її розташування і стадії захворювання, так само як від загального стану здоров'я пацієнтки.

Променева терапія звичайно застосовується до злоякісних пухлин. Поля опромінення можуть також включати дренуючі лімфатичні вузли, якщо вони клінічно або радіологічно пов'язані з пухлиною, або якщо вважають, що там існує ризик субклінічного злоякісного поширення. Необхідно включати межі нормальної тканини навколо пухлини, щоб врахувати невизначеності у щоденній ситуації і внутрішньому русі пухлини.

Променева терапія працює, пошкоджуючи ДНК клітин. Ушкодження спричиняються фотоном, електроном, протоном, нейтроном або іонним пучком, що безпосередньо або опосередковано іонізують атоми, які складають ланцюг ДНК. Непряма іонізація відбувається в результаті іонізації води, з формуванням вільних радикалів, особливо гідроксильних радикалів, які потім пошкоджують ДНК. У найпоширеніших формах променевої терапії, більша частина дії випромінювання пов'язана з вільними радикалами. Оскільки клітини мають механізми для репарації ушкоджень ДНК, доведено, що розрив ДНК на обох ланцюгах є найбільш значимим методом у модифікації характеристик клітини. Оскільки ракові клітини взагалі є недиференційованими і подібними до стовбурових клітин, вони відтворюються більше, і мають зменшену здатність до репарації сублетальних ушкоджень, у порівнянні з більшістю здорових диференційованих клітин. Ушкодження ДНК успадковуються через поділ клітин, накопичуючи ушкодження в ракових клітинах, змушуючи їх гинути або відтворюватися повільніше. Протонна радіотерапія працює, посилаючи протони зі змінною кінетичною енергією, щоб вони точно зупинилися в пухлині.

Гама-випромінювання також використовують для лікування деяких типів раку, включаючи рак матки, ендометріальний рак і рак яєчників. У процедурі, що називається хірургічне втручання з гама-ножем, множинні концентровані промені гама-випромінювання спрямовані на ріст пухлини, щоб вбити ракові клітини. Промені спрямовані з різних кутів, щоб сфокусувати опромінення на пухлині, у той же час мінімізуючи ушкодження оточуючих тканин.

Засоби генної терапії

Засоби генної терапії вставляють копії генів у певний набір клітин пацієнта і можуть бути спрямованими як на ракові, так і неракові клітини. Мета генної терапії може полягати в тому, щоб замінити змінені гени функціональними генами, стимулювати імунну відповідь пацієнта на рак, зробити ракові клітини більш чутливими до хіміотерапії, помістити гени "самовбивства" у ракові клітини, або інгібувати ангиогенез. Гени можуть бути доставлені до клітин-мішеней з використанням вірусів, ліпосом або інших носіїв або векторів. Це може бути зроблене шляхом ін'єкції композиції гена з носієм безпосередньо пацієнту, або ex vivo, з веденням інфікованих клітин назад пацієнту. Такі композиції є придатними для використання у даному винаході.

Ад'ювантна терапія

Ад'ювантна терапія є лікуванням, яке призначають після первинного лікування, щоб збільшити шанси на одужання. Ад'ювантна терапія може включати хіміотерапію, променеву терапію, гормональну терапію, або біологічну терапію.

Ад'ювантна хіміотерапія є ефективною для пацієнток із запущеним раком матки або раком яєчників. Поєднання доксорубіцину і цисплатину досягає загальних показників ефективності у діапазоні від 34 до 60 %, і додавання паклітакселу, очевидно, поліпшує результат у пацієнток із запущеним захворюванням, але він викликає значно вищу токсичність. Дослідження фази III, що проводиться дослідною групою з гінекологічної онкології, зараз вивчає триплет паклітаксел+доксорубіцин+цисплатин плюс гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор у порівнянні з менш токсичною комбінацією паклітаксел+карбоплатин. Ті, що продовжуються, і заплановані випробування фази III оцінюють більш нові режими комбінацій хіміотерапії,

комбінації опромінення і хіміотерапії, та здійснення цільової терапії з метою поліпшення рівня контролю пухлини та якості життя.

Ад'ювантна променева терапія (ПТ): Ад'ювантна променева терапія значно зменшує ризик того, що рак матки буде повторюватися локально (тобто, у тазі або піхві). Взагалі, існує два шляхи доставки ПТ: вона може даватися як вагінальна близькофокусна променева терапія або як зовнішня дистанційна ПТ (EBRT). У вагінальній близькофокусній променевій терапії, близькофокусна променева терапія доставляє ПТ безпосередньо до тканин піхви з джерела, яке тимчасово розміщене всередині тіла. Це дозволяє доставляти високі дози опромінення до ділянок, де найімовірніше можуть бути виявлені ракові клітини. У зовнішній дистанційній променевій терапії (EBRT), джерело опромінення знаходиться поза організмом.

Для лікування раку яєчників використовувалися різні терапії, включаючи, але не обмежуючись ними, гормональну терапію, наприклад, тамоксифен, або аналоги гонадоліберину (GnRH) і терапію з радіоактивним моноклональним антитілом.

Неoad'ювантна терапія

Неoad'ювантна терапія стосується лікування, яке застосовують перед первинним лікуванням. Приклади неoad'ювантної терапії включають хіміотерапію, променеву терапію і гормональну терапію. Неoad'ювантна хіміотерапія при гінекологічному раку є підходом, який, як показано, має позитивний вплив на виживання. Він підвищує рівень операбельності при раку яєчників і раку шийки матки, і таким чином сприяє виживанню. (Ayhan A. et. al. European journal of gynaecological oncology. 2006, vol. 27).

Онколітична вірусна терапія

Вірусна терапія раку використовує тип вірусів, що називаються онколітичними вірусами. Онколітичний вірус є вірусом, що здатний інфікувати ракові клітини і викликати у них лізис, у той же час залишаючи нормальні клітини неушкодженими, що робить їх потенційно корисними у терапії раку. Реплікація онколітичних вірусів як полегшує руйнування клітин пухлини, так і викликає також посилення дози на ділянці пухлини. Вони також можуть діяти як вектори для протиракових генів, дозволяючи їм бути специфічно доставленими до ділянки пухлини.

Існують два головні підходи для генерування селективності пухлини: трансдукційна і нетрансдукційна спрямованість. Трансдукційна спрямованість включає зміну специфічності білка оболонки вірусу, тим самим збільшуючи проникнення у клітини-мішені, і зменшуючи проникнення у клітини, які не є мішенями. Нетрансдукційна спрямованість включає зміну геному вірусу, так що він може лише реплікуватися у ракових клітинах. Це може бути здійснене або спрямованістю на транскрипцію, де гени, суттєві для вірусної реплікації, вміщують під контроль пухлино-специфічного промотору, або атенуацією, яка залучає введення делецій у вірусний геном, що видаляє функції, які є несуттєвими у ракових клітинах, але не в нормальних клітинах. Існують також інші, дещо більш маловідомі методи.

Chen et al (2001) використали CV706, проста-специфічний аденовірус, у поєднанні з радіотерапією при раку простати у мишей. Комбінована терапія дає у результаті синергічне збільшення клітинної смерті, а також суттєве збільшення розміру виходу вірусів (кількості вірусних частинок, які вивільняються при кожному лізисі клітини).

ONYX-015 піддавали випробуванням у поєднанні з хіміотерапією. Комбінована терапія давала більший відгук, ніж будь-яке одне лікування, але результати не були повністю переконливими. ONYX-015 показав перспективність у поєднанні з радіотерапією.

Вірусні засоби, що вводяться внутрішньовенно, можуть бути особливо ефективними проти метастатичного раку, який особливо складно лікувати традиційними методами. Однак віруси, що переносяться кров'ю, можуть бути дезактивовані антитілами і швидко очищені з потоку крові, наприклад, клітинами Купфера (надзвичайно активні фагоцитарні клітини у печінці, які відповідають за виведення аденовірусу). Уникнення імунної системи доти, поки пухлина не зруйнується, може бути найбільшою перешкодою для успіху онколітичної вірусної терапії. До цього часу, жодна методика, використовувана, щоб ухилитися від імунної системи, не була повністю задовільною. Саме у поєднанні з традиційними методами лікування раку онколітичні віруси показують найбільші перспективи, оскільки комбінована терапія діє синергічно, без очевидних негативних ефектів.

Специфічність і гнучкість онколітичних вірусів означає, що вони мають потенціал для лікування широкого діапазону типів раку, включаючи рак матки, ендометріальний рак і рак яєчників, із мінімальними побічними ефектами. Онколітичні віруси мають потенціал для вирішення проблеми селективного лізису ракових клітин.

Нанотерапія

Частинки розміром у нанометри мають нові оптичні, електронні і структурні властивості, які не доступні ні окремим молекулам, ні великим твердим частинкам. Коли вони зв'язані зі

спрямованими на пухлину компонентами, такими як пухлино-специфічні ліганди або моноклональні антитіла, ці наночастинки можуть використовуватися для спрямування на рак-специфічні рецептори, пухлинні антигени (біомаркери) і судинні сітки пухлини з високою афінністю і точністю. Композиції і виробничий процес для нанотерапії раку розкриті у патенті US7179484 і статті M. N. Khalid, P. Simard, D. Hoarau, A. Dragomir, J. Leroux, Long Circulating Poly(Ethylene Glycol)Decorated Lipid Nanocapsules Deliver Docetaxel to Solid Tumors, Pharmaceutical Research, 23(4), 2006, всі повністю включені у даний опис за допомогою посилання.

РНК терапія

РНК, включаючи, але не обмежуючись ними, siРНК, shРНК, мікроРНК, можуть використовуватися для коригування експресії гена і лікування раку. Дволанцюгові олігонуклеотиди формуються шляхом збирання двох окремих олігонуклеотидних послідовностей, де олігонуклеотидна послідовність одного ланцюга є комплементарною до олігонуклеотидної послідовності другого ланцюга; такі дволанцюгові олігонуклеотиди звичайно збираються з двох окремих олігонуклеотидів (наприклад, siРНК – коротка інтерферувальна РНК), або з одиначної молекули, що згинається на себе, щоб утворити дволанцюгову структуру (наприклад, shРНК – коротка шпилькова РНК). Ці дволанцюгові олігонуклеотиди, відомі у даній галузі, всі мають спільну рису: кожний ланцюг подвійної спіралі має відмінну нуклеотидну послідовність, де лише ділянка однієї нуклеотидної послідовності (допоміжної послідовності або антисмислової послідовності) має комплементарність до цільової послідовності нуклеїнових кислот, а інший ланцюг (смилова послідовність) містить нуклеотидну послідовність, що є гомологічною до цільової послідовності нуклеїнових кислот.

МікроРНКs (miРНК) є одноланцюговими молекулами РНК довжиною приблизно 21-23 нуклеотидів, які регулюють експресію гена. miРНК кодуються генами, які транскрибуються з ДНК, але не транслуються у білок (некодуюча РНК); замість цього вони процесуються з первинних транскриптів, відомих як pri-miРНК, до коротких структур типу "стебло-петля", що називаються pre-miРНК, і, нарешті, до функціональної miРНК. Зрілі молекули miРНК є частково комплементарними до однієї або більше молекул інформаційної РНК (iРНК), і їхньою основною функцією є регулювати у бік зниження експресію гена.

Певні засоби інгібування РНК можуть бути використані, щоб інгібувати експресію або трансляцію інформаційної РНК ("iРНК"), яка пов'язана з раковим фенотипом. Приклади таких засобів, придатних для використання тут, включають, але не обмежуються ними, коротку інтерферувальну РНК ("siРНК"), рибозими та антисмислові олігонуклеотиди. Конкретні приклади засобів, що інгібують РНК, придатних для використання тут, включають, але не обмежуються ними, Cand5, Sirna-027, фомівірсен та ангіозим.

Низькомолекулярні ферментні інгібітори

Певні низькомолекулярні терапевтичні засоби здатні бути спрямованими на ферментну активність тирозинкінази або сигнали трансдукції, розташовані в напрямку експресії гена, певних клітинних рецепторів, таких як рецептор епідермального фактора росту ("EGFR") або рецептор фактора росту ендотелію судин ("VEGFR"). Таке спрямування низькомолекулярними терапевтичними засобами може мати результатом протипухлинний ефект. Приклади таких засобів, придатних для використання тут, включають, але не обмежуються ними, іматиніб, гефатиніб, ерлотиніб, лапатиніб, канертиніб, ZD6474, сорафеніб (BAY 43-9006), ERB-569 та їхні аналоги і похідні.

Антиметастатичні засоби

Процес, за допомогою якого ракові клітини поширюються з ділянки початкової пухлини до інших місцеположень навколо тіла, називають метастазуванням раку. Певні засоби мають антиметастатичні властивості, призначені, щоб інгібувати поширення ракових клітин. Приклади таких засобів, придатних для використання тут, включають, але не обмежуються ними, марімастат, бевацизумаб, трастузумаб, ритуксимаб, ерлотиніб, MMI-166, GRN163L, пошуково-ударні ("hunter-killer") пептиди, тканинні інгібітори металопротеїназ (TIMPs), їхні аналоги, похідні і варіанти.

Хемопревентивні засоби

Певні фармацевтичні засоби можуть бути використані, щоб запобігти початковому виникненню раку, або запобігти рецидиву або метастазуванню. Введення таких хемопревентивних засобів у поєднанні з кон'югатами ефлорнітин-NSAID за даним винаходом може діяти і як лікування, і як профілактика рецидиву раку. Приклади хемопревентивних засобів, придатних для використання тут, включають, але не обмежуються ними, тамоксифен, ралоксифен, тіболол, бісфосфонат, ібандронат, модулятори рецептора естрогену, інгібітори ароматази (летрозол, анастрозол), агоністи рилізінг-фактора лютеїнізуючого гормону,

госерелін, вітамін А, ретиналь, ретиноева кислота, фенретинід, 9-цис-ретиноїдна кислота, 13-цис-ретиноїдна кислота, all-trans-ретиноева кислота, ізотретиноїн, третиніол, вітамін В6, вітамін В12, вітамін С, вітамін D, вітамін Е, інгібітори циклооксигенази, нестероїдні протизапальні засоби (NSAIDs), аспірин, ібупрофен, целекоксиб, поліфеноли, поліфенол Е, екстракт зеленого чаю, фолієва кислота, глюкурова кислота, інтерферон-альфа, анетол дитіолетіон, цинк, піридоксин, фінастерид, доксамінон, селен, індол-3-карбінал, альфа-дифторметилорнітин, каротиноїди, бета-каротин, лікопен, антиоксиданти, коензим Q10, флавоноїди, кверцетин, куркумін, катехіни, епігалокатехін галат, N-ацетилцистеїн, індол-3-карбінол, інозитол гексафосфат, ізофлавоноїди, глюканова кислота, розмарин, соя, rosemary, soy, пальма серена і кальцій. Додатковим прикладом хемопревентивних засобів, придатних для використання у даному винаході, є вакцини проти раку. Вони можуть бути створені шляхом імунізації пацієнта усім або частиною типу ракових клітин, що спрямовані процесом вакцинації.

Клінічна ефективність:

Клінічна ефективність може бути виміряна будь-яким методом, відомим у даній галузі. У деяких втіленнях, клінічна ефективність терапевтичного впливу, описаного тут, може бути визначена шляхом вимірювання рівня клінічної користі (РКК). Рівень клінічної користі вимірюють, визначаючи суму відсотків від числа пацієнток із повною ремісією (ПР), числа пацієнток із частковою ремісією (ЧР) і числа пацієнток, що мають стабільне захворювання (СЗ), у момент часу принаймні через 6 місяців після закінчення терапії. Умовне позначення для цієї формули: $РКК = ПР + ЧР + СЗ \geq 6$ місяців. РКК для комбінованої терапії з паклітакселом і карбоплатином становив 45 %. Таким чином, РКК для потрібної комбінованої терапії з таксаном, комплексом платини та інгібітором PARP (наприклад, паклітакселом, карбоплатином і ВА; $РКК_{GCB}$) можна порівняти з таким для подвійної комбінованої терапії з паклітакселом і карбоплатином ($РКК_{GC}$). У деяких втіленнях, $РКК_{GCB}$ становить принаймні приблизно 60 %. У деяких втіленнях, РКК становить принаймні приблизно 30 %, принаймні приблизно 40 %, або принаймні приблизно 50 %.

У деяких втіленнях, розкритих у даному описі, способи включають попереднє визначення, що рак виликається модуляторами PARP. Деякі з таких способів включають ідентифікацію рівня PARP у зразку раку матки, ендометріального раку або раку яєчників пацієнтки, з визначенням, чи рівень експресії PARP у зразку вищий, ніж заздалегідь встановлена величина, і, якщо експресія PARP є вищою, ніж зазначена заздалегідь встановлена величина, лікування пацієнтки комбінацією протипухлинного засобу, описаного тут, та інгібітора PARP, такого як ВА. В інших втіленнях, способи включають ідентифікацію рівня PARP у зразку раку матки, ендометріального раку або раку яєчників пацієнтки, з визначенням, чи рівень експресії PARP у зразку вищий, ніж заздалегідь встановлена величина, і, якщо експресія PARP є вищою, ніж зазначена заздалегідь встановлена величина, лікування пацієнтки інгібітором PARP, таким як ВА.

Пухлини матки у жінок, які успадкували дефекти або в гені BRCA1, або в гені BRCA2, зустрічаються тому, що клітини пухлини втратили специфічний механізм, що репарує ушкоджену ДНК. BRCA1 і BRCA2 є важливими для репарації дволанцюгових розривів ДНК шляхом гомологічної рекомбінації, і мутації у цих генах сприяють раку матки та іншим видам раку. PARP залучений до репарації ексцизії основ, каскаду реакцій у репарації одноланцюгових розривів ДНК. Дисфункція BRCA1 або BRCA2 робить клітини чутливими до інгібування ферментативної активності PARP, призводячи до нестабільності геному, зупинки клітинного циклу і подальшого апоптозу (Jones C, Plummer ER. PARP inhibitors and cancer therapy – early results and potential applications. Br J Radiol. 2008 Oct;81 Spec No 1:S2-5; Drew Y, Calvert H. The potential of PARP inhibitors in genetic breast and ovarian cancers. Ann N Y Acad Sci. 2008 Sep;1138:136-45; Farmer H, et.al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. Nature. 2005 Apr 14;434(7035):917-21).

Пацієнти з дефектом у генах BRCA можуть мати позитивно регульовані рівні PARP. Позитивна регуляція PARP може бути індикатором інших дефектних каскадів реакцій репарації ДНК і нерозпізнаних BRCA-подібних генетичних дефектів. Оцінювання експресії гена PARP і порушеної репарації ДНК, особливо дефектної за репарацією ДНК гомологічною рекомбінацією, може використовуватися як індикатор чутливості пухлини до інгібітора PARP. Отже, у деяких втіленнях, лікування раку матки може бути удосконалене не лише шляхом визначення ГР і/або HER2-статусу раку, але також шляхом ідентифікації раннього початку раку у пацієнток з дефектним BRCA і дефектною за гомологічною рекомбінацією репарацією ДНК шляхом вимірювання рівня PARP. Пацієнтки з дефектним BRCA і дефектною за гомологічною рекомбінацією репарацією ДНК, що піддаються лікуванню інгібіторами PARP, можуть бути

ідентифіковані, якщо PARP є позитивно регульованим. Далі, таких пацієнток із дефектною за гомологічною рекомбінацією репарацією ДНК можна лікувати інгібіторами PARP.

У деяких втіленнях, зразок відбирають у пацієнтки, що має патологічні зміни в матці, які підозрюють як злоякісні. Тоді як такий зразок може бути будь-якою доступною біологічною тканиною, у більшості випадків цей зразок буде частиною підозрюваної патологічної зміни в матці, одержаною або лапароскопією, або відкритою хірургічною операцією (наприклад, гістеректомією). Потім може бути проаналізована експресія PARP, і, якщо експресія PARP перевищує заздалегідь встановлений рівень (наприклад, є позитивно регульованою по відношенню до нормальної тканини), пацієнтку можна лікувати інгібітором PARP у поєднанні з таксаном і засобом на основі платини. Таким чином, слід розуміти, що у той час як втілення, описані тут, спрямовані на лікування ендометріального раку, рецидивного, запущеного або персистентного раку матки і раку яєчників у поєднанні з дефектом BRCA, у деяких втіленнях, раку матки або раку яєчників не потрібно мати ці характеристики, за умови, що задовольняється поріг позитивної регуляції PARP.

У деяких втіленнях, пухлини, що є дефектними за гомологічною рекомбінацією, ідентифікують шляхом оцінювання рівнів експресії PARP. Якщо спостерігається позитивна регуляція PARP, такі пухлини можна лікувати інгібіторами PARP. Інше втілення є способом лікування раку, дефектного за гомологічною рекомбінацією, що включає оцінювання рівня експресії PARP і, якщо спостерігається надекспресія, раку лікують інгібітором PARP.

Відбір, підготовка і розділення зразків

Біологічні зразки можуть бути відібрані з цілого ряду джерел у пацієнта, включаючи зразок рідини організму або зразок тканини. Відібрані зразки можуть бути зразками нормальних тканин людини і зразками пухлини. Зразки можуть відбиратися в осіб неодноразово, протягом тривалого проміжку часу (наприклад, приблизно один раз на добу, один раз на тиждень, один раз на місяць, двічі на рік, або щорічно). Одержання численних зразків від осіб протягом тривалого періоду може використовуватися для перевірки результатів більш ранніх виявлень і/або для ідентифікації зміни біологічної структури в результаті, наприклад, прогресування захворювання, фармакотерапії, тощо.

Підготовка і розділення зразків можуть залучати будь-яку з процедур, в залежності від типу відібраного зразка і/або аналізу PARP. Такі процедури включають, лише як приклад, концентрування, розведення, регулювання рН, видалення поліпептидів із високим відносним вмістом (наприклад, альбуміну, гама-глобуліну і трансферину, тощо), додавання консервантів і калібрантів, додавання інгібіторів протеази, додавання денатуруючих засобів, знесолювання зразків, концентрування білків зразка, екстрагування і очищення ліпідів.

Підготовка зразка також може виділяти молекули, які зв'язані в нековалентних комплексах з іншим білком (наприклад, білками-носіями). Цей процес може виділяти ті молекули, що зв'язані зі специфічним білком-носієм (наприклад, альбуміном), або використовувати більш загальний процес, такий як вивільнення зв'язаних молекул з усіх білків-носіїв шляхом денатурації білка, наприклад, із використанням кислоти, що супроводжується видаленням білків-носіїв.

Видалення небажаних білків (наприклад, із високим відносним вмістом, неінформативних, або невиявних білків) із зразка можна досягнути, використовуючи реагенти з високою афінністю, високомолекулярні фільтри, ультрацентрифугування і/або електродіаліз. Реагенти з високою афінністю включають антитіла або інші реагенти (наприклад, аптамери), що селективно зв'язуються з білками з високим відносним вмістом. Підготовка зразка могла також включати іонообмінну хроматографію, метало-іонну афінну хроматографію, гель-фільтрацію, гідрофобну хроматографію, хроматофокусування, адсорбційну хроматографію, ізоелектричне фокусування та споріднені методики. Фільтри на основі молекулярної маси включають мембрани, що відділяють молекули на основі розміру і молекулярної маси. Такі фільтри можуть далі застосовувати зворотний осмос, нанфільтрацію, ультрафільтрацію і мікрофільтрацію.

Ультрацентрифугування є методом видалення небажаних поліпептидів із зразка. Ультрацентрифугування є центрифугуванням зразка при приблизно 15 000-60 000 об/хв з одночасним контролем за допомогою оптичної системи седиментації (або її відсутності) частинок. Електродіаліз є процедурою, яка використовує електромембрану або напівпроникну мембрану в процесі, в якому іони транспортуються крізь напівпроникні мембрани з одного розчину в інший під впливом градієнта потенціалу. Оскільки мембрани, застосовувані в електродіалізі, можуть мати здатність селективно транспортувати іони, що мають позитивний або негативний заряд, відштовхувати іони протилежного заряду, або дозволяти частинкам мігрувати крізь напівпроникну мембрану, базуючись на розмірі і заряді, це інтерпретує електродіаліз як корисний для концентрування, видалення або розділення електролітів.

Розділення та очищення у даному винаході можуть включати будь-яку методику, відому в даній галузі, таку як капілярний електрофорез (наприклад, в капілярі або на чіпі) або хроматографію (наприклад, в капілярі, на колонці або на чіпі). Електрофорез є методом, який може використовуватися, щоб відділити іонні молекули під впливом електричного поля.

Електрофорез може бути проведений у гелі, капілярі або в мікроканалі на чіпі. Приклади гелів, використовуваних для електрофорезу, включають крохмаль, акриламід, поліетиленоксиди, агарозу або їхні поєднання. Гель може бути модифікований його поперечним зшиванням, додаванням детергентів або денатуруючих засобів, іммобілізацією ферментів або антитіл (афінний електрофорез) або субстратів (зимографія) та включенням градієнта рН. Приклади капілярів, використовуваних для електрофорезу, включають капіляри, що з'єднуються з електророзпиленням.

Капілярний електрофорез (КЕ) є переважним для розділення складних гідрофільних молекул і високочарджених розчинених речовин. Технологія КЕ може також бути здійснена на мікрорідинних чіпах. В залежності від типів використовуваних капілярів і буферів, КЕ може далі бути сегментована на методики розділення, такі як капілярний зонний електрофорез (КЗЕ), капілярне ізоелектричне фокусування (КІЕФ), капілярний ізотахофорез (КІТФ) і капілярну електрохроматографію (КЕХ). Втілення для поєднання методик КЕ з іонізацією електророзпиленням включає використання розчинів, що швидко випаровуються, наприклад, водних сумішей, що містять летку кислоту і/або основу, та органічних, таких як спирт або ацетонітрил.

Капілярний ізотахофорез (КІТФ) є методикою, в якій досліджувані речовини рухаються крізь капіляр із постійною швидкістю, але все ж таки розділяються завдяки своїй відповідній рухливості. Капілярний зонний електрофорез (КЗЕ), також відомий як КЕ з вільним розчином КЕ (КЕВР), базується на різниці в електрофоретичній рухливості частинок, що визначається зарядом молекули, і опорі тертю, з яким стикається молекула під час міграції, який часто є прямо пропорційним розміру молекули. Капілярне ізоелектричне фокусування (КІЕФ) дозволяє слабоіонізованим амфотерним молекулам бути відділеними шляхом електрофорезу в градієнті рН. КЕХ є гібридним методом між традиційною вискоефективною рідинною хроматографією (ВЕРХ) і КЕ.

Методики розділення та очищення, використовувані у даному винаході, включають будь-які хроматографічні процедури, відомі у даній галузі. Хроматографія може базуватися на різній адсорбції та елюванні певних досліджуваних речовин або розподіленні досліджуваних речовин між рухомою і нерухомою фазами. Різні приклади хроматографії включають, але не обмежуються ними, рідинну хроматографію (РХ), газову хроматографію (ГХ), вискоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ), тощо.

Ідентифікація рівня PARP

Полі(АДФ-рибоза)-полімераза (PARP) також відома, як полі(АДФ-рибоза)-синтаза і полі-АДФ-рибозилтрансфераза. PARP каталізує утворення полімерів полі(АДФ-рибози), які можуть приєднуватися до клітинних білків (так само як і до себе) і тим самим змінювати активності цих білків. Фермент відіграє роль у посиленні репарації ДНК, але він також відіграє роль у регулюванні транскрипції, клітинної проліферації і реструктуруванні хроматину (для огляду див.: D. D'amours et al. "Poly (ADP-ribosylation reactions in the regulation of nuclear functions," Biochem. J. 342: 249-268 (1999)).

PARP-1 включає N-кінцевий ДНК-зв'язувальний домен, домен самомодифікації і C-кінцевий каталітичний домен, і різні клітинні білки взаємодіють із PARP-1. N-кінцевий ДНК-зв'язувальний домен містить два мотиви "цинкових пальців". Фактор 1 енхансера транскрипції (TEF-1), рецептор α ретиноїду X, ДНК полімераза α , крос-комплементарний фактор-1 репарації рентгенівського випромінювання (XRCC1) і сам PARP-1 взаємодіють із PARP-1 у цьому домені. Домен самомодифікації містить мотив BRCT, один із модулів білок-білкової взаємодії. Цей мотив спочатку був виявлений у C-кінці BRCA1 (білок 1 схильності до раку матки), і він присутній у різних білках, пов'язаних із репарацією ДНК, рекомбінацією і регулюванням контрольної точки клітинного циклу. Октамерний фактор-1 транскрипції, що містить POU-гомеодомен (Oct-1), Yin Yang (YY)1 і фермент 9, що зв'язує убіквітин (ubc9) могли взаємодіяти з цим мотивом BRCT у PARP-1.

Більше ніж 15 членів родини генів PARP присутні у геномі ссавців. Білки родини PARP і полі(АДФ-рибоза) глікогідролаза (PARG), яка руйнує полі(АДФ-рибозу) до АДФ-рибози, могли бути залученими до цілого ряду регуляторних функцій у клітині, включаючи відповідь на ушкодження ДНК і регуляцію транскрипції, і можуть бути пов'язаними з канцерогенезом і біологією раку у багатьох відношеннях.

Були ідентифіковані декілька білків родини PARP. Танкіраза була виявлена як взаємодіючий білок регуляторного фактора 1 теломери (TRF-1), і вона залучена до регуляції теломери. Vault PARP (VPAAP) є компонентом у vault-комплексі, який діє як ядерно-цитоплазматичний переносник. Також були ідентифіковані PARP-2, PARP-3 і 2,3,7,8-тетрахлордобензо-р-діоксин індукцйбельний PARP (TiPARP). Отже, метаболізм полі(АДФ-рибози) міг бути пов'язаним із цілим рядом регуляторних функцій у клітині.

Членом цієї родини генів є PARP-1. Продукт гена PARP-1 експресується на високих рівнях в ядрах клітин і є залежним від ушкодження ДНК для активації. Не будучи зв'язаними будь-якою теорією, вважають, що PARP-1 зв'язується з одноланцюговими або дволанцюговими розривами ДНК через амінокінцевий ДНК-зв'язувальний домен. Зв'язування активує карбоксикінцевий каталітичний домен і призводить до утворення полімерів АДФ-рибози на молекулах-мішенях. PARP-1 сам по собі є мішенню полі-АДФ-рибозилування на основі розташованого в центрі домену самомодифікації. Рибозилування PARP-1 спричиняє дисоціацію молекул PARP-1 від ДНК. Увесь процес зв'язування, рибозилування і дисоціації відбувається дуже швидко. Припускали, що це перехідне зв'язування PARP-1 з ділянками ушкодження ДНК призводить до залучення механізму репарації ДНК, або може діяти, щоб пригнічувати рекомбінацію достатньо довго для залучення механізму репарації.

Джерелом АДФ-рибози для реакції PARP є нікотинамід аденозиндинуклеотид (НАД). НАД синтезується в клітинах із клітинних запасів АТФ, і таким чином, високі рівні активації активності PARP можуть швидко призвести до виснаження клітинних запасів енергії. Було показано, що індуктування активності PARP може призводити до клітинної смерті, що корелює з виснаженням клітинного НАД і пулів АТФ. У багатьох випадках активність PARP викликана оксидативним стресом або під час запалення. Наприклад, під час реперфузії ішемічних тканин генерується реакційноздатний оксид азоту, і оксид азоту призводить до утворення додаткових реакційноздатних кисневмісних частинок, включаючи пероксид водню, пероксинітрат і гідроксильні радикали. Ці останні частинки можуть безпосередньо ушкоджувати ДНК, і одержане в результаті ушкодження викликає активацію активності PARP. Часто здається, що має місце достатня активація активності PARP, така, що клітинні запаси енергії виснажуються і клітина гине. Як вважають, подібний механізм працює під час запалення, коли ендотеліальні клітини і прозапальні клітини синтезують оксид азоту, який призводить до окисного ушкодження ДНК в оточуючих клітинах і подальшої активації активності PARP. Клітинна смерть, що є результатом активації PARP, як вважають, є головним фактором, що сприяє розширенню ушкодження тканини, яке виникає з ішемічно-реперфузійного ушкодження або із запалення.

У деяких втіленнях, рівень PARP у зразку від пацієнта порівнюють із заздалегідь встановленим стандартним зразком. Зразок від пацієнта типово відбирають із патологічно зміненої тканини, такої як ракові клітини або тканини. Стандартний зразок може бути від того ж самого пацієнта або від іншої особи. Стандартний зразок типово є нормальним, патологічно не зміненим зразком. Однак у деяких втіленнях, таких як для визначення стадії захворювання або для оцінювання ефективності лікування, стандартний зразок відбирають із патологічно зміненої тканини. Стандартний зразок може бути поєднанням зразків від декількох різних осіб. У деяких втіленнях, рівень PARP у пацієнта порівнюють із заздалегідь встановленим рівнем. Цей заздалегідь встановлений рівень типово одержують з нормальних зразків. Як описано тут, "заздалегідь встановлений рівень PARP" може бути рівнем PARP, використовуваним, лише як приклад, для оцінювання пацієнта, що може бути відібраним для лікування, оцінювання відповіді на лікування інгібітором PARP, оцінювання відповіді на лікування поєднанням інгібітора PARP з другим терапевтичним засобом, і/або діагностики у пацієнта раку, запалення, болю і/або споріднених станів. Заздалегідь встановлений рівень PARP може бути визначений у групах пацієнтів з раком або без раку. Заздалегідь встановлений рівень PARP може бути єдиним числом, однаково застосовним до кожного пацієнта, або заздалегідь встановлений рівень PARP може змінюватися відповідно до особливих підгруп пацієнтів. Наприклад, чоловіки могли б мати інший заздалегідь встановлений рівень PARP, ніж жінки; ті, хто не палить, можуть мати інший заздалегідь встановлений рівень PARP, ніж курці. Вік, вага і зріст пацієнта можуть впливати на заздалегідь встановлений рівень PARP особи. Крім того, заздалегідь встановлений рівень PARP може бути рівнем, встановленим для кожного пацієнта індивідуально. Заздалегідь встановлений рівень PARP може бути будь-яким придатним стандартом. Наприклад, заздалегідь встановлений рівень PARP може бути одержаний від тієї ж самої або іншої людини, для якої оцінювали вибір пацієнта. В одному втіленні, заздалегідь встановлений рівень PARP може бути одержаний з попереднього оцінювання того ж самого пацієнта. У такий спосіб, прогрес вибору пацієнта може бути контрольований протягом тривалого часу. Крім того, стандарт може бути одержаний з оцінювання іншої людини або багатьох людей, наприклад,

вибраних груп людей. У такий спосіб, міра вибору людини, для якої оцінюється вибір, може бути порівняною з відповідними іншими людьми, наприклад, іншими людьми, які знаходяться у подібній ситуації до людини за інтересом, такими, як ті, що страждають від подібних або таких самих станів.

У деяких втіленнях даного винаходу, зміна PARP у порівнянні із заздалегідь встановленим рівнем є приблизно 0,5-кратною, приблизно 1,0-кратною, приблизно 1,5-кратною, приблизно 2,0-кратною, приблизно 2,5-кратною, приблизно 3,0-кратною, приблизно 3,5-кратною, приблизно 4,0-кратною, приблизно 4,5-кратною, або приблизно 5,0-кратною. У деяких втіленнях кратність зміни є меншою ніж приблизно 1, меншою ніж приблизно 5, меншою ніж приблизно 10, меншою ніж приблизно 20, меншою ніж приблизно 30, меншою ніж приблизно 40, або меншою ніж приблизно 50. В інших втіленнях, кратність зміни у рівні PARP у порівнянні із заздалегідь встановленим рівнем є більшою ніж приблизно 1, більшою ніж приблизно 5, більшою ніж приблизно 10, більшою ніж приблизно 20, більшою ніж приблизно 30, більшою ніж приблизно 40, або більшою ніж приблизно 50. Переважна кратність зміни від заздалегідь встановленого рівня становить приблизно 0,5, приблизно 1,0, приблизно 1,5, приблизно 2,0, приблизно 2,5 і приблизно 3,0.

Аналіз рівнів PARP у пацієнтів є особливо цінним та інформативним, оскільки він дозволяє лікарю більш ефективно вибирати найкраще лікування, а також використовувати більш інтенсивний курс лікування і режими лікування, базуючись на позитивно регульованому або негативно регульованому рівні PARP. Більш інтенсивний курс лікування, або комбіноване лікування і режими, можуть служити для протидії несприятливому прогнозу для пацієнта і загального часу життя. Озброєний цією інформацією, лікар може вибирати забезпечення певних типів лікування, таких як лікування інгібіторами PARP і/або більш інтенсивний курс лікування.

При контролі у пацієнтів рівнів PARP протягом періоду часу, який може бути днями, тижнями, місяцями, і у деяких випадках, роками, або їхніми різними проміжками, зразки рідини організму пацієнта, наприклад, сироватка або плазма крові, можуть бути відібрані через такі проміжки, як визначені практикуючим лікарем, таким як терапевт або клініцист, для визначення рівнів PARP і у порівнянні з рівнями у нормальних осіб протягом курсу лікування або захворювання. Наприклад, зразки пацієнта можуть бути відібрані і перевірені щомісяця, кожні два місяці, або в комбінації одно-, дво- або тримісячних інтервалів згідно з винаходом. Крім того, рівні PARP у пацієнта, одержані протягом тривалого часу, можуть бути зручно порівнювані один з одним, а також із значеннями PARP у нормальних контрольних групах, протягом контрольного періоду, тим самим забезпечуючи власні значення PARP пацієнта, як внутрішній, або особистий, контроль для довготривалого моніторингу PARP.

Методики для аналізу PARP

Аналіз PARP може включати аналіз експресії гена PARP, включаючи аналіз ДНК, РНК, аналіз рівня PARP і/або аналіз активності PARP, включаючи рівень моно- і полі-АДФ-рибозилування. Не обмежуючи обсяг даного винаходу, будь-яка кількість методик, відомих у даній галузі, може застосовуватися для аналізу PARP, і всі вони знаходяться в межах обсягу даного винаходу. Деякі приклади таких методик виявлення наведені нижче, але ці приклади жодним чином не обмежують різні методики виявлення, які можуть бути застосовані у даному винаході.

Визначення профілю генної експресії: Методи визначення профілю генної експресії включають методи, основані на аналізі гібридизації полінуклеотидів, полірибонуклеотидів, методи, основані на секвенуванні полінуклеотидів, полірибонуклеотидів, і методи на основі протеоміки. Найчастіше використовувані методи, відомі у даній галузі для кількісного визначення експресії іРНК у зразку, включають Нозерн-блотинг і гібридизацію *in situ* (Parker & Barnes, *Methods in Molecular Biology* 106:247-283 (1999)); методи захисту від РНКаз (Hod, *Biotechniques* 13:852-854 (1992)); і методи на основі ПЛР, такі як полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскриптазою (ЗТ-ПЛР) (Weis et al., *Trends in Genetics* 8:263-264 (1992)). Альтернативно, можуть використовуватися антитіла, що можуть розпізнавати специфічні подвійні спіралі, включаючи подвійні спіралі ДНК, подвійні спіралі РНК і гібридні подвійні спіралі ДНК-РНК, або подвійні спіралі ДНК-білок. Репрезентативні методи для основанийого на секвенуванні аналізу експресії генів включають серійний аналіз експресії генів (SAGE) та аналіз експресії генів масивно-паралельним розпізнавальним секвенуванням (MPSS), порівняльну геномну гібридизацію (CGH), імунопреципітацію хроматину (ChIP), одиничний нуклеотидний поліморфізм (SNP) і масиви SNP, флуоресцентну гібридизацію *in situ* (FISH), білок-зв'язувальні масиви і мікромасиви ДНК (також загальновідомі як генний або геномний чіп, ДНК-чіп, або генна матриця), мікромасиви РНК.

Полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскриптазою (ЗТ-ПЛР): одним із найбільш чутливих і найбільш гнучких кількісних методів визначення профілю генної експресії на основі ПЛР є ЗТ-ПЛР, яка може використовуватися для порівняння рівнів іРНК у різних групах зразків, у нормальних тканинах і тканинах пухлини, з або без фармакотерапії, для характеристики

структур експресії генів, розрізнення близькоспоріднених іРНК та аналізу структури РНК. Першим кроком є виділення іРНК з цільового зразка. Наприклад, вихідний матеріал може бути типово цілою РНК, виділеною з пухлини людини або пухлинних клітинних ліній, і відповідних нормальних тканин або клітинних ліній, відповідно. Таким чином, РНК може бути виділена з цілого ряду нормальних і патологічно змінених клітин і тканин, наприклад, пухлин, включаючи пухлини молочних залоз, легень, колоректальні, простати, мозку, печінки, нирок, підшлункової залози, селезінки, вилочкової залози, яєчок, яєчників, матки, тощо, або пухлинні клітинні лінії. Якщо джерелом іРНК є первинна пухлина, іРНК може бути екстрагована, наприклад, із заморожених або архівних зафіксованих тканин, наприклад, залитих парафіном і зафіксованих (наприклад, зафіксованих у формаліні) зразків тканини. Загальні методи для екстракції іРНК добре відомі у даній галузі і розкриті у стандартних підручниках з молекулярної біології, включаючи Ausubel et al., *Current Protocols of Molecular Biology*, John Wiley i Sons (1997).

Зокрема, виділення РНК може бути здійснене з використанням комплекту для очищення, буферного набору і протеази від промислових виробників, згідно з інструкціями виробника. РНК, підготовлена з пухлини, може бути виділена, наприклад, за допомогою центрифугування в градієнті густини хлориду цезію. Оскільки РНК не може служити як матриця для ПЛР, першим кроком у визначенні профілю генної експресії за допомогою ЗТ-ПЛР є зворотна транскрипція РНК матриці у кДНК, супроводжувана її експоненційною ампліфікацією у ПЛР реакції. Дві найчастіше використовувані зворотні транскриптази є зворотною транскриптазою вірусу авіо-мієлобластозу (AMV-RT) і зворотною транскриптазою вірусу мишачого лейкозу Молоні (MMLV-RT). На етапі зворотної транскрипції типово використовують специфічні праймери, рандомізовані гексамери, або оліго-dT праймери, в залежності від обставин і мети визначення профілю експресії. Похідна кДНК може далі бути використана як матриця у подальшій ПЛР реакції.

Щоб мінімізувати помилки і ефект варіювання від зразка до зразка, ЗТ-ПЛР звичайно виконують, використовуючи внутрішній стандарт. Ідеальний внутрішній стандарт експресується на постійному рівні серед різних тканин, і на нього не впливає експериментальне лікування. РНК, найчастіше використовувані для нормалізації структур експресії гена, є іРНК для конститутивних генів гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогенази (GAPDH) і β -актину.

Більш свіжим варіантом методики ЗТ-ПЛР є кількісна ПЛР в режимі реального часу, яка вимірює накопичення продукту ПЛР за допомогою подвійного міченого флуорогенного зонда. ПЛР в режимі реального часу є сумісною як із кількісною конкурентною ПЛР, де внутрішній конкурент для кожної цільової послідовності використовують для нормалізації, так і з кількісною порівняльною ПЛР, яка використовує ген нормалізації, що міститься всередині зразка, або конститутивний ген для ЗТ-ПЛР.

Флуоресцентна мікроскопія: Деякі втілення винаходу включають флуоресцентну мікроскопію для аналізу PARP. Флуоресцентна мікроскопія робить можливою ідентифікацію молекулярного складу структур, що спостерігалися, за допомогою використання флуоресцентно-мічених зондів із високою хімічною специфічністю, таких як антитіла. Це може бути зроблене безпосередньо кон'югацією флуорофора з білком і введенням їх назад у клітину. Флуоресцентний аналог може поводитися як природний білок, і, отже, може служити для виявлення розподілу і поведінки цього білка у клітині. Разом з ЯМР, інфрачервоною спектроскопією, круговим дихроїзмом та іншими методиками, затухання власної флуоресценції білка і пов'язане з ним спостереження анізотропії флуоресценції, зіштовхувальне гасіння і резонансний перенос енергії є методиками для виявлення білка. Природно флуоресцентні білки можуть використовуватися як флуоресцентні зонди. Медуза *aequorea Victoria* виобляє природно флуоресцентний білок, відомий як зелений флуоресцентний білок (GFP). Об'єднання цих флуоресцентних зондів із цільовим білком робить можливою візуалізацію флуоресцентною мікроскопією і кількісне визначення проточною цитометрією.

Лише як приклади, деякі з зондів є мітками, такими як флуоресцеїн та його похідні, карбоксифлуоресцеїни, родаміни та їхні похідні, атто-мітки, флуоресцентний червоний і флуоресцентний оранжевий: су3/су5 альтернативи, лантанідні комплекси з тривалим часом життя, довгохвильові мітки – аж до 800 нм, DY ціанінові мітки і білки фікобіліну. Лише як приклад, деякі з зондів є кон'югатами, такими як кон'югати ізотіоціанату, кон'югати стрептавідину і кон'югати біотину. Лише як приклад, деякі з зондів субстратами ферментів, такими як флуорогенні і хромогенні субстрати. Лише як приклад, деякі з зондів є флуорохромами, такими

як FITC (зелена флуоресценція, збудження/емісія = 506/529 нм), родамін В (оранжева флуоресценція, збудження/емісія = 560/584 нм) і нільський блакитний А (червона флуоресценція, збудження/емісія = 636/686 нм). Флуоресцентні наночастинки можуть використовуватися для різних типів імуноаналізів. Флуоресцентні наночастинки базуються на різних матеріалах, таких як поліакрилонітрил і полістирол, тощо. Флуоресцентні молекулярні ротори є сенсорами обмеження мікрооточення, які стають флуоресцентними, коли їхнє обертання обмежене. Декілька прикладів молекулярного обмеження включають збільшене забарвлення (накопичення), зв'язуючись з антитілами, або будучи захопленими у полімеризацію актину. ІЕФ (ізоелектричне фокусування) є аналітичним інструментом для розділення амфолітів, головними чином, білків. Перевагою для ІЕФ-гель-електрофорезу з флуоресцентним ІЕФ-маркером є можливість безпосередньо спостерігати утворення градієнта. Флуоресцентний ІЕФ-маркер також може бути виявлений УФ-поглинанням при 280 нм (20 °C).

Пептидна бібліотека може бути синтезована на твердих підкладках і, при використанні забарвлення рецепторів, подальші забарвлені тверді підкладки можуть бути вибрані одна за одною. Якщо рецептори не можуть вказати колір, їхні зв'язувальні антитіла можуть бути забарвлені. Спосіб може використовуватися не лише на білкових рецепторах, але також при скринінгу зв'язувальних лігандів синтезованих штучних рецепторів і скринінгу зв'язувальних лігандів нових металів також. Автоматизовані методи для HTS і FACS (клітинний сортер з активацією флуоресценції) також модуть бути використані. Прилад FACS спочатку пропускає клітини крізь капілярну трубку і розділяє клітини шляхом детектування їхньої флуоресцентної інтенсивності.

Імуноаналізи: Деякі втілення винаходу включають імунологічний аналіз для аналізу PARP. В імуноблотингу, такому як вестерн-блотинг електрофоретично розділених білків, одиничний білок може бути ідентифікований за його антитілом. Імунологічний аналіз може бути імунологічним аналізом із конкурентним зв'язуванням, де досліджувана речовина конкурує з міченим антигеном за обмежений пул молекул антитіла (наприклад, радіоімунологічний аналіз, EMIT). Імунологічний аналіз може бути неконкурентним, де антитіло присутнє у надлишку і є міченим. Оскільки кількість комплексу досліджуваної речовини-антигену збільшена, кількість міченого комплексу антитіло-антиген також може збільшуватися (наприклад, ELISA). Антитіла можуть бути поліклональними, якщо вони продукуються ін'єкцією антигену в експериментальну тварину, або моноклональними, якщо вони продукуються злиттям клітин і методами клітинної культури. В імунологічному аналізі, антитіло може служити специфічним реагентом для антигену досліджуваної речовини.

Не обмежуючи обсяг і зміст даного винаходу, деякими типами імуноаналізів є, лише як приклад, RIA (радіоімунологічний аналіз), ферментні імуноаналізи, як ELISA (твердо фазний імуоферментний аналіз), EMIT (метод імуноаналізу з ферментативним посиленням), мікрочастинковий імуоферментний аналіз (MEIA), LIA (імунолюмінесцентний аналіз) і FIA (флуоресцентний імуноаналіз). Ці методи можуть використовуватися, щоб виявляти біологічні речовини у зразках, відібраних з носу. Антитіла – використовувані або як первинні, або як вторинні – можуть бути мічені радіоізотопами (наприклад, ¹²⁵I), флуоресцентними барвниками (наприклад, FITC) або ферментами (наприклад, HRP або AP), які можуть каталізувати флуорогенні або люміногенні реакції.

Біотин, або вітамін Н, є коферментом, який успадковує специфічну афінність до авідину і стрептавідину. Ця взаємодія робить біотинільовані пептиди корисним інструментом у різних біотехнологічних аналізах для дослідження якості і кількості. Для поліпшення розпізнавання біотину/стрептавідину шляхом мінімізації стеричних перешкод, може бути необхідним збільшити відстань між біотином і безпосередньо пептидом. Це може бути досягнуте зв'язуванням спейсерної молекули (наприклад, 6-нітрогексанової кислоти) між біотином і пептидом.

Кількісний аналіз біотину для біотинільованих білків забезпечує чутливий флюорометричний аналіз для точного визначення кількості біотинових міток на білку. Біотинільовані пептиди широко застосовуються у цілому ряді біомедичних скринінгових систем, що вимагають іммобілізації принаймні одного з взаємодіючих партнерів на покритих стрептавідином кульках, мембранах, предметному склі або титраційних мікропланшетах. Аналіз базується на зміщенні ліганду, поміченого барвником-гасником люмінесценції, з біотин-зв'язувальних ділянок реагенту. Щоб піддати впливу будь-які групи біотину у множинно-міченому білку, що є стерично обмеженими і недоступними для реагенту, білок може бути оброблений протеазою для перетравлювання білка.

EMIT є імунологічним аналізом із конкурентним зв'язуванням, що уникає звичайного етапу розділення. Тип імунологічного аналізу, в якому білок мічений ферментом і комплекс фермент-білок-антитіло є ферментно неактивним, дозволяючи кількісне визначення неміченого білка.

Деякі втілення винаходу включають ELISA для аналізу PARP. ELISA базується на селективних антитілах, приєднаних до твердих підкладок, об'єднаних з ферментними реакціями для створення систем, здатних виявляти низькі рівні білків. Він також відомий як імуноферментний аналіз або EIA. Білок виявляється антитілами, що були виготовлені проти нього, тобто, для яких

це антиген. Часто використовують моноклональні антитіла.

Цей аналіз може вимагати, щоб антитіла були фіксовані на твердій поверхні, такій як внутрішня поверхня пробірки, і підготовки тих же самих антитіл, зв'язаних із ферментом. Фермент може бути один (наприклад, β -галактозидаза), що продукує забарвлений продукт із безбарвного субстрату. Аналіз, наприклад, може бути здійснений шляхом заповнення пробірки розчином антигену (наприклад, білка) для аналізу. Будь-яка присутня молекула антигену може зв'язуватися з іммобілізованими молекулами антитіла. Кон'югат антитіло-фермент може бути доданий до реакційної суміші. Частина кон'югату, що складається з антитіла, зв'язується з будь-якими молекулами антигену, які зв'язані раніше, створюючи "сандвіч" антитіло-антиген-антитіло. Після змивання будь-якого незв'язаного кон'югату може бути доданий розчин субстрату. Після встановленого інтервалу реакцію зупиняють (наприклад, шляхом додавання 1 н. NaOH) і концентрацію утвореного забарвленого продукту вимірюють на спектрофотометрі. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації зв'язаного антигену.

ELISA може бути також пристосований, щоб вимірювати концентрацію антитіла, у цьому випадку лунки покриті відповідним антигеном. Може бути доданий розчин (наприклад, сироватка), що містить антитіло. Після того, як пройшов час, необхідний, щоб зв'язатися з іммобілізованим антигеном, може бути доданий кон'югований з ферментом анти-імуноглобулін, що складається з антитіла проти досліджуваних антитіл. Після змивання реагенту, що не прореагував, може бути доданий субстрат. Інтенсивність одержаного кольору є пропорційною до кількості зв'язаних фермент-мічених антитіл (і, таким чином, до концентрації аналізованих антитіл).

Деякі втілення винаходу включають радіоімуноаналізи для дослідження PARP. Радіоактивні ізотопи можуть використовуватися для дослідження *in vivo* метаболізму, розподілу і зв'язування невеликих кількостей сполук. Радіоактивні ізотопи ^1H , ^{12}C , ^{31}P , ^{32}S і ^{127}I використовуються в повному складі, такі як ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S і ^{125}I . В методі фіксації рецептора у 96-лункових планшетах, рецептори можуть бути фіксовані в кожній лунці шляхом використання антитіла або хімічних методів, і радіоактивно мічені ліганди можуть бути додані до кожної лунки, щоб індукувати зв'язування. Незв'язані ліганди можуть бути змиті і потім стандарт може бути визначений кількісним аналізом радіоактивності зв'язаних лігандів або радіоактивності змитих лігандів. Далі, додавання скринінгових сполук-мішеней може індукувати реакцію конкурентного зв'язування з рецепторами. Якщо сполуки показують вищу афінність до рецепторів, ніж стандартні радіоактивні ліганди, більшість радіоактивних лігандів не зв'язувались би з рецепторами і могли б залишитися у розчині. Отже, аналізуючи кількість зв'язаних радіоактивних лігандів (або змитих лігандів), може показати афінність досліджуваних сполук до рецепторів.

Метод мембранних фільтрів може бути необхідним, коли рецептори не можуть бути фіксовані на 96-лункових планшетах або коли зв'язування ліганду необхідно провести у рідкій фазі. Іншими словами, після реакції зв'язування ліганду з рецептором у розчині, якщо реакційний розчин фільтрують крізь нітроцелюлозний фільтрувальний папір, малі молекули, включаючи ліганди, можуть проходити крізь нього, і лише білкові рецептори можуть залишатися на папері. Лише ліганди, що міцно зв'язані з рецепторами, можуть залишатися на фільтрувальному папері, і відносна афінність доданих сполук може бути ідентифікована за допомогою кількісного аналізу стандартних радіоактивних лігандів.

Деякі втілення винаходу включають імунофлуоресцентний аналіз для аналізу PARP. Імунологічні методи на основі флуоресценції базуються на конкурентному зв'язуванні мічених лігандів у порівнянні з неміченими на високоспецифічних ділянках рецепторів. Метод флуоресценції може використовуватися для імуноаналізів, основаних на змінах у часі життя флуоресценції зі зміною концентрації досліджуваної речовини. Цей метод може працювати з барвниками з коротким часом життя, такими як флуоресцеїн ізотіоціанат (FITC) (донор), чия флуоресценція може гаситися переносом енергії до еозину (акцептор). Може використовуватися ряд фотолюмінісцентних сполук, таких як ціаніни, оксазини, тіазини, порфірини, фталоціаніни, флуоресцентні ІЧ-випромінюючі багатоядерні ароматичні вуглеводні, фікобіліпротеїни, скварени і орґано-металічні комплекси, вуглеводні та азобарвники.

Імунологічні методи на основі флуоресценції можуть бути, наприклад, гетерогенними або гомогенними. Гетерогенні імуноаналізи включають фізичне відділення зв'язаної міченої досліджуваної речовини від такої ж вільної. Досліджувана речовина або антитіло можуть бути

приєднані до твердої поверхні. Метод може бути конкурентним (для вищої селективності) або неконкурентним (для вищої чутливості). Детектування може бути прямим (використовують лише один тип антитіла) або непрямим (використовують другий тип антитіла). Гомогенні імуноаналізи не включають фізичне розділення. Флуорофор-мічений антиген з подвійними антитілами бере участь у рівноважній реакції з антитілами, спрямованими як проти антигену, так і проти флуорофору. Мічений і немічений антигени можуть конкурувати за обмежену кількість анти-антигенних антитіл.

Деякі з методів імуофлуоресцентного аналізу включають метод простого мічення флуоресценції, резонансний перенос енергії флуоресценції (FRET), флуоресценцію з часовим розділенням (TRF) і сканувальну зондову мікроскопію (SPM). Метод простого мічення флуоресценції може використовуватися для зв'язування рецептора з лігандом, ферментної активності шляхом використання відповідної флуоресценції і як флуоресцентний індикатор різних фізіологічних змін *in vivo*, таких як pH, концентрація іонів та електрична напруга. TRF є методом, що селективно вимірює флуоресценцію ряду лантанідів після того, як емісія інших флуоресцентних молекул закінчена. TRF може використовуватися із FRET, і ряд лантанідів можуть ставати донорами або акцепторами. У сканувальній зондовій мікроскопії, у фазі захоплення, наприклад, принаймні одне моноклональне антитіло прилягає до твердої фази, і сканувальну зондову мікроскопію використовують для детектування комплексів антиген/антитіло, які можуть бути присутніми на поверхні твердої фази. Використання сканувальної тунельної мікроскопії позбавляє від потреби в мітках, які звичайно використовуються в багатьох системах імунологічного аналізу для детектування комплексів антиген/антитіло.

Методи ідентифікації білка: Лише як приклад, методи ідентифікації білка включають низькопродуктивне секвенування через розщеплення за Едманом, методи мас-спектрометрії, фінгерпринтинг пептидної маси, секвенування *de novo* і аналізи на основі антитіл. Методи кількісного визначення білка включають забарвлювання гелю флуоресцентними барвниками, мічення або методи хімічної модифікації (тобто кодовані ізотопом мітки афінності (ICATS)), комбіновану фракційну діагональну хроматографію (COFRADIC)). Очищений білок може також використовуватися для визначення тривимірної кристалічної структури, яка може застосовуватися для моделювання міжмолекулярних взаємодій. Загальноприйняті методики для визначення тривимірної кристалічної структури включають рентгеноструктурний аналіз і ЯМР-спектроскопію. Характеристики, показові для тривимірної структури білків, можуть бути досліджені методом мас-спектрометрії. Використовуючи хімічне зшивання для з'єднання частин білка, які знаходяться близько у просторі, але далеко одна від одної у послідовності, можна вивести інформацію про повну структуру. Після обміну протонів амідів з дейтерієм із розчину можливо дослідити доступність розчинника для різних частин білка.

В одному втіленні, сортування флуоресцентно-активованих клітин (FACS) використовують для ідентифікації клітин, що експресують PARP. FACS є спеціалізованим типом проточної цитометрії. Він забезпечує спосіб для сортування гетерогенної суміші біологічних клітин у два або більше контейнери, одна клітина за один раз, базуючись на специфічному розсіюванні світла і флуоресцентних характеристиках кожної клітини. Це забезпечує кількісну реєстрацію флуоресцентних сигналів від окремих клітин, а також фізичне розділення клітин, що становлять особливу цікавість. У ще одному втіленні, для оцінювання експресії PARP використовують мікрорідинні пристрої.

Мас-спектрометрія також може використовуватися для характеристики PARP із зразків пацієнтів. Двома методами для іонізації цілих білків є іонізація електророзпиленням (ESI) і лазерна десорбція-іонізація в присутності матриці (MALDI). У першому, інтактні білки іонізуються за будь-яким із двох описаних вище методів і потім вводяться в аналізатор маси. У другому, білки ферментативно перетравлюються на менші пептиди, використовуючи такий засіб, як трипсин або пепсин. Також використовують інші засоби для одержання протеолітичного гідролізату. Відібрані пептидні продукти потім вводять в аналізатор маси. Це часто згадується як підхід "знизу-вгору" в аналізі білків.

Аналіз маси цілого білка проводять з використанням або час-пролітної (TOF) мас-спектрометрії, або іонного циклотронного резонансу з перетворенням Фур'є (FT-ICR). Інструментом, що використовується для аналізу маси пептиду, є квадрупольна іонна пастка. У цьому застосуванні також знаходять використання такі багатостадійні інструменти, як квадруполь-час-пролітний і MALDI час-пролітний.

Два методи використовують для фракціонування білків або їхніх пептидних продуктів з ферментативного переварювання. Перший метод фракціонує цілі білки і називається двовимірним гелі-електрофорезом. Другий метод, високоефективну рідинну хроматографію,

використовують для фракціонування пептидів після ферментативного переварювання. У деяких ситуаціях, може бути необхідним поєднувати обидва ці методи.

Для ідентифікації білків можуть використовуватися два способи мас-спектроскопії. Маса пептиду використовує маси протеолітичних пептидів як вхідні дані для пошуку в базі даних передбачених мас, які були б результатом переварювання переліку відомих білків. Якщо білкова послідовність у переліку посилян дає початок значній кількості передбачених мас, які відповідають експериментальним значенням, це певна ознака того, що цей білок присутній в оригінальному зразку.

Тандемна мас-спектрометрія також є методом для ідентифікації білків. Індукована зіткненнями дисоціація використовується у головних застосуваннях, щоб створювати набір фрагментів від певного пептидного іона. Процес фрагментації перш за все дає початок продуктам розщеплення, які розриваються вздовж пептидних зв'язків.

Ряд різних алгоритмічних підходів було описано для ідентифікації пептидів і білків з тандемної мас-спектрометрії (MS/MS), секвенування пептиду de novo і пошуку на основі міток послідовностей. Одним вибором, що поєднує повний діапазон особливостей аналізу даних, є **PEAKS**. Інше існуюче програмне забезпечення для мас-спектрометричного аналізу включає: Peptide fragment fingerprinting **SEQUEST**, **Mascot**, **OMSSA** і **X!Tandem**.

Білки також можуть бути кількісно визначені мас-спектрометрією. Типово, стабільні (наприклад, не-радіоактивні) важчі **ізотопи** вуглецю (C13) або азоту (N15) включені в один зразок, тоді як інший мічений відповідними легкими ізотопами (наприклад, C12 і N14). Два зразки змішують перед аналізом. Пептиди, одержані з різних зразків, можна розрізнити завдяки їхній різниці в масі. Співвідношення їхніх піків інтенсивності відповідає співвідношенню відносного високого вмісту пептидів (і білків). Способами для мічення ізотопів є **SILAC** (мічення стабільними ізотопами з амінокислотами в культурі клітин), трипсин-каталізоване O18 мічення, ICAT (кодоване ізотопом мічення афінності), ITRAQ (ізотопні мітки для відносного та абсолютного кількісного оцінювання). "Напівкількісна" мас-спектрометрія може бути здійснена без мічення зразків. Типово, її проводять з аналізом MALDI (в лінійному режимі). Інтенсивність піка, або площа піка, від окремих молекул (типово, білків) тут корелює з кількістю білка у зразку. Однак, індивідуальний сигнал залежить від первинної структури білка, складності зразка і від параметрів налаштування приладу.

N-кінцеве секвенування допомагає в ідентифікації невідомих білків, підтверджуючи ідентичність і правильність рекомбінантного білка (рамка зчитування, точка початку трансляції, тощо), допомагає інтерпретації даних ЯМР і кристалографії, демонструє ступінь ідентичності між білками, або забезпечує дані для дизайну синтетичних пептидів для створення антитіла, тощо. N-кінцеве секвенування використовує деструктивну хімію Едмана, послідовно видаляючи амінокислотні залишки з N-кінця білка та ідентифікуючи їх обернено-фазною ВЕРХ. Чутливість може бути на рівні 100s фемтомолів і довга послідовність зчитування (20-40 залишків) часто може бути одержана з декількох 10s пікомолів вихідного матеріалу. Чисті білки (>90 %) можуть генерувати легко інтерпретовані дані, але недостатньо очищені суміші білків також можуть забезпечити корисні дані, що підпорядковуються строгій інтерпретації даних. N-кінцево змінені (особливо ацетильовані) білки не можуть бути секретовані безпосередньо, оскільки відсутність вільної первинної аміногрупи перешкоджає хімії Едмана. Однак обмежений протеоліз заблокованого білка (наприклад, з використанням ціаноген броміду) може дозволити суміші амінокислот утворюватися в кожному циклі інструменту, яка може піддаватися аналізу бази даних, щоб інтерпретувати інформацію про значущу послідовність. С-кінцеве секвенування є пост-трансляційною модифікацією, що впливає на структуру та активність білка. Різні хворобливі стани можуть бути пов'язаними із порушенням процесингом білків, і С-кінцеве секвенування забезпечує додатковий інструмент для дослідження структури білків і механізмів процесингу.

Приклади

Приклад 1: Експресія PARP1 при раку матки, ендометріальному раку і раку яєчників

Попередні дослідження показали підвищену активність PARP при раку яєчників, гепатоцелюлярних карциномах і ректальних пухлинах, у порівнянні з нормальними здоровими контрольними тканинами, а також у лімфоцитах периферичної крові людини від пацієнток з лейкозом (Yalcintepe L, et.al. Braz J Med Biol Res 2005;38:361-5. Singh N. et.al. Cancer Lett 1991;58:131-5; Nomura F, et.al. J Gastroenterol Hepatol 2000;15:529-35). Даний винахід використовує бази даних експресії генів для дослідження регуляції гена PARP1 у більше ніж 2000 первинних злоякісних і нормальних тканин людини.

Зразки тканини

Зразки відбирають як частину нормальної хірургічної операції і швидко заморожують у межах 30 хвилин після резекції. На зразках, підданих аналізу, виконані внутрішній огляд патології і підтвердження. Гематоксилін і еозин (H&E)-забарвлені предметні скельця, одержані з сусідніх тканин, використовують для підтвердження і класифікації діагностичних категорій і для оцінювання насиченості пухлинними клітинами. Експресію ER, PR і HER2 визначають, використовуючи імуногістохімію і флуоресцентну гібридизацію *in situ*. Ці результати, а також супутні патологічні і клінічні дані, ановані з інвентарним зразком і базами даних управління (Ascenta, BioExpress databases; GeneLogic, Inc., Gaithersburg, MD).

Екстракція РНК і визначення профілю експресії

Екстракцію і гібридизацію РНК виконують, як описано Hansel et al. Якість масиву даних оцінюють, використовуючи застосування із високою пропускну здатністю для масивів (Ascenta, Bioexpress Gene Logic, Gaithersburg MD і Affymetrix, Santa Clara, CA), яке оцінює дані у порівнянні з множинними об'єктивними стандартами, включаючи 5'/3" GAPDH співвідношення, сигнал/шум співвідношення і фон, а також інші додаткові системи показників. GeneChip аналіз здійснюють із Affymetrix Microarray Analysis Suite version 5.0, Data Mining Tool 2.0, і Microarray database software (Affymetrix, Santa Clara, CA). Всі гени, представлені на GeneChip, є глобально нормалізованими і масштабовані до інтенсивності сигналу 100.

Аналіз мікромасиву даних

Патологічно нормальні зразки тканини використовують для визначення початкової експресії іРНК PARP1. Середнє і 90 %, 95 %, 99 % і 99,9 % верхні довірчі межі (ВДМ) розраховують для індивідуального передбаченого значення. Оскільки ми оцінюємо імовірність того, що індивідуальні зразки, які виходять за межі нормального набору, знаходяться в межах початкового розподілу, інтервал прогнозування, швидше ніж довірчий інтервал для середнього, вибирають для оцінювання очікуваного діапазону для майбутніх індивідуальних вимірювань.

Інтервал прогнозування визначають за формулою, $\bar{X} \pm AS\sqrt{1+(1/n)}$, де \bar{X} є середнім нормальних зразків із молочних залоз, S є стандартним відхиленням, n є обсягом вибірки і A є 100(1-(p/2)) процентилем t-розподілення Стюдента з n-1 ступенями свободи.

Патологічно нормальні зразки тканини використовують для визначення початкової експресії PARP1. Зразки групують у різні підкатегорії згідно з їх характеристиками, включаючи стадію пухлини, статус курця чи ні, CA125 статус, або вік. Кожний зразок пухлини оцінюють згідно з 90 %, 95 %, 99 %, або 99,9 % ВДМ. Аналіз виконують, використовуючи SAS v8.2 для Windows (www.sas.com).

Кореляцію Пірсона розраховують для 11 досліджуваних наборів у порівнянні з PARP1. Кореляції основані на повному наборі з 194 зразків. Кореляцію Пірсона за змішаними

моментами визначають за формулою,
$$r_{xy} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}},$$

де \bar{X} є середнім із досліджуваного набору PARP1 і \bar{Y} є середнім із досліджуваного набору, $\frac{(n-2)^{1/2} r}{(1-r^2)^{1/2}}$

з яким PARP1 корелює. Статистичну значимість визначають за формулою, де r є кореляцією і n є числом зразків. Припускають, що одержане в результаті значення має t розподіл із n-2 ступенями свободи.

Багаторазова полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскриптазою (ЗТ-ПЛР):

Багаторазову ЗТ-ПЛР виконують, використовуючи 25 нг повної РНК кожного зразка, як описано раніше (Khan et al., 2007). Багаторазовий аналіз, використовуваний для цього дослідження, розроблений, щоб виявляти РНК у зафіксованих формаліном і залитих парафіном зразках або у заморожених тканинах. Концентрацію РНК визначають, використовуючи RiboGreen RNA Quantitation Kit (Invitrogen) із Wallac Victor 2 1420 Multilabel Counter. Зразок РНК з кожного зразка аналізують на біоаналізаторі Agilent Bioanalyzer, дотримуючись інструкцій для Agilent 2100 Bioanalyzer. Реакції зворотної транскрипції (ЗТ) проводять, як описано раніше, з Applied Biosystems 9700. ПЛР реакції проводять на кожній кДНК з Applied Biosystems 9700. В реакції ЗТ вводять РНК канаміцину, щоб контролювати ефективність ЗТ і ПЛР реакцій. Використані контролю включали позитивний контроль РНК, ніякого контролю матриці і ніякого контролю зворотної транскриптази. ПЛР реакції аналізували капілярним електрофорезом. Флуоресцентно мічені ПЛР реакції розводили, поєднували з Genome Lab size standard-400 (Beckman-Coulter), денатурували та аналізували за допомогою CEQ 8800 Genetic Analysis System. Про експресію кожного цільового гена по відношенню до експресії β -глюкуронідази (GUSB) в межах тієї ж самої реакції повідомляли як про середнє і стандартне відхилення з незалежних оцінювань для кожного зразка.

У той час як експресія та активність PARP1 є дуже низькими і однорідними для більшості нормальних тканин та органів людини, вони позитивно регулюються у вибраних клітинах пухлини і первинних злоякісних новоутвореннях людини, з найбільш вражаючими відмінностями, виявленими при раку молочної залози, яєчників, легенів і раку матки (фігура 1).

5 Приклад 2: Неклінічна фармакологія на моделі пухлини раку яєчника

4-йод-3-нітробензамід (BA) є активним проти широкого діапазону ракових клітин у культурі, включаючи фармакорезистентні клітинні лінії. У дослідженні *in vitro*, BA інгібує проліферацію цілого ряду клітин пухлин людини, включаючи рак молочної залози, ободової кишки, простати, шийки матки, легенів і яєчників.

10 Миші

Самки мишей CB.17 SCID (Charles River) мали вік 8-11 тижнів і мали діапазон маси тіла (MT) 12,6-23,0 г у день 1 дослідження. Самки безтимусних мишей (nu/nu, Harlan) мали вік 11 тижнів і мали діапазон маси тіла (MT) 18,9-28,4 г у день 1 дослідження. Тваринам давали воду *ad libitum* (зворотний осмос, 1 ppm Cl) і NIH 31 Modified and Irradiated Lab Diet®, що складається з 18,0 % загального білка, 5,0 % загального жиру і 5,0 % сироватки клітковини. Мишей поміщали в освітлений ALPHA-dri® bed-o-cobs® Laboratory Animal Bedding в статичні мікроізолятори з 12-годинним світловим циклом при 21-22 °C (70-72 °F) і 40-60 % вологості у лабораторії, акредитованій Асоціацією з оцінювання та акредитації міжнародних лабораторій, яка гарантує дотримання прийнятих стандартів для догляду і використання лабораторних тварин.

20 Імплантація пухлини

Людська OVCAR-3 (NIH-OVCAR-3) аденокарцинома яєчника, використовувана у дослідженні, підтримується у безтимусних голих мишей послідовним приживленням трансплантату. Людська SW620 аденокарцинома ободової кишки, використовувана у дослідженні, підтримується у голих мишей послідовним приживленням трансплантату. Фрагмент пухлини (1 мм³) імплантують підшкірно у правий бік кожної досліджуваної миші. Пухлини контролюють двічі на тиждень і потім щоденно, оскільки їхні об'єми досягають 80-120 мм³. У день 1 дослідження, тварин розподіляють у лікувальні групи з розмірами пухлини 63-221 мм³, і середній розмір пухлини в групі становить ~105 мм³.

30 Масу пухлини можна оцінити з припущенням, що 1 мг є еквівалентним до 1 мм³ об'єму пухлини.

Розмір пухлини, в мм³, розраховували за формулою:

$$\text{Об'єм пухлини} = (w^2 \times l) / 2.$$

Лікування

35 Мишей розподіляли у групи (n=10) і лікували згідно з протоколом. Пероральна група одержувала BA перорально двічі на день, з дня 1 (після полудня) до дня 68 (до полудня) (*bis in die*, до кінця, тобто дозування двічі на день протягом всього дослідження). Осмотичні помпи моделі Alzet були імплантовані у дні 1, 15 і 29. Помпи попередньо нагрівали протягом ~1 години при 37 °C і потім імплантували підшкірно у лівий бік мишей з анестезією ізофлураном. Кожна помпа доставляла загальну дозу 25 мг/кг/тиждень BA протягом 14 днів. BA вводять

40 внутрішньоочеревинно 15 мг/кг, відповідно, двічі на тиждень.

Очікуваний результат

Пухлини калібрували двічі на тиждень протягом тривалості дослідження. Кожну тварину піддавали евтаназії, коли її новоутворення досягало заздалегідь встановленого кінцевого розміру (1 000 мм³). Час до кінцевої точки (ЧКТ) для кожної миші розраховували за таким

45 рівнянням:

$$\text{ЧКТ} = (\log_{10}(\text{об'єм у кінцевій точці}) - b) / m,$$

де ЧКТ виражений у днях, об'єм у кінцевій точці – у мм, b є відрізком, що відсікається на осі координат, і m є тангенсом кута нахилу прямої, одержаної лінійною регресією набору даних log-трансформованого росту пухлини. Набір даних складається з першого спостереження, що перевищує досліджуваний об'єм у кінцевій точці, і трьох послідовних спостережень, що безпосередньо передують досягненню об'єму у кінцевій точці. Розрахований ЧКТ звичайно є меншим ніж день, в який тварину піддавали евтаназії для визначення розміру пухлини. Тварин, які не досягли очікуваного результату, піддавали евтаназії в кінці дослідження і встановлювали значення ЧКТ рівним останньому дню (68 днів). Ефективність лікування визначають із затримки

55 росту пухлини (ЗРП), яку визначають як збільшення середнього ЧКТ для експериментальної групи, порівняно з контрольною групою: ЗРП = E – K, (тобто різниця між середніми значеннями ЧКТ для експериментальних і контрольних мишей), виражена у днях, або як відсоток середнього ЧКТ контрольної групи:

$$\% \text{ЗРП} = [(E - K) / K] \times 100$$

60 де:

E = середній ЧКТ для експериментальної групи,

K = середній ЧКТ для контрольної групи 1.

Підготовка лімфоцитів периферичної крові і зразків пухлини

Цільну кров відбирають у вакуумні контейнери з ЕДТА, і одержують МКПК (мононуклеарні клітини периферичної крові) людини за допомогою BD Vacutainer™ CPT™ Cell Preparation Kit згідно з інструкціями виробника (BD Vacutainer™, REF 362760). Зразки пухлини відбирають у стерильний контейнер і поміщають безпосередньо на лід. В межах 30 хвилин, зразки пухлини швидко заморожують у рідкому азоті і зберігають при -80 °C до гомогенізації для аналізу. Зразок розморожують на льоду і записують масу у вологому стані. Тканину гомогенізують із використанням ізотонічного буферу [7 ммоль/л ГЕПЕС, 26 ммоль/л KCl, 0,1 ммоль/л декстрану, 0,4 ммоль/л EGTA, 0,5 ммоль/л MgCl₂, 45 ммоль/л сахарози (pH 7,8)]. Гомогенат зберігають на льоду протягом всього процесу, і гомогенізацію проводять у 10-секундних імпульсах, щоб попередити недоречне нагрівання зразка. Якщо аналіз не проводять у день гомогенізації, зразки повторно заморожують до -80 °C і зберігають при цій температурі до аналізу.

Процедура аналізу полі(АДФ-рибоза)-полімерази

Препарати клітин швидко розморожують при кімнатній температурі і двічі промивають у льодяному фосфатно-сольовому буферному розчині (ФСБ). Згусток клітин ресуспендують у 0,15 мг/мл дигітоніну до густини від 1×10^6 до 2×10^6 клітин/мл протягом 5 хвилин, щоб зробити проникною мембрану клітин (перевірена забарвленням трипановим синім), після чого додають 9 об'ємів льодяного ізотонічного буферу, і зразок поміщають на лід. Максимально стимульовану активність PARP вимірюють у повторній вибірці з 20 000 клітин у реакційній суміші, що містить 350 ммоль/л NAD⁺ і 10 мг/мл олігонуклеотиду в реакційному буфері з 100 ммоль/л Tris-HCl, 120 ммоль/л MgCl₂ (pH 7,8) у кінцевому об'ємі 100 мкл, як описано раніше (24) при 26 °C на водяній бані, що качається. Реакцію зупиняють через 6 хвилин шляхом додавання надлишку інгібітора PARP (400 мкл 12,5 мкмоль/л AG014699), і клітини блотують на нітроцелюлозній мембрані (Hybond-N, Amersham), використовуючи 24-лункову карту. Очищені стандарти PAR завантажують на кожну мембрану (0-25 пікомолів еквівалентів мономера), щоб створити калібрувальну криву і дозволити кількісне визначення. Інкубування протягом ночі з першим антитілом (1:500 у ФСБ + 0,05 % Твін 20+5 % сухе молоко) при 4 °C супроводжують двома промиваннями у ФСБ-Т (ФСБ + 0,05 % Твін 20), і потім інкубуванням із вторинним антитілом (1:1 000 у ФСБ + 0,05 % Твін 20+5 % сухе молоко) протягом 1 години при кімнатній температурі. Інкубовану мембрану часто промивають ФСБ протягом 1 години і потім витримують протягом 1 хвилини з розчином посиленої хемілюмінесцентної реакції, як постачається виробником. Хемілюмінесценцію, виявлену протягом 5-хвилинної експозиції, вимірюють, використовуючи Fuji LAS3000 UV Illuminator (Raytek, Sheffield, United Kingdom) та оцифровують, використовуючи програмне забезпечення для обробки зображень (Fuji LAS Image version 1.1, Raytek). Одержане зображення аналізують, використовуючи Aida Image Analyzer (version 3.28.001) і результати виражають у LAU/мм². На експонованій плямі вимірюють три фонові ділянки, і середнє з фонових сигналів від мембрани віднімають від усіх результатів. Калібрувальну криву полімеру PAR аналізують, використовуючи незважену, з однією ділянкою зв'язування, модель нелінійної регресії, і невідомі величини зчитують з калібрувальної кривої, створеної таким чином. Результати потім виражають відносно кількості завантажених клітин. Зразки потрібного контролю якості з 5 000 L1210 клітин запускають з кожним аналізом, всі зразки від одного пацієнта аналізують на тій же самій плямі. Гомогенати пухлини аналізують подібним чином; однак, процес гомогенізації вводить достатнє ушкодження ДНК, щоб максимально стимулювати активність PARP, і тому олігонуклеотид не потрібний. Концентрацію білка гомогенату вимірюють з використанням BCA-аналізу білків і планшет-рідера Titertek Multiscan MCC/340. Результати виражають у показниках пікомолів утвореного PAR /мг білка.

Дослідження in vivo продемонстрували інгібування PARP за допомогою ВА у тваринних моделях раку. Наприклад, оцінювання зразків тканини, одержаної з моделі ксенотрансплантата аденокарциноми яєчника людини OVCAR-3 у мишей SCID після одноразової дози ВА демонструє інгібуючий вплив ВА на активність PARP, що є стійким протягом принаймні 8 годин спостереження (фігура 2).

Ранні дослідження ефективності in vivo з використанням моделі ксенотрансплантата OVCAR-3 у мишей SCID показали, що ВА суттєво інгібує ріст пухлини. Лікування цих мишей ВА через різні шляхи введення поліпшує виживання, у порівнянні з контрольною групою без лікування (фігура 3).

Приклад 3: Дослідження фази Ib ВА у поєднанні з хіміотерапією у пацієнтів із запущеними солідними пухлинами

Відкрите дослідження фази 1b зі збільшенням дози оцінювало безпечність 4-йод-3-нітробензаміду (ВА) (2,0, 2,8, 4,0, 5,6, 8,0 і 11,2 мг/кг) у поєднанні з хіміотерапевтичними режимами (топотекан, гемцитабін, темозоломід і карбоплатин + паклітаксел) в осіб із запущеними солідними пухлинами, включаючи пухлини яєчників. Фаза дослідження зі збільшенням дози була завершена, і були ідентифіковані комбінації ВА та цитотоксичної хіміотерапії, що добре переносяться. Протокол був змінений, щоб оцінити ВА у поєднанні з хіміотерапією на певних типах пухлин.

Обґрунтування

Топотекан спрямований на топоізомеразу I, яка відіграє критичну роль у реплікації, транскрипції і рекомбінації ДНК. Топотекан селективно стабілізує ковалентні комплекси топоізомерази I-ДНК, інгібуючи повторне лігування одноланцюгових розривів ДНК, опосередкованих топоізомеразою I, і створюючи летальні дволанцюгові розриви ДНК. Полі(АДФ-рибоза) полімераза-1 (PARP-1) взаємодіє з топоізомеразою I і підвищує чутливість пухлини до інгібіторів топоізомерази 1. Доклінічні дослідження показують, що інгібітор PARP1 ВА потенціює протипухлинну активність топотекану. PARP1 є суттєво позитивно регульованим у первинних пухлинах яєчника людини.

План дослідження:

- ВА плюс цитотоксична хіміотерапія (ЦТХ)

• Дозування ЦТХ:

- Топотекан: 1,5 мг/м² або 1,1 мг/м² один раз на добу протягом 5 днів 21-денного циклу
- Темозоломід: 75 мг/м² перорально, один раз на добу протягом 21 дня 28-денного циклу
- Гемцитабін: 1000 мг/м² у вигляді 30-хвилинної інфузії, один раз на тиждень; 7 з 8 тижнів; перші 28 днів для оцінки безпечності
- Карбоплатин/Паклітаксел: K = AUC 6; П = 200 мг/м²; обидва у першу добу 21-денного циклу

• Дозування ВА:

- Двічі на тиждень; внутрішньовенна інфузія
- Стандартний 3+3 план для збільшення дози ВА
- Досліджувані рівні дози: 2,0, 2,8, 4,0, 5,6, 8,0 і аж до 11,2 мг/кг

Очікувані результати дослідження:

- Безпечність, стерпність і МСД (максимальна стерпна доза) кожної комбінації
- Клінічна відповідь через RECIST (Критерії оцінки відповіді при солідних пухлинах) кожні 2 цикли

Загальна придатність:

- Особи з 18 років із важко виліковною, запущеною солідною пухлиною, PS (загальний стан) ≤ 2, за ECOG (Східна об'єднана група онкологів), і адекватні гематологічна, ниркова і печінкова функції
- Немає обмеження на кількість попередніх хіміотерапевтичних режимів

Ефективність

У показниках ефективності, 53 із 66 осіб демонструють деяку клінічну користь (таблиця 1).

Таблиця 1:

Клінічні результати

Група дослідження (кількість)	Середня кількість циклів	ПР + ЧР	С3 ≥ 6 циклів	С3 ≥ 2 циклів
Топотекан (14)	2,9	1	2	7
Темозоломід (17)	2,4	1	0	13
Гемцитабін (22)	3,4	3	1	12
Карбо/Таксол (13)	4,6	2	1	10
Всього (66)	3,3	7	4	42

1 ПР – рак яєчника; 6 ЧР – 2 рак молочної залози, 1 рак матки, 1 рак яєчника, 1 рак нирок, 1 саркома; 4 С3 ≥ 6 циклів – 1 аденокарциносаркома, 1 ACUP, 2 саркоми; 42 С3 ≥ 2 цикли – множинні типи пухлин

Відповідь пацієнток із раком яєчників

Як показано на фігурі 4, пацієнтка із запущеним раком яєчників має часткову ремісію після 4 циклів ВА у поєднанні з топотеканом. Ураження печінки (цільове ураження) скоротилося з 4,6 см до 1,5 см. Біомаркер СА 27-29 також зменшився з >300 до <200.

Підготовка лімфоцитів периферичної крові і зразків пухлини

Цільну кров відбирають у вакуумні контейнери з ЕДТА, і одержують МКПК (мононуклеарні клітини периферичної крові) людини за допомогою BD Vacutainer™ CPT™ Cell Preparation Kit згідно з інструкціями виробника (BD Vacutainer™, REF 362760). Зразки пухлини відбирають у стерильний контейнер і поміщають безпосередньо на лід. В межах 30 хвилин, зразки пухлини швидко заморожують у рідкому азоті і зберігають при -80 °C до гомогенізації для аналізу. Зразок розморожують на льоду і записують масу у вологому стані. Тканину гомогенізують із використанням ізотонічного буферу [7 ммоль/л ГЕПЕС, 26 ммоль/л KCl, 0,1 ммоль/л декстрану, 0,4 ммоль/л EGTA, 0,5 ммоль/л MgCl₂, 45 ммоль/л сахарози (pH 7,8)]. Гомогенат зберігають на льоду протягом всього процесу, і гомогенізацію проводять у 10-секундних імпульсах, щоб попередити недоречне нагрівання зразка. Якщо аналіз не проводять у день гомогенізації, зразки повторно заморожують до -80 °C і зберігають при цій температурі до аналізу.

Процедура аналізу полі(АДФ-рибоза)-полімерази

Препарати клітин швидко розморожують при кімнатній температурі і двічі промивають у льодяному фосфатно-сольовому буферному розчині (ФСБ). Згусток клітин ресуспендують у 0,15 мг/мл дигітоніну до густини від 1×10^6 до 2×10^6 клітин/мл протягом 5 хвилин, щоб зробити проникною мембрану клітин (перевірена забарвлюванням трипановим синім), після чого додають 9 об'ємів льодяного ізотонічного буферу, і зразок поміщають на лід. Максимально стимульовану активність PARP вимірюють у повторній вибірці з 20 000 клітин у реакційній суміші, що містить 350 ммоль/л NAD⁺ і 10 мг/мл олігонуклеотиду в реакційному буфері з 100 ммоль/л Tris-HCl, 120 ммоль/л MgCl₂ (pH 7,8) у кінцевому об'ємі 100 мкл, як описано раніше (24) при 26 °C на водяній бані, що качається. Реакцію зупиняють через 6 хвилин шляхом додавання надлишку інгібітора PARP (400 мкл 12,5 мкмоль/л AG014699), і клітини блотують на нітроцелюлозній мембрані (Hybond-N, Amersham), використовуючи 24-лункову карту. Очищені стандарти PAR завантажують на кожну мембрану (0-25 пікомолів еквівалентів мономера), щоб створити калібрувальну криву і дозволити кількісне визначення. Інкубування протягом ночі з першим антитілом (1:500 у ФСБ + 0,05 % Твін 20+5 % сухе молоко) при 4 °C супроводжують двома промиваннями у ФСБ-Т (ФСБ + 0,05 % Твін 20), і потім інкубуванням із вторинним антитілом (1:1 000 у ФСБ + 0,05 % Твін 20+5 % сухе молоко) протягом 1 години при кімнатній температурі. Інкубовану мембрану часто промивають ФСБ протягом 1 години і потім витримують протягом 1 хвилини з розчином посиленої хемілюмінесцентної реакції, як постачається виробником. Хемілюмінесценцію, виявлену протягом 5-хвилинної експозиції, вимірюють, використовуючи Fuji LAS3000 UV Illuminator (Raytek, Sheffield, United Kingdom) та оцифровують, використовуючи програмне забезпечення для обробки зображень (Fuji LAS Image version 1.1, Raytek). Одержане зображення аналізують, використовуючи Aida Image Analyzer (version 3.28.001) і результати виражають у LAU/мм². На експонованій плямі вимірюють три фонові ділянки, і середнє з фонових сигналів від мембрани віднімають від усіх результатів. Калібрувальну криву полімеру PAR аналізують, використовуючи незважену, з однією ділянкою зв'язування, модель нелінійної регресії, і невідомі величини зчитують з калібрувальної кривої, створеної таким чином. Результати потім виражають відносно кількості завантажених клітин. Зразки потрібного контролю якості з 5 000 L1210 клітин запускають з кожним аналізом, всі зразки від одного пацієнта аналізують на тій же самій плямі. Гомогенати пухлини аналізують подібним чином; однак, процес гомогенізації вводить достатнє ушкодження ДНК, щоб максимально стимулювати активність PARP, і тому олігонуклеотид не потрібний. Концентрацію білка гомогенату вимірюють з використанням BCA-аналізу білків і планшет-рідера Titertek Multiscan MCC/340. Результати виражають у показниках пікомолів утвореного PAR /мг білка.

Оцінювання мононуклеарних клітин периферичної крові (МКПК) від пацієнток показує суттєве і тривале інгібування PARP після багаторазового дозування з дозами BA 2,8 мг/кг або вище (фігура 5).

Ідентифіковані добре стерпні комбінації BA і цитотоксичної хіміотерапії. Будь-яка токсичність, що спостерігалася, узгоджується з відомими і очікуваними побічними ефектами кожного хіміотерапевтичного режиму. Немає доказів того, що додавання BA до будь-якого досліджуваного цитотоксичного режиму або потенціює відому токсичність, або збільшує частоту їхньої очікуваної токсичності. Була ідентифікована біологічно релевантна доза (2,8 мг/кг), яка виявляє значне і тривале інгібування PARP при ефективних доклінічних концентраціях у крові. Приблизно 80 % осіб демонструють ознаки стабільного захворювання за 2 цикли лікування або більше, показуючи потенційну клінічну користь. Структура відповіді пухлини, що спостерігається, сумісна з експресією PARP і/або синергізмом з хіміотерапевтичними засобами.

Приклад 4: Лікування запущеної, персистентної або рецидивної карциносаркоми матки BA

Було проведене багатоцентрове, відкрите, рандомізоване дослідження, щоб продемонструвати терапевтичну ефективність при лікуванні запущеної, персистентної або рецидивної карциносаркоми матки 4-йод-3-нітробензамідом (BA).

Цілі дослідження: Основними цілями даного дослідження є такі:

5 Рівень клінічної користі (РКК = ПР + ЧР + СЗ \geq 6 місяців): Визначити, що BA буде давати РКК 30 % або більше у порівнянні з РКК 45 %, пов'язаним із лікуванням з гемцитабіном і карбоплатином.

- Далі вивчати безпечність і стерпність BA

Додатковими цілями даного дослідження є такі:

10 - Сумарна ефективність терапії (СЕТ)
- Виживаність без прогресування (ВБП)
- Оцінювання токсичності, пов'язаної з кожним режимом лікування

Дослідницькими цілями даного дослідження є такі:

15 - Охарактеризувати інгібування активності PARP BA
- Охарактеризувати активність PARP в історичних зразках тканини пухлин
- Дослідити статус BRCA при запущеному, персистентному або рецидивному раку матки
- Дослідити відповідь в осіб з раком і відомими мутаціями BRCA у порівнянні з особами без таких мутацій.

План дослідження:

20 Відкрите, з 2 рандомізованими групами, дослідження безпечності та ефективності, в якому аж до 90 пацієнток (45 в кожній групі) будуть рандомізовані до будь-якої з двох таких груп:

- Група дослідження 1: Гемцитабін (1000 мг/м²; 30 хвилин внутрішньовенної інфузії) і Карбоплатин (AUC 2; 60 хвилин внутрішньовенної інфузії) у дні 1 і 8 21-денного циклу; або
- Група дослідження 2: 4-йод-3-нітробензамід (4 мг/кг; 1 година внутрішньовенної інфузії) у дні 1, 4, 8 і 11 кожного 21-денного циклу

25 - Пацієнтки, рандомізовані до групи дослідження 2, будуть припиняти участь у дослідженні під час прогресування захворювання

- Перехід: Пацієнтки, рандомізовані до групи дослідження 1, можуть перейти, щоб одержувати неперервне лікування гемцитабіном/карбоплатином у поєднанні з 4-йод-3-нітробензамідом під час прогресування захворювання

30 - Обсяг вибірки: До 90 осіб, до 45 в кожній групі, що бере участь у дослідженні. Особи будуть рандомізовані, до 45 в кожній з груп 1 або 2.

Сукупність пацієнтів:

Критерії включення:

35 - Вік принаймні 18 років
- Запущена, персистентна або рецидивна карциносаркома матки з вимірюваним захворюванням відповідно до критеріїв RECIST

- 0-2 попередні режими хіміотерапії при метастатичному урегулюванні. Попередня ад'ювантна/неoad'ювантна терапія дозволяється

40 - Гістологія підтверджує документально (або первинний, або метастатична ділянка) рак матки, що є ER-негативним, PR-негативним, і HER-2 не є надекспресованим, за імуногістохімією (0, 1), або гени не ампліфікуються методом FISH (флуоресцентна гібридизація in situ), виконаним на первинній пухлині або метастатичному ураженні

- Завершення попередньої хіміотерапії принаймні за 3 тижні перед введенням у дослідження

45 - Пацієнтки могли одержати ад'ювантну терапію або метастатичне урегулювання, однак, якщо вони приймали бісфосфонати, ураження кісток не можуть бути використані для прогресування або відповіді

- Променева терапія має бути закінчена принаймні за 2 тижні до введення у дослідження, і променеві ураження не можуть служити як вимірюване захворювання

50 - Пацієнтки можуть мати метастази ЦНС, якщо вони стабільні (немає ознак прогресування) протягом принаймні 3 місяців після місцевої терапії

- Загальний стан за ECOG: 0-1

55 - Адекватне функціонування органа визначають як: абсолютне число нейтрофілів (ANC), що більше ніж або дорівнює 1 5000/мм³, тромбоцити – більше ніж або дорівнює 100 000/мм³, кліренс креатиніну більший ніж 50 мл/хв, ALT (аланін амінотрансфераза) і AST (аспартат амінотрансфераза) нижчі ніж 2,5× верхня межа норми (ВМН) (Або нижчі ніж 5× ВМН у випадку метастазів у печінці); загальний білірубін нижчий ніж 1,5 мг/дл

- Рекомендується блок тканин, доступний для дослідження PARP, хоча він не буде виключати пацієнток з участі в дослідженнях

- Вагітні жінки або жінки в період годування груддю будуть виключені. Жінки з дітородним потенціалом повинні мати задокументований негативний тест на вагітність в межах двох тижнів після введення у дослідження і погоджуються на прийнятне регулювання народжуваності протягом тривалості терапії дослідження

5 - Підписана, санкціонована IRB (комісією з біомедичної етики) письмова інформована згода
Критерії виключення:

- Ураження, що можуть бути ідентифіковані лише ПЕТ (позитронно-емісійною томографією).

- Більше ніж 2 попередні режими хіміотерапії (включаючи ад'ювантну). Послідовні режими, такий як АС-паклітаксел, розглядаються як один режим.

10 - Пацієнтка одержувала попереднє лікування з гемцитабіном, карбоплатином, цисплатином або 4-йод-3-нітробензамідом.

- Основні захворювання, що могли б вплинути на участь у дослідженні (неконтрольована легенева, ниркова або печінкова дисфункція, неконтрольована інфекція).

15 - Важлива історія неконтрольованого серцевого захворювання; тобто, неконтрольованої гіпертензії, нестабільної стенокардії, недавнього інфаркту міокарду (в межах попередніх 6 місяців), неконтрольованої гострої серцевої недостатності і кардіоміопатії, що є або симптоматичною, або безсимптомною, але зі зниженою фракцією викиду, нижчою ніж 45 %.

- Інше важливе супутнє захворювання, яке, як відчуває дослідник, могло б поставити під загрозу ефективну та безпечну участь у дослідженні.

20 - Особа, зареєстрована в іншому дослідницькому проєкті випробування лікарського засобу, або яка одержує інші досліджувані засоби.

- Паралельна або попередня (в межах 7 днів від дня 1 дослідження) антикоагуляційна терапія (низька доза для підтримання місця введення троакара дозволяється).

- Зазначені супутні лікарські засоби.

25 - Паралельна променева терапія не дозволяється протягом усього ходу дослідження.

- Нездатність виконати вимоги дослідження.

30 Скринінгові тести і оцінювання будуть виконані лише після того, як підписана, письмово санкціонована IRB (комісією з біомедичної етики) інформована згода буде одержана від кожної особи. Процедури будуть виконані в межах 14 днів після дозування (день 1), якщо не зазначене інше.

Клінічна оцінка: Повний анамнез, медичний огляд, статус ECOG, зріст, вага, основні показники стану організму і документація супутніх лікарських засобів.

35 Лабораторні дослідження: Гематологія (з визначенням відсоткового вмісту п'яти типів білих кров'яних тілець, числа ретикулоцитів і тромбоцитів); протромбіновий час (ПЧ) і частковий тромбопластиновий час (ЧТЧ); повний біохімічний аналіз крові (натрій, калій, хлорид, CO₂, креатинін, кальцій, фосфор, магній, азот сечовини крові, сечова кислота, альбумін, AST, ALT, лужна фосфатаза, загальний білірубін і холестерин, HDL (ліпопротеїни високої густини) і LDL (ліпопротеїни низької густини), аналіз сечі з мікроскопічним дослідженням, інгібування PARP у МКПК, тест на вагітність (за сироваткою крові або сечею) для жінок із дітородним потенціалом.

40 Профілювання BRCA буде одержане, якщо підписана окрема інформована згода. Цю інформацію можна також одержати з історії хвороби пацієнтки. Клінічне визначення стадійності: одержання зображення для вимірюваного захворювання комп'ютерною томографією (КТ) або магнітним резонансом (МРТ).

45 Лікування: Пацієнтки, що мають на це право, будуть зареєстровані у дослідженні і рандомізовані до групи 1 або групи 2:

- Група дослідження 1: Гемцитабін (1000 мг/м²; 30 хвилин внутрішньовенної інфузії) і карбоплатин (AUC 2; 60 хвилин внутрішньовенної інфузії) у дні 1 і 8 21-денного циклу; або

- Група дослідження 2: 4-йод-3-нітробензамід (4 мг/кг, 1 година внутрішньовенної інфузії) у дні 1, 4, 8 і 11 кожного 21-денного циклу.

50 - Перехід: Пацієнтки, рандомізовані до групи дослідження 1, можуть переходити, щоб одержувати неперервне лікування з гемцитабіном/карбоплатином у поєднанні з 4-йод-3-нітробензамідом під час прогресування захворювання.

- Тести перед дозуванням і тести після дозування будуть виконані, як окреслено в загальних ризиках у протоколі дослідження.

55 - Дозування для обох лікувальних груп буде повторюватися в 21-денних циклах.

60 Особи можуть брати участь у даному дослідженні доти, поки не будуть відчувати непереносимість лікарського засобу, або прогресування захворювання, або поки не заберуть згоду. Особи, що досягають ПР, одержали б додаткові 4 цикли. Особи, які припиняють лікування перед ПЗ, повинні піддаватися регулярному оцінюванню стадійності відповідно до протоколу до часу ПЗ. Як тільки особа припиняє лікування, оцінювання виживаності без прогресування і

сумарної ефективності терапії будуть продовжувати з 3-місячними інтервалами до прогресування захворювання або смерті.

Перші заплановані вимірювання відповіді пухлини для вимірюваного захворювання будуть виконані після циклу 2 і потім після будь-яких інших циклів терапії (приблизно кожні 6-8 тижнів) на додаток до початкового визначення стадійності, зробленого на етапі включення. Відповідь пухлини, згідно з модифікованими Критеріями оцінки відповіді при солідних пухлинах (RECIST), буде використовуватися для встановлення прогресування захворювання методами КТ або МРТ (повинна використовуватися та ж сама техніка, що використовувалася під час скринінгу).

Кінець лікування: Всі особи повинні мати кінець процедур лікування, як описано в протоколі, закінченому не більше ніж через 30 днів після останньої дози 4-йод-3-нітробензаміду. Крім того, особи матимуть оцінку повної відповіді пухлини через клінічне одержання зображення, якщо воно не було зроблене в межах 30 днів до останньої дози 4-йод-3-нітробензаміду.

Оцінювання безпечності: Безпечність буде оцінюватися стандартними клінічними і лабораторними тестами (гематологія, хімічний аналіз крові та аналіз сечі). Ступінь токсичності визначений Національним інститутом раку CTCAE v3.0.

Фармакокінетика/Фармакодинаміка

Зразки крові для фармакокінетичного і фармакодинамічного аналізу будуть одержані лише від осіб, які зареєстровані в групі дослідження 2, це включає і осіб, які перейшли.

Фармакокінетичні зразки будуть відібрані протягом циклу 1, перед дозуванням, і відразу ж наприкінці інфузії у дні 1 і 11.

Фармакодинамічні зразки або зразки PARP будуть відібрані протягом циклу 1, перед дозуванням у дні 1, 4, 8 і 1. Після дозування зразки відбирають лише у першу добу.

Ділянкам, які нездатні виконати відбір фармакокінетичних або фармакодинамічних зразків, як визначено, дозволять брати участь у дослідженні, і на тих ділянках протокол буде відповідно виправлений.

Ефективність: Пухлини будуть оцінювати стандартними методами (наприклад, КТ) на етапі включення і потім приблизно кожні 6-8 тижнів після цього за відсутності клінічно очевидного прогресування захворювання.

Статистичні методи

Основна ціль дослідження передбачає проведення оцінки рівня клінічної користі (РКК) у групи, що приймає ВА. У кожній з двох груп дослідження буде оцінюватися основний кінцевий критерій корисності (РКК) та розраховуватися точний біноміальний 90 % довірчий інтервал. Показники РКК у двох групах будуть порівнюватися за допомогою одностороннього точного критерію Фішера з 5 % рівнем достовірності. Другорядні та дослідницькі критерії оцінки ефективності будуть оцінювати виживаність без прогресування та загальна виживаність, а 95 % довірчі інтервали будуть розраховуватися за допомогою методу Каплана-Мейера. Розподіл показників виживаності без прогресування та загальної виживаності у двох групах дослідження буде порівнюватися за допомогою логарифмічного рангового критерію. Аналіз даних щодо інгібування PARP матиме дослідницький та дескриптивний характер за своєю природою. Стосовно кінцевого критерію безпечності, дані щодо побічних ефектів (АЕ) та тяжких побічних ефектів (SAE) будуть представлені у таблиці для кожної групи дослідження, відповідно до системно-органного класу та умов, яким надається перевага. Результати лабораторних досліджень після першого циклу будуть резюмовані з метою визначення змін порівняно з вихідними значеннями.

Супроводжувальний нагляд: На 90 день та кожні 90 днів (\pm 20 днів) після прийому останньої дози дослідного препарату буде здійснюватися збір супровідної інформації.

Лабораторні дослідження – зразки крові та сечі для гематології, хімічного аналізу сироватки та аналіз сечі будуть готуватися відповідно до стандартних процедур. Панелі лабораторних досліджень визначені наступним чином:

Гематологія: підрахунок лейкоцитів (WBC) з диференціалом, підрахунок еритроцитів (RBC), визначення гемоглобіну, гематокриту та тромбоцитів

Хімічний аналіз сироватки: албумин, ALP, ALT, AST, азот сечовини крові, кальцій, двоокис вуглецю, хлорид, креатинін, γ -глутаміл трансфераза, глюкоза, лактатдегідрогеназа, фосфор, калій, натрій, загальний білірубін та загальний білок.

Аналіз сечі: зовнішній вигляд, колір, pH, питома вага, кетони, білок, глюкоза, білірубін, нітрит, уробіліноген та прихована кровотеча (мікроскопічний аналіз осаду буде виконуватися, якщо результати експрес-аналізу сечі є позитивними).

Фармакокінетичні зразки крові будуть відбиратися тільки від осіб, яких включено до групи дослідження 2 або які переводяться до групи дослідження 2. Зразки будуть відбиратися

безпосередньо перед прийомом дози та відразу по завершенні кожного вливання протягом циклу 1 на 1 та 11 дні дослідження.

Біомаркери є індикаторами, що об'єктивно вимірюються та оцінюються, біологічних процесів, патогенних процесів чи фармакологічних відгуків на терапевтичне втручання. В онкології особливий інтерес викликають молекулярні зміни, що лежать в основі онкогенних процесів, які можуть ідентифікувати підтипи раку, стадії хвороби, оцінити показник росту пухлини чи прогнозувати прогресування хвороби, метастазів та відгуків на лікування ВА.

Функціональна активність PARP перед та після лікування ВА буде визначатися шляхом аналізу активності PARP у мононуклеарних клітинах периферичної крові (МКПК). МКПК будуть готуватися з 5 мл зразків крові відповідно до процедур, детально описаних у посібнику дослідження, та активність / інгібування PARP буде вимірюватися.

Для довідки щодо усіх зразків PARP кожен центр отримає посібник дослідження, що містить детальний опис процедур відбору, обробки та транспортування зразків.

Генний аналіз раку молочної залози (BRCA) являє собою аналіз крові з метою перевірки на предмет специфічних змін (мутацій) у генах (BRCA1 та BRCA2), які допомагають контролювати нормальний ріст клітин. У жінок, які мають мутації BRCA, відзначалося від 16 % до 60 % вірогідності розвитку раку яєчників. Призначення інгібітору PARP жінкам з мутацією BRCA має підтвердити свою користь. Це дослідження є першою спробою з метою визначення будь-якого зв'язку між станом BRCA та відгуком на лікування препаратом ВА.

Для виконання цього завдання, стан BRCA повинен визначатися (якщо не був раніше відомим) для всіх осіб. Пацієнт, що беру участь у дослідженні, має підписати окрему форму документально оформленої згоди. Оскільки цей компонент не належить до критеріїв включення у дослідження, потенційні учасники, які відмовляться від цього виду тестування не будуть виключені з участі у цьому дослідженні лише з цієї причини.

У кожній з двох груп дослідження буде оцінюватися основний кінцевий критерій корисності (РКК) та розраховуватися точний біноміальний 90 % довірчий інтервал. Показники РКК у двох групах будуть порівнюватися за допомогою одностороннього точного критерію Фішера з 5 % рівнем достовірності. Другорядні та дослідницькі критерії оцінки ефективності виживання без прогресування та загального виживання у двох групах будуть порівнюватися з використанням логарифмічного рангового критерію.

Дані щодо відповіді пухлини будуть реєструватися описово у формі списків усіх осіб, включених до вибірки з метою оцінки безпечності, для визначення, чи мало лікування препаратом ВА клінічний ефект, що піддається вимірюванню, (наприклад, час до прогресування), та має виконуватися через перших 8 тижнів. Дані щодо відгуку будуть поділятися за категоріями відповідно до критеріїв RECIST.

Аналіз даних щодо інгібування PARP матиме дослідницький та описовий характер за своєю природою. Буде виконуватися статистичне групове порівняння на предмет різниці в інгібуванні PARP та будь-яких фармакогенних результатів (наприклад, BRCA) у зразках, відібраних до початку, під час та після лікування препаратом ВА.

Аналізи безпечності будуть виконуватися щодо усіх пацієнтів, які отримали принаймні 1 дозу ВА.

ВА, що застосовується у дослідженні, буде готуватися у 10 мг/мл концентрації, що містить 25 % гідроксилпропілбетациклодекстрину у 10 мМ фосфатному буфері (pH 7.4).

Критерії оцінки відповіді при солідних пухлинах (RECIST):

Критерії включення

Тільки пацієнти, які мають хворобу з проявами, що піддаються вимірюванню до початку дослідження, мають включатися до протоколу, що передбачає дослідження відповіді пухлини у якості основного кінцевого критерію оцінки.

Хвороба з проявами, що піддаються вимірюванню, передбачає наявність принаймні одного ураження, що піддається вимірюванню. Якщо хвороба з проявами, що піддаються вимірюванню, обмежується одним єдиним ураженням, її неопластична природа має бути підтверджена цитологією / гістологією.

Ураження, що піддаються вимірюванню, є ураженнями, що можуть точно вимірюватися принаймні в одному вимірі з найдовшим діаметром ≥ 20 мм за допомогою традиційних способів чи ≥ 10 мм шляхом спірального сканування КТ.

Ураження, що не піддаються вимірюванню, - усі інші утворення, включаючи невеликі ураження (найдовший діаметр < 20 мм з використанням традиційних способів чи < 10 мм шляхом спірального сканування КТ), наприклад, ураження кісток, лептоменінгеальна хвороба, асцит, плевральний випіт / ексудативний перикардит, набряково-інфільтративний мастит молочної

залози, поверхневий / легеневий лімфангіт, кіста, а також черевні маси, що не є підтвердженими та супроводжуються томографічною діагностикою; та.

Усі вимірювання мають виконуватися та реєструватися у метричній системі з використанням лінійки чи циркулів. Усі первинні оцінки мають здійснюватися якомога ближче до початку лікування та ніколи більш ніж за 4 тижні до початку лікування.

Однаковий спосіб оцінки та однакова методика мають застосовуватися з метою охарактеризувати кожне ідентифіковане та заявлене ураження перед початком дослідження та під час супроводжувального нагляду.

Клінічні ураження будуть вважатися такими, що піддаються вимірюванню, тільки за умови, що вони є поверхневими (наприклад, вузли на шкірі та лімфовузли, що пальпуються). Щодо новоутворень на шкірі рекомендується ведення документації з кольоровими фотографіями, включаючи масштабну лінійку для оцінки розміру утворення.

Методи вимірювання

КТ та МРТ є найкращими наявними на сьогоднішній день та відтворюваними методами вимірювання цільових новоутворень, що обираються для оцінки відповіді. Традиційні методи КТ і МРТ мають виконуватися на зрізах 10 мм чи менше по товщині зрізу у контакт. Спіральна комп'ютерна томографія КТ має виконуватися з використанням 5 мм алгоритму суміжної реконструкції. Це стосується пухлин грудної клітини, черевної порожнини та тазу. Пухлини голови та шиї та пухлини кінцівок зазвичай вимагають складання спеціальних протоколів.

Ураження на рентгенівських знімках грудної клітини є прийнятними як утворення, що піддаються вимірюванню, якщо вони є чітко означені та оточені насиченими кров'ю легеньми. Проте, перевага надається КТ.

Якщо основним кінцевим критерієм оцінки дослідження є оцінка об'єктивної відповіді, ультразвук (US) не повинен застосовуватися для вимірювання пухлинних новоутворень. Він є, проте, можливою альтернативою клінічним вимірюванням поверхневих лімфовузлів, що пальпуються, підшкірних уражень та щитовидних вузлів. Ультразвук також може бути корисним для підтвердження повного зникнення поверхневих новоутворень, що зазвичай оцінюються шляхом клінічних досліджень.

Застосування ендоскопії та лапароскопії для оцінки об'єктивної відповіді пухлини ще не було повною мірою та широко підтверджено. Їх застосування у цьому конкретному контексті потребує складного експерименту та високого рівня експертної ї, що можна знайти лише у деяких центрах. Таким чином, використання цих методів для оцінки об'єктивної відповіді пухлини має бути обмежено цілями підтвердження можливості застосування у спеціалізованих центрах. Проте, такі методики можуть бути корисними для підтвердження повної патоморфологічної регресії (відгуку) при отриманні біопсій.

Самі тільки маркери пухлини не можуть використовуватися для оцінки відповіді. Якщо маркери від початку були вищі за верхню межу норми, вони повинні нормалізуватися для того, щоб пацієнт вважався таким, який має повну клінічну відповідь після зникнення усіх пухлин.

Цитологія та гістологія можуть застосовуватися для диференціації між ЧР і ПР у рідкісних випадках (наприклад, після лікування з метою відрізнити остаточні доброякісні новоутворення від остаточних злоякісних новоутворень у пухлинах, що належать до типу ембріонально-клітинних пухлин).

Вихідна первинна документація "Цільові" та "Нецільові" ураження

Усі ураження, що піддаються вимірюванню, максимум до п'яти новоутворень на орган та 10 новоутворень загалом, що представляють усі уражені органи, мають бути ідентифіковані як цільові новоутворення, підлягають документуванню та вимірюванню до початку дослідження.

Цільові ураження мають обиратися на основі їх розміру (новоутворення з найдовшим діаметром) та їх придатності до здійснення точних повторюваних вимірювань (або шляхом томографічних методів чи клінічно).

Сума найдовшого діаметру (LD) для всіх цільових уражень буде розраховуватися та документуватися як вихідна сума LD. Вихідна сума LD буде застосовуватися як довідниковий показник, за допомогою якого буде охарактеризована пухлина, що є об'єктом дослідження.

Усі інші ураження (чи ділянки хвороби) мають бути ідентифіковані як нецільові ураження та також мають документуватися до початку дослідження. Вимірювання цих новоутворень не вимагається, але наявність чи відсутність кожного з них має нотуватися під час супроводжувального нагляду.

Критерії відповіді

Оцінка цільового ураження:

Повна ремісія (ПР): Зникнення усіх цільових уражень

Часткова ремісія (ЧР): Принаймні 30 % зменшення суми LD цільових уражень порівняно з довідниковим показником суми LD

5 Прогресуюче захворювання (ПЗ): Принаймні 20 % збільшення суми LD цільових уражень порівняно з довідниковим показником, за який береться найменша сума LD, зареєстрована від початку лікування чи виникнення одного чи більше нових уражень

Стабільне захворювання (СЗ): ні зменшення, достатнього щоб відповідати ЧР, ні збільшення, достатнього щоб відповідати ПЗ, порівняно з довідниковим показником, за який береться найменша сума LD, зареєстрована від початку лікування

Оцінка нецільового ураження:

10 Повна ремісія (ПР): Зникнення усіх нецільових уражень та нормалізація рівня маркеру пухлини

Неповна відповідь/Стабільне захворювання (СЗ): Збереження одного чи більше нецільових уражень чи/та збереження рівня маркеру пухлини вище нормальних меж

15 Прогресуюче захворювання (ПЗ): Виникнення одного чи більше нових уражень та/чи однозначне прогресування існуючих нецільових уражень (1)

Хоча однозначне прогресування "нецільового" новоутворення є тільки винятковим, за таких обставин, думка лікуючого терапевта має превалювати, а стан прогресування має бути пізніше підтверджено повторним аналізом (чи дослідною кафедрою).

Оцінювання найкращої загальної відповіді

20 Найкраща загальна відповідь є найкращою відповіддю, яку було зареєстровано від початку лікування до прогресування /рецидиву хвороби (з урахуванням довідникового показника для ПЗ, за який беруться найменші вимірювання, зареєстровані від початку лікування). Загалом, присвоєння пацієнтові найкращої відповіді буде залежати від досягнення як вимірювань, так і критеріїв підтвердження

25

Цільові ураження	Нецільові ураження	Нові ураження	Загальна відповідь
ПР	ПР	відсутні	ПР
ПР	Неповна відповідь/СЗ	відсутні	ЧР
ЧР	без ПЗ	відсутні	ЧР
СЗ	без ПЗ	відсутні	СЗ
ПЗ	будь-які	так чи ні	ПЗ
будь-які	ПЗ	так чи ні	ПЗ
будь-які	будь-які	так	ПЗ

30 Пацієнтки з загальним погіршенням стану здоров'я, що вимагають припинення лікування без об'єктивних доказів прогресування захворювання на даний момент часу, мають бути класифіковані як такі, які мають "симптоматичне погіршення." Необхідно вжити усіх можливих зусиль, щоб задокументувати об'єктивне прогресування навіть після припинення лікування.

За деяких обставин може бути складно відрізнити остаточне захворювання від нормальної тканини. Коли оцінювання повної ремісії залежить від цього визначення, рекомендується дослідити остаточне ураження (отримання матеріалу шляхом аспірації тонкою голкою/біопсія) з метою підтвердження статусу повної ремісії.

35 Підтвердження

Основна ціль підтвердження об'єктивної відповіді полягає у недопущенні переоцінки отриманого показника ефективності. У випадках, коли підтвердження відповіді є недосяжним, слід чітко вказати при підготовці звіту про результати подібних досліджень, що відповіді є непідтвердженими.

40 Щоб отримати статус ЧР або ПР, зміни у вимірах пухлини повинні бути підтверджені повторними оцінками, що мають виконуватися не менше ніж через 4 тижні після того, як критерії відгуку були досягнуті вперше. Більші інтервали, якщо вони визначені протоколом дослідження, також можуть бути прийнятними.

45 У випадку стабільного захворювання (СЗ), супроводжувальні вимірювання повинні підтвердити критерії СЗ, принаймні один раз після початку дослідження з мінімальним інтервалом (загалом, не менше ніж 6-8 тижнів), як визначено у протоколі дослідження.

Тривалість загальної відповіді

50 Тривалість загальної відповіді вимірюється від часу, коли були досягнуті критерії вимірювання для ПР або ЧР (незалежно від того, який статус був зареєстрований першим) до першої дати коли рецидив або ПЗ були об'єктивно задокументовані з урахуванням довідникового показника для ПЗ, за який беруться найменші виміри, зареєстровані від початку лікування.

Тривалість стабільного захворювання

C3 вимірюється від початку лікування до виникнення критеріїв для прогресування хвороби, при цьому у якості довідникового значення беруть найменші виміри, зареєстровані від початку лікування.

- 5 Клінічна відповідність тривалості C3 змінюється залежно від типу та стадії пухлини. Таким чином, наполегливо рекомендується, щоб протокол визначав інтервали мінімального часу, необхідного між двома вимірюваннями з метою визначення C3. Цей інтервал часу має враховувати очікувану клінічну користь від такого стану для учасників дослідження.

Аналіз відповіді

- 10 Для досліджень, у яких показник ефективності (відповіді) основним кінцевим критерієм, наполегливо рекомендується, щоб після завершення дослідження усі відповіді аналізувалися експертами, які є незалежними від дослідження. Найкращим підходом є одночасний перегляд карток пацієнтів та рентгенівських знімків.

Звітвання про результати

- 15 Усі пацієнти, включені у дослідження, мають оцінюватися щодо відповіді на лікування, навіть за наявності серйозних відхилень від протокольного лікування чи їх невідповідності критеріям включення. Кожен пацієнт буде розподілятися за однією з наступних категорій: 1) повна ремісія, 2) часткова ремісія, 3) стабільне захворювання, 4) прогресуюче захворювання, 5) передчасна смерть внаслідок злоякісного захворювання, 6) передчасна смерть внаслідок токсичності, 7) передчасна смерть з іншої причини, або 9) невідома причина (не піддається оцінці, недостатні дані).

- 20 Усі пацієнтки, які відповідають критеріям включення, мають бути включені у основний аналіз показника ефективності. Пацієнтки віднесені до категорій відповіді 4-9, мають вважатися такими, які не мали відповіді на лікування (прогресування захворювання). Таким чином, неправильний режим лікування чи неправильне призначення ліків не призводять до виключення з аналізу показника ефективності. Точні визначення категорій 4-9 будуть відповідати визначенням протоколу.

Усі висновки мають ґрунтуватися на усіх пацієнтках, включених до участі у дослідженні

- 30 Субаналізи мають виконуватися на основі підгрупи пацієнток, за виключенням тих, щодо яких були ідентифіковані значні відхилення від протоколу (наприклад, передчасна смерть з інших причин, передчасне припинення лікування, серйозні порушення протоколу, тощо). Проте, такі субаналізи не повинні слугувати основою для формулювання висновків щодо ефективності лікування, а причини виключення пацієнток з аналізу мають чітко зазначатися.

Необхідно забезпечити 95 % довірчі інтервали.

Приклад 5: Лікування запущеної, персистентної або рецидивної карциносаркоми матки комбінацією паклітакселу, Карбоплатину та ВА

- 35 Пацієнтки мають запущену (стадії III або IV), персистентну або рецидивну карциносаркому матки документально підтверджено прогресуванням захворювання. Вимагається гістологічне підтвердження оригінальної первинної пухлини.

- 40 Усі пацієнтки повинні мати вимірюване захворювання. Вимірюване захворювання визначають як принаймні одне ураження, що піддається точному вимірюванню принаймні в одному вимірі (найдовший вимір, що реєструється). Кожне ураження повинне бути ≥ 20 мм при вимірюванні за допомогою звичайних методик, включаючи пальпацію, оглядові рентгенівські знімки, КТ і МРТ, або ≥ 10 мм при вимірюванні шляхом спіральної КТ.

- 45 Пацієнтки матимуть принаймні одне "цільове ураження", що буде предметом оцінки відповіді на цей протокол лікування, як визначено відповідно до критеріїв оцінки відповіді солідних пухлин (RECIST Розділ 8.1). Пухлини з попередньо опроміненою ділянкою будуть позначатися як "нецільові" ураження, за виключенням випадків документування прогресування чи отриманої біопсії на підтвердження наявності пухлини принаймні через 90 днів після завершення променевої терапії. Крім того, пацієнтки повинні одужати від впливу недавньої хірургії, рентгенотерапії чи іншої терапії, та не повинні мати поточної інфекції, що вимагала б прийом антибіотиків.

Будь-яка гормональна терапія, спрямована на злоякісну пухлину, має бути припинена принаймні за один тиждень до реєстрації. Продовження гормонально-замісної терапії дозволяється.

Пацієнтки мають відповідати наступним вимогам:

- 55 Функція кісткового мозку: кількість тромбоцитів перевищує чи дорівнює 100,000/мікролітр, та абсолютна кількість нейтрофілів (ANC) перевищує чи дорівнює 1,500/мікролітр, еквівалент ступеню 1 відповідно до CTCAE v3.0.

Ниркова функція: креатинін менше чи дорівнює 1.5 x встановленої верхньої межі норми (ВМН), ступінь 1 відповідно до СТСАЕ v3.0.

Печінкова функція: Білірубін менше чи дорівнює 1.5 × ВМН (ступінь 1 відповідно до СТСАЕ v3.0). Щавелево-оцтова трансаміназа глютамінової кислоти у сироватці (SGOT) та лужна фосфатаза менше чи дорівнюють 2.5 x ВМН (ступінь 1 відповідно до СТСАЕ v3.0).

Неврологічна функція: Невропатія (сенсорна та моторна) менше чи дорівнює ступеню 1 СТСАЕ v3.0.

Пацієнтки, здатні до дітонародження, повинні мати негативний сироватковий тест на вагітність до початку участі у дослідженні та користуватися ефективними засобами контрацепції.

Пацієнтки, які не відповідають критеріям включення:

Пацієнтки, які отримували попередню цитотоксичну хіміотерапію для лікування карциносаркома матки.

Пацієнтки, які мають історію інших інвазивних злоякісних новоутворень, за виключенням немеланомного раку шкіри та інших специфічних злоякісних утворень, зазначених у Розділах 3.23 та 3.24, виключаються, якщо є будь-які докази наявності іншого злоякісного новоутворення за останні п'ять років. Пацієнтки також виключаються, якщо їх попереднє лікування раку є протипоказаним щодо терапії, передбаченої цим протоколом.

Пацієнтки, які отримали попередню рентгенотерапію будь-якої ділянки черевної порожнини чи тазу, ІНШОЇ НІЖ для лікування карциносаркоми матки протягом останніх п'яти років виключаються. Попереднє опромінення місцево-поширеного раку молочної залози, голови та шиї, чи шкіри дозволяється, за умови, що воно було проведене більше ніж за три роки до реєстрації для участі, та пацієнтка не має рецидивів чи метастатичного захворювання.

Пацієнтки МОГЛИ отримувати попередню ад'ювантну хіміотерапію місцево-поширеного раку матки, за умови що вона була проведена більше ніж за три роки до реєстрації для участі, та пацієнтка не має рецидивів або метастатичного захворювання.

Симптоматичні чи запущені метастази головного мозку, які потребують паралельного лікування, включаючи, але не обмежуючись, хірургічні операції, опромінення та кортикостероїди.

Інфаркт міокарду (MI) протягом 6 місяців від 1 дня дослідження, нестабільна стенокардія, застійна серцева недостатність (CHF) відповідно до класу > II за класифікацією Нью-Йоркської кардіологічної асоціації (NYHA), або неконтрольована гіпертонія.

Історія епілепсії чи поточне лікування епілепсії.

МЕХАНІЗМИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Карбоплатин (Параплатин®, NSC # 241240)

Приготування лікувальної форми: Карбоплатин постачається як стерильний ліофілізований порошок, розфасований у флакони з одноразовою дозою, що містить 50 мг, 150 мг та 450 мг карбоплатину для введення шляхом внутрішньовенної інфузії. Кожний флакон містить рівні частки за вагою карбоплатину та маннітолу.

Підготовка розчину: Безпосередньо перед використанням, вміст кожного флакону має бути відновлений або за допомогою стерильної води для ін'єкції, USP, 5 % декстрази у воді, або ін'єкції 0.9 % хлориду натрію, USP, відповідно до наступної таблиці:

Концентрація флакону	Об'єм розчинника
50 мг	5 мл
150 мг	15 мл
450 мг	45 мл

Усі ці розчинення утворюють концентрацію карбоплатину 10 мг/мл.

ПРИМІТКА: Алюміній вступає у реакцію з карбоплатином, спричиняючи випадання в осад та втрату активності. Таким чином, голки чи комплекти для внутрішньовенного вливання, які містять частини з алюмінію, що можуть контактувати з препаратом, не повинні застосовуватися для підготовки чи введення карбоплатину.

Зберігання: Невідкриті флакони з карбоплатином залишаються стабільними протягом терміну, зазначеного на упаковці, за умови зберігання при контрольованій кімнатній температурі та захисту від світла.

Стабільність: Коли готуються відповідно до вказівок, розчини карбоплатину зберігають стабільність протягом восьми годин при кімнатній температурі. Оскільки лікувальна форма препарату не містить антибактеріального консерванту, рекомендується забракувати розчини карбоплатину через вісім годин після розчинення.

Постачальник: Випускаються для продажу компанією "Bristol-Myers Squibb Company".

Паклітаксел (Taxol[®], NSC #673089)

Приготування лікувальної форми: Паклітаксел є слаботорозчинним рослинним продуктом, що виготовляється з ягідного тису (*Taxus baccata*). Покращення розчинності потребує змішаної системи розчинників з подальшим розчиненням або 0.9 % у хлориду натрію чи у 5 % декстрози у воді.

Паклітаксел постачається як стерильний концентрат розчину, 6 мг/мл у 5 мл флаконах (30 мг/флакон) у поліоксіетильованій касторовій олії ("Cremophor EL") 50 % та абсолютному спирті, USP, 50 %. Вміст флакону має розбавлятися безпосередньо перед клінічним використанням. Він також розфасовується у флакони по 100 та 300 мг.

Підготовка розчину: Паклітаксел, у відповідній дозі, буде розбавлятися у 500-1000 мл 0.9 % ін'єкції хлориду натрію, USP чи 5 % ін'єкції декстрози, USP (D5W) (500 мл є адекватними, якщо паклітаксел є єдиним агентом). Паклітаксел повинен готуватися у склянці чи поліолефінових контейнерах шляхом вилуговування діетилгексилфталатового (DEHP) пластифікатору з полівінілхлоридових (PVC) пакетів та за допомогою системи для внутрішньовенних інфузій з носієм "Cremophor", у якому розчиняється паклітаксел.

ПРИМІТКА: Формування невеликої кількості волокон у розчині (в допустимих межах, визначених відповідно до USP тесту на тверді частки для парентеральних препаратів у великих об'ємах (LVP)) спостерігалось після підготовки паклітакселу. Таким чином, необхідна прохідна фільтрація для введення розчинів паклітакселу. Прокідна фільтрація повинна виконуватися за допомогою гідрофільного, мікропористого фільтру з розміром пор не більше ніж 0.22 мікрон (наприклад: IVEX-II, IVEX-HP чи еквівалент), встановленого у комплекті для внутрішньовенної інфузії на відстані від інфузійного насосу. Попри те, що формування часток не свідчить про втрату препаратом своєї активності, розчини, які мають надмірну кількість сформованих часток не повинні використовуватися.

Зберігання: цілі флакони можуть зберігатися при температурі в межах 20-25 °C (36-77 °F) у оригінальній упаковці. Заморожування чи охолодження не має негативного впливу на стабільність продукту.

Стабільність: Усі розчини паклітакселу відзначаються легким помутнінням, що є прямо пропорційним концентрації препарату та часу, що сплинув з моменту приготування, хоча, якщо приготовані, як описано вище, розчини паклітакселу (0.3-1.2 мг/мл) зберігають фізичну та хімічну стабільність протягом 27 годин при температурі оточуючого середовища (приблизно 25°C) та в умовах освітлення приміщення.

Постачальник: Випускаються для продажу компанією "Bristol-Myers Squibb Company".

Введення: Паклітаксел, у відповідній дозі та розчиненні, буде вводиться шляхом внутрішньовенної інфузії протягом 3 годин безперервно. Паклітаксел буде вводиться через пристрій контролю інфузії (насос) з використанням системи трубок без ПВХ та конекторів, таких як комплекти для внутрішньовенних інфузій (поліетилен чи поліолефін), що застосовуються для парентеральної інфузії нітрогліцерину. Жоден інший препарат не повинен вводиться по лінії, по якій вводиться паклітаксел. Дивіться розділ 5.2.

ВА (4-йод-3-нітробензамід)

ВА буде виготовлятися та упаковуватися від імені "BiPar Sciences" та поширюватися відповідно до дистриб'юторських процедур на основі затверджених BiPar клінічних досліджень препарату. ВА буде представлений у вигляді рідинного стерильного продукту у 10 мл разових флаконах. ВА готується у 25 % гідроксилпропілбетациклодекстрині /10 мМ фосфатному буфері, рН 7.4 з концентрацією активного інгредієнту 10 мг/мл. Кожен флакон містить не менше 9.0 мл об'єму, що екстрагується. Інформація, зазначена на етикетках препарату для дослідження буде відповідати вимогам Міжнародної конференції з гармонізації технічних вимог щодо реєстрації медикаментів, що призначені для лікування людей (ICH) та вимогам Адміністрації з контролю за продуктами харчування та ліків США (FDA). Партії флаконів ВА будуть постачатися у картонних коробках по 10 флаконів на коробку та будуть маркуватися односторонньою етикеткою. Етикетка буде містити наступну інформацію: заяву-застереження відповідно до вимог США щодо медичного препарату, що проходить клінічне випробування, номер дослідження, назву продукту, концентрацію, умови зберігання, дату повторного тестування та назву організатора дослідження.

Підготовка розчину: ВА буде готуватися, як описано нижче, та буде вводиться внутрішньовенно протягом однієї години:

Розрахунок кількості (4 мг/кг) ВА, необхідної для дозування, на основі базової ваги пацієнта помноженої на рівень дози. Наприклад

Базова вага пацієнта = 70 кг

Доза = 4 мг/кг

Потрібна доза = (4 мг/кг x 70 кг) = 280 мг ВА

Поділити потрібну дозу ВА на концентрацію ВА у флаконі (10 мг/мл) з метою визначення кількості у мл препарату ВА, потрібної для введення пацієнтові. Приклад:

5 280 мг ÷ 10 мг/мл = 28 мл

Підрахувати кількість флаконів ВА по 10 мл у флаконі, щоб отримати необхідний об'єм (використовуючи цей приклад, буде необхідно 3 флакони). Додатковий флакон може бути використано, якщо знадобиться отримати необхідний об'єм ВА.

10 Набрати шприцом необхідний об'єм препарату ВА з флакону та покласти його поруч, приготувавши тим часом комплект для внутрішньовенної інфузії наступним чином:

Рекомендується, щоб увесь об'єм 250 мл розчину знаходився у пакеті комплекту системи внутрішньовенної інфузії та вводився протягом періоду однієї години. Використовувати внутрішньовенно розчин або з 0.9 % хлориду натрію (NS) чи D5W. Якщо вливання починають з пакетом внутрішньовенної інфузії, що містить більше 250 мл розчину, необхідно видалити та 15 забракувати надлишковий розчин плюс загальний об'єм препарату, що має додаватися до розчину. Впорскувати розрахований об'єм препарату ВА у пакет (BI) та забезпечити відповідне змішування. Закріпити трубки комплекту BI та заповнити їх розчином.

Примітка: Дозволяється використовувати порожній пакет комплекту BI та впорскувати об'єм ВА, відповідно до розрахунку, а потім додати 0.9 % хлориду натрію чи D5W до досягнення 20 загального об'єму 250 мл. Цей підхід є більш зручним при використанні об'ємів ВА, що є більшими ніж 50 мл.

Зберігання: флакони з препаратом ВА повинні зберігатися при 2-8 °C та мають бути захищеними від світла. Зберігати флакони з препаратом в оригінальних картонних коробках та 25 помістити їх до терморегульованого апарату при 2-8 °C. ВА може зберігатися при 25°C протягом 24 годин, якщо потрібно. Якщо було встановлено, що препарат ВА зберігався без дотримання цих умов, будь ласка, негайно зв'яжіться з "BiPar". Не використовувати флакони, які зберігалися без дотримання рекомендованих умов зберігання без дозволу "BiPar".

Стабільність: Ввести препарат ВА протягом 8 годин після підготовки. Дозований розчин має зберігатися при температурі зовнішнього середовища (кімнатній температурі) до його введення 30 суб'єкту дослідження.

Постачальник: "BiPar Sciences Inc".

ПЛАН ЛІКУВАННЯ

175 мг/м² Паклітакселу шляхом тригодинної інфузії, що супроводжується Карбоплатином у дозуванні AUC=6.0 протягом 30 хвилин, на першу добу, кожні 21 дні плюс ВА 4 мг/кг внутрішньовенно протягом одностодінної інфузії двічі на тиждень, починаючи у першу добу 35 (دوزи ВА повинні відокремлюватися принаймні 2 днями) до того моменту, коли прогресування хвороби чи побічні ефекти обмежать подальшу терапію. Цей тритижневий проміжок часу розглядається як один цикл лікування. Кількість циклів після повної клінічної ремісії буде визначатися на розсуд лікуючого терапевта. Пацієнтки, які не відповідають критеріям прогресування захворювання (часткова ремісія або стабільне захворювання) мають 40 продовжувати участь у дослідному лікуванні до досягнення межі, обумовленої токсичністю.

Дозування карбоплатину: Доза буде розраховуватися для досягнення цільової зони відповідно до кривої (AUC) концентрації на час за формулою Калверта з використанням розрахункової швидкості клубочкової фільтрації (GFR) відповідно до формули Джелліффе. Початкова доза буде становити AUC=6, що впливають. Початкова доза карбоплатину повинна 45 розраховуватися з використанням GFR. За відсутності нової ниркової непрохідності чи іншої ниркової токсичності, що перевищує чи дорівнює ступеню 2 відповідно до CTCAE v3.0 (креатинін сироватки крові > 1.5 x BMN), доза карбоплатину не буде повторно розраховуватися для наступних циклів, але буде предметом зміни дози, як зазначається.

У пацієток з патологічно низьким креатиніном у сироватці (менше чи дорівнює 0.6 мг/дл), 50 внаслідок пониженого введення білку та/чи низької м'язової маси, кліренс креатиніну повинен оцінюватися на основі мінімального значення 0.6 мг/дл. За наявності більш відповідного базового значення креатиніну протягом 4 тижнів лікування, воно також може використовуватися для початкової оцінки GFR.

Формула Калверта: Доза Карбоплатину (мг) = цільова AUC × (GFR+25).

55 Для цілей цього протоколу, GFR вважається еквівалентним кліренсу креатиніну. Кліренс креатиніну (C_{cr}) оцінюється методом Джелліффе з використанням наступної формули: {98 - [0.8 (вік - 20)]} C_{cr}=0.9 × Scr. Де: C_{cr} = оціночний кліренс креатиніну у мл/хвилину; Вік = вік пацієнтки у роках (від 20 до 80); Scr = креатинін у сироватці у мг/дл. За відсутності нової ниркової непрохідності чи підвищення креатиніну у сироватці понад 1.5 x BMN (ступінь 2 CTCAE v3.0),

доза карбоплатину не буде повторно розраховуватися для наступних циклів, але буде предметом зміни дози відповідно до гематологічних критеріїв та інших проявів, як зазначається.

Рекомендований спосіб призначення хіміотерапії: режим може призначатися пацієнтам амбулаторно. Паклітаксел буде вводиться шляхом тригодинної інфузії, що супроводжується карбоплатином протягом 30 хвилин, та супроводжується ВА протягом однієї години. ВА буде вводиться внутрішньовенно (шляхом інфузії протягом періоду однієї години) двічі на тиждень протягом тривалості дослідження. Дози ВА повинні буди відокремлені одна від одної принаймні 2 днями (наприклад дози можуть вводиться у Понеділок/Четвер, Понеділок/П'ятницю чи Вівторок/П'ятницю). Режим прийому протиблювотних засобів рекомендується у перший день лікування паклітакселом та карбоплатином. Режим прийому протиблювотних засобів, який обирається, має ґрунтуватися на рекомендаціях, досягнутих шляхом консенсусу експертних оцінок. Профілактичні протиблювотні засоби не потрібні при введенні доз тільки окремо ВА.

Режим підготовки до прийому Паклітакселу: Паклітаксел, в рамках даного дослідження, буде вводиться протягом тригодинної інфузії. Для усіх циклів, що передбачають введення паклітакселу, рекомендується проведення режиму підготовки з метою зниження ризику, пов'язаного з алергічними реакціями. Цей режим має включати дексаметазон (або внутрішньовенно або перорально), анти- анти-гістамін H1 (такий як дифенгідрамін) та анти-гістамін H2 (такі як циметидин, ранітидин чи фамотидин).

Максимальна площа поверхні тіла, що використовується для розрахунків дози, становить 2.0 м².

Якщо побічні ефекти є несерйозними, пацієнтка може приймати агент, що досліджується, протягом невизначеного часу на розсуд дослідника. Пацієнтки, які досягли повної клінічної ремісії, можуть продовжувати отримувати додаткові цикли на розсуд лікуючого терапевта.

КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ

Параметри ремісії (відповіді) – критерії RECIST.

Вимірюване захворювання визначають як принаймні одне ураження, що піддається точному вимірюванню принаймні в одному вимірі (найдовший вимір, що реєструється). Кожне ураження повинне бути ≥ 20 мм при вимірюванні за допомогою традиційних способів, включаючи пальпацію, оглядові рентгенівські знімки, КТ та МРТ, чи ≥ 10 мм при вимірюванні шляхом спірального сканування КТ.

Документування "цільових" та "нецільових" уражень на етапі включення у дослідження

Усі вимірювані ураження максимум до 5 уражень на орган та 10 уражень загалом, що представляють усі уражені органи, мають бути ідентифіковані як цільові ураження, підлягають документуванню та вимірюванню на етапі включення. Цільові ураження мають обиратися на основі їх розміру (ураження з найдовшим виміром) та їх придатності до здійснення точних повторюваних вимірювань (або шляхом томографічних методів чи клінічно). Сума найдовшого виміру (LD) для всіх цільових уражень буде розраховуватися та документуватися як вихідна сума LD. Вихідна сума LD буде застосовуватися як довідниковий показник, за допомогою якого надалі буде охарактеризовано відповідь пухлини на основі вимірюваного розміру захворювання.

Усі інші ураження (чи ділянки хвороби) мають бути ідентифіковані як нецільові ураження та також мають документуватися до початку дослідження. Вимірювання цих уражень не вимагається, потрібен лише нагляд за "наявністю" чи "відсутністю" цих уражень.

Усі початкові оцінки стану хвороби мають здійснюватися якомога ближче до початку лікування та ніколи більш ніж за 4 тижні до початку лікування.

Найкраща відповідь

Вимірювання найдовшого виміру кожного ураження потрібне з метою нагляду. Зміна суми цих вимірів дозволяє здійснювати певну оцінку зміни розміру пухлини, а отже терапевтичної ефективності. Усе захворювання має оцінюватися на основі таких самих методів, що застосовувалися перед початком дослідження. Реєстрація подібних змін в кожному індивідуальному випадку має розглядатися в показниках найкращої відповіді, досягнутої цим випадком з часу початку участі у дослідженні.

Повна ремісія (ПР) - зникнення усіх цільових та нецільових уражень, та відсутність задокументованих доказів появи нових уражень протягом двох оцінювань захворювання з різницею між ними принаймні 4 тижні.

Часткова ремісія (ЧР) являє собою принаймні 30 % зменшення суми найдовших вимірів (LD) для усіх вимірюваних цільових уражень порівняно з довідниковим показником вихідної суми LD. Може спостерігатися відсутність чіткого прогресування нецільових уражень та нових уражень. Потрібне документування на основі двох оцінювань захворювання з різницею між ними принаймні 4 тижні. У випадку, коли ЄДИНИМ цільовим ураженням є одиночне пухлинне

ураження в малому тазі, виміряне шляхом фізикального обстеження, яке не піддається рентгенологічному вимірюванню, потрібне 50 % зменшення LD.

Прогресуюче захворювання передбачає принаймні 20 % збільшення суми LD цільових уражень порівняно з довідниковими показниками, за які береться найменша сума LD, чи виникнення нових уражень протягом 8 тижнів від початку дослідження. Нечітке прогресування існуючих нецільових уражень, інших ніж плевральний випіт без цитологічного підтвердження неопластичного походження, на думку лікуючого терапевта протягом 8 тижнів від початку дослідження також розглядається як прогресуюче захворювання (за таких обставин необхідне обґрунтування). У випадку, коли ЄДИНИМ цільовим ураженням є одиночне пухлинне ураження в малому тазі, виміряне шляхом фізикального обстеження, яке не піддається рентгенологічному вимірюванню, потрібне 50 % зменшення LD.

Симптоматичне погіршення визначається як загальне погіршення стану здоров'я, що приписується захворюванню, яке потребує зміни терапії без об'єктивних доказів прогресування. Стабільне захворювання - будь-який стан, що не відповідає вищезазначеним критеріям.

Непридатний для оцінювання відповіді визначається як такий, що не піддавався повторному оцінюванню пухлини від початку застосування дослідної терапії з причин, непов'язаних із симптомами чи проявами захворювання.

Прогресування (вимірюване захворювання дослідження) визначають як БУДЬ-ЯКИЙ з наступних випадків:

Принаймні 20 % збільшення суми LD цільових уражень порівняно з довідниковим показником, за який береться найменша сума LD, зареєстрована від початку введення у дослідження.

У випадку, коли ЄДИНИМ цільовим ураженням є одиночне пухлинне ураження в малому тазі, виміряне шляхом фізикального обстеження, яке не піддається рентгенологічному вимірюванню, потрібне 50 % зменшення LD порівняно з довідниковим показником, за який береться найменший LD, зареєстрований від початку введення у дослідження.

Виникнення одного чи більше нових уражень.

Смерть від хвороби без попереднього об'єктивного документування прогресування.

Загальне погіршення стану здоров'я, що приписується захворюванню, яке потребує зміни терапії без об'єктивних доказів прогресування.

Нечітке прогресування існуючих нецільових уражень, інших ніж плевральний випіт без цитологічного підтвердження неопластичного походження, на думку лікуючого терапевта (за таких обставин необхідне обґрунтування).

Рецидив (невимірюване захворювання дослідження) визначають як підвищення клінічних, радіологічних чи гістологічних проявів хвороби від початку дослідження.

Вживаність є фактичною тривалістю життя від початку дослідження до смерті або дати останнього контакту.

Вживаність без прогресування (вимірюване захворювання дослідження) є періодом від введення у дослідження до прогресування захворювання, смерті або дати останнього контакту.

Безрецидивна виживаність (невимірюване захворювання дослідження) є періодом від введення у дослідження до рецидиву захворювання, смерті або дати останнього контакту.

Суб'єктивні параметри, включаючи загальний стан, специфічні симптоми та побічні ефекти, класифікуються відповідно до STCAE v3.0.

ТРИВАЛІСТЬ ДОСЛІДЖЕННЯ

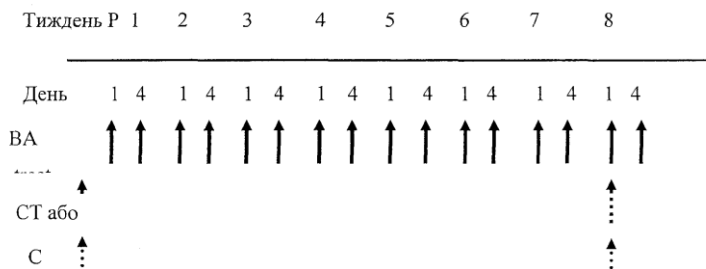
Пацієнтки будуть отримувати терапію до моменту прогресування захворювання або виникнення непереносної токсичності. Пацієнтка може відмовитися від дослідного лікування у будь-який момент. Пацієнтки з повною клінічною ремісією на терапію будуть продовжувати отримувати терапію із додатковою кількістю циклів на розсуд лікуючого терапевта. Пацієнтки з частковою ремісією або стабільним захворюванням повинні продовжувати отримувати терапію до тих пір, поки подальша терапія стане неможливою через виникнення непереносної токсичності.

Усі пацієнтки будуть лікуватися (із оформленням усіх необхідних індивідуальних реєстраційних карт) до моменту прогресування захворювання або припинення участі у дослідженні. Після цього буде здійснюватися нагляд за пацієнтками (з фізичним обстеженням та веденням історії) кожні три місяці протягом перших двох років, а потім кожних шість місяців протягом наступних трьох років. Буде здійснюватися контроль пацієнток на предмет запізнілої токсичності та виживаності протягом цього 5-річного періоду із поданням форм типу "Q" до Гінекологічно-онкологічної групи (GOG) Статистичного центру обробки даних, до тих пір, поки пацієнтка не відкликає свою згоду.

Приклад 6: Фаза 2 дослідження єдиної групи, що приймає 4-йод-3-нітробензамід, у пацієнок із запущеним епітеліальним раком яєчників, Фаллопієвої труби або первинним перитонеальним раком, що супроводжується BRCA-1 або BRCA-2

Це дослідження є дослідженням в одній установі, з єдиною групою, яка приймає 4-йод-3-нітробензамід (ВА), до якої включено пацієнок з запущеним епітеліальним раком яєчників, фаллопієвої труби або первинним перитонеальним раком, що супроводжується BRCA-1 або BRCA-2. Ціль цього дослідження полягає у визначенні ефективності ВА для цієї групи пацієнок. Пацієнтки, які відповідають критеріям включення, будуть отримувати початкове лікування комбінованою терапією платини/таксану, та відмовляться від варіантів лікування, визначених їхнім терапевтом. Кількість попередніх видів терапії не є обмеженою. Максимум 35 пацієнок будуть проходити лікування у даному дослідженні на основі оптимального двоетапного статистичного розрахунку Симона.

Схема протоколу зазначена нижче. Пацієнтки будуть отримувати лікування дослідним агентом, ВА, внутрішньовенно двічі на тиждень на 1 та 4 дні усього протягом 8 тижнів. Цей період охоплює один цикл терапії. Дослідження КТ або МРТ та визначення рівнів CA125 до початку участі у дослідженні буде проводитися в межах 4 тижнів до першого дня циклу. Повторне оцінювання захворювання буде проводитися на восьмий тиждень першого циклу. Пацієнтки будуть продовжувати отримувати додаткові цикли лікування до тих пір, поки вони матимуть стабільне захворювання або відповідь на лікування (відповідно до критеріїв RECIST), а також до тих пір, доки вони бажатимуть брати участь у дослідженні.



Додаткові дослідні компоненти цього дослідження включають оцінку зразків з банку даних залитих парафіном тканин пухлини на предмет генної експресії PARP-1, оцінювання моноклеарних клітин периферичної крові (МКПК) на предмет PARP інгібування, секвенування BRCA1 або BRCA2 на предмет вторинних внутрішньогенних мутацій та збір асцитичної рідини з метою її використання в аналізах з біомаркером.

ЦІЛІ ТА НАУКОВІ ЗАВДАННЯ

Первинні

Оцінити показник ефективності (відповіді) (відповідно до RECIST) на лікування ВА, при введенні 8 мг/кг внутрішньовенно двічі на тиждень особам з запущеним епітеліальним раком яєчників, фаллопієвої труби або первинним перитонеальним раком, що супроводжується BRCA-1 або BRCA-2.

Другорядні

Оцінити рівень клінічної користі (сумарна ефективність терапії та стабільне захворювання) від лікування ВА, при введенні 8 мг/кг внутрішньовенно двічі на тиждень особам з запущеним епітеліальним раком яєчників, фаллопієвої труби або первинним перитонеальним раком, що супроводжується BRCA-1 або BRCA-2.

Оцінити виживаність без прогресування (ВБП) та загальну виживаність (ЗВ) у осіб, які отримують ВА.

Оцінити відповідь, яка вимірюється щодо рівня CA-125 у осіб, які отримують ВА.

Оцінити безпечність та стерпність ВА при введенні 8 мг/кг внутрішньовенно двічі на тиждень.

Дослідницькі

Оцінити ступінь інгібування PARP у моноклеарних клітинах периферичної крові (МКПК).

Оцінити генну експресію PARP-1 у зразках пухлини та корелювати рівні експресії з відповіддю на ВА.

Ідентифікувати вторинні внутрішньогенні мутації та зробити кореляцію з відповіддю на ВА.

Зібрати асцитичну рідину у пацієнок, коли це клінічно необхідно для консервування пухлини.

Обґрунтування дослідження

Ціль даного дослідження полягає у визначенні ефективності ВА у пацієнок, які мають рак яєчників, що супроводжується BRCA. З огляду на унікальну вразливість клітин пухлини з недостатністю BRCA щодо інгібування PARP, лікування із використанням ВА може забезпечити для цієї групи пацієнок з раком яєчників ефективну терапію з меншою токсичністю порівняно з наявними на сьогоднішній день режимами лікування. Показники ефективності існуючих хіміотерапевтичних препаратів у пацієнок з менш ніж 12 місячним інтервалом без захворювання становлять 15-20 %.²³ Фаза I дослідження з використанням іншого інгібітору PARP засвідчила відповіді у 5/11 пацієнок з раком яєчників, що супроводжується BRCA.¹⁹ Таким чином, це дослідження має на меті засвідчити різницю між 10 і 30 % показниками ефективності.

План дослідження

Це дослідження є непорівняним дослідженням з єдиною групою, яка приймає ВА, до якої включено пацієнок з запущеним епітеліальним раком яєчників, фаллопієвої труби або первинним перитоніальним раком, що супроводжується BRCA-1 або BRCA-2. Пацієнтки будуть реєструватися на основі оптимального двоетапного статистичного розрахунку Симона (Simon, Controlled Clin Trials, 10:1-10,1989). Загалом 35 пацієнок буде зареєстровано у даному дослідженні. Дванадцять будуть зареєстровані на першому етапі. Якщо 2/12 пацієнок на першому етапі матимуть відповідь (відповідно до критеріїв RECIST) на лікування, додатково 23 пацієнтки буде зареєстровано для участі у другому етапі. Якщо принаймні 6/35 пацієнок матимуть відповідь (ремісію) наприкінці дослідження, тоді це дослідження буде визнано позитивним. Це дослідження буде проведено з метою з'ясувати різницю між 10 % і 30 % показником ефективності з похибкою =10 для типу 1 та похибкою =.10 для типу 2. Другорядні кінцеві результати будуть заноситися до таблиці та будуть представлені у звіті в описовій формі. Пошукові дослідження будуть генерувати гіпотези для майбутніх досліджень, та будуть представлені у звіті в описовій формі.

Критерії відбору осіб

Критерії включення осіб

Жінки, вік від 18 або старші.

Гістологічно або цитологічно підтверджений запущений епітеліальний рак яєчників, фаллопієвої труби або первинний перитонеальний рак (стадії III або IV).

Пацієнтки повинні були отримати принаймні один курс терапії платиною/таксаном.

Підтверджено стан BRCA1 або BRCA2.

Одне або більше вимірюваних уражень, принаймні 10 мм у найдовшому діаметрі, що вимірюється за допомогою КТ або 20 мм у найдовшому діаметрі, що вимірюється за допомогою традиційних методів (пальпація, оглядові рентгенівські знімки, КТ або МРТ).

Шкала загального стану Карнофського ≥ 70 %.

Прогнозована тривалість життя принаймні 16 тижнів.

Критерії виключення осіб

Лабораторні значення клінічного скринінгу:

Абсолютна кількість нейтрофілів $<1500/\text{мкл}$

Кількість тромбоцитів $<100\,000/\text{мкл}$

Гемоглобін $<8,5\text{ г/дл}$

Білірубін у сироватці $>2,0\times$ верхня межа норми (ВМН)

AST і ALT $>2,5\times$ ВМН (AST і ALT $>5\times$ ВМН для особи з метастазами у печінці)

Креатинін у сироватці $>1,5\times$ ВМН

Будь-яка протиракова терапія в межах 21 дня до першого дня дослідження.

Будь-яка злоякісна пухлина в межах 3 років до першого дня, за виключенням належним чином вилікованої карциноми in situ шийки матки, внутрішньопротокової карциноми in situ (DCIS) молочної залози, або рак базальних чи сквамозних клітин шкіри.

Активна вірусна інфекція, включаючи ВІЛ/СНІД, Гепатит В або Гепатит С.

Активна центральна нервова система або метастази у мозку.

Історія епілепсії чи поточне лікування епілепсії.

Персистентний ступінь 2 або вище токсичності внаслідок попередньої терапії, за виключенням алопеції.

План лікування / втручання

Ця фаза II дослідження є дослідженням з єдиною групою у одній установі, до якої буде включено максимум 35 пацієнок з запущеним епітеліальним раком яєчників, фаллопієвої труби

або первинним перитоніальним раком. Прогнозований приріст у групі становить 2-4 пацієнтки на місяць.

Усе лікування буде проводитися амбулаторно. Пацієнтки, які були відібрані для участі у дослідженні після відбірного оцінювання попереднього лікування, описаного вище, почали брати участь у лікуванні. ВА у дозуванні 8 мг/кг буде вводиться внутрішньовенно двічі на тиждень протягом восьми тижнів. Лікування буде проводитися у 1 та 4 дні кожного тижня. Дози ВА повинні бути відокремлені одне від одного 2 днями без лікування. Пацієнтки пройдуть рентгенографічне обстеження свого захворювання протягом восьмого тижня терапії. Пацієнтки без прогресування захворювання (СЗ, ЧР або ПР) можуть продовжити отримувати терапію під час додаткових циклів.

Поточний моніторинг під час лікування

Під час першого циклу, основні показники стану організму пацієнток будуть вимірюватися щотижня. Вони будуть оцінюватися кожних два тижні (дні 1, 15, 29, 43) з веденням повної історії та фізикальним обстеженням, оцінкою загального стану, ваги, повним клінічним аналізом крові, з дослідженням згортання (ПЧ/ЧТЧ), повної метаболічної панелі та рівня магнію. Пацієнтки будуть проінструктовані про необхідність повідомляти про будь-які зміни у паралельному медикаментозному лікуванні або про побічні ефекти, що можуть виникнути під час дослідження. Рентгенографія з використанням КТ або МРТ, ЕКГ та аналізу рівня СА-125 у крові буде проводитися протягом восьмого тижня кожного циклу.

Експериментальні методики під час лікування

Зразки крові (5 мл) будуть відібрані за одну годину, безпосередньо перед прийомом та безпосередньо після прийому дози ВА у 1 та 15 дні циклів 1 та 2 з метою визначення рівня інгібування PARP у мононуклеарних клітинах периферичної крові. Зразок крові (10 мл) буде відібрано один раз для екстракції зародкової ДНК. Він буде використовуватися для кореляційних досліджень з метою оцінювання вторинних мутацій BRCA1 або 2. Зразок може відбиратися в межах 14 днів від початку лікування або до початку лікування у першу добу циклу 1. У пацієнток, яким клінічно показано зробити парацентез під час лікування, будуть відібрані зразки пухлини для консервування. Цей зразок для кожної пацієнтки може відбиратися будь-коли протягом лікування.

Пацієнтки мають пройти кінцеве обстеження після їх виключення з дослідження з будь-яких причин. Це обстеження має відбутися принаймні через чотири тижні після введення останньої дози ВА. Під час цього візиту повинні проводитися наступні дослідження:

Клінічна оцінка, включаючи медичну історію, медичний огляд, оцінку загального стану за шкалою Карнофського, визначення зросту, ваги, основних показників стану організму (кров'яного тиску, частоти дихання, пульсу, температури)

Запис про прийом супутніх лікарських засобів

Відбір зразка крові на:

СА-125

Повний клінічний аналіз крові (CBC)

Аналіз згортання, включаючи протромбіновий час (ПЧ) і частковий тромбoplastиновий час (ЧТЧ)

Повна метаболічна панель (азот сечовини крові, креатинін, Na, Cl, CO₂, Ca, глюкоза, загальний білірубін, загальний білок, альбумін. Лужна фосфатаза, AST, ALT)

Магній

Оцінювання токсичності

Пацієнткам зі стабільним захворюванням на час виходу з дослідження буде рекомендовано продовжити проходити рентгенографічне обстеження їх захворювання за допомогою КТ або МРТ та аналізу рівня СА-125 принаймні кожних 3 місяці після припинення прийому ВА. Результати цього обстеження будуть використовуватися для визначення другорядного кінцевого результату ВБП. Співробітники, залучені до дослідження, продовжать контактувати з пацієнтками кожних 3 місяців протягом першого року та кожних 6 місяців після першого року з метою оцінки стану захворювання та виживаності.

МОДИФІКАЦІЇ ЛІКУВАННЯ

Скорочення дози

На сьогоднішній день, прийом ВА не пов'язаний з серйозними побічними ефектами або ступенями токсичності 3 або 4. Препарат проявляє себе як безпечний та має добру переносимість. Проте, якщо пацієнтка має 3 або 4 ступінь токсичності, необхідно призупинити прийом препарату до зниження токсичності до рівня < ступеня 2.

Затримки графіку та пропущені дози

У разі виникнення обмежень, пов'язаних із графіком, наприклад, через неможливість пацієнтки почати лікування у першу добу або на 4 день даного тижня, дозволяється зсунути графік на один день, як визначено нижче. Лікувальні дні позначені підкресленням.

Стандартний графік лікування	1 2 3 4 5 6 7 1 2 3 4 5 6 7 1
Змінений допустимий графік, якщо 4 день було пропущено	1 2 3 4 5 6 7 1 2 3 4 5 6 7 1
Змінений допустимий графік, якщо 1 день було пропущено	1 2 3 4 5 6 7 1 2 3 4 5 6 7 1

5 Оскільки дводенна перерва між прийомом доз є обов'язковою, якщо пацієнтка не в змозі пройти лікування на наступний день після пропущеної дози, як визначено вище, доза буде вважатися пропущеною. Таким чином, пацієнтка відновить лікування у наступний запланований за графіком день 1 або 4. За період дослідження допускаються дві пропущені дози. Пацієнтки, які пропустили 3 дози внаслідок порушення графіку, будуть виключені з протоколу дослідження.

10 Пошукові дослідження/кореляційна наука

Інгібування PARP у мононуклеарних клітинах периферичної крові (МКПК)

Функціональна активність PARP за 1 годину до початку, безпосередньо перед початком та безпосередньо після початку лікування ВА буде визначатися за допомогою аналізу активності PARP у мононуклеарних клітинах периферичної крові (МКПК). Цей аналіз буде виконуватися у 15 дні 1 та 15 циклів 1 та 2. МКПК будуть готуватися з 5 мл зразків крові згідно з процедурами, докладно описаними у посібнику дослідження, та активність/інгібування PARP буде вимірюватися. Кожен зразок крові буде аналізуватися у трьох екземплярах, а активність PARP буде реєструватися у звіті у відносних світлових одиницях (RLU) та буде представлена у вигляді стандартної кривої. Зразок, відібраний за одну годину до введення ВА буде порівнюватися зі зразком, безпосередньо відібраним перед введенням дози ВА, з метою оцінити, чи існує звичайна варіативність активності PARP у різні години доби незважаючи на фармакологічне втручання.

Експресія гена PARP-1 у зразках пухлини

Експресія гена PARP буде оцінюватися на основі зразків пухлини пацієнтки за допомогою багаторазової ЗТ-ПЛР. До початку терапії, буде підготовлено парафіновий блок або 6 предметних скелець із залитих парафіном зразків пухлини, відібраних у кожної пацієнтки. Також буде підготовлено парафіновий блок або 4 предметних скельця із залитих парафіном зразків нормальної тканини. Предметні скельця мають містити ≥ 75 % тканини пухлини або нормальної тканини, відповідно. Зразок нормальної тканини не повинен бути з того самого типу тканини, що й зразок пухлини (тобто можуть використовуватися нормальні тканини фаллопієвої труби, матки або інші зразки нормальної тканини після попередніх хірургічних операцій), і буде використовуватися як контрольний зразок ЗТ-ПЛР PARP. Зразок пухлини може бути отримано після первинних хірургічних операцій або це може бути інший зразок пухлини, отриманий шляхом біопсії. Переважно, зразок буде від останньої процедури взяття зразка пухлини у разі, якщо експресія PARP змінилася з часом. Два з шести предметних скелець зі зразком пухлини будуть використовуватися для кореляційного імуногістохімічного аналізу.

Аналіз вторинної внутрішньогенної мутації

У даному дослідженні, ми відбираємо ембріональну ДНК у кожної пацієнтки з 10 мл периферичної крові. Зразки крові будуть відібрані в одну або дві пробірки для збору крові з пурпуровими ковпачками з ЕДТА. Зразки будуть транспортуватися до лабораторії "Gynecology Research Lab", де буде виконуватися екстракція та розчинення ДНК. Тканина пухлини буде отримана з парафінових блоків або чотирьох незабарвлених предметних скелець. Тканина буде оброблена, щоб отримати принаймні 80 % ядер клітин пухлини у кінцевому зразку. ДНК пухлини буде екстрагована згідно зі стандартними лабораторними методами. ДНК пухлини буде секвенуватися на усю кодуєчу ділянку або BRCA1, або BRCA2 залежно від того, носієм якої мутації є пацієнт. Секвенування буде здійснюватися через трансляційне ядро HOPR. Напівавтоматична інтерпретація секвенування буде виконана з метою ідентифікувати будь-які вторинні мутації або делеції. Усі виявлені варіанти будуть підтверджені повторною ампліфікацією ПЛР і секвенуванням. Ембріональна ДНК буде секвенуватися для позитивних випадків з метою підтвердження соматичної природи мутації або делеції.

Консервування пухлини в асцитичній рідині

У пацієнток з асцитом, які потребуватимуть паліативного або терапевтичного парацентезу під час дослідження, будуть збирати асцитичну рідину для консервування пухлини. Майбутнє використання цих зразків потребуватиме схвалення IRB (експертної ради установи) відповідно до керівних документів MSKCC. Консервування пухлин у асцитичній рідині буде цінним джерелом клітин пухлини яєчників для аналізу на основі біомаркеру.

Критерії оцінювання терапевтичної відповіді /наслідку

Основна ціль дослідження полягає у визначенні показника ефективності у осіб, які отримують лікування препаратом ВА. Відповідь на лікування буде визначатися на основі критеріїв RECIST. Параметри, необхідні для початкового оцінювання вимірюваного захворювання та відповіді є наступними:

Вимірюване захворювання на етапі включення у дослідження – критерії GOG RECIST

Вимірюване захворювання визначають як принаймні одне ураження, що піддається точному вимірюванню принаймні в одному вимірі (найдовший вимір, що реєструється). Кожне ураження повинне бути ≥ 20 мм при вимірюванні за допомогою традиційних методів, включаючи пальпацію, оглядові рентгеновські знімки, КТ та МРТ, чи ≥ 10 мм при вимірюванні шляхом спірального сканування КТ.

Документування "цільових" та "нецільових" уражень на етапі включення у дослідження

Усі вимірювані ураження максимум до 5 уражень на орган та 10 уражень загалом, що представляють усі уражені органи, мають бути ідентифіковані як цільові ураження, підлягають документуванню та вимірюванню на етапі включення. Цільові ураження мають обиратися на основі їх розміру (ураження з найдовшим виміром) та їх придатності до здійснення точних повторюваних вимірювань (або шляхом томографічних методів чи клінічно). Сума найдовшого виміру (LD) для всіх цільових уражень буде розраховуватися та документуватися як вихідна сума LD. Вихідна сума LD буде застосовуватися як довідниковий показник, за допомогою якого надалі буде охарактеризовано відповідь пухлини на основі вимірюваного розміру захворювання.

Усі інші ураження (чи ділянки хвороби) мають бути ідентифіковані як нецільові ураження та також мають документуватися до початку дослідження. Вимірювання цих уражень не вимагається, потрібен лише нагляд за "наявністю" чи "відсутністю" цих уражень.

Усі початкові оцінки стану хвороби мають здійснюватися якомога ближче до початку лікування та ніколи більш ніж за 4 тижні до початку лікування.

Найкраща відповідь

Вимірювання найдовшого виміру кожного ураження потрібне з метою нагляду. Зміна суми цих вимірів дозволяє здійснювати певну оцінку зміни розміру пухлини, а отже терапевтичної ефективності. Усе захворювання має оцінюватися на основі таких самих методів, що застосовувалися перед початком дослідження. Реєстрація подібних змін в кожному індивідуальному випадку має розглядатися в показниках найкращої відповіді, досягнутої цим випадком з часу початку участі у дослідженні.

Повна ремісія (ПР) - зникнення усіх цільових та нецільових уражень, та відсутність задокументованих доказів появи нових уражень протягом двох оцінювань захворювання з різницею між ними принаймні 4 тижні.

Часткова ремісія (ЧР) являє собою принаймні 30 % зменшення суми найдовших вимірів (LD) для усіх вимірюваних цільових уражень порівняно з довідниковим показником вихідної суми LD. Може спостерігатися відсутність чіткого прогресування нецільових уражень та нових уражень. Потрібне документування на основі двох оцінювань захворювання з різницею між ними принаймні 4 тижні. У випадку, коли ЄДИНИМ цільовим ураженням є одиночне пухлинне ураження в малому тазі, виміряне шляхом фізикального обстеження, яке не піддається рентгенологічному вимірюванню, потрібне 50 % зменшення LD.

Прогресуюче захворювання передбачає принаймні 20 % збільшення суми LD цільових уражень порівняно з довідниковими показниками, за які береться найменша сума LD, чи виникнення нових уражень протягом 8 тижнів від початку дослідження. Нечітке прогресування існуючих нецільових уражень, інших ніж плевральний випіт без цитологічного підтвердження неопластичного походження, на думку лікуючого терапевта протягом 8 тижнів від початку дослідження також розглядається як прогресуюче захворювання (за таких обставин необхідне обґрунтування). У випадку, коли ЄДИНИМ цільовим ураженням є одиночне пухлинне ураження в малому тазі, виміряне шляхом фізикального обстеження, яке не піддається рентгенологічному вимірюванню, потрібне 50 % зменшення LD.

Симптоматичне погіршення визначається як загальне погіршення стану здоров'я, що приписується захворюванню, яке потребує зміни терапії без об'єктивних доказів прогресування.

Стабільне захворювання - будь-який стан, що не відповідає вищезазначеним критеріям.

Непридатний для оцінювання відповіді визначається як такий, що не піддавався повторному оцінюванню пухлини від початку застосування дослідної терапії з причин, не пов'язаних із симптомами чи проявами захворювання.

5 Прогресування (вимірюване захворювання дослідження) визначають як БУДЬ-ЯКИЙ з наступних випадків:

Принаймні 20 % збільшення суми LD цільових уражень порівняно з довідниковим показником, за який береться найменша сума LD, зареєстрована від початку введення у дослідження.

10 У випадку, коли ЄДИНИМ цільовим ураженням є одиночне пухлинне ураження в малому тазі, виміряне шляхом фізикального обстеження, яке не піддається рентгенологічному вимірюванню, потрібне 50 % зменшення LD порівняно з довідниковим показником, за який береться найменший LD, зареєстрований від початку введення у дослідження.

Виникнення одного чи більше нових уражень.

Смерть від хвороби без попереднього об'єктивного документування прогресування.

15 Загальне погіршення стану здоров'я, що приписується захворюванню, яке потребує зміни терапії без об'єктивних доказів прогресування.

Нечітке прогресування існуючих нецільових уражень, інших ніж плевральний випіт без цитологічного підтвердження неопластичного походження, на думку лікуючого терапевта (за таких обставин необхідне обґрунтування)

20 Загально оцінювання відповідно до критеріїв RECIST представлено нижче у таблиці

Цільові ураження	Нецільові ураження	Нові ураження	Загальна відповідь
ПР	ПР	відсутні	ПР
ПР ЧР	С3 ПР або С3	відсутні відсутні	ЧР ЧР
ПР або ЧР або С3 НВ	НВ ПР або С3 або НВ	відсутні відсутні	НВ НВ
С3	ПР або С3	відсутні	С3
ПЗ будь-які будь-які	будь-які ПЗ будь-які	будь-які будь-які так	ПЗ ПЗ ПЗ

25 ПР = повна ремісія; ЧР = часткова ремісія; С3 = стабільне захворювання; ПЗ = прогресуюче захворювання; НВ = невідоме

Другорядні критерії оцінки дослідження включають оцінювання виживаності без прогресування та загальної виживаності, безпечності та відповіді CA125. Вони будуть визначатися за допомогою наступних параметрів:

30 Виживаність без прогресування періодом від введення у дослідження до прогресування захворювання, смерті або дати останнього контакту.

Загальна виживаність є фактичною тривалістю життя від початку дослідження до смерті або дати останнього контакту.

Параметри безпечності включають загальний стан, специфічні симптоми та побічні ефекти відповідно до класифікації СТСАЕ v3.0.

35 Рекомендації щодо відповіді на CA-125

Особи з підвищеним рівнем CA-125 (>50 U/мл), на основі 2 проб, відібраних принаймні за один тиждень до початку дослідного лікування, будуть оцінюватися на предмет відповіді CA-125 протягом дослідження.

40 Повна ремісія (ПР): зниження рівнів CA-125 до меж нормального діапазону, що підтверджується повторними оцінюваннями не менше ніж через 4 тижні.

Часткова ремісія (ЧР): зниження рівнів CA-125 на >50 %, що підтверджується повторними оцінюваннями не менше ніж через 4 тижні.

Стабільне захворювання (С3): Будь-яка зміна CA-125, що не підпадає під визначення ПЗ, ЧР або ПР.

45 Прогресуюче захворювання (ПЗ): подвоєння найнижчого рівня CA-125, який є вищим ніж верхня межа норми, що підтверджується повторними оцінюваннями не менше ніж через 4 тижні.

Біостатистика

Первинний очікуваний результат (кінцева точка)

Це дослідження є непорівняним дослідженням з єдиною групою, яка приймає ВА, до якої включено пацієнток з запущеним епітеліальним раком яєчників, фаллопієвої труби або первинним перитоніальним раком, що супроводжується BRCA-1 або BRCA-2... Первинний очікуваний результат є показником ефективності, що визначений як ПР+ЧР. Пацієнтки будуть оцінюватися на предмет ремісії (відповіді) наприкінці першого циклу терапії. Пацієнтки будуть реєструватися на основі оптимального двоетапного статистичного розрахунку Симона.¹ Загалом 35 пацієнток буде зареєстровано у даному дослідженні. Дванадцять будуть зареєстровані на першому етапі. Якщо 2/12 пацієнток на першому етапі матимуть відповідь (відповідно до критеріїв RECIST) на лікування, додатково 23 пацієнтки буде зареєстровано для участі у другому етапі. Якщо принаймні 6/35 пацієнток матимуть відповідь (ремісію) наприкінці дослідження, тоді це дослідження буде визнано позитивним. Це дослідження буде проведено з метою з'ясувати різницю між 10 % і 30 % показником ефективності з похибкою =10 для типу 1 та похибкою =.10 для типу 2.

Другорядний очікуваний результат (кінцева точка)

Рівень клінічної користі, визначений як ПР+ЧР+СЗ, буде реєструватися з 95 % довірчим інтервалом. Наслідок захворювання, такий як ВБП і ЗВ, буде підсумовуватися на основі медіани та 95 % довірчих інтервалів, використовуючи метод Каплана-Мейера. Відповідь на CA125 визначають як зниження до нормального діапазону (0-35) з підтвердженням значення протягом наступного циклу. Показник ефективності щодо CA125 буде реєструватися з відповідним 95 % довірчим інтервалом.

Безпечність буде описуватися на основі табличного представлення видів токсичності з використанням Загальних критеріїв щодо термінології побічних ефектів NCI (версія 3.0). Стерпність стосується здатності дотримуватися двічі на тиждень дозування, не пропускаючи більш ніж двох доз з 16 доз, як викладено у Розділі 9. Пацієнтки, які пропустили прийом дози, будуть реєструватися у таблиці.

Дослідницькі очікувані результати (кінцеві точки)

Пошукові дослідження будуть генерувати гіпотези для майбутніх досліджень, та будуть представлені у звіті в описовій формі. З метою оцінювання ступеню інгібування PARP у МКПК, проби для вимірювання ферменту PARP за числовою безперервною шкалою будуть відібрані до початку та після лікування на перший день та 15 день перших двох циклів. Зміна ферменту PARP протягом чотирьох часових точок буде підсумована на основі медіани та діапазону, а також буде описана шляхом графічного представлення. Відповідні перетворення будуть застосовуватися з метою врахування значної мінливості PARP відповідно до шкали RLU (відносних світлових одиниць).

Генна експресія PARP-1 буде вимірюватися за числовою безперервною шкалою. Непараметричний тест буде застосовуватися, щоб оцінити, чи пацієнтки з відповіддю на лікування (ПР+ЧР) мають більш високу експресію порівняно з пацієнтками, які не мали відповіді на лікування.

Аналіз вторинних мутацій у BRCA1 або 2 буде представлено у звіті в описовій формі. Пацієнтки, які є нечутливими до платини, або пацієнтки, які не матимуть відповіді на терапію відповідно до протоколу дослідження, можуть мати внутрішньогенну делецію, яка відновлює BRCA1/2 відкриту рамку зчитування. Наявність вторинної мутації або делеції буде корелюватися з відповіддю на терапію відповідно до протоколу дослідження. Гіпотеза полягає в тому, що пацієнтки без вторинної мутації або делеції будуть мати кращу відповідь ніж пацієнтки з вторинною мутацією або делецією. Тест за критерієм хі-квадрат або тест за точним критерієм Фішера, що розглядаються як доречні, будуть застосовуватися, щоб оцінити, чи існує виражений зв'язок між вторинною мутацією або делецією та відповіддю на лікування препаратом ВА. Якщо докази підтвердять правдивість цієї гіпотези, вона може слугувати методом відбору для майбутніх випробувань, до яких буде залучено цей препарат.

Приклад 7: Вплив ВА на проліферацію клітин HeLa цервікальної аденокарциноми

Досліджений вплив ВА на проліферацію клітин HeLa цервікальної аденокарциноми. Клітинну проліферацію оцінювали за допомогою тесту з 5-бромдезоксиридином, як описано тут.

Клітинна культура

Клітини HeLa є іморталізованою лінією клітин, що використовуються в медичних дослідженнях. Ця лінія клітин була одержана з клітин раку шийки матки. HeLa S3 є клонованим похідним материнської лінії HeLa. Клон HeLa S3 був дуже корисним у клональному аналізі клітинних популяцій ссавців у відношенні хромосомної мінливості, живлення клітин і бляшкоутворювальної здатності. Повідомлялося, що клітини HeLa містять послідовності вірусу папіломи людини 18 (ВПЛ-18). Клітини культивують згідно зі стандартним протоколом (ATCC – Американської колекції типових культур) у даній галузі. Стисло: 1. Видаліть і відкиньте

культуральне середовище. 2. Коротко сполосніть клітинний шар розчином 0,25 % (маса/об'єм) Трипсину-0,53 мМ ЕДТА, щоб видалити усі сліди сироватки, яка містить інгібітор трипсину. 3. Додайте у колбу від 2,0 до 3,0 мл розчину Трипсин-ЕДТА і спостерігайте клітини під інвертованим мікроскопом, поки клітинний шар не розсіявся (звичайно в межах 5-15 хвилин). 5 Клітини, які важко відділити, можуть бути поміщені при 37 °С, щоб полегшити розсіювання. 4. Додайте від 6,0 до 8,0 мл повного живильного середовища і аспіруйте клітини обережним піпетуванням. 5. Додайте відповідні аліквоти суспензії клітин до нової посудини для культивування. 6. Інкубуйте культури при 37 °С.

Матеріали і методи

10 Тест із 5-бромдезоксіуридином (BrdU) добре відомий у даній галузі. Стисло, клітини культивують за присутності відповідних досліджуваних речовин у придатному 96-лунковому МР при 37 °С протягом певного проміжку часу (від 1 до 5 днів, в залежності від індивідуальної системи аналізу). Пізніше, до клітин додають BrdU і клітини інкубують ще раз (звичайно протягом 2-24 годин). Протягом цього періоду мічення, аналог піримідину BrdU включається 15 замість тимідину у ДНК проліферуючих клітин. Після видалення культурального середовища клітини фіксують і ДНК денатурують за один етап додаванням FixDenat (денатурація ДНК необхідна, щоб поліпшити доступність інкорпорованого BrdU для виявлення антитілом). Додають анти-BrdU-POD антитіло, і антитіло зв'язується з BrdU, інкорпорованим у заново синтезовану клітинну ДНК. Імунні комплекси виявляють подальшою реакцією субстрату через 20 хемілюмінесцентне детектування (основане на клітинній проліферації ELISA, протокол хемілюмінесценції BrdU від Roche).

ВА додають до клітинної культури у різних концентраціях. Як показано на фіг. 6, ВА інгібує проліферацію клітин HeLa цервікальної аденокарциноми.

25 У той час як переважні втілення даного винаходу були показані і описані тут, для фахівців у даній галузі буде очевидним, що такі втілення надані лише як приклад. Фахівцям у даній галузі будуть зараз траплятися численні відхилення, зміни і заміни без відхилення від винаходу. Слід розуміти, що численні альтернативи втіленням описаного тут винаходу можуть використовуватися у здійсненні винаходу. Це означає, що нижченаведена формула винаходу визначає обсяг винаходу, і що способи та структури в межах обсягу цих пунктів формули 30 винаходу та їхні еквіваленти будуть таким чином охоплені.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

35 1. Спосіб лікування прогресуючого раку яєчників у пацієнта-людини, що має рак яєчників, який включає введення пацієнту ефективної кількості 4-йод-3-нітробензаміду або його фармацевтично прийнятної солі і щонайменше одного інгібітора топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотецину.

40 2. Спосіб за п. 1, в якому 4-йод-3-нітробензамід або його метаболіт, або його фармацевтично прийнятну сіль і щонайменше один інгібітор топоізомерази забезпечують в окремих лікарських формах і вводять послідовно.

3. Спосіб за п. 1, в якому 4-йод-3-нітробензамід або його метаболіт, або його фармацевтично прийнятну сіль і щонайменше один інгібітор топоізомерази забезпечують в окремих лікарських формах і вводять одночасно.

4. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, в якому рак яєчників є метастатичним.

45 5. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, в якому інгібітор топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотецину, вибраний з групи, яка складається з топотекану, іринотекану, луртотекану, екзатекану і камптотецину.

6. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, в якому інгібітор топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотецину, вибраний з групи, яка складається з топотекану, 50 іринотекану і камптотецину.

7. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, в якому інгібітор топоізомерази є похідним камптотецину.

8. Спосіб за п. 7, в якому похідне камптотецину вибране з групи, яка складається з 10-гідроксикамптотецину, топотекану, іринотекану або 9-амінокамптотецину.

9. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, в якому інгібітор топоізомерази, який являє собою 55 похідне камптотецину, є топотеканом.

10. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, в якому ефективна кількість викликає щонайменше один терапевтичний ефект, вибраний з групи, яка складається із зменшення в розмірі пухлини яєчників, зменшення метастазування, повної ремісії, часткової ремісії, стабілізації хвороби або патологічної повної ремісії.

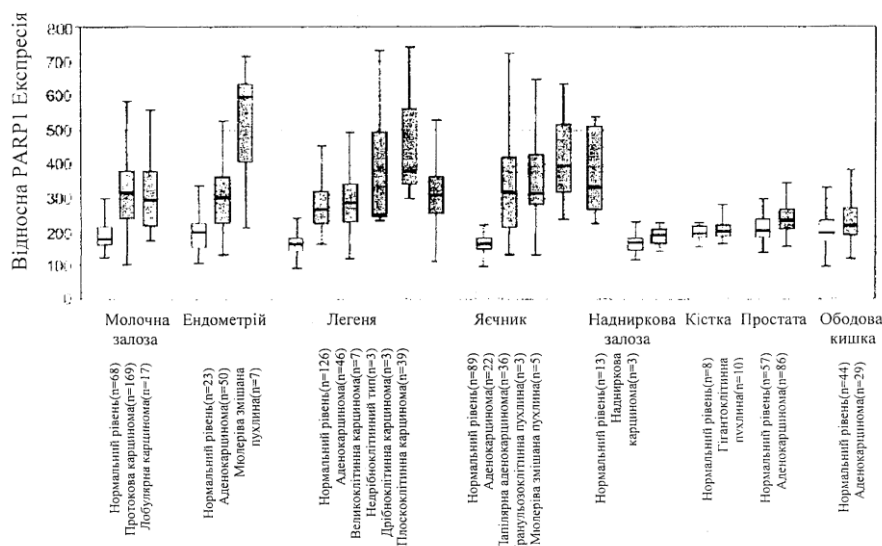
11. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, в якому рак яєчників є дефіцитним за репарацією ДНК гомологічною рекомбінацією.
12. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, в якому рак яєчників є дефіцитним за BRCA.
13. Спосіб за п. 12, в якому дефіцит BRCA є дефіцитом BRCA1 або дефіцитом BRCA2 або дефіцитом як BRCA1, так і BRCA2.
14. Спосіб за п. 1, в якому інгібітор топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотечину, вводять перед, одночасно з або після введення 4-йод-3-нітробензаміду або його фармацевтично прийнятної солі.
15. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, який додатково включає хірургію, променеву терапію, хіміотерапію, генну терапію, ДНК-терапію, вірусну терапію, РНК-терапію, ад'ювантну терапію, неoad'ювантну терапію, імунотерапію, нанотерапію або їх поєднання.
16. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, в якому рак яєчників є епітеліальною пухлиною, пухлиною ембріональних клітин або пухлиною стромальних клітин.
17. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2 або 3, в якому лікування додатково включає
 - (а) встановлення циклу лікування тривалістю від приблизно 10 до приблизно 30 днів; і
 - (б) введення пацієнту в окремі, від 1 до 10, дні циклу від приблизно 1 мг/кг до приблизно 100 мг/кг 4-йод-3-нітробензаміду або його фармацевтично прийнятної солі.
18. Застосування 4-йод-3-нітробензаміду або його метаболіту, або його фармацевтично прийнятної солі і щонайменше одного інгібітора топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотечину, для виготовлення лікарських засобів для лікування прогресуючого раку яєчників у пацієнта-людини, що має рак яєчників.
19. Застосування за п. 18, в якому 4-йод-3-нітробензамід або його метаболіт, або його фармацевтично прийнятну сіль і щонайменше один інгібітор топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотечину, забезпечують в окремих лікарських формах і вводять послідовно.
20. Застосування за п. 18, в якому 4-йод-3-нітробензамід або його метаболіт, або його фармацевтично прийнятну сіль і щонайменше один інгібітор топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотечину, забезпечують в окремих лікарських формах і вводять одночасно.
21. Застосування за будь-яким з пп. 18, 19 або 20, в якому рак яєчників є метастатичним.
22. Застосування за будь-яким з пп. 18, 19 або 20, в якому інгібітор топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотечину, вибраний з групи, яка складається з топотекану, іринотекану, луртотекану, екзатекану і камптотечину.
23. Застосування за будь-яким з пп. 18, 19 або 20, в якому інгібітор топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотечину, вибраний з групи, яка складається з топотекану, іринотекану і камптотечину.
24. Застосування за будь-яким з пп. 18, 19 або 20, в якому інгібітор топоізомерази є похідним камптотечину.
25. Застосування за п. 24, в якому похідне камптотечину вибране з групи, яка складається з 10-гідроксикамптотечину, топотекану, іринотекану або 9-амінокамптотечину.
26. Застосування за будь-яким з пп. 18, 19 або 20, в якому інгібітор топоізомерази, який являє собою похідне камптотечину, є топотеканом.
27. Застосування за будь-яким з пп. 18, 19 або 20, яке викликає щонайменше один терапевтичний ефект, вибраний з групи, яка складається із зменшення розмірів пухлини яєчників, зменшення метастазування, повної ремісії, часткової ремісії, стабілізації хвороби або патологічної повної ремісії.
28. Застосування за будь-яким з пп. 18, 19 або 20, в якому рак яєчників є дефіцитним за репарацією ДНК гомологічною рекомбінацією.
29. Застосування за будь-яким з пп. 18, 19 або 20, в якому рак яєчників є дефіцитним за BRCA.
30. Застосування за п. 29, в якому дефіцит BRCA є дефіцитом BRCA1 або дефіцитом BRCA2 або дефіцитом як BRCA1, так і BRCA2.
31. Застосування за п. 18, в якому інгібітор топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотечину, вводять перед, одночасно або після введення 4-йод-3-нітробензаміду або його фармацевтично прийнятної солі.
32. Застосування за будь-яким з пп. 18, 19 або 20, в якому рак яєчників є епітеліальною пухлиною, пухлиною ембріональних клітин або пухлиною стромальних клітин.
33. Застосування 4-йод-3-нітробензаміду або його метаболіту, або його фармацевтично прийнятної солі і щонайменше одного інгібітора топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотечину, для виготовлення лікарських засобів для лікування пов'язаного з BRCA1 або BRCA2 прогресуючого епітеліального раку яєчників.

34. Набір, що включає комбінацію флаконів, де перший флакон включає 4-йод-3-нітробензамід або його метаболіт або фармацевтично прийнятну сіль, і другий флакон включає щонайменше один інгібітор топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотецину, для лікування прогресуючого раку яєчників.

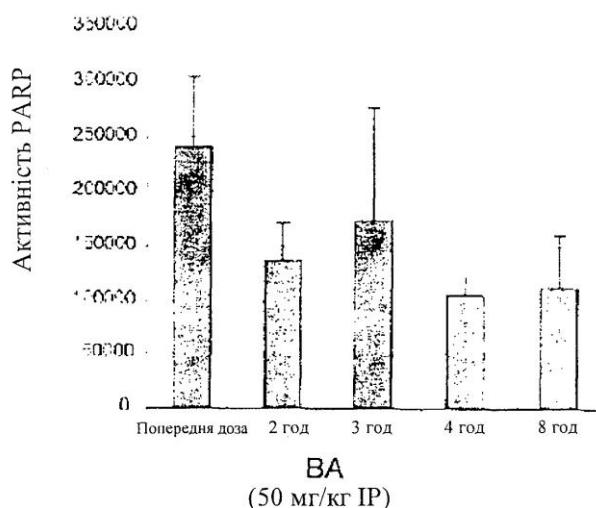
5 35. Застосування ефективної кількості 4-йод-3-нітробензаміду або його фармацевтично прийнятної солі і щонайменше одного інгібітора топоізомерази, який являє собою камптотецин або похідне камптотецину, для лікування прогресуючого раку яєчників у пацієнта-людини.

36. Застосування за п. 35, в якому рак яєчників є метастатичним.

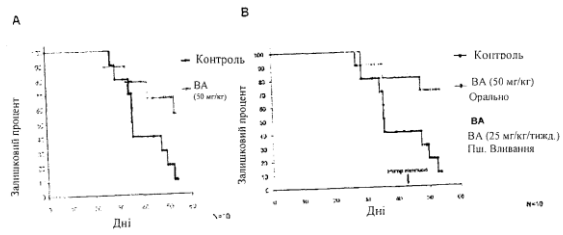
10



Фіг. 1



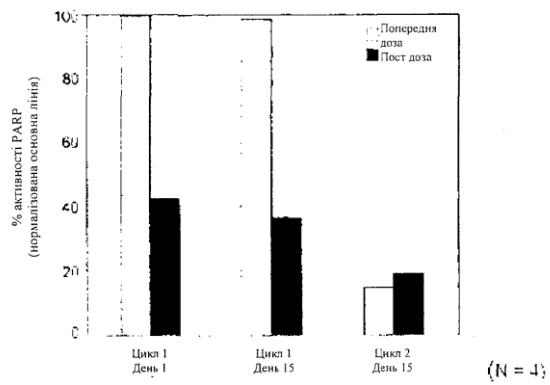
Фіг. 2



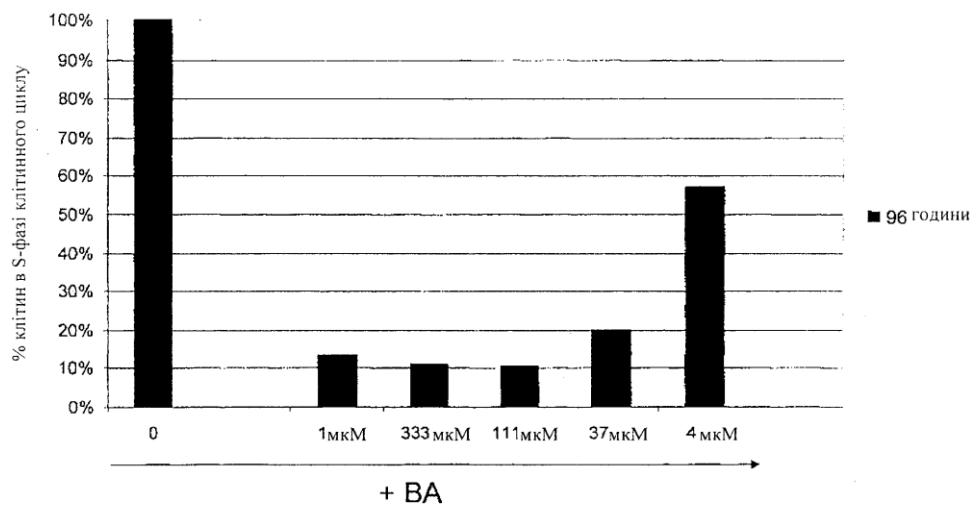
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фіг. 6

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601