

(22) Data de pedido: **2006.02.21**

(30) Prioridade(s): **2005.02.18 US 654245 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2007.11.14**

(45) Data e BPI da concessão: **2011.11.02**  
**025/2012**

(73) Titular(es):

**ABRAXIS BIOSCIENCE, LLC**

**11755 WILSHIRE BOULEVARD, SUITE 2100 CA**  
**90025, LOS ANGELES US**

(72) Inventor(es):

**PATRICK SOON-SHIONG**  
**NEIL P. DESAI**

**US**

**US**

(74) Mandatário:

**ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA**  
**RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA**

**PT**

(54) Epígrafe: **COMBINAÇÕES E MODOS DE ADMINISTRAÇÃO DE AGENTES TERAPÊUTICOS E TERAPIA DE COMBINAÇÃO**

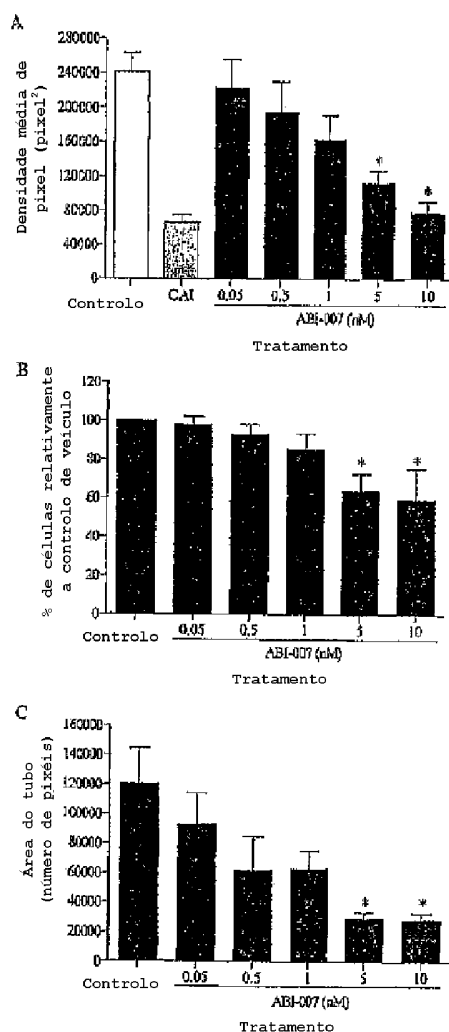
(57) Resumo:

O PRESENTE INVENTO PROPORCIONA MÉTODOS DE TERAPIA DE COMBINAÇÃO PARA TRATAR DOENÇAS PROLIFERATIVAS (TAL COMO CANCRO) COMPREENDENDO UMA PRIMEIRA TERAPIA COMPREENDENDO ADMINISTRAR A UM INDIVÍDUO UMA QUANTIDADE EFICAZ DE UM TAXANO NUMA COMPOSIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS E UMA SEGUNDA TERAPIA QUE PODE INCLUIR, POR EXEMPLO, RADIAÇÃO, CIRURGIA, ADMINISTRAÇÃO DE AGENTES QUIMIOTERAPÊUTICOS OU SUAS COMBINAÇÕES. TAMBÉM SE PROPORCIONAM MÉTODOS DE ADMINISTRAR A UM INDIVÍDUO UM FÁRMACO TAXANO NUMA COMPOSIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS BASEADA NUM REGIME DE DOSAGEM METRONÓMICO.

## RESUMO

**"Combinações e modos de administração de agentes  
terapêuticos e terapia de combinação"**

O presente invento proporciona métodos de terapia de combinação para tratar doenças proliferativas (tal como cancro) compreendendo uma primeira terapia compreendendo administrar a um indivíduo uma quantidade eficaz de um taxano numa composição de nanopartículas e uma segunda terapia que pode incluir, por exemplo, radiação, cirurgia, administração de agentes quimioterapêuticos ou suas combinações. Também se proporcionam métodos de administrar a um indivíduo um fármaco taxano numa composição de nanopartículas baseada num regime de dosagem metronómico.



## DESCRIÇÃO

### **"Combinações e modos de administração de agentes terapêuticos e terapia de combinação"**

## CAMPO TÉCNICO

O presente invento refere-se a métodos e composições para o tratamento de doenças proliferativas compreendendo a administração de uma combinação de um taxano e pelo menos um outro e outros agentes terapêuticos, assim como outras modalidades de tratamento úteis no tratamento de doenças proliferativas. Nomeadamente, o invento refere-se à utilização de nanopartículas compreendendo paclitaxel e albumina (tal como Abraxane™) em combinação com outros agentes quimioterapêuticos ou radiação, que se podem utilizar para o tratamento de cancro.

## ANTECEDENTES

O facto de um número significativo de tumores não responderem a terapia de fármaco e/ou radiação é um problema sério no tratamento de cancro. De facto, esta é uma das principais razões pela qual muitas das formas mais prevalentes de cancro humano ainda resistem a intervenção quimioterapêutica eficaz apesar de determinados avanços no campo da quimioterapia.

O cancro é actualmente principalmente tratado com um de três tipos de terapias ou uma sua combinação: cirurgia, radiação e quimioterapia. A cirurgia é uma abordagem tradicional na qual se remove do corpo todo ou parte de um tumor. A cirurgia é geralmente apenas eficaz para tratamento das etapas iniciais do cancro. Apesar de a cirurgia ser algumas vezes eficaz para a remoção de tumores com determinadas localizações, por exemplo, na mama, cólon e pele, não se pode utilizar no tratamento de tumores localizados noutras áreas inacessíveis aos cirurgiões nem no tratamento de doenças neoplásicas disseminadas tais como leucemia. Em mais de 50% dos indivíduos com cancro, quando este lhes é diagnosticado já não são candidatos para tratamento cirúrgico eficaz. O procedimento cirúrgico pode aumentar as metástases

de tumor através de circulação de sangue durante a cirurgia. A maioria dos indivíduos com cancro não morre do cancro aquando do diagnóstico ou cirurgia mas morre de metástases e reincidência do cancro.

Outras terapias são também muitas vezes ineficazes. A terapia de radiação apenas é eficaz para indivíduos que apresentam doença localizada clinicamente em estágios precoces e médios de cancro e não é eficaz para os estágios avançados de cancro com metástases. A radiação é geralmente aplicada a uma área definida do corpo do indivíduo que contém tecido proliferativo anómalo de modo a maximizar a dose absorvida pelo tecido anómalo e minimizar a dose absorvida pelo tecido normal circundante. É contudo difícil, se não mesmo impossível, administrar selectivamente radiação terapêutica ao tecido anómalo. Assim, o tecido normal na proximidade do tecido anómalo também é exposto a doses potencialmente prejudiciais de radiação durante o decurso do tratamento. Existem igualmente alguns tratamentos que necessitam de exposição de todo o corpo do indivíduo à radiação num procedimento denominado "irradiação corporal total" ou "TBI". A eficácia das técnicas de radioterapia na destruição de células proliferativas anómalas é assim contrabalançada por efeitos citotóxicos associados em células normais vizinhas. Por esta razão, as técnicas de radioterapia têm um índice terapêutico inerentemente estreito que resulta em tratamento desadequado para a maioria dos tumores. Mesmo as melhores técnicas radioterapêuticas podem resultar em redução incompleta de tumor, rescindência de tumor, aumento da carga de tumor e indução de tumores resistentes à radiação.

A quimioterapia envolve a interrupção da replicação celular ou do metabolismo celular. A quimioterapia pode ser eficaz mas existem efeitos secundários graves, e.g., vômitos, fórmula leucocitária (WBC) reduzida, perda de cabelo, perda de peso e outros efeitos tóxicos. Devido aos efeitos secundários extremamente tóxicos muitos indivíduos com cancro não podem terminar com sucesso um regime quimioterapêutico completo. Os efeitos secundários induzidos pela quimioterapia têm um impacto significativo na qualidade de vida do indivíduo e podem influenciar dramaticamente a adesão do indivíduo ao tratamento. Adicionalmente, os efeitos secundários adversos

associados com agentes quimioterapêuticos são geralmente a toxicidade dose-limitante (DLT) mais importante para a administração destes fármacos. Por exemplo, a mucosite é uma das toxicidades dose-limitante mais importante para vários agentes anticâncer incluindo os agentes citotóxicos antimetabolito 5-FU, metotrexato e antibióticos antitumor tal como doxorrubicina. Muitos destes efeitos secundários induzidos por quimioterapia, caso sejam graves, podem levar a hospitalização ou requerer tratamento com analgésicos para o tratamento da dor. Alguns indivíduos com cancro morrem da quimioterapia devido a baixa tolerância à quimioterapia. Os efeitos secundários extremos dos fármacos anticâncer são provocados pela fraca especificidade ao alvo de tais fármacos. Os fármacos circulam através da maioria dos órgãos normais do indivíduo assim como dos tumores alvo pretendidos. A fraca especificidade ao alvo que causa efeitos secundários também diminui a eficácia da quimioterapia porque apenas uma fracção dos fármacos é correctamente dirigida ao alvo. A eficácia da quimioterapia é adicionalmente diminuída pela fraca retenção de fármacos anticâncer no interior dos tumores alvo.

Devido à gravidade e amplitude do neoplasma, tumor e cancro há uma grande necessidade de tratamentos eficazes para tais doenças que ultrapassem as limitações da cirurgia, quimioterapia e radioterapia.

### **Problemas dos agentes quimioterapêuticos**

O problema da resistência a fármacos é a razão para uma importância adicional da quimioterapia de combinação uma vez que a terapia tem que evitar o aparecimento de células resistentes e também matar células pré-existentes que já sejam resistentes a fármacos.

A resistência a fármacos é o nome que se dá à circunstância de uma doença não responder a um tratamento com fármaco(s). A resistência a fármacos pode ser intrínseca, significando que a doença nunca foi sensível ao(s) fármaco(s) ou pode ser adquirida, significando que a doença deixou de ser sensível a um ou mais fármacos aos quais a doença era anteriormente sensível. A resistência a múltiplos fármacos (MDR) é um tipo específico de resistência a fármacos

caracterizado pela resistência cruzada de uma doença a mais do que um fármaco funcional e/ou estruturalmente não relacionados. A resistência a múltiplos fármacos no campo do cancro é discutida em maior detalhe em "Detoxification Mechanisms and Tumor Cell Resistance to Anticancer Drugs" por Kuzmich e Tew, nomeadamente a secção VII "The Multidrug-Resistant Phenotype (MDR)", Medical Research Reviews, Vol. 11, Nº 2, 185-217, (a secção VII é nas p. 208-213) (1991); e em "Multidrug Resistance and Chemosensitization: Therapeutic Implications for Cancer Chemotherapy" por Georges, Sharom e Ling, Advances in Pharmacology, Vol. 21, 185-220 (1990).

Uma forma de resistência a múltiplos fármacos (MDR) é mediada por uma bomba de efluxo ligada à membrana com 170-180 kD e dependente de energia designada como P-glicoproteína (P-gp). Demonstrou-se que a P-glicoproteína desempenha um papel principal na resistência intrínseca e na resistência adquirida em vários tumores humanos contra fármacos de produtos naturais hidrofóbicos. Os fármacos que actuam como substratos e que são consequentemente desintoxicados por P-gp incluem os alcalóides de vinca (vincristina e vinblastina), antraciclinas (adriamicina) e epipodofilotoxinas (etoposídeo). Apesar da MDR associada a P-gp ser um determinante principal na resistência de células de tumor a agentes quimioterapêuticos, é claro que o fenómeno de MDR é multifactorial e envolve vários mecanismos diferentes.

Uma complicação principal da quimioterapia de cancro e de quimioterapia antivírica são os danos às células da medula óssea ou a supressão da sua função. Especificamente, a quimioterapia danifica ou destrói células precursoras hematopoiéticas que se encontram principalmente na medula óssea e no baço, impedindo a produção de novas células sanguíneas (granulócitos, linfócitos, eritrócitos, monócitos, plaquetas, etc.). O tratamento de indivíduos com cancro com 5-fluorouracilo, por exemplo, reduz o número de leucócitos (linfócitos e/ou granulócitos) e pode resultar num aumento de susceptibilidade dos indivíduos à infecção. Muitos indivíduos com cancro morrem de infecção ou outras consequências de insuficiência hematopoiética subsequente à quimioterapia. Os agentes quimioterapêuticos podem também resultar na formação subnormal de plaquetas que resulta numa propensão para

hemorragias. A inibição da produção de eritrócitos pode resultar em anemia. Para alguns indivíduos com cancro, o risco de danos ao sistema hematopoiético ou outros tecidos importantes limita frequentemente a oportunidade para aumentar a dose de quimioterapia dos agentes de quimioterapia a níveis suficientemente elevados para proporcionar uma boa eficácia antitumor ou antivírica. Os ciclos de quimioterapia repetidos ou em doses elevadas podem ser responsáveis pela redução acentuada de células estaminais levando a sequelas hematopoiéticas e exaustão de medula graves a longo prazo.

A prevenção dos efeitos secundários da quimioterapia ou a protecção contra esses efeitos constituiria um grande benefício para os indivíduos com cancro. Relativamente a efeitos secundários potencialmente mortais os esforços têm-se concentrado na alteração da dose e planos do agente quimioterapêutico para reduzir os efeitos secundários. Estão a disponibilizar-se outras opções tais como a utilização de factor de estimulação de colónias de granulócitos (G-CSF), CSF granulócito-macrófago (GM-CSF), factor de crescimento epidérmico (EGF), interleuquina 11, eritropoietina, trombopoietina, factor de desenvolvimento e crescimento de megacariócitos, pixiquinas, factor de células estaminais, ligando FLT assim como interleuquinas 1, 3, 6 e 7 para aumentar o número de células normais em vários tecidos antes do início da quimioterapia (consultar Jimenez e Yunis, *Cancer Research* 52:413-415; 1992). Os mecanismos de protecção por estes factores, apesar de não serem completamente compreendidos, estão muito provavelmente associados a um aumento do número de células alvo críticas normais antes do tratamento com agentes citotóxicos e não a um aumento da sobrevivência celular após quimioterapia.

### **Alvos de quimioterapia para tratamento de tumores**

Tanto o crescimento como a metástase de tumores sólidos são dependentes de angiogénese (Folkman, J. *Cancer Res.*, 46, 467-73 (1986); Folkman, J. *Nat. Cancer Inst.*, 82, 4-6 (1989); Folkman et al., "Tumor Angiogenesis," capítulo 10, p. 206-32, em *The Molecular Basis of Cancer*, Mendelsohn et al., ed. (W. B. Saunders, 1995)). Demonstrou-se, por exemplo, que tumores que crescem até mais de 2 mm de diâmetro devem obter o seu

próprio fornecimento de sangue e fazê-lo por indução do crescimento de novos vasos sanguíneos capilares. Após estes novos vasos sanguíneos ficarem embebidos no tumor irão proporcionar nutrientes e factores de crescimento essenciais para crescimento de tumor assim como meios para as células de tumor entrarem na circulação e metastizarem para locais distantes tais como fígado, pulmão ou osso (Weidner, *New Eng. J. Med.*, 324(1), 1-8 (1991)). Os inibidores naturais da angiogénese podem evitar o crescimento de tumores pequenos quando utilizados como fármacos em animais com tumores (O'Reilly et al., *O'Reilly et al.*, *Cell*, 79, 315-28 (1994)). De facto, em alguns protocolos a aplicação de tais inibidores leva a regressão de tumor e inactividade mesmo após a cessação do tratamento (O'Reilly et al., *Cell*, 88, 277-85 (1997)). Além disso, o fornecimento de inibidores de angiogénese a determinados tumores pode potenciar a sua resposta a outros regimes terapêuticos (e.g., quimioterapia) (consultar, e.g., Teischer et al., *Int. J. Cancer*, 57, 920-25 (1994)).

As proteínas tirosina quinase catalisam a fosforilação de resíduos tirosilo específicos em várias proteínas envolvidas na regulação do crescimento e diferenciação celulares (A. F. Wilks, *Progress in Growth Factor Research*, 1990, 2, 97-111; S. A. Courtneidge, *Dev. Sup.* 1, 1993, 57-64; J. A. Cooper, *Semin. Cell Biol.*, 1994, 5(6), 377-387; R. F. Paulson, *Semin. Immunol.*, 1995, 7(4), 267-277; A. C. Chan, *Curr. Opin. Immunol.*, 1996, 8(3), 394-401). As proteínas tirosina quinase podem ser geralmente classificadas como quinases receptoras (e.g. EGFr, c-erbB-2, c-met, tie-2, PDGFr, FGFr) ou não receptoras (e.g. c-src, Ick, Zap70). Demonstrou-se que a activação inadequada ou descontrolada de muitas dessas quinases, i.e. actividade aberrante de proteína tirosina quinase, por exemplo por sobreexpressão ou mutação, resulta em crescimento celular descontrolado. Por exemplo, a actividade elevada de receptor de factor de crescimento epidérmico (EGFR) tem sido implicada em cancros de células não pequenas de pulmão, da bexiga e da cabeça e pescoço e actividade c-erbB-2 aumentada em cancros da mama, dos ovários, gástrico e pancreático. Assim, a inibição de proteínas tirosina quinase deve ser útil como tratamento de tumores tal como os acima enunciados.



Os factores de crescimento são substâncias que induzem proliferação celular tipicamente por ligação a receptores específicos nas superfícies celulares. O factor de crescimento epidérmico (EGF) induz a proliferação de várias células *in vivo* e é necessário para o crescimento da maioria das células em cultura. O receptor EGF é uma glicoproteína transmembranar de 170-180 kD, que é detectada numa grande variedade de tipos celulares. O domínio N-terminal extracelular do receptor é altamente glicosilado e liga anticorpos EGF que se ligam selectivamente a EGFR. Os agentes que ligam EGFR de forma competitiva têm sido utilizados para tratar determinados tipos de cancro dado que muitos tumores de origem mesodérmica e ectodérmica sobreexpressam o receptor EGF. Por exemplo, demonstrou-se que o receptor EGF era sobreexpresso em muitos gliomas, carcinomas de células escamosas, carcinomas de mama, melanomas, carcinomas invasivos da bexiga e cancros esofágicos. As tentativas de explorar o sistema EGFR para terapia antitumor envolveram geralmente a utilização de anticorpos monoclonais contra o EGFR. Além disso, estudos com tumores mamários humanos primários demonstraram uma correlação entre expressão elevada de EGFR e a presença de metástases, velocidades de proliferação mais elevadas e sobrevivência mais curta do indivíduo.

Herlyn et al., na patente U.S. 5 470 571 revela a utilização de Mab 425 marcado radioquimicamente para o tratamento de gliomas que expressam EGFR. Herlyn et al. reportam que os anticorpos anti-EGFR podem estimular ou inibir crescimento e proliferação de células de cancro. Relatou-se que outros anticorpos monoclonais com especificidade para EGFR, sozinhos ou conjugados com um composto citotóxico, são eficazes para tratar determinados tipos de cancro. Bendig et al, em patente U.S. 5 558 864, revelam Mab anti-EGFR terapêuticos para ligação competitiva a EGFR. Heimbrook et al., em patente U.S. 5 690 928, revela a utilização de EGF fundido a uma endotoxina derivada da espécie *Pseudomonas* para o tratamento de cancro de bexiga. Brown et al., em patente U.S. 5 859 018, revelam um método para tratar doenças caracterizadas por hiperproliferação celular mediada por, entre outros, EGF.

### **Modos de administração quimioterapêuticos**

As pessoas diagnosticadas com cancro são frequentemente tratadas com agentes quimioterapêuticos únicos ou múltiplos para matar células de cancro no local do tumor primário ou em locais distantes para os quais o cancro metastizou. O tratamento de quimioterapia é tipicamente administrado numa grande dose única ou em várias doses grandes ou ao longo de períodos de tempo variáveis de semanas a meses. Contudo, os ciclos de quimioterapia repetidos ou em doses elevadas podem ser responsáveis por toxicidade aumentada e efeitos secundários graves.

Estudos recentes sugerem que a quimioterapia metronómica, a administração frequente e em doses reduzidas de agentes citotóxicos sem quebras prolongadas de ausência de fármaco, se dirige a células endoteliais activadas na vasculatura de tumor. Vários estudos pré-clínicos demonstraram eficácia antitumor aumentada, efeitos anti-angiogénicos potentes e toxicidade e efeitos secundários reduzidos (e.g., mielossupressão) dos regimes metronómicos comparativamente com as equivalentes doses máximas toleradas (MTD) (Bocci, et al., *Cancer Res*, 62:6938-6943, (2002); Bocci, et al., *PNAS*, vol, 100(22):12917-12922, (2003); e Bertolini, et al., *Cancer Res*, 63(15):4342-4346, (2003)). Não é claro se todos os fármacos quimioterapêuticos exercem efeitos semelhantes ou se alguns são mais adequados para tais regimes do que outros. No entanto, a quimioterapia metronómica parece ser eficaz para ultrapassar algumas das principais limitações associadas com a quimioterapia.

### **Agentes quimioterapêuticos**

Demonstrou-se que o paclitaxel tem efeitos antineoplásicos e anticancro significativos em cancro dos ovários refractário a fármacos e tem excelente actividade antitumor numa grande variedade de modelos de tumor e também inibe angiogénese quando utilizado em doses muito baixas (Grant et al., *Int. J. Cancer*, 2003). A fraca solubilidade aquosa do paclitaxel, contudo, representa um problema para a administração humana. De facto, a entrega de fármacos que são inerente ou fracamente solúveis num meio aquoso pode ser gravemente prejudicada se a

entrega oral não for eficaz. Assim, as formulações de paclitaxel utilizadas correntemente (e.g., Taxol<sup>®</sup>) necessitam de um Cremophor<sup>®</sup> para solubilizar o fármaco. A presença de Cremophor<sup>®</sup> nesta formulação tem sido relacionada com reacções de hipersensibilidade grave em animais (Lorenz et al., *Agents Actions* 7:63-67 (1987)) e humanos (Weiss et al., *J. Clin. Oncol.* 8:1263-68 (1990)) e consequentemente necessita de pré-medicação dos indivíduos com corticosteróides (dexametasona) e anti-histamínicos. Foi igualmente relatado que concentrações clinicamente relevantes do veículo de formulação Cremophor<sup>®</sup> EL em Taxol<sup>®</sup> tornam nula a actividade anti-angiogénica do paclitaxel sugerindo que este agente ou outros fármacos anticancro formulados em Cremophor<sup>®</sup> EL podem necessitar de ser utilizados em doses muito mais elevadas do que se esperava para se obter quimioterapia metronómica eficaz (Ng et al., *Cancer Res.*, 64:821-824 (2004)). Como tal, pode estar comprometida a vantagem da falta de efeitos secundários indesejáveis associados a regimes de doses reduzidas de paclitaxel relativamente a quimioterapia MTD convencional. Consultar igualmente publicação de patente U.S. n° 2004/0143004; WO00/64437.

**Abraxane<sup>™</sup> é uma nanopartícula com paclitaxel ligado a albumina isenta de Cremophor<sup>®</sup> EL**

Os modelos pré-clínicos têm demonstrado melhorias significativas na segurança e eficácia de Abraxane<sup>™</sup> comparativamente a Taxol<sup>®</sup> (Desai et al., EORTC-NCI-AACR, 2004) e em indivíduos com cancro de mama metastático (O'Shaughnessy et al., San Antonio Breast Cancer Symposium, Resumo n° 1122, Dezembro de 2003). Tal deve-se possivelmente à ausência de tensioactivos (e.g., Cremophor<sup>®</sup> ou Tween<sup>®</sup> 80, utilizados em Taxol<sup>®</sup> e Taxotere<sup>®</sup>, respectivamente) no Abraxane<sup>™</sup> e/ou utilização preferencial de um mecanismo de transporte baseado em albumina que utiliza gp60/cavéolas em células endoteliais microvasculares (Desai et al., EORTC-NCI-AACR, 2004). Além disso, demonstrou-se que tanto Cremophor<sup>®</sup> como Tween<sup>®</sup> 80 inibem fortemente a ligação de paclitaxel à albumina afectando possivelmente o transporte baseado em albumina (Desai et al., EORTC-NCI-AACR, 2004). WO01/89522 também descreve nanopartículas de paclitaxel e albumina.

IDN5109 (Ortataxel) é um novo taxano, presentemente em fase II, seleccionado por não apresentar resistência cruzada em linhas de células tumorais que expressam o fenótipo resistente a múltiplos fármacos (MDR/Pgp) e inibição de P-glicoproteína (Pgp) (Minderman; *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2004; 53:363-9). Devido à sua hidrofobicidade, IDN5109 é presentemente formulado no tensioactivo Tween<sup>®</sup> 80 (mesmo veículo que Taxotere<sup>®</sup>). A remoção de tensioactivos das formulações de taxano e.g., no caso de nanopartículas de paclitaxel ligado a albumina (Abraxane<sup>™</sup>), demonstrou melhorias na segurança e eficácia relativamente aos seus equivalentes contendo tensioactivo (O'Shaughnessy et al., San Antonio Breast Cancer Symposium, resumo nº 1122, Dezembro de 2003). O Tween<sup>®</sup> 80 também inibiu fortemente a ligação do taxano paclitaxel a albumina, comprometendo possivelmente o transporte de fármaco baseado em albumina através do receptor gp60 em células epiteliais da microvasculatura (Desai et al., EORTC-NCI-AACR, 2004).

A actividade antitumor da colchicina, que é o alcalóide principal do açafrão-do-prado, *Colchicum autumnale* e do lírio-trepadeira africana, *Gloriosa superba*, foi primeiramente relatada no início do século XX. A elucidação da sua estrutura foi finalmente completada a partir de estudos de raios-X e várias sínteses totais (consultar Shiau et al., *J. Pharm. Sci.* 1978, 67(3) 394-397). Pensa-se que a colchicina é um veneno mitótico particularmente em células do timo, intestino e hematopoiéticas, que actua como um veneno do fuso e bloqueia o movimento ou actividade celular. Pensa-se que o seu efeito no fuso mitótico representa um caso especial dos seus efeitos em vários sistemas organizados, lábeis e fibrilares relacionados com estrutura e movimento.

Seleccionou-se o dímero tiocolchicina IDN5404 pela sua actividade na sub-linha celular de ovário humano resistente a cisplatina e topotecano A2780-CIS e A2780-TOP. Este efeito foi relacionado com mecanismos duplos de acção, i.e., actividade de microtúbulos tal como nos alcalóides de vinca e um efeito inibitório de topoisomerase I diferente de camptotecina. (Raspaglio, *Biochemical Pharmacology* 69:113-121 (2005)).

Verificou-se que as composições de nanopartículas de um taxano (tal como um paclitaxel ligado a albumina (Abraxane™)) têm toxicidades significativamente menores do que outros taxanos tais como Taxol® e Taxotere® com resultados significativamente melhorados tanto em segurança como em eficácia.

Verificou-se que a quimioterapia de combinação, e.g., combinar um ou mais agentes quimioterapêuticos ou outros modos de tratamento, e.g., combinar por exemplo quimioterapia com radiação ou cirurgia e quimioterapia, permitia melhores resultados do que quimioterapia com apenas um agente ou modos individuais de tratamento, respectivamente.

Outras referências incluem publicação U.S. n° 2006/0013819; publicações U.S. n° 2006/0003931; WO05/117986; WO05/117978; e WO05/000900.

São necessários tratamentos mais eficazes contra doenças proliferativas, especialmente cancro.

#### SUMÁRIO SUCINTO DO INVENTO

De acordo com o presente invento, proporciona-se uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma albumina para utilização em combinação com pelo menos um outro agente quimioterapêutico no tratamento de cancro, em que o referido agente quimioterapêutico é seleccionado de antimetabolitos, agentes baseados em platina, agentes alquilantes, inibidores de tirosina quinase, antibióticos de antraciclina, alcalóides de vinca, inibidores de proteassoma, macrolídeos, anticorpos terapêuticos, agentes anti-angiogénicos e inibidores de topoisomerase. Em algumas concretizações, a composição compreendendo nanopartículas compreende nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™). Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico é um agente baseado em platina tal como carboplatina.

Em algumas concretizações, a composição compreendendo nanopartículas compreende nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™). Em algumas

concretizações, o agente quimioterapêutico é um agente baseado em platina, tal como carboplatina.

Em algumas concretizações, a composição compreendendo nanopartículas (também referida como uma "composição de nanopartículas") e o agente quimioterapêutico são administradas simultaneamente, na mesma composição ou em composições independentes. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas e o agente quimioterapêutico são administrados sequencialmente, i.e., a composição de nanopartículas é administrada antes ou após a administração do agente quimioterapêutico. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico é simultânea, i.e., o período de administração da composição de nanopartículas e o período de administração do agente quimioterapêutico sobrepõem-se entre si. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico não é simultânea. Por exemplo, em algumas concretizações a administração da composição de nanopartículas termina antes da administração do agente quimioterapêutico. Em algumas concretizações, a administração do agente quimioterapêutico termina antes da administração da composição de nanopartículas.

Em algumas concretizações, a primeira terapia com taxano é paxlitaxel ligado a nanopartículas de albumina descrita, por exemplo, na patente U.S. 6 566 405 e disponível comercialmente com o nome comercial Abraxane™. Além disso, também se considera a primeira terapia com taxano como sendo nanopartículas de docetaxel ligadas a albumina descritas por exemplo em pedido de publicação de patente U.S. 2005/0004002A1.

Também descrevemos uma terapia de combinação para utilização no tratamento de cancro compreendendo uma primeira terapia compreendendo um taxano e uma segunda terapia seleccionada do grupo que consiste de agente quimioterapêutico e radiação ou suas combinações. A terapia de combinação pode ser administrada em qualquer de várias formas tal como sequencial ou simultaneamente e se for sequencial pode administrar-se o taxano antes ou após a segunda terapia apesar

de ser preferível que a primeira terapia compreendendo um taxano seja administrada primeiro. Considerar-se-á que a segunda terapia pode incluir mais do que um agente quimioterapêutico.

Também descrevemos regimes terapêuticos metronômicos. Assim, descrevemos um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina) em que a composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose de taxano em cada administração é de cerca de 0,25% a cerca de 25% da sua dose máxima tolerada após um regime de dosagem tradicional. Por exemplo, descremos um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) em que a composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose de paclitaxel em cada administração é cerca de 0,25% a cerca de 25% da sua dose máxima tolerada após um regime de dosagem tradicional. Em algumas concretizações, a dose do taxano (tal como paclitaxel, por exemplo Abraxane™) por administração é inferior a cerca de qualquer de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 18%, 20%, 22%, 24% ou 25% da dose máxima tolerada. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas é administrada pelo menos cerca de qualquer de 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x (i.e., diariamente) por semana. Em algumas concretizações, os intervalos entre cada administração são inferiores a cerca de qualquer de 7 dias, 6 dias, 5 dias, 4 dias, 3 dias, 2 dias e 1 dia. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos cerca de qualquer de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 30 e 36 meses.

Também descrevemos um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina), em que o taxano é administrado ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a

cerca de uma semana e em que a dose do taxano em cada administração é cerca de  $0,25 \text{ mg/m}^2$  a cerca de  $25 \text{ mg/m}^2$ . Por exemplo, descrevemos um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e uma proteína transportadora (tal como albumina) em que o paclitaxel é administrado ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose do taxano em cada administração é cerca de  $0,25 \text{ mg/m}^2$  a cerca de  $25 \text{ mg/m}^2$ . Em algumas concretizações a dose do taxano (tal como paclitaxel, por exemplo Abraxane™) por administração é inferior a cerca de qualquer de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18, 20, 22 e  $25 \text{ mg/m}^2$ . Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas é administrado pelo menos cerca de qualquer de 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x (i.e., diariamente) por semana. Em algumas concretizações, os intervalos entre cada administração são inferiores a cerca de qualquer de 7 dias, 6 dias, 5 dias, 4 dias, 3 dias, 2 dias e 1 dia. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas é administrado ao longo de um período de pelo menos cerca de qualquer de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 30 e 36 meses.

O invento refere-se geralmente a uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas compreende nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina. Em algumas concretizações, as nanopartículas paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas paclitaxel/albumina está substancialmente isenta (tal como está isenta) de tensioactivos (tal como Cremophor). Em algumas concretizações, a razão mássica entre albumina e paclitaxel na composição é de cerca de 18:1 ou menos, tal como cerca de 9:1 ou menos. Em algumas concretizações o paclitaxel está revestido com albumina. Em algumas concretizações, as nanopartículas paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm e a composição paclitaxel/albumina está substancialmente isenta (tal como está isenta) de tensioactivos (tal como Cremophor). Em algumas concretizações, as nanopartículas paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio



não superior a cerca de 200 nm e o paclitaxel está revestido com albumina. Abrangem-se igualmente outras combinações das características anteriores. Em algumas concretizações a composição de nanopartículas é Abraxane™. As composições de nanopartículas compreendendo outros taxanos (tal como docetaxel e ortataxel) podem também compreender uma ou mais das características anteriores.

Estes e outros aspectos e vantagens do presente invento tornar-se-ão evidentes a partir da descrição detalhada subsequente e das reivindicações anexas. Considera-se que uma, alguma ou todas as propriedades das várias concretizações aqui descritas podem ser combinadas para formar outras concretizações do presente invento.

#### DESCRIÇÃO SUCINTA DAS FIGURAS

A figura 1A apresenta o efeito de ABI-007 na angiogénese do anel aórtico de rato. A figura 1B apresenta o efeito de ABI-007 na proliferação de células endoteliais humanas. A figura 1C apresenta o efeito de ABI-007 na formação de tubos em células endoteliais.

A figura 2 apresenta a determinação de uma dose biológica óptima de ABI-007 para dosagem metronómica. Apresentam-se os níveis de progenitores endoteliais em circulação (CEP) viáveis em sangue periférico de ratinhos Balb/cJ em resposta a doses crescentes de ABI-007. Não tratado, controlo não tratado; S/A, controlo de veículo de solução salina/albumina. Barras, média  $\pm$  SE. \* Significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) do controlo não tratado.

As figuras 3A e 3B apresentam os efeitos de ABI-007 e Taxol utilizados em regimes metronómicos ou MTD sobre o crescimento de tumor MDA-MB-231 (A) e PC3 (B) em ratinhos SCID. As figuras 3C e 3D apresentam os efeitos de ABI-007 e Taxol utilizados em regimes metronómicos ou MTD sobre o peso corporal em ratinhos SCID com tumor MDA-MB-231 (C) e PC3 (D).

As figuras 4A e 4B apresentam alterações nos níveis de progenitores endoteliais em circulação (CEP) viáveis em sangue periférico de ratinhos SCID com tumor MDA-MB-231 (figura 4A) e

PC3 (figura 4B) após tratamento com A, solução salina/albumina; B, controlo de Cremophor EL; C, Taxol metronómico 1,3 mg/kg; D, E e F, ABI-007 metronómico 3, 6 e 10 mg/kg, respectivamente; G, Taxol a MTD; H, ABI-007 a MTD. Barras, média  $\pm$  SE. a Significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) de controlo de veículo de solução salina/albumina. b Significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) de controlo de veículo de Cremophor EL.

A figura 5A apresenta densidade intratumoral de microvasos de xenoenxertos MDA-MB-231 (■) e PC3 (□) tratados com A, solução salina/albumina; B, controlo de Cremophor EL; C, Taxol metronómico 1,3 mg/kg; D, E e F, ABI-007 metronómico 3, 6 e 10 mg/kg, respectivamente; G, Taxol a MTD; H, ABI-007 a MTD. Barras, média  $\pm$  SE. As figuras 5B e 5C apresentam a correlação entre densidade intratumoral de microvasos e o número de CEP viáveis em sangue periférico em ratinhos SCID com tumor MDA-MB-231 (figura 5B) e PC3 (figura 5C).

A figura 6 apresenta os efeitos de ABI-007 ou Taxol utilizados em regimes metronómico ou MTD sobre angiogénese induzida por factor de crescimento de fibroblastos básico (bFGF) em tampões de Matrigel injectados subcutaneamente nos flancos de ratinhos Balb/cJ. Tratamentos-A, solução salina/albumina; B, controlo de Cremophor EL; C, Taxol metronómico 1,3 mg/kg; D, E e F, ABI-007 metronómico 3, 6 e 10 mg/kg, respectivamente; G, Taxol a MTD; H, ABI-007 a MTD. Matrigel implantado sem bFGF (-bFGF) serviu como controlo negativo. Barras, média  $\pm$ SE.

A figura 7A e a figura 7B apresentam a actividade citotóxica de nab-rapamicina em combinação com Abraxane™ sobre células do músculo liso vascular. Avaliou-se a citotoxicidade por coloração com homodímero-1 de etídio (figura 7A) ou por coloração com calceína (figura 7B).

A figura 8 apresenta a actividade citotóxica de nab-rapamicina em combinação com Abraxane™ num modelo de xenoenxerto de carcinoma de cólon humano HT29.

A figura 9 apresenta a actividade citotóxica de nab-17-AAG em combinação com Abraxane™ num modelo de xenoenxerto de carcinoma de pulmão humano H358.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DO INVENTO

O presente invento proporciona métodos de terapia de combinação compreendendo uma primeira terapia compreendendo administração de nanopartículas compreendendo um taxano e albumina em conjunto com uma segunda terapia compreendendo administração de pelo menos um outro agente quimioterapêutico ou suas combinações. Também descrevemos métodos de terapia metronómica.

O presente invento envolve a revelação que Abraxane™, devido à sua elevada actividade antitumor e efeitos secundários e toxicidade reduzidas, pode ser administrado em combinação com outros fármacos terapêuticos e pode também ser utilizado em quimioterapia metronómica. Devido aos perfis de segurança significativamente melhorados com composições compreendendo nanopartículas de fármaco/proteína transportadora (tal como Abraxane™), acreditamos que a quimioterapia de combinação com tais composições de nanopartículas (tal como Abraxane™) é mais eficaz do que a quimioterapia de combinação com outros fármacos. Assim, as composições de nanopartículas (especialmente uma composição de nanopartículas paclitaxel/albumina, tal como Abraxane™), quando utilizadas em combinação com outros agentes quimioterapêuticos, devem ser muito eficazes e ultrapassar as deficiências de cirurgia, radioterapia e quimioterapia no tratamento de doença proliferativa (tal como cancro).

O presente invento numa das suas concretizações é a utilização de uma primeira terapia compreendendo um taxano, tal como Abraxane™, em combinação com uma segunda terapia que é outro agente quimioterapêutico para tratar cancro. A primeira terapia compreende um taxano e a segunda terapia pode ser administrada a um mamífero com cancro de forma sequencial ou pode ser co-administrada e mesmo administrada simultaneamente na mesma composição farmacêutica.

Além disso, verificou-se que um regime de dosagem metronómico utilizando Abraxane™ era mais eficaz do que o plano de dosagem MTD tradicional da mesma composição de fármaco. Também se verificou que tal regime de dosagem metronómico de Abraxane™ era mais eficaz do que dosagem metronómica de Taxol®.

As composições aqui descritas são geralmente úteis para tratamento de doenças, nomeadamente doenças proliferativas e em particular para o tratamento de cancro. Tal como aqui utilizado "tratamento" é uma abordagem para obter resultados clínicos benéficos ou desejáveis. Para os objectivos deste invento os resultados clínicos benéficos ou desejáveis incluem, entre outros, qualquer um ou mais de: alívio de um ou mais sintomas, diminuição da extensão da doença, estado de doença estabilizado (i.e., não piora), evitar ou atrasar o alastramento (e.g., metástase) da doença, evitar ou atrasar ocorrência ou reincidência da doença, atrasar ou tornar mais lenta a progressão da doença, melhoria do estado de doença e remissão (parcial ou total). Também se abrange em "tratamento" uma redução de consequências patológicas de uma doença proliferativa. Os métodos do invento abrangem qualquer um ou mais destes aspectos do tratamento.

Tal como aqui utilizado, uma "doença proliferativa" define-se como uma doença de tumor (incluindo benigno ou canceroso) e/ou quaisquer metástases, onde quer que se localizem o tumor ou as metástases, mais especificamente um tumor seleccionado do grupo compreendendo um ou mais de (e em algumas concretizações seleccionado do grupo que consiste de) cancro de mama, cancro geniturinário, cancro de pulmão, cancro gastrointestinal, cancro epidermóide, melanoma, cancro do ovário, cancro pancreático, neuroblastoma, cancro colorrectal, cancro da cabeça e pescoço. Em algumas concretizações a doença proliferativa é um tumor benigno ou maligno. Quando aqui anterior ou posteriormente se mencionar um tumor, uma doença de tumor, um carcinoma ou um cancro também se implicam, alternativa ou adicionalmente, metástases no órgão ou tecido original e/ou em qualquer outra localização, onde quer que sejam as localizações do tumor e/ou das metástases.

A expressão "quantidade eficaz" aqui utilizada refere-se a uma quantidade de um composto ou composição suficiente para tratar uma condição ou doença específicas tal como melhorar, paliar, diminuir e/ou atrasar um ou mais dos seus sintomas. Em referência a cancros ou outra proliferação celular indesejável, uma quantidade eficaz compreende uma quantidade suficiente para causar o encolhimento de um tumor e/ou para diminuir a taxa de crescimento do tumor (tal como para suprimir crescimento de tumor) ou para evitar ou atrasar outra proliferação celular não pretendida. Em algumas concretizações, uma quantidade eficaz é uma quantidade suficiente para atrasar o desenvolvimento. Em algumas concretizações, uma quantidade eficaz é uma quantidade suficiente para evitar ou atrasar ocorrência e/ou reincidência. Uma quantidade eficaz pode ser administrada em uma ou mais administrações. No caso de cancro, a quantidade eficaz do fármaco ou composição pode: (i) reduzir o número de células de cancro; (ii) reduzir o tamanho do tumor; (iii) inibir, atrasar, abrandar em alguma extensão e de preferência parar infiltração de células de cancro nos órgãos periféricos; (iv) inibir (i.e., abrandar em alguma extensão e de preferência parar) metástase de tumor; (v) inibir crescimento de tumor; (vi) evitar ou atrasar ocorrência e/ou reincidência de tumor; e/ou (vii) aliviar em alguma extensão um ou mais dos sintomas associados com o cancro.

Em algumas concretizações, proporcionam-se composições para utilização num método para tratar um tumor primário. Em algumas concretizações, proporcionam-se composições para utilização num método para tratar cancro metastático (ou seja, cancro que metastizou a partir do tumor primário). Em algumas concretizações, proporcionam-se composições para utilização num método para tratar cancro em estágio(s) avançado(s). Em algumas concretizações, proporcionam-se composições para utilização no tratamento de cancro de mama (que pode ser positivo ou negativo para HER2), incluindo, por exemplo, cancro de mama avançado, cancro de mama de estágio IV, cancro de mama localizado avançado e cancro de mama metastático. Em algumas concretizações, proporcionam-se composições para utilização no tratamento de cancro de pulmão, incluindo, por exemplo, cancro de pulmão de células não pequenas (NSCLC, tal como NSCLC avançado), cancro de pulmão de células pequenas

(SCLC, tal como SCLC avançado) e malignidade de tumor sólido avançada no pulmão. Em algumas concretizações, proporcionam-se composições para utilização num método para tratar qualquer de cancro de ovário, cancro da cabeça e pescoço, malignidades gástricas, melanoma (incluindo melanoma metastático), cancro colorrectal, cancro pancreático e tumores sólidos (tal como tumores sólidos avançados). Em algumas concretizações, proporciona-se um método de reduzir proliferação celular e/ou migração celular. O presente invento também proporciona métodos de atrasar o desenvolvimento de qualquer das doenças proliferativas aqui descritas.

A expressão "indivíduo" é um mamífero incluindo humanos. Um indivíduo inclui, entre outros, humano, bovino, cavalo, felino, canino, roedor ou primata. Em algumas concretizações o indivíduo é humano. O indivíduo (tal como humano) pode ter doença avançada ou doença de menor extensão tal como carga de tumor reduzida. Em algumas concretizações, o indivíduo está na fase precoce de uma doença proliferativa (tal como cancro). Em algumas concretizações, o indivíduo está num estágio avançado de uma doença proliferativa (tal como um cancro avançado). Em algumas concretizações o indivíduo é positivo para HER2. Em algumas concretizações o indivíduo é negativo para HER2.

Os métodos podem ser levados à prática num contexto de adjuvante. "Contexto de adjuvante" refere-se a um contexto clínico no qual um indivíduo teve uma história de uma doença proliferativa, nomeadamente cancro e geralmente (mas não necessariamente) foi sensível a terapia que inclui, entre outras, cirurgia (tal como ressecção cirúrgica), radioterapia e quimioterapia. Contudo, devido à sua história de doença proliferativa (tal como cancro) estes indivíduos consideram-se em risco de desenvolvimento da doença. O tratamento ou administração no "contexto de adjuvante" refere-se a um modo de tratamento subsequente. O grau de risco (i.e., quando um indivíduo num contexto de adjuvante se considera em "risco elevado" ou "risco reduzido") depende de vários factores, mais habitualmente da extensão da doença quando foi inicialmente tratada. Os métodos aqui proporcionados podem também ser levados à prática num contexto de neo-adjuvante, i.e., o método pode ser efectuado antes da terapia primária/definitiva. Em algumas concretizações o indivíduo foi

previamente tratado. Em algumas concretizações o indivíduo não foi previamente tratado. Em algumas concretizações o tratamento é uma terapia de primeira linha.

Considera-se que os aspectos e concretizações do invento aqui descritos incluem aspectos e concretizações "consistindo" e/ou "consistindo essencialmente de".

### **Terapia de combinação com agente quimioterapêutico**

O presente invento proporciona composições para utilização em métodos de tratar cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina; e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico. Em algumas concretizações, o taxano é qualquer um de (e em algumas concretizações consistindo essencialmente de) paclitaxel, docetaxel e ortataxel. Em algumas concretizações a composição de nanopartículas compreende Abraxane™. Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico é qualquer um de (e em algumas concretizações seleccionados do grupo que consiste de) agentes anti-metabolito (incluindo análogos de nucleósidos), agentes baseados em platina, agentes alquilantes, inibidores de tirosina quinase, antibióticos de antraciclina, alcalóides de vinca, inibidores de proteassoma, macrolídeos e inibidores de topoisomerase.

Em algumas concretizações, o tratamento compreende administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina; e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico. Em algumas concretizações, as nanopartículas de paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas paclitaxel/albumina está substancialmente isenta (tal como isenta) de tensioactivo (tal como Cremophor). Em algumas concretizações, a razão mássica de albumina para paclitaxel na composição é cerca de 18:1 ou menos tal como cerca de 9:1 ou menos. Em algumas concretizações o paclitaxel está revestido com albumina. Em algumas concretizações as nanopartículas

paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm e a composição de paclitaxel/albumina está substancialmente isenta (tal como isenta) de tensioactivo (tal como Cremophor). Em algumas concretizações as nanopartículas paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm e o paclitaxel está revestido com albumina. Em algumas concretizações a composição de nanopartículas é Abraxane™.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método de tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de Abraxane™ e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico. As combinações de fármaco preferidas para administração sequencial ou co-administração ou administração simultânea com Abraxane™ são aquelas que apresentam actividade antiproliferativa aumentada comparativamente com as componentes sozinhas, especialmente combinações que levam à regressão de tecidos proliferativos e/ou cura de doenças proliferativas.

Os agentes quimioterapêuticos aqui descritos podem ser os próprios agentes, seus sais farmacêuticamente aceitáveis e seus ésteres farmacêuticamente aceitáveis assim como estereoisómeros, enantiómeros, misturas racémicas e semelhantes. O(s) agente(s) quimioterapêutico(s) tal como descrito(s) podem ser administrados assim como uma composição farmacêutica contendo o(s) agente(s), em que a composição farmacêutica compreende um transportador farmacêuticamente aceitável ou semelhante.

O agente quimioterapêutico pode estar presente numa composição de nanopartículas. Por exemplo, em algumas concretizações, proporciona-se um método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina; e b) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo pelo menos um outro agente quimioterapêutico e uma proteína transportadora (tal como albumina). Em algumas concretizações, o método compreende administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma



composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™); e b) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo pelo menos um outro agente quimioterapêutico e uma proteína transportadora (tal como albumina). Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico é qualquer um de (e em algumas concretizações seleccionadas do grupo que consiste de) tiocolchicina ou os seus derivados (tal como tiocolchicina dimérica incluindo por exemplo *nab-5404*, *nab-5800* e *nab-5801*), rapamicina ou os seus derivados e geldanamicina ou os seus derivados (tal como 17-alilaminogeldanamicina (17-AAG)). Em algumas concretizações o agente quimioterapêutico é rapamicina. Em algumas concretizações o agente quimioterapêutico é 17-AAG.

Proporciona-se aqui um exemplo de listagem não limitativa de agentes quimioterapêuticos abrangidos. Os agentes quimioterapêuticos adequados incluem, por exemplo, alcalóides de vinca, agentes que destroem a formação de microtúbulos (tal como colchicinas e seus derivados), agentes anti-angiogénicas, anticorpos terapêuticos, agentes de alvejamento de EGFR, agente de alvejamento de tirosina quinase (tal como inibidores de tirosina quinase), complexos de metais de transição, inibidores de proteassoma, anti-metabolitos (tal como análogos de nucleósidos), agentes alquilantes, agentes baseados em platina, antibióticos de antraciclina, inibidores de topoisomerase, macrolídeos, anticorpos terapêuticos, retinóides (tal como ácidos retinóicos *trans* ou derivados dos mesmos); geldanamicina ou um seu derivado (tal como 17-AAG) e outros agentes quimioterapêuticos padrão bem reconhecidos na especialidade.

Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico é qualquer de (e em algumas concretizações seleccionado do grupo que consiste de) adriamicina, colchicina, ciclofosfamida, actinomicina, bleomicina, daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina, mitomicina, metotrexato, mitoxantrona, fluorouracilo, carboplatina, carmustina (BCNU), metil-CCNU, cisplatina, etoposídeo, interferões, camptotecina e seus derivados, fenestrina, taxanos e seus derivados (e.g., paclitaxel e seus derivados, taxotere e seus derivados e

semelhantes), topotecano, vinblastina, vincristina, tamoxifeno, pipossulfano, nab-5404, nab-5800, nab-5801, irinotecano, HKP, ortataxel, gemcitabina, Herceptin®, vinorelbina, Doxil®, capecitabina, Alimta®, Avastin®, Velcade®, Tarceva®, Neulasta®, lapatinib, sorafenib, seus derivados, agentes quimioterapêuticos conhecidos na especialidade e semelhantes. Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico é uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um derivado de tiocolchicina e uma proteína transportadora (tal como albumina).

Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico é um agente antineoplásico incluindo, entre outros, carboplatina, Navelbine® (vinorelbina), antraciclina (Doxil®), lapatinib (GW57016), Herceptin®, gemcitabina (Gemzar®), capecitabina (Xeloda®), Alimta®, cisplatina, 5-fluorouracilo, epirrubicina, ciclofosfamida, Avastin®, Velcade®, etc.

Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico é um antagonista de outros factores que estão envolvidos em crescimento de tumor, tal como EGFR, ErbB2 (também conhecido como Herb), ErbB3, ErbB4 ou TNF. Por vezes pode ser benéfico administrar igualmente uma ou mais citocinas ao indivíduo. Em algumas concretizações o agente terapêutico é um agente de inibição de crescimento. As dosagens adequadas para o agente de inibição de crescimento são as presentemente utilizadas e podem ser diminuídas devido à acção combinada (sinergia) do agente de inibição de crescimento e do taxano.

Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico é um agente quimioterapêutico diferente de um anticorpo anti-VEGF, um anticorpo HER2, interferão e um antagonista HGFβ.

A referência aqui a um agente quimioterapêutico aplica-se ao agente quimioterapêutico ou aos seus derivados e de acordo com o invento considera e inclui qualquer uma destas concretizações (agente; agente ou derivado(s)). "Derivados" ou "análogos" de um agente quimioterapêutico ou outra parte química incluem, entre outros, compostos que são estruturalmente semelhantes ao agente quimioterapêutico ou parte ou são da mesma classe química geral do que o agente quimioterapêutico ou parte. Em algumas concretizações, o

derivado o análogo do agente ou parte quimioterapêutica mantém propriedades químicas e/ou físicas semelhantes (incluindo, por exemplo, funcionalidade) do agente ou parte quimioterapêutica.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma quantidade eficaz de um inibidor de tirosina quinase. Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar um cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e b) uma quantidade eficaz de um inibidor de tirosina quinase. Os inibidores de tirosina quinases adequados incluem, por exemplo, imatinib (Gleevec®), gefitinib (Iressa®), Tarceva, Sutent® (malato de sunitiniba) e lapatinib. Em algumas concretizações o inibidor de tirosina quinase é lapatinib. Em algumas concretizações o inibidor de tirosina quinase é Tarceva. Tarceva é uma pequena molécula inibidora de factor de crescimento epidérmico humano de tipo 1/receptor de factor de crescimento epidérmico (HER1/EGFR) que demonstrou, num ensaio clínico de fase III, uma sobrevivência aumentada em indivíduos com cancro avançado de pulmão de células não pequenas (NSCLC). Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de cancro de mama incluindo tratamento de cancro de mama metastático e tratamento de cancro de mama num contexto de neo-adjuvante. Em algumas concretizações as composições são para o tratamento de tumor sólido avançado. Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para inibir a proliferação de tumores que expressam EGFR num mamífero compreendendo administrar a um mamífero infectado com tais tumores Abraxane™ e gefitinib, em que o gefitinib é administrado por dosagem por impulsos.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma

quantidade eficaz de um agente anti-metabolito (tal como um análogo de nucleósido, incluindo por exemplo análogos de purina e análogos de pirimidina). Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e b) uma quantidade eficaz de um agente anti-metabolito. Um "agente antimetabólico" é um agente que é estruturalmente semelhante a um metabolito mas não pode ser utilizado no corpo de uma forma produtiva. Muitos agentes anti-metabolito interferem com a produção de ácidos nucleicos, ARN e ADN. Por exemplo, o anti-metabolito pode ser um análogo de nucleósido que inclui, entre outros, azacitidina, azatioprina, capecitabina (Xeloda®), citarabina, cladribina, arabinósido de citosina (ara-C, citosar), doxifluridina, fluorouracilo (tal como 5-fluorouracilo), UFT, hidroxiureia, gemcitabina, mercaptopurina, metotrexato, tioguanina (tal como 6-tioguanina). Outros anti-metabolitos incluem, por exemplo, L-asparaginase (Elspa), decarbazina (DTIC), 2-desoxi-D-glucose e procarbazina (matulano). Em algumas concretizações, o análogo de nucleósido é qualquer de (e em algumas concretizações seleccionadas do grupo que consiste de) gemcitabina, fluorouracilo e capecitabina. Em algumas concretizações, as composições são para o tratamento de cancro de mama metastático ou cancro de mama localizado avançado. Em algumas concretizações, as composições são para utilização num método para tratamento de primeira linha de cancro de mama metastático. Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de cancro de mama num contexto de neo-adjuvante. Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de qualquer de NSCLC, cancro colorrectal metastático, cancro pancreático ou tumor sólido avançado.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método de tratar cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma quantidade eficaz de um agente alquilante. Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método de tratar cancro num indivíduo,

compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e b) uma quantidade eficaz de um agente alquilante. Os agentes alquilantes adequados incluem, entre outros, ciclofosfamida (Cytosan), mecloretamina, clorambucil, melfalano, carmustina (BCNU), tiotepa, bussulfano, alquilsulfonatos, etileniminas, análogos de mostarda de azoto, fosfato de sódio de estramustina, ifosfamida, nitrosureias, lomustina e estreptozocina. Em algumas concretizações o agente alquilante é ciclofosfamida. Em algumas concretizações, a ciclofosfamida é administrada antes da administração da composição de nanopartículas. Em algumas concretizações as composições são para tratamento de um cancro de mama em fase inicial. Em algumas concretizações, as composições são para o tratamento de um cancro de mama num contexto de um adjuvante ou um neo-adjuvante.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma quantidade eficaz de um agente baseado em platina. Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e b) uma quantidade eficaz de um agente baseado em platina. Os agentes baseados em platina adequados incluem, entre outros, carboplatina, cisplatina e oxaliplatina. Em algumas concretizações o agente baseado em platina é carboplatina. Em algumas concretizações as composições são para o tratamento de: cancro de mama (positivo ou negativo para HER2 incluindo cancro de mama metastático e cancro de mama avançado); cancro de pulmão (incluindo NSCLC avançado, NSCLC de primeira linha, SCLC e malignidades de tumor sólido avançadas no pulmão); cancro do ovário; cancro da cabeça e pescoço; e melanoma (incluindo melanoma metastático).

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma quantidade eficaz de um antibiótico de antraciclina. Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e uma proteína transportadora (tal como albumina) e b) uma quantidade eficaz de um antibiótico de antraciclina. Os antibióticos de antraciclina adequados incluem, entre outros, Doxil®, actinomicina, dactinomicina, daunorrubicina (daunomicina), doxorubicina (adriamicina), epirubicina, idarrubicina, mitoxantrona, valrubicina. Em algumas concretizações, a antraciclina é qualquer de (e em algumas concretizações seleccionada do grupo que consiste de) Doxil®, epirubicina e doxorubicina. Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de um cancro de mama em estágio inicial. Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de um cancro de mama num contexto de adjuvante ou de neo-adjuvante.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma quantidade eficaz de um alcalóide de vinca. Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo palitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e uma proteína transportadora (tal como albumina) e b) uma quantidade eficaz de um alcalóide de vinca. Os alcalóides de vinca adequados incluem, por exemplo, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina (Navelbine®) e VP-16. Em algumas concretizações o alcalóide de vinca é vinorelbina (Navelbine®). Em algumas concretizações as composições são

para tratamento de cancro de mama de estágio IV e cancro de pulmão.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma quantidade eficaz de um macrolídeo. Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e uma proteína transportadora (tal como albumina) e b) uma quantidade eficaz de um macrolídeo. Os macrolídeos adequados incluem, por exemplo, rapamicina, carbomicina e eritromicina. Em algumas concretizações o macrolídeo é rapamicina ou um seu derivado. Em algumas concretizações as composições são para tratamento de um tumor sólido.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma quantidade eficaz de um inibidor de topoisomerase. Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e uma proteína transportadora (tal como albumina) e b) uma quantidade eficaz de um inibidor de topoisomerase. Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico é um inibidor de topoisomerase incluindo, por exemplo, inibidor de topoisomerase I e topoisomerase II. Os exemplos de inibidores de topoisomerase I incluem, entre outros, camptotecina tal como irinotecano e topotecano. Os exemplos de inibidores de topoisomerase II incluem, entre outros, amsacrina, etoposídeo, fosfato de etoposídeo e teniposídeo.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma quantidade eficaz de um agente anti-angiogénico. Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e uma proteína transportadora (tal como albumina) e b) uma quantidade eficaz de um agente anti-angiogénico. Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de cancro de mama metastático, cancro de mama num contexto de adjuvante ou de neo-adjuvante, cancro de pulmão (tal como NSCLC avançado de primeira linha e NSCLC), cancro do ovário e melanoma (incluindo melanoma metastático).

Muitos agentes anti-angiogénicos foram identificados e são conhecidos na especialidade incluindo os listados por Carmeliet e Jain (2000). O agente anti-angiogénico pode ser de ocorrência natural ou ocorrência não natural. Em algumas concretizações o agente quimioterapêutico é um péptido anti-angiogénico sintético. Por exemplo, foi anteriormente relatado que a actividade anti-angiogénica de péptidos pró-aptóicos sintéticos pequenos compreende dois domínios funcionais, um que tem como alvo os receptores CD13 (aminopeptidase N) em microvasos de tumor e o outro que destrói a membrana mitocondrial após internalização. Nat. Med. 1999, 5(9):1032-8. Verificou-se que um péptido dimérico de segunda geração, CNGRC-GG-d(KLAKLAK)<sub>2</sub> denominado HKP (péptido caçador-assassino) tinha actividade antitumor melhorada. Assim, em algumas concretizações o péptido anti-angiogénico é HKP. Em algumas concretizações o agente anti-angiogénico é diferente de um anticorpo anti-VEGF (tal como Avastin®).

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma



quantidade eficaz de um inibidor de proteassoma, tal como bortezomib (Velcade). Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e uma proteína transportadora (tal como albumina) e b) uma quantidade eficaz de um inibidor de proteassoma tal como bortezomib (Velcade).

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina e b) uma quantidade eficaz de um anticorpo terapêutico. Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™) e uma proteína transportadora (tal como albumina) e b) uma quantidade eficaz de um anticorpo terapêutico. Os anticorpos terapêuticos adequados incluem, entre outros, anticorpo anti-VEGF (tal como Avastin® (bevacizumab)), anticorpo anti-HER2 (tal como Herceptin® (trastuzumab)), Erbitux® (cetuximab), Campath (alemtuzumab), Myelotarg (gemtuzumab), Zevalin (ibritumomab tiuxetan, Rituxan (rituximab) e Bexxar (tositumomab). Em algumas concretizações o agente quimioterapêutico é Erbitux® (cetuximab). Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico é um anticorpo terapêutico diferente de um anticorpo contra VEGF ou HER2. Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de um cancro de mama positivo para HER2, incluindo tratamento de cancro de mama avançado, tratamento de cancro metastático, tratamento de cancro de mama num contexto de adjuvante e tratamento de cancro num contexto de neo-adjuvante. Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de qualquer cancro de mama metastático, cancro de mama num contexto de adjuvante ou num contexto de neo-adjuvante, cancro de pulmão (tal como NSCLC avançado de primeira linha e NSCLC), cancro do ovário, cancro da cabeça e pescoço e melanoma (incluindo

melanoma metastático). Por exemplo, em algumas concretizações, proporciona-se composições para tratamento de cancro de mama metastático positivo para HER2 num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo composição de nanopartículas paclitaxel/albumina (tal como Abraxane™) a 125 mg/m<sup>2</sup> semanalmente durante três semanas com paragem durante a quarta semana, simultaneamente com a administração de Herceptin®.

Em algumas concretizações, administram-se dois ou mais agentes quimioterapêuticos além do taxano na composição de nanopartículas. Estes dois ou mais agentes quimioterapêuticos podem (mas não necessariamente) pertencer a classes diferentes de agentes quimioterapêuticos. Proporcionam-se aqui exemplos destas combinações. Consideram-se também outras combinações.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina, b) uma quantidade eficaz de um anti-metabolito (tal como um análogo de nucleósido, por exemplo, gemcitabina) e c) um antibiótico de antraciclina (tal como epirrubicina). Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™), b) uma quantidade eficaz de um anti-metabolito (tal como um análogo de nucleósido, por exemplo, gemcitabina) e c) uma quantidade eficaz de um antibiótico de antraciclina (tal como epirrubicina). Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de cancro de mama num contexto de neo-adjuvante. Por exemplo, em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro localizado avançado/inflamatório num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo de composição de nanopartículas paclitaxel/albumina (tal como Abraxane™) a 220 mg/m<sup>2</sup> de duas em duas semanas; gemcitabina a 2000 mg/m<sup>2</sup> de duas em duas semanas; e epirrubicina a 50 mg/m<sup>2</sup> de duas em duas semanas. Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro de mama num indivíduo num contexto de adjuvante, compreendendo

administrar ao indivíduo composição de nanopartículas paclitaxel/albumina (tal como Abraxane™) a 175 mg/m<sup>2</sup> de duas em duas semanas, gemcitabina a 2000 mg/m<sup>2</sup> de duas em duas semanas e epirrubicina a 50 mg/m<sup>2</sup> de duas em duas semanas.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina, b) uma quantidade eficaz de um agente baseado em platina (tal como carboplatina) e c) um anticorpo terapêutico (tal como anticorpo anti-HER2 (tal como Herceptin®) e anticorpo anti-VEGF (tal como Avastin®)). Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™), b) uma quantidade eficaz de um agente baseado em platina (tal como carboplatina) e c) um anticorpo terapêutico (tal como anticorpo anti-HER2 (tal como Herceptin®) e anticorpo anti-VEGF (tal como Avastin®)). Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de qualquer de cancro de mama avançado, cancro de mama metastático, cancro de mama num contexto de adjuvante e cancro de pulmão (incluindo NSCLC e NSCLC avançado). Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro metastático num indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo composição de nanopartículas paclitaxel/albumina (tal como Abraxane™) a 75 mg/m<sup>2</sup> e carboplatina, AUC=2, em que a administração é efectuada semanalmente durante três semanas com paragem durante a quarta semana. Em algumas concretizações, o tratamento compreende adicionalmente administrar semanalmente cerca de 2-4 mg/kg de Herceptin®.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina, b) uma quantidade eficaz de um agente baseado em platina (tal como carboplatina) e c) um alcalóide de vinca (tal como Navelbine®). Em algumas

concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™), b) uma quantidade eficaz de um agente baseado em platina (tal como carboplatina) e c) um alcalóide de vinca (tal como Navelbine®). Em algumas concretizações as composições são para tratamento de cancro de pulmão.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e albumina, b) uma quantidade eficaz de um agente alquilante (tal como ciclofosfamida) e c) um antibiótico de antraciclina (tal como adriamicina). Em algumas concretizações, o invento proporciona composições para utilização num método para tratar cancro num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina, b) uma quantidade eficaz de um agente alquilante (tal como ciclofosfamida) e c) um antibiótico de antraciclina (tal como adriamicina). Em algumas concretizações as composições são para tratamento de um cancro de mama em estágio inicial. Em algumas concretizações, as composições são para tratamento de um cancro de mama num contexto de adjuvante ou de neo-adjuvante. Por exemplo, em algumas concretizações proporciona-se composições para utilização num método para tratar um cancro de mama em estágio inicial num indivíduo, compreendendo administrar composição de nanopartículas paclitaxel/albumina (tal como Abraxane™) a  $260 \text{ mg/m}^2$ , adriamicina a  $60 \text{ mg/m}^2$  e ciclofosfamida a  $600 \text{ mg/m}^2$ , em que a administração é efectuada uma vez de duas em duas semanas.

Proporcionam-se outras concretizações na tabela 1. Por exemplo, em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro de mama avançado num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um paclitaxel e uma albumina (tal

como Abraxane™), b) uma quantidade eficaz de carboplatina. Em algumas concretizações, o tratamento compreende adicionalmente administrar uma quantidade eficaz de Herceptin® ao indivíduo. Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro de mama metastático num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™), b) uma quantidade eficaz de gemcitabina. Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro avançado de pulmão de células não pequenas num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™), b) uma quantidade eficaz de carboplatina.

Em algumas concretizações, proporciona-se uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel, docetaxel ou ortataxel) e uma proteína transportadora (tal como albumina) e pelo menos um outro agente quimioterapêutico. As composições aqui descritas podem compreender quantidades eficazes do taxano e do agente quimioterapêutico para o tratamento de uma doença proliferativa (tal como cancro). Em algumas concretizações, o agente quimioterapêutico e o taxano estão presentes na composição a uma razão predeterminada, tal como as razões em massa aqui descritas. Em algumas concretizações, o invento proporciona uma composição sinérgica de uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel, docetaxel ou ortataxel) e uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico.

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições farmacêuticas compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina) para utilização no tratamento de uma doença proliferativa (tal como cancro) em que a referida utilização compreende administração simultânea e/ou sequencial de pelo menos um outro agente quimioterapêutico. Em algumas concretizações, o invento proporciona uma composição

farmacêutica compreendendo um agente quimioterapêutico para utilização no tratamento de uma doença proliferativa (tal como cancro) em que a referida utilização compreende administração simultânea e/ou sequencial de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina). Em algumas concretizações, o invento proporciona composições de nanopartículas contendo taxano e composições compreendendo um outro agente quimioterapêutico para utilização simultânea e/ou sequencial para tratamento de uma doença proliferativa (tal como cancro).

#### *Modos de administração*

A composição compreendendo nanopartículas compreendendo taxano (também referida como "composição de nanopartículas") e o agente quimioterapêutico podem ser administrados simultânea (i.e., administração simultânea) e/ou sequencialmente (i.e., administração sequencial).

Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas e o agente quimioterapêutico (incluindo os agentes quimioterapêuticos específicos aqui descritos) são administrados simultaneamente. A expressão "administração simultânea", tal como aqui utilizada, significa que a composição de nanopartículas e o agente quimioterapêutico são administrados com uma separação temporal não superior a cerca de 15 minutos tal como não superior a cerca de qualquer de 10, 5 ou 1 minuto(s). Quando se administram os fármacos simultaneamente, o fármaco nas nanopartículas e o agente quimioterapêutico podem estar contidos na mesma composição (e.g., uma composição compreendendo tanto as nanopartículas como o agente quimioterapêutico) ou em composições independentes (e.g., as nanopartículas estão contidas numa composição e o agente quimioterapêutico está contido noutra composição). Por exemplo, o taxano e o agente quimioterapêutico podem estar presentes numa única composição contendo pelo menos duas nanopartículas diferentes em que algumas das nanopartículas da composição compreendem o taxano e uma proteína transportadora e algumas das outras nanopartículas na composição compreendem o agente quimioterapêutico e uma proteína transportadora. O invento considera e abrange tais composições. Em algumas

concretizações apenas o taxano está contido nas nanopartículas. Em algumas concretizações, a administração simultânea do fármaco na composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico podem ser combinadas com doses suplementares do taxano e/ou do agente quimioterapêutico.

Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas e o agente quimioterapêutico são administrados sequencialmente. A expressão "administração sequencial" tal como aqui utilizada significa que o fármaco na composição de nanopartículas e o agente quimioterapêutico são administrados com uma separação temporal superior a cerca de 15 minutos tal como superior a cerca de qualquer de 20, 30, 40, 50, 60 ou mais minutos. Tanto a composição de nanopartículas como o agente quimioterapêutico podem ser administrados primeiro. A composição de nanopartículas e o agente quimioterapêutico estão contidos em composições independentes que podem estar contidas na mesma embalagem ou em embalagens diferentes.

Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico são simultâneas, i.e., o período de administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico sobrepõe-se. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico não são simultâneas. Por exemplo, em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas termina antes da administração do agente quimioterapêutico. Em algumas concretizações, a administração do agente quimioterapêutico termina antes da administração da composição de nanopartículas. O período de tempo entres estas duas administrações não simultâneas pode variar desde cerca de duas a oito semanas, tal como cerca de quatro semanas.

A frequência de dosagem da composição de nanopartículas contendo fármaco e do agente quimioterapêutico pode ser ajustada ao longo do decorrer do tratamento com base no parecer do médico assistente. Quando administradas independente, a composição de nanopartículas contendo fármaco e o agente quimioterapêutico podem ser administrados com frequências de dosagem ou intervalos diferentes. Por exemplo, a composição de nanopartículas contendo fármaco pode ser

administrada semanalmente enquanto um agente quimioterapêutico pode ser administrado mais ou menos frequentemente. Em algumas concretizações, pode utilizar-se uma formulação de libertação controlada das nanopartículas contendo fármaco e/ou do agente quimioterapêutico. Conhecem-se na especialidade diferentes formulações e dispositivos para obter libertação controlada.

A composição de nanopartículas e o agente quimioterapêutico podem ser administrados utilizando a mesma via de administração ou vias de administração diferentes. Em algumas concretizações (para administrações tanto simultâneas como sequenciais), o taxano na composição de nanopartículas e o agente quimioterapêutico são administrados a uma razão predeterminada. Por exemplo, em algumas concretizações a razão mássica do taxano na composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico é de cerca de 1 para 1. Em algumas concretizações, a razão mássica pode ser entre cerca de 0,001 e cerca de 1 e entre cerca de 1000 e cerca de 1 ou entre cerca de 0,01 e cerca de 1 e entre cerca de 100 e cerca de 1. Em algumas concretizações, a razão mássica do taxano na composição de nanopartículas e de agente quimioterapêutico é inferior a cerca de qualquer de 100:1, 50:1, 30:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 e 1:1. Em algumas concretizações, a razão mássica do taxano na composição de nanopartículas e de agente quimioterapêutico é superior a cerca de qualquer de 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 30:1, 50:1, 100:1. Consideram-se outras razões.

As doses necessárias para o taxano e/ou para o agente quimioterapêutico podem (mas não necessariamente) ser inferiores ao que é normalmente necessário quando cada agente é administrado sozinho. Assim, em algumas concretizações, administra-se uma quantidade sub-terapêutica do fármaco na composição de nanopartículas e/ou do agente quimioterapêutico. "Quantidade sub-terapêutica" ou "nível sub-terapêutico" referem-se a uma quantidade que é inferior à quantidade terapêutica, ou seja, inferior à quantidade normalmente utilizada quando o fármaco na composição de nanopartículas e/ou o agente quimioterapêutico são administrados sozinhos. A redução pode reflectir-se em termos da quantidade administrada durante uma dada administração e/ou em termos da quantidade



administrada ao longo de um determinado período de tempo (frequência reduzida).

Em algumas concretizações, administra-se agente quimioterapêutico suficiente de modo a permitir redução da dose normal do fármaco na composição de nanopartículas necessária para realizar o mesmo grau de tratamento em pelo menos cerca de qualquer de 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ou mais. Em algumas concretizações, administra-se fármaco suficiente na composição de nanopartículas de modo a permitir redução da dose normal do agente quimioterapêutico necessário para efectuar o mesmo grau de tratamento em pelo menos cerca de qualquer de 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ou mais.

Em algumas concretizações, a dose tanto do taxano na composição de nanopartículas como do agente quimioterapêutico são reduzidas comparativamente com a dose normal correspondente de cada um quando administrados sozinhos. Em algumas concretizações, tanto o taxano na composição de nanopartículas como o agente quimioterapêutico são administrados a um nível sub-terapêutico, i.e., reduzido. Em algumas concretizações, a dose da composição de nanopartículas e/ou do agente quimioterapêutico é substancialmente inferior à dose tóxica máxima (MTD) estabelecida. Por exemplo, a dose da composição de nanopartículas e/ou do agente quimioterapêutico é inferior a cerca de 50%, 40%, 30%, 20% ou 10% da MTD.

Pode utilizar-se uma combinação das configurações de administração aqui descritas. Os métodos de terapia de combinação aqui descritos podem ser efectuados sozinhos ou conjuntamente com outra terapia tal como cirurgia, radiação, quimioterapia, imunoterapia, terapia génica e semelhantes. Adicionalmente, uma pessoa que apresente um risco maior de desenvolver a doença proliferativa pode receber tratamentos para inibir e/ou atrasar o desenvolvimento da doença.

Tal como será entendido pelos peritos na especialidade, as doses apropriadas de agentes quimioterapêuticos serão aproximadamente aquelas que já são utilizadas em terapias clínicas em que os agentes quimioterapêuticos são administrados sozinhos ou em combinação com outros agentes

quimioterapêuticos. É provável que ocorra variação na dosagem dependendo da doença a tratar. Tal como anteriormente descrito, em algumas concretizações podem administrar-se os agentes quimioterapêuticos a um nível reduzido.

As composições de nanopartículas aqui descritas podem ser administradas a um indivíduo (tal como um humano) através de várias vias tal como parentérica incluindo intravenosa, intra-arterial, intraperitoneal, intrapulmonar, oral, por inalação, intravesicular, intramuscular, intratraqueal, subcutânea, intraocular, intratecal ou transdérmica. Por exemplo, a composição de nanopartículas pode ser administrada por inalação para tratar doenças do tracto respiratório. A composição pode ser utilizada para tratar doenças respiratórias tal como fibrose pulmonar, bronqueolite obliterante, cancro de pulmão, carcinoma broncoalveolar e semelhantes. Em algumas concretizações a composição de nanopartículas é administrada intravenosamente. Em algumas concretizações a composição de nanopartículas é administrada oralmente.

A frequência de dosagem da administração da composição de nanopartículas depende da natureza da terapia de combinação e da doença específica a tratar. Um exemplo de frequência de dosagem inclui, entre outras, semanalmente sem interrupção; semanalmente em três de cada quatro semanas; de três em três semanas; de duas em duas semanas; semanalmente em duas de cada três semanas. Consultar igualmente a tabela 1.

A dose do taxano na composição de nanopartículas variará com a natureza da terapia de combinação e da doença específica a tratar. A dose deve ser suficiente para desencadear uma resposta pretendida tal como uma resposta terapêutica ou profiláctica contra uma doença específica. Um exemplo de dose do taxano (paclitaxel em algumas concretizações) na composição de nanopartículas inclui, entre outras, cerca de qualquer de 50 mg/m<sup>2</sup>, 60 mg/m<sup>2</sup>, 75 mg/m<sup>2</sup>, 80 mg/m<sup>2</sup>, 90 mg/m<sup>2</sup>, 100 mg/m<sup>2</sup>, 120 mg/m<sup>2</sup>, 160 mg/m<sup>2</sup>, 175 mg/m<sup>2</sup>, 200 mg/m<sup>2</sup>, 210 mg/m<sup>2</sup>, 220 mg/m<sup>2</sup>, 260 mg/m<sup>2</sup> e 300 mg/m<sup>2</sup>. Por exemplo, a dosagem de paclitaxel numa composição de nanopartículas pode situar-se na gama de 100-400 mg/m<sup>2</sup> quando administrada segundo um plano de 3

semanas ou de 50-250 mg/m<sup>2</sup> quando administrada num plano semanal. Consultar igualmente a tabela 1.

Outros exemplos de planos de doses para a administração da composição de nanopartículas (tal como composição de nanopartículas paclitaxel/albumina, por exemplo Abraxane™) incluem, entre outros, 100 mg/m<sup>2</sup> semanalmente sem interrupção; 75 mg/m<sup>2</sup> semanalmente em 3 de cada quatro semanas; 100 mg/m<sup>2</sup> semanalmente em 3 de cada 4 semanas; 125 mg/m<sup>2</sup> semanalmente em 3 de cada 4 semanas; 125 mg/m<sup>2</sup> semanalmente em 2 de cada 3 semanas; 130 mg/m<sup>2</sup> semanalmente sem interrupção; 175 mg/m<sup>2</sup> uma vez em cada 2 semanas; 260 mg/m<sup>2</sup> uma vez em cada 2 semanas; 260 mg/m<sup>2</sup> uma vez em cada 3 semanas; 180-300 mg/m<sup>2</sup> de três em três semanas; 60-175 mg/m<sup>2</sup> semanalmente sem interrupção. Além disso, o taxano (sozinho ou em terapia de combinação) pode ser administrado seguindo um regime de dosagem metronómico aqui descrito.

Os exemplos de regimes de dosagem para a terapia de combinação da composição de nanopartículas (tal como composição de nanopartículas paclitaxel/albumina, por exemplo Abraxane™) e outros agentes incluem entre outros, 125 mg/m<sup>2</sup> semanalmente em duas de cada três semanas, mais 825 mg/m<sup>2</sup> de Xeloda® diariamente; 260 mg/m<sup>2</sup> uma vez em cada duas semanas, mais adriamicina a 60 mg/m<sup>2</sup> e ciclofosfamida a 600 mg/m<sup>2</sup>, uma vez em cada duas semanas; 220-340 mg/m<sup>2</sup> uma vez em cada três semanas, mais carboplatina, AUC=6, uma vez em cada três semanas; 100-150 mg/m<sup>2</sup> semanalmente, mais carboplatina, AUC=6, uma vez em cada três semanas; 175 mg/m<sup>2</sup> uma vez em cada duas semanas, mais gemcitabina a 2000 mg/m<sup>2</sup> e epirrubicina a 50 mg/m<sup>2</sup>, uma vez em cada duas semanas; e 75 mg/m<sup>2</sup> semanalmente, três em cada quatro semanas, mais carboplatina, AUC=2, semanalmente, três em cada quatro semanas.

Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas do taxano e do agente quimioterapêutico é administrada de acordo com qualquer um dos regimes de dosagem descritos na tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro de mama num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade

eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 1 a 35 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 1 a 35 da tabela 1. Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro de mama metastático num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 2, 4-8 e 10-15 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser segundo qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 2, 4-8 e 10-15 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro de mama avançado num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 1 e 16 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser segundo qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 1 e 16 da tabela 1. Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro de mama de estágio IV num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado na linha 3 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser o regime de dosagem tal como indicado na linha 3 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro de mama num indivíduo num contexto de adjuvante compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 18 a 24 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 18 a 24 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro de mama num indivíduo num contexto de neo-adjuvante compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 25 a 35 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 25 a 35 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro de pulmão num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 36 a 48 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 36 a 48 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar NSCLC (incluindo NSCLC avançado e NSCLC de primeira linha) num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e

b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 36-40 e 42-43 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 36-40 e 42-43 da tabela 1. Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar malignidade de tumor sólido avançada no pulmão num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado na linha 41 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser segundo os regimes de dosagem tal como indicado na linha 41 da tabela 1. Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar SCLC num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado na linha 48 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser segundo os regimes de dosagem tal como indicado na linha 48 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro do ovário num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 49 a 52 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 49 a 52 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro da cabeça e pescoço

num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 53 a 55 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 53 a 55 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar tumor sólido (incluindo tumor sólido avançado) num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 56 a 59 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 56 a 59 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar melanoma (incluindo melanoma metastático) num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 60-63 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 60 a 63 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro colorrectal metastático num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado na linha 64 da tabela 1. Em algumas concretizações, a

administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser segundo o regime de dosagem tal como indicado na linha 64 da tabela 1.

Em algumas concretizações, proporciona-se composições para utilização num método para tratar cancro pancreático num indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo: a) uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina e b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico tal como proporcionado nas linhas 65 a 66 da tabela 1. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer um dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 65 a 66 da tabela 1.

TABELA 1

Linha n°	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
1	ABX + carboplatina + Herceptin®	ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> D1, 8, 15 q4wk x 6  Carbo: AUC = 2 D1, 8, 15 q4wk x 6  Herceptin®: 4 mg/kg na semana 1, 2 mg/kg em todas as semanas seguintes	Cancro de mama avançado HER2+	Estudo de fase II de dose densa semanal de nanopartícula de paclitaxel (ABI-007) Carboplatin™, com Herceptin® como terapia de primeira ou segunda linha de cancro de mama avançado HER2+
2.	ABX sozinho (+Herceptin®)	ABX: 125 mg/m <sup>2</sup> qwk x 3/4	Cancro de mama metastático	Ensaio de fase II de monoterapia de Abraxane™ semanal para MBC de 1ª linha (mais Herceptin® em doentes HER2+)



Linha n.º	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
3.	ABX+ Navelbine® (±G-CSF)	L1: ABX: 80 mg/m <sup>2</sup> Nav: 15 mg/m <sup>2</sup>  L2: ABX: 90 mg/m <sup>2</sup> Nav: 20 mg/m <sup>2</sup>  L3: ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> Nav: 22,5 mg/m <sup>2</sup>  L4: ABX: 110 mg/m <sup>2</sup> Nav: 25 mg/m <sup>2</sup>  L5: ABX: 125 mg/m <sup>2</sup> Nav: 25 mg/m <sup>2</sup>  qwk todos os níveis	Cancro de mama de estágio IV	Estudos de fase I-II ABX + Navelbine® semanal com ou sem G- CSF, em cancro de mama de estágio IV
4.	ABX + Xeloda®	ABX: 125 mg/m <sup>2</sup> qwk x 2/3  Xeloda®: 825 mg/m <sup>2</sup> D1-14 q3wk	Cancro de mama metastático	Ensaio de fase II ABX + Xeloda® para MBC de 1ª linha
5.	ABX + antraciclina		Cancro de mama metastático	Ensaio de fase I/II ABX mais Doxil® para MBC mais PK limitado
6.	ABX+ gemcitabina	ABX: 125 mg/m <sup>2</sup>  Gem: 1000 mg/m <sup>2</sup>  qwk x 2/3	Cancro de mama metastático	Ensaio randomizado de fase II de nab semanal Paclitaxel (ligado a nanopartícula de albumina)- (nab- paclitaxel) em combinação com gemcitabina em doentes com cancro de mama metastático negativo para HER2
7.	ABX+ lapatinib		Cancro de mama metastático	Fase I/II Abraxane™ + GW572016
8.	ABX + lapatinib	ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> qwk x 3/4  Lapatinib: início a 1000 mg/d x 2 dias	Cancro de mama metastático	Estudo de fase I de aumento de dose de um impulso de quimio- sensibilização de lapatinib 2 dias por via oral antes de Abraxane™ intravenoso semanal em doentes com tumores sólidos avanzados

Linha n.º	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
9.	ABX + FEC (+Herceptin®)	ABX: 220 mg/m <sup>2</sup> q2wk x 6 seguido de  FEC: 4 ciclos (+Herceptin® para doentes HER2+)	Cancro de mama	Ensaio de fase II pré-operatório de Abraxane™ seguido de FEC (+Herceptin® tal como adequado) em cancro de mama
10.	ABX + carboplatina + Avastin®	ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> qwk D1, 8, 15  Carbo: AUC = 2 qwk D1, 8, 15  Avastin®: 10 mg/m <sup>2</sup> q2wk	Cancro de mama metastático (HER2-, ER-, PR-)	Estudo de fase II de segurança e tolerabilidade de Abraxane™, Avastin® e carboplatina em doentes de cancro de mama metastático triplamente negativo
11.	ABX+ Avastin®	ABX: 130 mg/m <sup>2</sup> qwk + Avastin®  contra  ABX: 260 mg/m <sup>2</sup> q2wk + Avastin®  contra  ABX: 260 mg/m <sup>2</sup> q3wk + Avastin®	Cancro de mama metastático	Ensaio de fase II de três braços em doentes MBC de 1ª linha negativo para HER2
12.	ABX + Avastin®	ABX: 125 mg/m <sup>2</sup> qwk x 3/4 + Avastin®	Cancro de mama metastático	Estudo de braço único de Abraxane™ e Avastin® em MBS de 1ª linha
13.	ABX + Avastin®	ABX + Avastin® qwk  contra  Taxol® + Avastin® qwk	Cancro de mama metastático	Ensaio de fase III randomizado em MBC de 1ª e de 2ª linha com análise de correlações biológicas
14.	ABX + Xeloda® + lapatinib		Cancro de mama metastático	Fase II de Abraxane™ em combinação com Xeloda® e lapatinib para cancro de mama metastático
15.	ABX + gemcitabina	ABX: 3000 mg/m <sup>2</sup> D1 q3wk  Gem: 1250 mg/m <sup>2</sup> D1, 8 q3wk	Cancro de mama metastático	Estudo de fase II de braço único de Abraxane™ e gemcitabina para MBC de 1ª linha
16.	ABX + RAD001		Cancro de mama avançado	Estudo de fase I/II de Abraxane™ em combinação com RAD001 em doentes com cancro de mama avançado

Linha n.º	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
17.	ABX + Sutent®		Cancro de mama	Estudo de fase I de Abraxane™ em combinação com Sutent®
18.	ABX + AC + G-CSF (+ Herceptin®)	AC + G-CSF q2wk x 4 seguido de ABX: 260 mg/m <sup>2</sup> q2wk x 4 (+ Herceptin® para doentes HER2+)	Cancro de mama -Adjuvante	Abraxane™ em quimioterapia adjuvante de dose densa para cancro de mama em estágio inicial
19.	ABX + AC + G-CSF (+ Herceptin®)	Dose densa de AC + G-CSF seguido de ABX (+ Herceptin® para doentes HER2+) qwk	Cancro de mama -Adjuvante	Ensaio de fase II piloto de adjuvante de Abraxane™ em cancro de mama
20.	ABX + AC	AC seguido de ABX: 260 mg/m <sup>2</sup>  contra AC seguido de Taxol®  Rx duração 16 semanas	Cancro de mama -Adjuvante	Ensaio de registo de adjuvante em dose densa
21.	ABX + AC (+G-CSF)	AC q2wk seguido de ABX: 260 mg/m <sup>2</sup> + G-CSF q2wk  Rx duração 16 semanas	Cancro de mama -Adjuvante	Estudo de fase II piloto de adjuvante em dose densa de Abraxane™ em cancro de mama
22.	ABX + AC (+ Avastin®)	AC em dose densa seguido de ABX (+ Avastin® in doentes HER2+)	Cancro de mama -Adjuvante	Estudo piloto de adjuvante de cancro de mama
23.	ABX + AC	AC seguido de ABX q2wk ou q3wk	Cancro de mama -Adjuvante	Estudo BIG: dose densa contra quimioterapia adjuvante padrão

Linha n.º	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
24.	ABX (ABI-007) + AC + Neulasta®	AC seguido de ABX q2wk x 4	Cancro de mama -Adjuvante	Estudo de fase II piloto que avalia a segurança de um regime de dose densa -AC x 4 => ABI-007 x 4 Q 2 SEMANAS + Neulasta® - dado como quimioterapia adjuvante a mulheres de alto risco com cancro de mama em fase inicial
25.	ABX + FEC (+Herceptin®)	ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> qwk x 12 seguido de  5-FU: 500 mg/m <sup>2</sup> q3wk  Epirrubicina: 100 mg/m <sup>2</sup> (sem Herceptin®) ou  Epirrubicina: 75 mg/m <sup>2</sup> (com Herceptin® para doentes HER2+)  Ciclofosfamida: 500 mg/m <sup>2</sup> q3wk	Cancro de mama localizado avançado - Neadjuvante	Estudo de fase II de quimioterapia neo-adjuvante com paclitaxel ligado a nanopartícula de albumina (Abraxane™) sequencial semanalmente seguido de 5-fluorouracilo, epirrubicina, ciclofosfamida (FEC) em cancro de mama localizado avançado
26.	ABX + gemcitabina + epirrubicina	Braço 1: Neadjuvante: Gem: 2000 mg/m <sup>2</sup> , ABX: 175 mg/m <sup>2</sup> , Epi 50 mg/m <sup>2</sup>  q2wk x 6  Braço 2: Adjuvante: Gem: 2000 mg/m <sup>2</sup> , ABX: 220 mg/m <sup>2</sup>  q2wk x 4	Cancro de mama -Neadjuvante	Ensaio de fase II de dose densa neo-adjuvante gemcitabina, epirrubicina, ABI-007 (GEA) em cancro de mama localizado avançado ou inflamatório
27.	ABX + Herceptin®	ABX: 260 mg/m <sup>2</sup> q2wk + Herceptin®  seguido de  Navelbine® + Herceptin®	Cancro de mama -Neadjuvante	Estudo de fase II neo-adjuvante multicentro

Linha n.º	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
28.	ABX + carboplatina (+ Herceptin®) + AC	TAC  contra  AC seguido de ABX + carbo  contra  AC seguido de ABX + carbo + Herceptin®	Cancro de mama -Neadjuvante	Ensaio de fase II de 3 braços randomizado de dose densa de quimioterapia neoadjuvante em doentes com cancro de mama
29.	ABX + capecitabina	ABX: 260 mg/m <sup>2</sup> q3wk x 4  Xeloda® 850 mg/m <sup>2</sup> D1-14 q3wk x 4	Cancro de mama -Neadjuvante	Ensaio de fase II de neo-adjuvante de Abraxane™ e capecitabina em cancro de mama localizado avançado
30.	ABX + carboplatina (+ Avastin®)	ABX qwk  carbo qwk  + Avastin® em doentes HER2+	Cancro de mama -Neadjuvante	Ensaio de fase I/II de quimioterapia neoadjuvante (NCT) com paclitaxel em nanopartícula (ABI-007, Abraxane™) semanal em combinação com carboplatina e Avastin® em estágio clínico I-III.
31.	ABX + carboplatina + Herceptin® + Avastin®	ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> qwk x 3/4  Carbo: AUC = 5  + Herceptin®  + Avastin®  Ciclo de 4 semanas x 6	Cancro de mama -Neadjuvante	Estudo de fase II de bevacizumab semanal administrado com trastuzumab semanal, ABI-007 e carboplatina como terapia pré-operatória em tumores de cancro de mama com gene HER2-neu amplificado
32.	ABX + lapatinib	ABX: 260 mg/m <sup>2</sup> q3wk  Lapatinib: 1000 mg/dia	Cancro de mama -Neadjuvante	Ensaio piloto neo-adjuvante com combinação de ABI-007 (Abraxane™) e GW572016 (lapatinib)
33.	ABX + capecitabina	ABX: 200 mg/m <sup>2</sup> q3wk x 4  Xeloda®: 1000 mg/m <sup>2</sup> D1-14 q3wk x 4	Cancro de mama -Neadjuvante	Ensaio de fase II de neo-adjuvante de Abraxane™ e capecitabina em cancro de mama localizado avançado

Linha n.º	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
34.	ABX ± Avastin® + AC (+ G-CSF)	ABX qwk ± Avastin® seguido de A qwk + C diariamente  contra  Taxol® qwk ± Avastin® seguido de A qwk + C diariamente	Cancro de mama -Neoadjuvante	Ensaio de fase III de paclitaxel contra Abraxane™ com ou sem Avastin® em combinação com doxorubicina e ciclofosfamida mais G-CSF
35.	ABX + AC	ABX seguido de AC	Cancro de mama -Neoadjuvante	Ensaio de fase II de neo-adjuvante com análise de expressão génica
36.	ABX + carboplatina + Avastin®	ABX: 300 mg/m <sup>2</sup> q3wk  Carbo: AUC = 6 q3wk  Avastin®: 15 mg/kg  4 ciclos	NSCLC avançado de 1ª linha	Ensaio de fase II aberto de Abraxane™, carboplatina e Avastin® em doentes com cancro avançado de pulmão de células não pequenas não escamosas
37.	ABX + carboplatina	L1: ABX: 225 mg/m <sup>2</sup>  L2: ABX: 260 mg/m <sup>2</sup>  L3: ABX: 300 mg/m <sup>2</sup>  Grupos 1-4: ABX q3wk  Grupos 5-7: ABX semanalmente  Grupo 8: 75 doentes adicionais Carbo fixo a AUC = 6 q3wk	NSCLC avançado	Estudo de fase II piloto de toxicidade de Abraxane™ e carboplatina em cancro avançado de pulmão de células não pequenas.
38.	ABX + carboplatina	Carbo: AUC = 6 + ABX  contra  Carbo: AUC = 6 + Taxol®: 225 mg/m <sup>2</sup>	NSCLC de 1ª linha	Registo de fase III - terapia de NSCLC de 1ª linha

Linha n.º	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
39.	ABX + carboplatina	ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> d1, 8, 15  Carbo: AUC = 6 q4wk  Correcção: ABX: 125 mg/m <sup>2</sup> D1, 8, 15	NSCLC de 1ª linha	Ensaio de fase II de Abraxane™ semanal mais carboplatina em NSCLC de 1ª linha
40.	ABX + carboplatina + Avastin®	Semanalmente	NSCLC	
41.	ABX + carboplatina	Braço 1: ABX: 100, 125, 150 mg/m <sup>2</sup> D1, 8, 15 q4wk  Braço 2: ABX 220, 260, 300, 340 mg/m <sup>2</sup> q3wk  Braço 3: ABX 100, 125, 150 mg/m <sup>2</sup> D1, 8  Carbo: AUC = 6 em todos os braços	Cancro de pulmão - Malignidade de tumor sólido avançado	Ensaio de fase I de carboplatina e Abraxane™ num plano semanal e de três em três semanas em doentes com malignidade de tumor sólido avançado
42.	ABX + gemcitabina ou ABX + Avastin®		NSCLC	Abraxane™ em combinação com gemcitabina ou Avastin®
43.	ABX + gemcitabina		NSCLC	Ensaio de fase I de Abraxane™ em combinação com gemcitabina
44.	ABX + carboplatina + Avastin®	ABX: 225, 260, 300 mg/m <sup>2</sup>  Carbo: AUC = 6 q3wk  + Avastin®	Cancro de pulmão	Estudo de fase I/II de Abraxane™ e carboplatina AUC 6, mais Avastin® (concepção de fase I padrão 3+3; Fase II: 40 doentes)
45.	ABX + Alimta®	ABX: 220, 260, 300 mg/m <sup>2</sup> q3wk  Pemtrexed: 500 mg q3wk	Cancro de pulmão	Estudo de fase I/II de Abraxane™ + Alimta® para NSCLC de 2ª linha
46.	ABX + cisplatina		Cancro de pulmão	Ensaio de fase I/II de Abraxane™ mais cisplatina em NSCLC avançado

Linha n.º	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
47.	ABX + Navelbine® + cisplatina		Cancro de pulmão	Estudo de fase I/II de Abraxane™, Navelbine® e cisplatina para tratamento de NSCLC avançado
48.	ABX + carboplatina	ABX: 300 mg/m <sup>2</sup> q3wk  Carbo: AUC = 6 q3wk	SCLC	Ensaio de fase II de Abraxane™ com carboplatina em cancro de pulmão de células pequenas de estágio extenso
49.	ABX + carboplatina	ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> qwk x 3/4  Carbo: AUC = 6	Cancro do ovário	Ensaio de fase II de Abraxane™ + carboplatina cancro do ovário recorrente
50.	ABX + carboplatina	ABX: qwk  ABX: q3w  Carbo: AUC = 6 ambos os braços	Cancro do ovário	Ensaio de fase I de Abraxane™ mais carbo para tratamento de cancro do ovário avançado
51.	ABX + carboplatina	ABX: TBD por ABI-CA034  contra  Taxol® 175 mg/m <sup>2</sup>  Carbo: AUC = 6 em ambos os braços	Cancro do ovário	Ensaio de registo de 1ª linha com citorredução efectiva óptima. Carbo AUC 6 + ABX contra Carbo + Taxol® 175 mg/m <sup>2</sup> . Ponto final: sobrevivência sem recaída, sobrevivência
52.	ABX + Avastin®	ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> qwk x 3/4  Avastin®: 10 mg/m <sup>2</sup> q2wk	Cancro do ovário	Estudo de fase II de bevacizumab com Abraxane™ em doentes com carcinoma do ovário epitelial primário ou peritoneal primário, recorrente e resistente a platina
53.	ABX + 5-FU + cisplatina	ABX: D1  5-FU: 750 mg/m <sup>2</sup> CIV x 5  cisplatina: 75 mg/m <sup>2</sup> D1  seguido de XRT/cirurgia	Cancro da cabeça e pescoço	Fase II de cancro da cabeça e pescoço localizado e não passível de ressecção Abraxane™ em combinação com 5-FU e cisplatina



Linha n.º	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
54.	ABX + 5-FU + cisplatina	5-FU: 750 mg/m <sup>2</sup> CIV x 5  cisplatina: 75 mg/m <sup>2</sup> D1  ± ABX D1  seguido de XRT/cirurgia	Cancro da cabeça e pescoço	Fase II de cancro da cabeça e pescoço localizado e não passível de ressecção 5-FU com cisplatina com ou sem Abraxane™
55.	ABX + cetuximab		Cancro da cabeça e pescoço	Ensaio de fase II multicentro de Abraxane™ em combinação com cetuximab em tratamento de 1ª linha de cancro da cabeça e pescoço localizado avançado ou metastático
56.	ABX + rapamicina	ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> qwk  Rapamicina: 5-40 mg com aumento de dose	Tumores sólidos	Estudo de fase I de rapamicina em combinação com Abraxane™ em tumores sólidos avançados
57.	ABX + satraplatina		Tumores sólidos	Ensaio de fase I de Abraxane™ e satraplatina
58.	ABX + gemcitabina	ABX: 180, 220, 260, 300, 340 mg/m <sup>2</sup> q3wk  Gemcitabina: 1000 mg/m <sup>2</sup> D1 e D8	Tumores sólidos avançados	Ensaio de fase I de Abraxane™ em combinação com gemcitabina
59.	ABX + gefitinib	ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> qwk x 3/4  Gefitinib com início a 1000 mg/d x 2	Tumores sólidos avançados	Estudo de fase I com aumento de dose de quimio-sensibilização com impulso de gefitinib administrado antes de Abraxane™ semanalmente
60.	ABX + Avastin®		Melanoma metastático	Estudo de fase II de Abraxane™ e Avastin® em melanoma metastático
61.	ABX + Avastin®		Melanoma	Abraxane™ e Avastin® como terapia para doentes com melanoma maligno

Linha n°	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
62.	ABX + carboplatina		Melanoma metastático	Estudo de fase II de Abraxane™ e carboplatina em melanoma metastático
63.	ABX + sorafenib + carboplatina	ABX: qwk Sorafenib: D2-19 Carbo: AUC = 6 D1	Melanoma metastático	Estudo de fase II de Abraxane™ em combinação com carboplatina e sorafenib em melanoma metastático
64.	ABX + capecitabina		Cancro colorrectal metastático (após falha de terapia baseada em oxaliplatina e terapia baseada em irinotecano)	Ensaio de fase II de Abraxane™ em combinação com Xeloda® para doente previamente tratado com cancro colorrectal avançado ou metastático
65.	ABX + gemcitabina	Semanalmente	cancro pancreático	Estudo de fase I de Abraxane™ em combinação com gemcitabina em cancro pancreático
66.	ABX + gemcitabina	ABX + Gem contra Gem	cancro pancreático	Ensaio de registo de fase III em cancro pancreático
67.	ABX + agentes anti-angiogénicos			Abraxane™ combinado com agentes anti-angiogénicos, e.g. Avastin®
68.	ABX + inibidores de proteassoma			Abraxane™ combinado com inibidores de proteassoma, e.g. Velcade®
69.	ABX + inibidores de EGFR			Abraxane™ combinado com inibidores de EGFR, e.g. Tarceva®

Tal como aqui utilizado (por exemplo da tabela 1), ABX refere-se a Abraxane™; GW572016 refere-se a lapatinib; Xel refere-se a capecitabina ou Xeloda®; bevacizumab é também conhecido como Avastin®; trastuzumab é também conhecido como Herceptin®; pemetrexed é também conhecido como Alimta®; cetuximab é também conhecido como Erbitux®; gefitinib é também conhecido como Iressa®; FEC refere-se a uma combinação de 5-fluorouracilo, epirrubicina e ciclofosfamida; AC refere-se a uma combinação de adriamicina mais ciclofosfamida; TAC refere-

se a um regime adjuvante de cancro de mama aprovado pela FDA; RAD001 refere-se a um derivado de rapamicina; NSCLC refere-se a cancro de pulmão de células não pequenas; e SCLC refere-se a cancro de pulmão de células pequenas.

Tal como aqui utilizado (por exemplo da tabela 1), AUC refere-se a área por baixo da curva; q4wk refere-se a uma dose de 4 em 4 semanas; q3wk refere-se a uma dose de 3 em 3 semanas; q2wk refere-se a uma dose de 2 em 2 semanas; qwk refere-se a uma dose semanal; qwk x 3/4 refere-se a uma dose semanal durante 3 semanas com interrupção na 4<sup>a</sup> semana; qwk x 2/3 refere-se a uma dose semanal durante 2 semanas com interrupção na 3<sup>a</sup> semana.

### **Terapia de combinação com radioterapia e cirurgia**

Também descrevemos um método para tratar doença proliferativa (tal como cancro) compreendendo uma primeira terapia compreendendo administrar um taxano (nomeadamente nanopartículas compreendendo um taxano) e uma proteína transportadora e uma segunda terapia compreendendo radiação e/ou cirurgia.

Também descrevemos um método compreendendo: a) uma primeira terapia compreendendo administrar ao indivíduo uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo uma quantidade eficaz de um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina) e b) uma segunda terapia compreendendo radioterapia, cirurgia ou suas combinações. Em algumas concretizações, o taxano é revestido com a proteína transportadora (tal como albumina). Em algumas concretizações a segunda terapia é radioterapia. Em algumas concretizações a segunda terapia é cirurgia.

O método pode compreender a) uma primeira terapia compreendendo administrar ao indivíduo uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina; e b) uma segunda terapia compreendendo radioterapia, cirurgia ou suas combinações. Em algumas concretizações a segunda terapia é radioterapia. Em algumas concretizações a segunda terapia é cirurgia. Em algumas concretizações, as nanopartículas de paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio

não superior a cerca de 200 nm. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas de paclitaxel/albumina está substancialmente isenta (tal como isenta) de tensioactivo (tal como Cremophor). Em algumas concretizações, a razão mássica entre albumina e paclitaxel na composição é de cerca de 18:1 ou menos, tal como cerca de 9:1 ou menos. Em algumas concretizações o paclitaxel está revestido com albumina. Em algumas concretizações, as nanopartículas paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm e a composição de paclitaxel/albumina está substancialmente isenta (tal como isenta) de tensioactivo (tal como Cremophor). Em algumas concretizações, as nanopartículas paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm e o paclitaxel está revestido com albumina. Em algumas concretizações a composição de nanopartículas é Abraxane™.

A administração da composição de nanopartículas pode ser anterior à radiação e/ou cirurgia, após a radiação e/ou cirurgia ou simultaneamente com a radiação e/ou cirurgia. Por exemplo, a administração da composição de nanopartículas pode anteceder ou ser após a radioterapia e/ou cirurgia por intervalos de minutos a semanas. Em algumas concretizações, o período de tempo entre a primeira e a segunda terapia é de modo ao taxano e à radiação/cirurgia poderem ser ainda capazes de exercer vantajosamente um efeito combinado na célula. Por exemplo, o taxano (tal como paclitaxel) na composição de nanopartículas pode ser administrado a menos de cerca de qualquer de 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120 horas antes da radiação e/ou cirurgia. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas é administrado menos de cerca de 9 horas antes da radiação e/cirurgia. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas é administrado a menos de cerca de qualquer de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 dias antes da radiação/cirurgia. Em algumas concretizações o taxano (tal como paclitaxel) na composição de nanopartículas é administrado a menos de cerca de qualquer de 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 48, 60, 72, 84, 96, 108 ou 120 horas após a radiação e/ou cirurgia. Em algumas concretizações pode pretender-se estender significativamente o período de tempo para tratamento com um intervalo entre as duas terapias de vários dias a várias semanas.

A radiação aqui considerada inclui, por exemplo, raios  $\gamma$ , raios X (feixe externo) e a entrega dirigida de radioisótopos a células de tumor. Abrangem-se também outras formas de factores de danificação de ADN tal como micro-ondas e irradiação UV. A radiação pode ser administrada num dose única ou numa série de doses pequenas num plano de doses fraccionadas. A quantidade de radiação aqui considerada varia entre cerca de 1 a cerca de 100 Gy incluindo, por exemplo, cerca de 5 a cerca de 80, cerca de 10 a cerca de 50 Gy ou cerca de 10 Gy. A dose total pode ser aplicada num regime fraccionado. Por exemplo, o regime pode compreender doses fraccionadas individualmente de 2 Gy. As gamas de dosagem para radioisótopos variam largamente e depende da semivida do isótopo e da potência e tipo de radiação emitida.

Quando a radiação compreende utilização de isótopos radioactivos, o isótopo pode ser conjugado com um agente para dirigir ao alvo, tal como um anticorpo terapêutico, que transporta o radionucleótido para o tecido alvo. Os isótopos radioactivos adequados incluem entre outros astatínio<sup>211</sup>, <sup>14</sup>carbono, <sup>51</sup>crómio, <sup>36</sup>cloro, <sup>57</sup>ferro, <sup>58</sup>cobalto, cobre<sup>67</sup>, <sup>152</sup>Eu, gálio<sup>67</sup>, <sup>3</sup>hidrogénio, iodo<sup>123</sup>, iodo<sup>131</sup>, índio<sup>111</sup>, <sup>59</sup>ferro, <sup>32</sup>fósforo, rénio<sup>186</sup>, <sup>75</sup>selénio, <sup>35</sup>enxofre, tecnécio<sup>99m</sup> e/ou ítrio<sup>90</sup>.

Em algumas concretizações, aplica-se radiação suficiente ao indivíduo de modo a permitir redução da dose normal do taxano (tal como paclitaxel) na composição de nanopartículas necessária para efectuar o mesmo grau de tratamento que pelo menos cerca de qualquer de 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ou mais. Em algumas concretizações, administra-se taxano suficiente na composição de nanopartículas de modo a permitir redução da dose normal da radiação necessária para efectuar o mesmo grau de tratamento que pelo menos cerca de qualquer de 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ou mais. Em algumas concretizações, a dose tanto de taxano (tal como paclitaxel) na composição de nanopartículas como de radiação são reduzidas comparativamente à dose normal correspondente de cada um quando utilizado sozinho.

Em algumas concretizações, a combinação de administração da composição de nanopartículas e de radioterapia produz um

efeito supra-aditivo. Em algumas concretizações, o taxano (tal como paclitaxel) na composição de nanopartículas é administrado uma vez à dose de 90 mg/kg e a radiação é aplicada cinco vezes a 80 Gy diários.

A cirurgia aqui descrita inclui ressecção em que todo ou parte do tecido canceroso é removido fisicamente, excisado e/ou destruído. A ressecção de tumor refere-se à remoção física de pelo menos parte de um tumor. Além de ressecção de tumor, o tratamento por cirurgia inclui cirurgia com laser, criocirurgia, electrocirurgia e cirurgia controlada por microscópio (cirurgia de Mohs). Também se abrange remoção de cirurgia superficial, pré-cancros ou tecidos normais.

Pode efectuar-se radioterapia e/ou cirurgia adicionalmente à administração de agentes quimioterapêuticos. Por exemplo, pode primeiramente administrar-se ao indivíduo uma composição de nanopartículas contendo taxano e pelo menos um outro agente quimioterapêutico e, subsequentemente, sujeitá-lo a radioterapia e/ou cirurgia. Alternativamente, o indivíduo pode primeiramente ser tratado com radioterapia e/ou cirurgia, que é então seguida pela administração de uma composição de nanopartículas e pelo menos um outro agente quimioterapêutico. Também se consideram outras combinações.

A administração de composições de nanopartículas reveladas anteriormente conjuntamente com a administração de agente quimioterapêutico é igualmente aplicável a esses, conjuntamente com radioterapia e/ou cirurgia.

Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas do taxano e/ou o agente quimioterapêutico são administrados conjuntamente com radiação, de acordo com qualquer dos regimes de dosagem descritos na tabela 2.

Também descrevemos um método de tratar NSCLC num indivíduo compreendendo a) uma primeira terapia compreendendo administração ao indivíduo de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina; e b) uma segunda terapia compreendendo radiação tal como proporcionado nas linhas 1 a 5 da tabela 2. Em algumas concretizações, a administração da composição de

nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer dos regimes de dosagem tal como indicado nas linhas 1 a 5 da tabela 2.

Também descrevemos um método de tratar cancro da cabeça e pescoço num indivíduo compreendendo a) uma primeira terapia compreendendo administrar ao indivíduo uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina; e b) uma segunda terapia compreendendo radiação, tal como proporcionado nas linhas 6 a 9 na tabela 2. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser qualquer dos regimes de dosagem tal como indicados nas linhas 6 a 9 da tabela 2.

Também descrevemos um método de tratar cancro pancreático num indivíduo compreendendo a) uma primeira terapia compreendendo administrar ao indivíduo uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina; e b) uma segunda terapia compreendendo radiação, tal como proporcionado na linha 10 na tabela 2. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico podem ser os regimes de dosagem tal como indicados na linha 10 da tabela 2.

Também descrevemos um método de tratar malignidades gástricas num indivíduo compreendendo a) uma primeira terapia compreendendo administrar ao indivíduo uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo taxano (tal como paclitaxel) e uma albumina; e b) uma segunda terapia compreendendo radiação, tal como proporcionado na linha 11 na tabela 2. Em algumas concretizações, a administração da composição de nanopartículas e do agente quimioterapêutico pode ser os regimes de dosagem tal como indicados na linha 11 da tabela 2.

TABELA 2

Nº de linha	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
1	ABX + Radiação		NSCLC	Ensaio de fase I/II de Abraxane™ combinado com radiação
2	ABX + carboplatina + Radiação		NSCLC	Ensaio de fase I/II de Abraxane™ e carboplatina combinado com radiação
3	ABX + carboplatina + Radiação	1º ciclo ABX/indução com carboplatina seguido por 2 a 3 vezes por semana de impulso de ABX + radiação	NSCLC	Fase II de quimiorradiação em NSCLC
4	ABX + carboplatina + Radiação		NSCLC	Indução com Abraxane™/carboplatina seguido por Abraxane™ mais radiação em doentes de estágio III A&B PS2 NSCLC
5	ABX + Carboplatina + Radiação	ABX qwk + carbo + radiação  seguido por  ABX q3wk + carbo	NSCLC	Estudo de fase II
6	ABX + radiação		Cancro da cabeça e pescoço	Abraxane™ como radiosensibilizador em cancro de cabeça e pescoço
7	ABX + Cetuximab + radiação		Cancro da cabeça e pescoço	Fase I/II de Abraxane™ em combinação com cetuximab e radiação
8	ABX + carboplatina + 5-FU + hidroxiureia + radiação	Indução: ABX 135 mg/m <sup>2</sup> qwk + carbo: AUC = 2  seguido por  Quimiorradiação simultânea: ABX: 100 mg/m <sup>2</sup> 5-FU: 600 mg/m <sup>2</sup> hidroxiureia: 5000 mg BID	Cancro da cabeça e pescoço	Estudo de fase I/II de quimioterapia de indução com Abraxane™ e carboplatina seguido por administração simultânea de fluorouracilo, hidroxiureia, Abraxane™ e IMRT para cancros de cabeça e pescoço localizados avançados



N.º de linha	Combinação	Regime/dosagem	Tipo de terapia em estudo	Título do protocolo
9	ABX + carboplatina + Erbix <sup>TM</sup> + radiação	ABX: 20-50 mg/m <sup>2</sup> qwk x 7  aumento de dose  Erbix <sup>TM</sup> : 400 mg/m <sup>2</sup> dia 7, 250 mg/m <sup>2</sup> qwk x 7 Carbo: AUC = 1,5 qwk x 7RT IMRT	Cancro de cabeça e pescoço localizado avançado	Ensaio de fase I de Abraxane <sup>TM</sup> em combinação com carboplatina, cetuximab e IMRT em cancro avançado de cabeça e pescoço de células escamosas
10	ABX + Gencitabina + radiação	qwk	Cancro pancreático	Ensaio de fase II randomizado gencitabina, Abraxane <sup>TM</sup> e irradiação externa semanal para cancro pancreático localizado avançado
11	ABX + Cisplatina + radiação		Malignidades gástricas	Fase I/II de combinação Abraxane <sup>TM</sup> /cisplatina e radiação para doentes com malignidades gástricas/GEJ ressectadas

Em algumas concretizações, o invento proporciona composições farmacêuticas compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel) e uma proteína transportadora (tal como albumina) para utilização no tratamento de uma doença proliferativa (tal como cancro), em que a referida utilização compreende uma segunda terapia compreendendo radioterapia, cirurgia ou suas combinações.

### Terapia metronómica

Também descrevemos um regime de terapia metronómica. Proporciona-se um método de administrar a um indivíduo uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano (tal como paclitaxel, docetaxel ou ortataxel) e uma proteína transportadora (tal como albumina) baseado num regime de dosagem metronómico. Os métodos são aplicáveis a métodos de tratamento, atraso do desenvolvimento e outras situações e configurações clínicas aqui descritas. Por exemplo, em determinadas concretizações, os métodos são úteis para o tratamento de doenças proliferativas (tal como cancro).

"Regime de dosagem metronómico" tal como aqui utilizado refere-se a administração frequente de um taxano sem interrupções prolongadas a uma dose inferior à dose máxima tolerada estabelecida através de um plano tradicional com interrupções (doravante também denominado como um "plano MTD padrão" ou um "regime MTD padrão"). Em dosagem metronómica, em última análise pode ser administrada uma dose semelhante, inferior ou superior à dose cumulativa ao longo de um determinado período de tempo que seria administrada através de um plano MTD padrão. Em alguns casos, tal é conseguido aumentando o intervalo de tempo e/ou frequência durante a qual se efectua o regime de dosagem, diminuindo simultaneamente a quantidade administrada em cada dose. Em geral, o taxano administrado através do regime de dosagem metronómico do presente invento é mais bem tolerado pelo indivíduo. A dosagem metronómica também pode ser denominada dosagem de manutenção ou dosagem crónica.

Descrevemos um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina), em que a composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose do taxano em cada administração é cerca de 0,25% a cerca de 25% da sua dose máxima tolerada seguindo um regime de dosagem tradicional. Em algumas concretizações, proporciona-se um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina, em que a composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose do taxano em cada administração é de cerca de 0,25% a cerca de 25% da sua dose máxima tolerada seguindo um regime de dosagem tradicional.

Em algumas concretizações, a dosagem do taxano (tal como paclitaxel) na composição de nanopartículas por administração é inferior a cerca de qualquer de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 18%, 20%, 22%, 24% ou 25% da MTD para o mesmo taxano (tal como paclitaxel) na mesma formulação seguindo um determinado regime de dosagem

tradicional. O plano de dosagem tradicional refere-se ao plano de dosagem que é geralmente estabelecido num contexto clínico. Por exemplo, o plano de dosagem tradicional para Abraxane™ é um plano trissemanal, i.e., administração da composição de três em três semanas.

Em algumas concretizações, a dosagem do taxano (tal como paclitaxel) por administração é entre cerca de 0,25% e cerca de 25% do valor de MTD correspondente, incluindo por exemplo qualquer de cerca de 0,25% a cerca de 20%, cerca de 0,25% a cerca de 15%, cerca de 0,25% a cerca de 10%, cerca de 0,25% a cerca de 20% e cerca de 0,25% a cerca de 25% do valor de MTD correspondente. Conhece-se o valor de MTD para um taxano seguindo um plano de dosagem tradicional ou pode ser facilmente determinado por um perito na especialidade. Por exemplo, o valor de MTD quando se administra Abraxane™ seguindo um plano de dosagem de três semanas tradicional é de cerca de 300 mg/m<sup>2</sup>.

Também descrevemos um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina), em que a composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose do taxano em cada administração é de cerca de 0,25 mg/m<sup>2</sup> a cerca de 25 mg/m<sup>2</sup>. Em algumas concretizações, proporciona-se um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina, em que a composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose do taxano em cada administração é de cerca de 0,25 mg/m<sup>2</sup> a cerca de 25 mg/m<sup>2</sup>.

Em algumas concretizações, a dose do taxano (tal como paclitaxel) em cada administração é inferior a cerca de qualquer de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18, 20, 22, 25 e 30 mg/m<sup>2</sup>. Por exemplo, a dose do taxano (tal como paclitaxel) pode estar na gama de cerca de 0,25 mg/m<sup>2</sup> a cerca de 30 mg/m<sup>2</sup>, cerca de 0,25 mg/m<sup>2</sup> a cerca de 25 mg/m<sup>2</sup>,

cerca de  $0,25 \text{ mg/m}^2$  a cerca de  $15 \text{ mg/m}^2$ , cerca de  $0,25 \text{ mg/m}^2$  a cerca de  $10 \text{ mg/m}^2$  e cerca de  $0,25 \text{ mg/m}^2$  a cerca de  $5 \text{ mg/m}^2$ .

A frequência de dosagem para o taxano (tal como paclitaxel) na composição de nanopartículas inclui, entre outras, pelo menos cerca de qualquer de uma vez por semana duas vezes por semana, três vezes por semana, quatro vezes por semana, cinco vezes por semana, seis vezes por semana ou diariamente. Tipicamente, o intervalo entre cada administração é inferior a cerca de uma semana, tal como menos de cerca de qualquer de 6, 5, 4, 3, 2 ou 1 dia. Em algumas concretizações, o intervalo entre cada administração é constante. Por exemplo, a administração pode ser efectuada diariamente, de dois em dois dias, de três em três dias, de quatro em quatro dias, de cinco em cinco dias ou semanalmente. Em algumas concretizações, a administração pode ser efectuada duas vezes por dias, três vezes por dia ou mais frequentemente.

Os regimes de dosagem metronómicos aqui descritos podem ser prolongados durante um longo período de tempo, tal como desde cerca de um mês até cerca de três anos. Por exemplo, o regime de dosagem pode prolongar-se por um período de qualquer de cerca de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 30 e 36 meses. Em geral, não existem interrupções no plano de dosagem.

A dose cumulativa do taxano (tal como paclitaxel) administrado pelo regime metronómico pode ser mais elevada do que o taxano administrado de acordo com um plano de dosagem MTD padrão ao longo do mesmo período de tempo. Em algumas concretizações, a dose cumulativa do taxano administrado pelo regime metronómico é igual ou inferior à do taxano administrado de acordo com um plano de dosagem MTD padrão ao longo do mesmo período de tempo.

Considera-se que os ensinamentos aqui proporcionados são apenas exemplos e que o regime de dosagem metronómico pode ser concebido rotineiramente de acordo com os ensinamentos aqui proporcionados e com base na plano MTD padrão individual e que o regime de dosagem metronómico utilizado nestas experiências é apenas um exemplo de possíveis alterações no intervalo e

duração da dosagem que são feitas numa plano MTD padrão para conseguir um regime de dosagem metronómico óptimo.

O regime de dosagem metronómico aqui descrito pode ser utilizado sozinho como um tratamento de uma doença proliferativa ou efectuado num contexto de terapia de combinação, tal como as terapias de combinação aqui descritas. Em algumas concretizações, a terapia de regime de dosagem metronómico pode ser utilizada em combinação ou conjuntamente com outras terapias estabelecidas administradas através de regimes MTD padrão. "Combinação ou conjuntamente com" significa que o regime de dosagem metronómico do presente invento é efectuado ao mesmo tempo de um regime MTD padrão de terapias estabelecidas ou durante o decorrer de terapia de indução para manter os benefícios acumulados no indivíduo pela terapia de indução, em que a intenção é continuar a inibir o crescimento do tumor sem comprometer indevidamente a saúde do indivíduo ou a capacidade do indivíduo aguentar a sessão seguinte de terapia de indução. Por exemplo, pode adoptar-se um regime de dosagem metronómico após um tratamento inicial curto de quimioterapia MTD.

As composições de nanopartículas administradas com base no regime de dosagem metronómico aqui descrito podem ser administradas a um indivíduo (tal como humano) através de várias vias, tal como parentericamente, incluindo intravenosa, intra-arterial, intrapulmonar, oral, inalação, intravesicular, intramuscular, intra-traqueal, subcutânea, intraocular, intratecal ou transdérmica. Por exemplo, a composição de nanopartículas pode ser administrada por inalação para tratar doenças do tracto respiratório. A composição pode ser usada para tratar doenças respiratórias tais como fibrose pulmonar, bronquiolite obliterante, cancro de pulmão, carcinoma broncoalveolar e semelhantes. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas é administrada oralmente.

Proporcionam-se seguidamente vários exemplos de concretizações.

Também descrevemos um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina), em que a

composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose do taxano em cada administração é cerca de 0,25% a cerca de 25% da sua dose máxima tolerada seguindo um regime de dosagem tradicional. Em algumas concretizações, o taxano é revestido com a proteína transportadora (tal como albumina). Em algumas concretizações, a dose do taxano por administração é inferior a cerca de qualquer de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 18%, 20%, 22%, 24% ou 25% da dose máxima tolerada. Em algumas concretizações, o taxano é administrado pelo menos cerca de qualquer de 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x (i.e., diariamente) por semana. Em algumas concretizações, os intervalos entre cada administração são inferiores a cerca de qualquer de 7 dias, 6 dias, 5 dias, 4 dias, 3 dias, 2 dias e 1 dia. Em algumas concretizações, o taxano é administrado ao longo de um período de pelo menos cerca de qualquer de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 30 e 36 meses.

Também descrevemos um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina, em que a composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose do taxano em cada administração é cerca de 0,25% a cerca de 25% da sua dose máxima tolerada seguindo um regime de dosagem tradicional. Em algumas concretizações, as nanopartículas de paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio que não é superior a cerca de 200 nm. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas de paclitaxel/albumina encontra-se substancialmente isenta (tal como isenta) de tensioactivo (tal como Cremophor). Em algumas concretizações, a razão mássica entre albumina e paclitaxel na composição é de cerca de 18:1 ou menos, tal como cerca de 9:1 ou menos. Em algumas concretizações, o paclitaxel é revestido com albumina. Em algumas concretizações, as nanopartículas paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm e a composição de paclitaxel/albumina encontra-se substancialmente isenta (tal como isenta) de tensioactivo (tal como Cremophor). Em algumas concretizações, as nanopartículas de paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a

cerca de 200 nm e o paclitaxel está revestido com albumina. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas é Abraxane™.

Também descrevemos um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina), em que a composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose do taxano em cada administração é cerca de 0,25 mg/m<sup>2</sup> a cerca de 25 mg/m<sup>2</sup>. Em algumas concretizações, o taxano é revestido com a proteína transportadora (tal como albumina). Em algumas concretizações, a dose do taxano por administração é inferior a cerca de qualquer de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18, 20, 22 e 25 mg/m<sup>2</sup>. Em algumas concretizações, o taxano é administrado a pelo menos cerca de qualquer de 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x (i.e., diariamente) por semana. Em algumas concretizações, os intervalos entre cada administração são inferiores a cerca de qualquer de 7 dias, 6 dias, 5 dias, 4 dias, 3 dias, 2 dias e 1 dia. Em algumas concretizações, o taxano é administrado ao longo de um período de pelo menos qualquer de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 30 e 36 meses.

Também descrevemos um método de administrar uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina, em que a composição de nanopartículas é administrada ao longo de um período de pelo menos um mês, em que o intervalo entre cada administração não é superior a cerca de uma semana e em que a dose do taxano em cada administração é de cerca de 0,25 mg/m<sup>2</sup> a cerca de 25 mg/m<sup>2</sup>. Em algumas concretizações, as nanopartículas de paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas de paclitaxel/albumina encontra-se substancialmente isenta (tal como isenta) de tensioactivo (tal como Cremophor). Em algumas concretizações, a razão mássica entre a albumina e o paclitaxel na composição é cerca de 18:1 ou inferior, tal como cerca de 9:1 ou inferior. Em algumas concretizações, o paclitaxel está revestido com albumina. Em algumas concretizações, as nanopartículas de paclitaxel/albumina têm

um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm e a composição de paclitaxel/albumina encontra-se substancialmente isenta (tal como isenta) de tensioactivo (tal como Cremophor). Em algumas concretizações, as nanopartículas de paclitaxel/albumina têm um diâmetro médio não superior a cerca de 200 nm e o paclitaxel está revestido com albumina. Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas é Abraxane™.

Em algumas concretizações, o Abraxane™ (ou outras composições de nanopartículas de paclitaxel/albumina) é administrado à dose de cerca de 3 mg/kg a cerca de 10 mg/kg diariamente. Em algumas concretizações, o Abraxane™ é administrado à dose de cerca de 6 mg/kg a cerca de 10 mg/kg diariamente. Em algumas concretizações, o Abraxane™ é administrado à dose de cerca de 6 mg/kg diariamente. Em algumas concretizações, o Abraxane™ é administrado à dose de cerca de 3 mg/kg diariamente.

Também descrevemos composições para utilização no(s) regime(s) metronómico(s) aqui descrito(s). Em algumas concretizações, proporciona-se uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina), em que a referida composição é administrada a um indivíduo através de um regime de dosagem metronómico, tal como o regime de dosagem aqui descrito.

### **Composições de nanopartículas**

As composições de nanopartículas aqui descritas compreendem nanopartículas compreendendo (em várias concretizações consistindo essencialmente de) um taxano (tal como paclitaxel) e uma proteína transportadora (tal como albumina). Também se revelaram nanopartículas de fármacos pouco solúveis em água (tal como taxano) em, por exemplo, patentes U.S. Nº 5 916 596; 6 506 405; e 6 537 579 e também em publicação de patente U.S. Nº 2005/0004002A1. Embora a descrição proporcionada seguidamente seja específica para taxano, deve entender-se que a mesma se aplica a outros fármacos, tal como rapamicina, 17-AAG e tiocolchicina dimérica.



Em algumas concretizações, a composição compreende nanopartículas com um diâmetro médio não superior a cerca de 1000 nanómetros (nm), tal como não superior a cerca de qualquer de 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200 e 100 nm. Em algumas concretizações, o diâmetro médio das nanopartículas é não superior a cerca de 200 nm. Em algumas concretizações, o diâmetro médio das nanopartículas é não superior a cerca de 150 nm. Em algumas concretizações, o diâmetro médio das nanopartículas é não superior a cerca de 100 nm. Em algumas concretizações, o diâmetro médio das nanopartículas é cerca de 20 a cerca de 400 nm. Em algumas concretizações, o diâmetro médio das nanopartículas é cerca de 40 a cerca de 200 nm. Em algumas concretizações, as nanopartículas podem ser esterilizadas por filtração.

As nanopartículas aqui descritas podem estar presentes numa formulação seca (tal como composição liofilizada) ou suspensas num meio biocompatível. Os meios biocompatíveis adequados incluem, entre outros, água, meios aquosos tamponados, solução salina, solução salina tamponada, soluções de aminoácidos opcionalmente tamponadas, soluções de proteínas opcionalmente tamponadas, soluções de açúcares opcionalmente tamponadas, soluções de vitaminas opcionalmente tamponadas, soluções de polímeros sintéticos opcionalmente tamponadas, emulsões contendo lípido e semelhantes.

A expressão "proteínas" refere-se a polipéptidos ou polímeros de aminoácidos de qualquer comprimento (incluindo completos ou fragmentos), que podem ser lineares ou ramificados, compreendem aminoácidos modificados e/ou podem ser interrompidos por não aminoácidos. A expressão também abrange um polímero de aminoácidos que foi modificado naturalmente ou por intervenção; por exemplo, formação de pontes dissulfureto, glicosilação, lipidação, acetilação, fosforilação ou qualquer outra manipulação ou modificação. Também se incluem nesta expressão, por exemplo, polipéptidos contendo um ou mais análogos de um aminoácido (incluindo, por exemplo, aminoácidos não naturais, etc.), bem como outras modificações conhecidas na especialidade. As proteínas aqui descritas podem ser de ocorrência natural, i.e., obtidas ou derivadas de uma fonte natural (tal como sangue) ou

sintetizadas (tal como sintetizadas quimicamente ou sintetizadas por técnicas de ADN recombinante).

Os exemplos de proteínas transportadoras adequadas incluem proteínas encontradas normalmente no sangue ou plasma, que incluem, entre outras, albumina, imunoglobulina incluindo IgA, lipoproteínas, apolipoproteína B, alfa-glicoproteína ácida, beta-2-macroglobulina, tiroglobulina, transferrina, fibronectina, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X e semelhantes. Em algumas concretizações, a proteína transportadora não é uma proteína de sangue, tal como caseína,  $\alpha$ -lactalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina. As proteínas transportadoras podem ser quer de origem natural, quer preparadas sinteticamente. Em algumas concretizações, o transportador farmacêuticamente aceitável compreende albumina, tal como albumina de soro humana. A albumina de soro humana (HSA) é uma proteína globular altamente solúvel de Mr 65 K e consiste de 585 aminoácidos. A HSA é a proteína mais abundante no plasma e é responsável por 70-80% da pressão osmótica coloidal do plasma humano. A sequência de aminoácidos de HSA contém um total de 17 pontes dissulfureto, um tiol livre (Cys 34) e um único triptofano (Trp 214). O uso intravenoso da solução de HSA foi indicado para a prevenção e tratamento de choque hipovolémico (consultar, e.g., Tullis, *JAMA*, 237, 355-360, 460-463, (1977)) e Houser et al., *Surgery, Gynecology and Obstetrics*, 150, 811-816 (1980)) e conjuntamente com transfusão permuta no tratamento de neonatal de hiperbilirrubinemia (consultar, e.g., Finlayson, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 6, 85-120, (1980)). Abrangem-se outras albuminas, tal como albumina de soro bovina. O uso de tais albuminas não humanas pode ser adequado, por exemplo, no contexto do uso destas composições em mamíferos não humanos, tal como o veterinário (incluindo animais de estimação domésticos e no contexto agrícola).

A albumina de soro humana (HSA) tem vários locais de ligação hidrofóbicos (um total de oito para ácidos gordos, um ligando endógeno de HSA) e ligam um conjunto diversificado de taxanos, especialmente compostos hidrofóbicos neutros e carregados negativamente (Goodman et al., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9<sup>a</sup> ed, McGraw-Hill New York (1996)). Foram propostos dois locais de ligação de elevada afinidade

nos subdomínios IIA e IIIA de HSA, que são bolsos hidrofóbicos altamente alongados com resíduos carregados de lisina e arginina perto da superfície que funcionam como pontos de ligação para características polares do ligando (consultar, e.g., Fehske et al., *Biochem. Pharmacol.*, 30, 687-92 (198a), Vorum, *Dan. Med. Bull.*, 46, 379-99 (1999), Kragh-Hansen, *Dan. Med. Bull.*, 1441, 131-40 (1990), Curry et al., *Nat. Struct. Biol.*, 5, 827-35 (1998), Sugio et al., *Protein. Eng.*, 12, 439-46 (1999), He et al., *Nature*, 358, 209-15 (199b) e Carter et al., *Adv. Protein. Chem.*, 45, 153-203 (1994)). Demonstrou-se que paclitaxel e propofol se ligam a HSA (consultar, e.g., Paal et al., *Eur. J. Biochem.*, 268(7), 2187-91 (200a), Purcell et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 1478(a), 61-8 (2000), Altmayer et al., *Arzneimittelforschung*, 45, 1053-6 (1995) e Garrido et al., *Rev. Esp. Anestesiología y Reanimación*, 41, 308-12 (1994)). Além disso, demonstrou-se que docetaxel se liga a proteínas de plasma humana (consultar, e.g., Urien et al., *Invest. New Drugs*, 14(b), 147-51 (1996)).

A proteína transportadora (tal como albumina) na composição serve geralmente como um transportador para o taxano, i.e., a proteína transportadora na composição torna o taxano mais fácil de suspender num meio aquoso ou ajuda a manter a suspensão comparativamente a composições que não compreendem uma proteína transportadora. Tal pode evitar o uso de solventes (ou tensioactivos) tóxicos para solubilizar o taxano e assim pode reduzir um ou mais efeitos secundários da administração do taxano a um indivíduo (tal como um humano). Assim, em algumas concretizações, a composição aqui descrita está substancialmente isenta (tal como isenta) de tensioactivos, tal como Cremophor (incluindo Cremophor EL<sup>®</sup> (BASF)). Em algumas concretizações, a composição de nanopartículas está substancialmente isenta (tal como isenta) de tensioactivos. Uma composição está "substancialmente isenta de Cremophor" ou "substancialmente isenta de tensioactivo" caso a quantidade de Cremophor ou tensioactivo na composição não seja suficiente para causar um ou mais efeitos secundários num indivíduo quando a composição de nanopartículas é administrada ao indivíduo.

A quantidade de proteína transportadora na composição aqui descrita variará dependendo dos outros componentes na

composição. Em algumas concretizações, a composição compreende uma proteína transportadora numa quantidade que é suficiente para estabilizar o taxano numa suspensão aquosa, por exemplo, sob a forma de uma suspensão coloidal estável (tal como uma suspensão estável de nanopartículas). Em algumas concretizações, a proteína transportadora está numa quantidade que diminui a velocidade de sedimentação do taxano num meio aquoso. Para composições contendo partículas, a quantidade da proteína transportadora também depende do tamanho e densidade de nanopartículas do taxano.

Um taxano está "estabilizado" numa suspensão aquosa caso se mantenha em suspensão num meio aquoso (tal como sem precipitação ou sedimentação visíveis) durante um período extenso de tempo, tal como durante pelo menos cerca de qualquer de 0,1, 0,2, 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 48, 60 ou 72 horas. A suspensão é em geral, mas não necessariamente, adequada para administração a um indivíduo (tal como humano). A estabilidade da suspensão é em geral (mas não necessariamente) avaliada a uma temperatura de armazenagem (tal como temperatura ambiente (tal como 20-25 °C) ou condições refrigeradas (tal como 4 °C)). Por exemplo, uma suspensão é estável a uma temperatura de armazenagem caso não apresente qualquer floculação ou aglomeração de partículas visível a olho nu ou quando observada num microscópio óptico a 1000 vezes, cerca de quinze minutos após a preparação da suspensão. A estabilidade pode também ser avaliada em condições de ensaio aceleradas, tal como a uma temperatura superior a cerca de 40 °C.

Em algumas concretizações, a proteína transportadora está presente numa quantidade que é suficiente para estabilizar o taxano numa suspensão aquosa a uma determinada concentração. Por exemplo, a concentração do taxano na composição é cerca de 0,1 a cerca de 100 mg/ml, incluindo por exemplo qualquer de cerca de 0,1 a cerca de 50 mg/ml, cerca de 0,1 a cerca de 20 mg/ml, cerca de 1 a cerca de 10 mg/ml, cerca de 2 mg/ml a cerca de 8 mg/ml, cerca de 4 a cerca de 6 mg/ml, cerca de 5 mg/ml. Em algumas concretizações, a concentração do taxano é pelo menos cerca de qualquer de 1,3 mg/ml, 1,5 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml, 5 mg/ml, 6 mg/ml, 7 mg/ml, 8 mg/ml, 9 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml e

50 mg/ml. Em algumas concretizações, a proteína transportadora está presente numa quantidade que evita o uso de tensioactivos (tal como Cremophor), de modo que a composição está isenta ou substancialmente isenta de tensioactivo (tal como Cremophor).

Em algumas concretizações, a composição, na forma líquida, compreende desde cerca de 0,1% a cerca de 50% (p/v) (e.g. cerca de 0,5% (p/v), cerca de 5% (p/v), cerca de 10% (p/v), cerca de 15% (p/v), cerca de 20% (p/v), cerca de 30% (p/v), cerca de 40% (p/v) ou cerca de 50% (p/v)) de proteína transportadora. Em algumas concretizações, a composição, na forma líquida, compreende cerca de 0,5% a cerca de 5% (p/v) de proteína transportadora.

Em algumas concretizações, a razão mássica entre a proteína transportadora, e.g., albumina, e o taxano na composição de nanopartículas é tal que uma quantidade suficiente de taxano se liga às células ou é transportada para a célula. Embora a razão mássica entre a proteína transportadora e taxano tenha que ser optimizada para diferentes combinações de proteína transportadora e taxano, em geral a razão mássica entre proteína transportadora, e.g., albumina, e taxano (p/p) é cerca de 0,01:1 a cerca de 100:1, cerca de 0,02:1 a cerca de 50:1, cerca de 0,05:1 a cerca de 20:1, cerca de 0,1:1 a cerca de 20:1, cerca de 1:1 a cerca de 18:1, cerca de 2:1 a cerca de 15:1, cerca de 3:1 a cerca de 12:1, cerca de 4:1 a cerca de 10:1, cerca de 5:1 a cerca de 9:1 ou cerca de 9:1. Em algumas concretizações, a razão mássica entre proteína transportadora e taxano é cerca de qualquer de 18:1 ou menor, 15:1 ou menor, 14:1 ou menor, 13:1 ou menor, 12:1 ou menor, 11:1 ou menor, 10:1 ou menor, 9:1 ou menor, 8:1 ou menor, 7:1 ou menor, 6:1 ou menor, 5:1 ou menor, 4:1 ou menor e 3:1 ou menor.

Em algumas concretizações, a proteína transportadora permite que a composição seja administrada a um indivíduo (tal como humano) sem efeitos secundários significativos. Em algumas concretizações, a proteína transportadora (tal como albumina) está numa quantidade que é eficaz para reduzir um ou mais efeitos secundários da administração do taxano a um humano. A expressão "reduzir um ou mais efeitos secundários de administração do taxano" refere-se a diminuir, aliviar,

eliminar ou evitar um ou mais efeitos indesejáveis causados pelo taxano, bem como efeitos secundários causados pelos veículos de entrega (tal como solventes que tornam os taxanos adequados para injeção) utilizados para entregar o taxano. Tais efeitos secundários incluem, por exemplo, mielossupressão, neurotoxicidade, hipersensibilidade, inflamação, irritação venosa, flebite, dor, irritação da pele, neuropatia periférica, febre neutropénica, reacção anafiláctica, trombose venosa, extravasão e suas combinações. No entanto, estes efeitos secundários são simplesmente exemplos e podem reduzir-se outros efeitos secundários, ou combinação de efeitos secundários, associados com taxanos.

Em algumas concretizações, a composição compreende Abraxane™. Abraxane™ é uma formulação de paclitaxel estabilizada com albumina humana USP, que pode ser dispersa directamente em solução fisiológica injectável. Quando dispersa num meio aquoso adequado, tal como injeção de cloreto de sódio a 0,9% ou injeção de dextrose a 5%, Abraxane™ forma uma suspensão coloidal estável de paclitaxel. O tamanho médio de partícula das nanopartículas na suspensão coloidal é cerca de 130 nanómetros. Dado que HSA é muito solúvel em água, o Abraxane™ pode ser reconstituído numa gama alargada de concentração na gama de diluída (paclitaxel a 0,1 mg/ml) a concentrada (paclitaxel a 20 mg/ml), incluindo por exemplo cerca de 2 mg/ml a cerca de 8 mg/ml, cerca de 5 mg/ml.

São conhecidos na especialidade métodos de preparar composições de nanopartículas. Por exemplo, podem preparar-se nanopartículas contendo taxanos (tal como paclitaxel) e proteína transportadora (tal como albumina) em condições de forças de corte elevadas (e.g., sonicação, homogeneização a pressão elevada ou semelhantes). Estes métodos revelam-se, por exemplo, em patentes U.S. N° 5 916 596; 6 506 405; e 6 537 579 e também publicação de patente U.S. N° 2005/0004002A1.

Sucintamente, o taxano (tal como docetaxel) é dissolvido num solvente orgânico e a solução pode ser adicionada a uma solução de albumina de soro humana. Sujeita-se a mistura a homogeneização com pressão elevada. O solvente orgânico pode então ser removido por evaporação. Adicionalmente, a dispersão obtida por ser liofilizada. Os solventes orgânicos adequados

incluem, por exemplo, cetonas, ésteres, éteres, solventes clorados e outros solventes conhecidos na especialidade. Por exemplo, o solvente orgânico pode ser cloreto de metileno e clorofórmio/etanol (por exemplo com uma razão de 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1 ou 9:a).

#### *Outros componentes nas composições de nanopartículas*

As nanopartículas aqui descritas podem estar presentes numa composição que inclui outros agentes, excipientes ou estabilizantes. Por exemplo, para aumentar a estabilidade por aumento do potencial zeta negativo das nanopartículas, podem adicionar-se determinados componentes carregados negativamente. Tais componentes carregados negativamente incluem, entre outros, sais biliares de ácidos biliares consistindo de ácido glicocólico, ácido cólico, ácido chenodesoxicólico, ácido taurocólico, ácido glicochenodesoxicólico, ácido taurochenodesoxicólico, ácido litocólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desidrocólico e outros; fosfolípidos incluindo fosfolípidos baseados em lecitina (gema de ovo) que incluem as seguintes fosfatidilcolinas: palmitoiloleoilfosfatidilcolina, palmitoilinoleoilfosfatidilcolina, estearoilinoleoilfosfatidilcolina, estearoiloleoilfosfatidilcolina, estearoilaraquidoilfosfatidilcolina e dipalmitoilfosfatidilcolina. Outros fosfolípidos incluindo L- $\alpha$ -dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), dioleoilfosfatidilcolina (DOPC), diesteariolfosfatidilcolina (DSPC), fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC) e outros compostos relacionados. São também adequados como aditivos tensioactivos ou emulsionantes carregados negativamente, e.g., colesterilsulfato de sódio e semelhantes.

Em algumas concretizações, a composição é adequada para administração a um humano. Em algumas concretizações, a composição é adequada para administração a um mamífero tal como, no contexto veterinário, animais de estimação domésticos e animais agrícolas. Existe uma larga variedade de formulações adequadas da composição de nanopartículas (consultar, e.g., patentes U.S. Nº 5 916 596 e 6 096 331). As seguintes formulações e métodos são meramente exemplos e não são de modo algum limitativos. As formulações adequadas para administração

oral podem consistir de (a) soluções líquidas, tal como uma quantidade eficaz do composto dissolvida em diluentes, tal como água, solução salina ou sumo de laranja, (b) cápsulas, saquetas ou comprimidos, cada qual contendo uma quantidade pré-determinada do ingrediente activo, como sólidos ou grânulos, (c) suspensões num líquido adequado e (d) emulsões adequadas. As formas em comprimido podem incluir um ou mais de lactose, manitol, amido de milho, fécula de batata, celulose microcristalina, goma-arábica, gelatina, dióxido de silício coloidal, croscarmelose de sódio, talco, estearato de magnésio, ácido esteárico e outros excipientes, corantes, diluentes, agentes de tamponação, agentes de humidificação, conservantes, agentes aromatizantes e excipientes compatíveis farmacologicamente. As formas em rebuçado podem compreender o ingrediente activo num sabor, usualmente sacarose e goma-arábica ou goma de tragacanto, bem como as pastilhas compreendendo o ingrediente activo numa base inerte, tal como gelatina e glicerina ou sacarose e goma-arábica, emulsões, géis e semelhantes contendo além do ingrediente activo, tais excipientes tal como conhecido na especialidade.

Os exemplos de transportadores, excipientes e diluentes adequados incluem, entre outros, lactose, dextrose, sacarose, sorbitol, manitol, amidos, goma-arábica, fosfato de cálcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de cálcio, celulose microcristalina, polivinilpirrolidona, celulose, água, solução salina, xarope, metilcelulose, metil-hidroxibenzoatos e propil-hidroxibenzoatos, talco, estearato de magnésio e óleo mineral. As formulações podem incluir adicionalmente agentes lubrificantes, agentes de molhagem, agentes emulsionantes e de suspensão, agentes conservantes, agentes edulcorantes ou agentes aromatizantes.

As formulações adequadas para administração parentérica incluem soluções para injeção estéril isotónicas aquosas e não aquosas que podem conter antioxidantes, tampões, bacteriostáticos e solutos que tornam a formulação compatível com o sangue do recebedor pretendido e suspensões estéreis aquosas e não aquosas que podem incluir agentes de suspensão, solubilizantes, agentes espessantes, estabilizantes e conservantes. As formulações podem ser apresentadas em recipientes selados em dose unitária ou em doses múltiplas,



tais como ampolas e frasquinhos e podem ser armazenados numa condição liofilizada o que apenas requer a adição do excipiente líquido estéril, por exemplo, água para injeções, imediatamente antes de utilização. Podem preparar-se soluções e suspensões extemporâneas de injeção a partir de pós, grânulos e comprimidos estéreis do tipo descrito anteriormente. São preferidas as formulações injectáveis.

Em algumas concretizações, a composição é formulada para ter uma gama de pH de cerca de 4,5 a cerca de 9,0, incluindo por exemplo gamas de pH de qualquer de cerca de 5,0 a cerca de 8,0, cerca de 6,5 a cerca de 7,5 e cerca de 6,5 a cerca de 7,0. Em algumas concretizações, o pH da composição é formulado para ser não inferior a cerca de 6, incluindo por exemplo não inferior a cerca de qualquer de 6,5, 7 ou 8 (tal como cerca de 8). A composição pode também ser tornada isotónica com o sangue por adição de um modificador de tonicidade adequado, tal como glicerol.

### **Kits**

Também descrevemos kits para utilização nos presentes métodos. Os kits incluem um ou mais recipientes compreendendo composições de nanopartículas contendo taxano (ou formas de dosagem unitária e/ou artigos de fabrico) e/ou um agente quimioterapêutico e em algumas concretizações compreendem adicionalmente instruções para uso de acordo com qualquer dos métodos aqui descritos. O kit pode compreender adicionalmente uma descrição de selecção de um indivíduo adequado ou tratamento. As instruções fornecidas nos kits do invento são tipicamente instruções escritas numa etiqueta ou folheto informativo (e.g., folha de papel incluída no kit), mas também são aceitáveis instruções legíveis por máquinas (e.g., instruções transportadas num disco de armazenamento magnético ou óptico).

Em algumas concretizações, o kit compreende a) uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina), b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico e c) instruções para administrar as nanopartículas e os agentes quimioterapêuticos simultânea e/ou

sequencialmente, para tratamento de uma doença proliferativa (tal como cancro). Em algumas concretizações, o taxano é qualquer de paclitaxel, docetaxel e ortataxel. Em algumas concretizações, o kit compreende nanopartículas compreendendo a) uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™), b) uma quantidade eficaz de pelo menos um outro agente quimioterapêutico e c) instruções para administrar as nanopartículas e os agentes quimioterapêuticos simultânea e/ou sequencialmente, para o tratamento eficaz de uma doença proliferativa (tal como cancro).

Em algumas concretizações, o kit compreende a) uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma proteína transportadora (tal como albumina), b) uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo pelo menos um outro agente quimioterapêutico e uma proteína transportadora (tal como albumina) e c) instruções para administrar as composições de nanopartículas simultânea e/ou sequencialmente, para tratamento de uma doença proliferativa (tal como cancro). Em algumas concretizações, o kit compreende nanopartículas compreendendo a) uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo paclitaxel e uma albumina (tal como Abraxane™), b) uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo pelo menos um outro agente quimioterapêutico e uma proteína transportadora (tal como albumina) e c) instruções para administrar as composições de nanopartículas simultânea e/ou sequencialmente, para o tratamento eficaz de uma doença proliferativa (tal como cancro).

As nanopartículas e os agentes quimioterapêuticos podem estar presentes em recipientes separados ou num único recipiente. Entende-se que o kit pode compreender uma composição diferente ou duas ou mais composições, em que uma composição compreende nanopartículas e uma composição compreende um agente quimioterapêutico.

Os kits estão numa embalagem adequada. As embalagens adequadas incluem, entre outras, frasquinhos, garrafas, jarros, embalagens flexíveis (e.g., Mylar selado ou sacos de plástico) e semelhantes. Os kits podem proporcionar

opcionalmente componentes adicionais, tais como tampões e informação interpretativa.

As instruções relativas ao uso das composições de nanopartículas incluem em geral informação sobre dosagem, plano de dosagem e via de administração para o tratamento pretendido. Os recipientes podem ser doses unitárias, embalagens em quantidade (e.g., embalagens com múltiplas doses) ou doses subunitárias. Por exemplo, podem proporcionar-se kits que contêm dosagens suficientes do taxano (tal como taxano) tal como aqui reveladas para proporcionar um tratamento eficaz de um indivíduo durante um período extenso, tal como qualquer de uma semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 6 semanas, 8 semanas, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses ou mais. Os kits podem também incluir múltiplas doses unitárias do taxano e composições farmacêuticas e instruções para utilização e embaladas em quantidades suficientes para armazenamento e utilização em farmácias, por exemplo, farmácias hospitalares e farmácias de manipulação.

Os peritos na especialidade reconhecerão que são possíveis várias variações dentro do âmbito e espírito deste invento. O invento será agora descrito mais detalhadamente por referência aos seguintes exemplos não limitativos. Os seguintes exemplos ilustram adicionalmente o invento mas não devem obviamente ser interpretados como de alguma forma limitativos do seu âmbito.

#### EXEMPLOS

**Exemplo 1. Resposta melhorada e toxicidades diminuídas para Abraxane™ comparativamente a Taxol® num estudo de fase III de Abraxane™ administrado de três em três semanas.**

Incidência de neutropenia e hipersensibilidade significativamente reduzida, ausência de necessidade de pré-medicação de esteróides, menor duração de neuropatia, menor tempo de infusão e dose mais elevada.

Comparou-se ABI-007 (Abraxane™), o primeiro paclitaxel ligado a albumina biologicamente interactivo numa forma de nanopartícula, isento de qualquer solvente, com paclitaxel

(Taxol®) baseado em Cremophor® em indivíduos com cancro de mama metastático (MBC). Este estudo de fase III foi efectuado para confirmar os estudos pré-clínicos que demonstraram uma eficácia superior e toxicidade reduzida de ABI-007 comparativamente a Taxol®. Os indivíduos foram distribuídos aleatoriamente em ciclos de 3 semanas de ABI-007 a 260 mg/m<sup>2</sup> (iv) durante 30 minutos sem pré-medicação (n = 229) ou Taxol® a 175 mg/m<sup>2</sup> IV durante 3 horas com pré-medicação (n = 225). ABI-007 demonstrou taxas de resposta significativamente superiores comparativamente a Taxol® (33% contra 19%; p = 0,001) e tempo de progressão para tumor significativamente maior (23,0 contra 16,9 semanas; HR = 0,75; p = 0,006). Ocorreu uma tendência para sobrevivência global maior em indivíduos que receberam ABI-007 (65,0 contra 55,7 semanas; p = 0,374). Numa análise não planeada, ABI-007 melhorou a sobrevivência em indivíduos que receberam tratamento como terapia de segunda linha ou de linha superior (56,4 contra 46,7 semanas; HR = 0,73; p = 0,024). A incidência de neutropenia de grau 4 foi significativamente inferior no grupo de ABI-007 (9% contra 22%; p < 0,001) apesar da dose de paclitaxel ser 49% mais alta. A neuropatia sensorial de grau 3 foi mais comum no grupo de ABI-007 do que grupo de Taxol® (10% contra 2%; p < 0,001) mas foi facilmente controlada e melhorou mais rapidamente (mediana, 22 dias) do que para Taxol® (mediana 73 dias). Não ocorreram quaisquer reacções de hipersensibilidade graves (grau 3 ou 4) relacionadas com o tratamento em nenhum dos indivíduos do grupo de ABI-007 apesar da ausência de pré-medicação e tempo de administração mais curto. Contrariamente, ocorreram reacções de hipersensibilidade de grau 3 no grupo de Taxol® apesar da pré-medicação padrão (dores no peito: 2 indivíduos; reacção alérgica: 3 indivíduos). Por protocolo, não se administraram rotineiramente corticosteróides e anti-histamínicos a indivíduos no grupo de ABI-007; no entanto, administrou-se pré-medicação para emese, mialgia/artralgia ou anorexia em 18 indivíduos (8%) no grupo de ABI-007 em 2% dos ciclos de tratamento, enquanto 224 indivíduos (>99%) no grupo de Taxol® receberam pré-medicação em 95% dos ciclos. O único valor das análises clínicas que foi notoriamente diferente entre os 2 braços do tratamento foram níveis de glicose sérica mais elevados nos indivíduos tratados com Taxol®, que também tiveram uma maior incidência de hiperglicemia que foi relatada

como um AE (efeito adverso) (15 [7%] contra 3 [1%];  $p = 0,003$ ). Globalmente, ABI-007 demonstrou maior eficácia e um perfil de segurança favorável comparativamente a Taxol<sup>®</sup> nesta população de indivíduos. O índice terapêutico melhorado e eliminação da pré-medicação de esteróides necessária para taxanos baseados em solventes torna estas nanopartículas de paclitaxel ligadas a albumina um avanço importante no tratamento de MBC.

### **Exemplo 2. Abraxane<sup>™</sup> semanalmente em indivíduos com cancro da mama metastático refractário a taxano**

Um estudo clínico de fase II recente demonstrou que a administração semanal de Abraxane<sup>™</sup> (nanopartículas de paclitaxel ligado a albumina) numa dose de 125 mg/m<sup>2</sup> resultou em controlo de doença de expressão prolongada em indivíduos com cancro de mama metastático, cuja doença tinha progredido durante o tratamento com Taxol<sup>®</sup> ou Taxotere<sup>®</sup> (ou seja, indivíduos que são refractários a taxano).

Pensa-se que o Abraxane<sup>™</sup> representa a primeira composição interactiva biologicamente que explora a via mediada por receptor (gp60) que se verificou ser integral para atingir concentrações elevadas intracelulares no tumor do ingrediente activo - paclitaxel. O estudo de fase II incluiu 75 indivíduos com cancro de mama metastático refractário a taxano. Administrou-se Abraxane<sup>™</sup> semanalmente através de uma infusão de 30 minutos a 125 mg/m<sup>2</sup> sem pré-medicação de esteróides/anti-histamínicos ou profilaxia com G-CSF. Os indivíduos receberam três doses semanalmente seguido por uma semana de descanso, repetido de 28 dias em 28 dias. Contrariamente a Taxol<sup>®</sup> ou Taxotere<sup>®</sup>, que contêm detergentes que podem inibir a adsorção pelo tumor, o mecanismo de acção das nanopartículas de paclitaxel ligado a albumina podem resultar em resultados melhorados, especialmente nesta população de indivíduos de difícil tratamento.

Especificamente, os dados demonstraram que apesar desta elevada dose semanal de 125 mg/m<sup>2</sup> nesta população de indivíduos altamente pré-tratados e antes de exposição ao taxano, apenas 3 dos 75 indivíduos (4%) tiveram que interromper Abraxane<sup>™</sup> devido a neuropatia periférica. Além

disso, entre os que tiveram neuropatia periférica de grau 3, 80% foram tipicamente capazes de retomar o tratamento após um intervalo de apenas 1 ou 2 semanas e continuaram a receber Abraxane™ a uma dose reduzida durante uma média de 4 meses adicionais. Esta rápida melhoria foi consistente com a nossa observação do ensaio de fase III - que a neuropatia periférica induzida apenas por paclitaxel (i.e., sem Cremophor®) melhora rapidamente em comparação com a induzida por Taxol®. Estas experiências do ensaio clínico de Abraxane™ proporcionaram a primeira oportunidade clínica para distinguir os efeitos do próprio agente quimioterapêutico, paclitaxel, dos efeitos dos solventes. Com base na experiência de fase II e fase III, os dados agora sugerem que a neuropatia periférica de Abraxane™ não é comparável com a neuropatia periférica de Taxol® ou Taxotere® relativamente a duração e impacto no indivíduo.

Relativamente à experiência clínica de neuropatia periférica após Taxol® ou Taxotere®, Abraxis Oncology completou recentemente um inquérito a 200 oncologistas a quem foi perguntado quanto tempo é que achavam que a neuropatia periférica induzida por Taxol® demorava a melhorar e/ou desaparecer: 25% responderam "7-12 meses" e outros 23% responderam "nunca desapareceu"; para Taxotere®, as percentagens respectivas foram 29% e 7%. Estes dados são consistentes com a informação nos folhetos informativos de Taxotere® e Taxol®.

A análise dos dados de fase II demonstram que Abraxane™ é activo nesta população de indivíduos com um prognóstico fraco (87% de doença visceral (pulmão e fígado), 69% >3 locais metastáticos, 88% crescimento de tumor durante a medicação com taxanos) de indivíduos com cancro de mama metastático refractário a taxano. As observações incluíram um controlo da doença de 44% em indivíduos refractários a Taxotere® e 39% de controlo da doença em indivíduos refractários a Taxol®. Entre os indivíduos cuja doença progrediu durante o tratamento apenas com Taxotere® no contexto metastático (n=27) verificou-se uma taxa de resposta de 19% após receberem semanalmente Abraxane™. Entre os indivíduos cuja doença progrediu durante o tratamento apenas com Taxol® no contexto metastático (n=23) observou-se uma taxa de resposta de 13% após receberem Abraxane™ semanalmente.

Verificou-se que Abraxane™ é bem tolerado quando administrado semanalmente durante 30 minutos sem profilaxia com esteróides ou G-CSF: neuropatia de grau 4 = 3% (sem G-CSF); anemia de grau 4 = 1%; sem reacções de hipersensibilidade graves (apesar da ausência de pré-medicação). Nesta população de indivíduos altamente pré-tratados, 75% dos indivíduos foram tratados com a elevada dose completa de Abraxane™ a 125 mg/m<sup>2</sup> semanalmente, sem redução de doses devido a toxicidades/efeitos adversos. Entre os indivíduos que desenvolveram neuropatia sensorial de grau 3, 77% foram capazes de reiniciar Abraxane™ a uma dose reduzida (75-100 mg/m<sup>2</sup>) e receberam uma média de 12,2 (gama de 1-28) doses adicionais de Abraxane™. Foi notável verificar que entre os indivíduos que reiniciaram Abraxane™, 80% (8 de 10) foram capazes de reiniciar o fármaco no intervalo de 14 dias após melhoria da neuropatia de grau 1 ou 2. Estes resultados corroboram as observações do determinante estudo de fase III de Abraxane™ a 260 mg/m<sup>2</sup> administrado de 3 em 3 semanas, no qual também se verificou uma melhoria rápida de neuropatia (mediana de 22 dias). Conjuntamente, estes dois ensaios clínicos sugerem que quando se administra paclitaxel sozinho, a neuropatia que ocorre parece ser de curta duração e é facilmente tratada.

Abraxane™ utiliza a via baseada no receptor gp60 das células endoteliais de microvasos para transportar o complexo albumina-paclitaxel para fora dos vasos sanguíneos e para o interstício de tumor e demonstrou-se que o Taxol® não foi transportado por este mecanismo. Além disso, foi sobreexpressa uma proteína de ligação de albumina, SPARC, em tumores de mama que pode desempenhar um papel na acumulação intratumoral aumentada de Abraxane™. O mecanismo proposto sugere que, uma vez no interstício de tumor, o complexo albumina-paclitaxel se ligaria a SPARC que está presente na superfície das células de tumor e seria rapidamente internalizado na célula de tumor por um mecanismo sem lisosoma.

Além disso, os tensioactivos/solventes utilizados normalmente nas formulações corrente de taxano, tais como Cremophor®, Tween® 80 e TPGS, inibem fortemente a ligação de paclitaxel a albumina, limitando assim o transporte trans-

endotelial. Os dados adicionais apresentados demonstraram uma eficácia estatisticamente melhorada de Abraxane™ relativamente a Taxotere® no xenoenxerto mamário MX-1 de carcinoma de mama em doses iguais.

Em conclusão, 75% dos indivíduos foram tratados com dose completa elevada sem reduções da dose. Os dados indicam melhoria rápida de neuropatia periférica quando se administram nanopartículas de paclitaxel ligado albumina sozinhas, sem o solvente Cremophor®. Os dados adicionais proporcionam evidência complementar que o mecanismo de acção pode desempenhar um papel importante para melhorar os resultados no indivíduo.

**Exemplo 3. Abraxane™ (ABI-007) actua em sinergia com péptidos pró-apoptóticos anti-angiogénicos (HKP) dirigidos ao alvo em xenoenxertos de tumor MDA-MB-435 humano.**

Foi anteriormente relatada a actividade anti-angiogénica de pequenos péptidos pró-apoptóticos sintéticos compostos por dois domínios funcionais, um que tem como alvo receptores de CD13 (aminopeptidase N) em microvasos de tumor e o outro rompe a membrana de mitocôndrias após internalização. Consultar Nat Med. Setembro de 1999; 5(9):1032-8. Verificou-se que um péptido dimérico de segunda geração, CNGRG-GG-d(KLAKLAK)<sub>2</sub>, denominado HKP (péptido caçador-assassino) tem actividade antitumor melhorada. Dado que os agentes anti-angiogénicos tal como Avastin® apresentam sinergia em combinação com agentes citotóxicos tal como 5-fluorouracilo, avaliamos a combinação do HPK anti-angiogénico com Abraxane™ (ABI-007), uma nanopartícula de paclitaxel com albumina que é transportada pelo receptor gp60 no endotélio vascular (Desai, SABCS 2003), em xenoenxertos de tumor de mama humano MDA-MB-435.

Métodos: estabeleceram-se xenoenxertos de tumor humano MDA-MB-435 a um volume médio de tumor de 100 mm<sup>3</sup>, dividiram-se aleatoriamente ratinhos em grupos de 12-13 animais e trataram-se com HKP, Abraxane™ ou HKP e Abraxane™. Administrou-se HKP i.v. (250 ug), uma vez por semana, durante 16 semanas. Abraxane™ foi administrado i.v., diariamente durante 5 dias a 10 mg/kg/dia apenas na primeira semana de tratamento. A dose de Abraxane™ usada foi substancialmente inferior à sua MTD (30



mg/kg/dia, diariamente x 5) para evitar que o tumor entre em regressão completa de modo a notar-se os efeitos de HKP.

Resultados: Após dezanove semanas de tratamento, o volume de tumor tinha diminuído significativamente entre o grupo de controlo ( $10298 \text{ mm}^3 \pm 2570$ ) e HKP ( $4372 \text{ mm}^3 \pm 2470$ ;  $p < 0,05$  contra controlo) ou ABI-007 ( $3909 \text{ mm}^3 \pm 506$ ;  $p < 0,01$  contra controlo). A combinação de ABI-007 e HKP reduziu significativamente o volume de tumor relativamente a monoterapia ( $411 \text{ mm}^3 \pm 386$ ;  $p < 0,01$  contra monoterapia com Abraxane™ ou monoterapia com HKP). Os tratamentos foram bem tolerados.

Conclusão: A combinação de Abraxane™ (ABI-007), nanopartículas de paclitaxel ligado a albumina, com o péptido dimérico anti-angiogénico com alvo vascular HKP (CNGRC-GG-d(KLAKLAK)<sub>2</sub>) contra o xenoinxerto de tumor de mama MDA-MB-435 apresentou uma redução significativa do volume de tumor comparativamente a monoterapia de qualquer um dos agentes sozinhos. Os nossos resultados sugerem que a combinação de Abraxane™ com agentes anti-angiogénicos tal como HKP ou talvez Avastin® pode ser benéfica.

#### **Exemplo 4. Terapia ABI-007 metronómica: Actividade anti-angiogénica e antitumor de nanopartículas de paclitaxel ligado a albumina**

##### Exemplo 4a

Métodos: A actividade anti-angiogénica de ABI-007 foi avaliada por ensaios de anel da aorta de rato, proliferação de células endoteliais de veia umbilical humana (HUVEC) e formação de tubo. A dose óptima de ABI-007 para terapia metronómica foi determinada por medição dos níveis de progenitores endoteliais em circulação (CEP) em sangue periférico de ratinhos sem tumor Balb/c ( $n=5/\text{grupo}$ ; dosagem: 1-30 mg/kg, ip, diariamente x 7) por citometria de fluxo (Shaked et al., *Cancer Cell*, 7:101-111 (2005)). Subsequentemente, os efeitos antitumor de ABI-007 e Taxol® metronómicos (diariamente; i.p.) e MTD (diariamente x 5, 1 ciclo; i.v.) foram avaliados e comparados em ratinhos SCID com

xenoinxertos de cancro de mama MDA-MD-231 e da próstata PC3 humanos.

Resultados: ABI-007 a 5 nM inibiu significativamente ( $p < 0,05$ ) as protuberâncias em micro-vasos de aorta de rato, a proliferação de células endoteliais humanas e a formação de tubos em 53%, 24% e 75%, respectivamente. Verificou-se que a dose óptima de ABI-007 para terapia metronómica é 6-10 mg/kg com base em medições CEP. ABI-007 metronómico (6 mg/kg) contrariamente a Taxol® (1,3 mg/kg) suprimiu significativamente ( $p < 0,05$ ) o crescimento de tumor em ambos os modelos de xenoinxertos. Nem ABI-007, nem Taxol® administrados metronomicamente induziram qualquer perda de peso. Embora ABI-007 a MTD (30 mg/kg) tivesse inibido o crescimento de tumor mais eficazmente do que Taxol® a MTD (13 mg/kg), verificou-se uma perda de peso significativa com o primeiro. Curiosamente, o efeito antitumor de ABI-007 metronómico foi próximo de Taxol® a MTD.

Conclusão: ABI-007 apresenta actividades anti-angiogénica e antitumor potentes quando utilizado em regime metronómico.

#### Exemplo 4b

Ensaio de anel de aorta de rato. Revestiram-se placas de cultura de doze poços com Matrigel (Collaborative Biomedical Products, Bedford, MA) e deixou-se o gel durante 30 min a 37 °C e CO<sub>2</sub> a 5%. Excisaram-se aortas torácicas de ratos Sprague-Dawley machos com 8 a 10 semanas de idade, cortaram-se em secções de 1 mm de comprimento, colocaram-se em poços revestidos com Matrigel e cobriram-se com Matrigel adicional. Após fixação da segunda camada de Matrigel, cobriram-se os anéis com EGM-II e incubaram-se durante a noite a 37 °C e CO<sub>2</sub> a 5%. EGM-II consiste em meio basal de células endoteliais (EBM-II; Cambrex, Walkersville, MD) com factores de crescimento de células endoteliais proporcionado como EGM-II Bulletkit (Cambrex). O meio de cultura foi subsequentemente trocado para EBM-II suplementado com FBS a 2%, anfotericina B a 0,25 µg/ml e gentamicina a 10 µg/ml. Trataram-se os anéis da aorta com EBM-II contendo o veículo (solução salina a 0,9%/albumina), carboxiamidotriazole (CAI; 12 µg/ml) ou ABI-007 (paclitaxel 0,05-10 nM) durante 4 dias e fotografaram-se

no quinto dia. Usou-se CAI, um agente anti-angiogénico conhecido, a uma concentração superior à atingível clinicamente como um controlo positivo. Repetiram-se as experiências quatro vezes utilizando aortas de quatro ratos diferentes. A área de protuberâncias angiogénicas, relatadas em pixéis ao quadrado, foi quantificada utilizando Adobe Photoshop 6.0.

Tal como apresentado na figura 1A, ABI-007 inibiu significativamente as protuberâncias de micro-vasos de aorta de rato de uma forma dependente da concentração relativamente ao controlo de veículo, atingindo significado estatístico ( $p < 0,05$ ) a 5 nM (53% de inibição) e 10 nM (68% de inibição). A quantidade de albumina presente em cada concentração de ABI-007 sozinho não inibiu angiogénese.

Ensaio de proliferação de células endoteliais. Mantiveram-se células endoteliais de veia umbilical humana (HUVEC; Cambrex) em EGM-II a 37 °C e CO<sub>2</sub> a 5%. Inocularam-se HUVEC em placas de 12 poços a uma densidade de 30 000 células/poço e deixaram-se ligar durante a noite. Aspirou-se então o meio de cultura e adicionou-se a cada poço meio de cultura fresco contendo veículo (solução salina a 0,9%/albumina) ou ABI-007 (paclitaxel 0,05-10 nM). Após 48 h, tripsinizaram-se as células e contaram-se com um contador Coulter Z1 (Coulter Corp., Hialeah, FL). Todas as experiências foram repetidas três vezes.

Tal como apresentado na figura 1B, a proliferação de células endoteliais humanas foi inibida significativamente por ABI-007 a 5 nM e 10 nM em 36% e 41%, respectivamente.

Ensaio de formação de tubos de células endoteliais. Revestiram-se câmaras de lâminas de oito poços com Matrigel e deixou-se gelificar a 37 °C e CO<sub>2</sub> a 5% durante 30 min. Inocularam-se então HUVEC a 30 000 células/poço em EGM-II contendo o veículo (solução salina a 0,9%/albumina) ou ABI-007 (paclitaxel 0,05-10 nM) e incubou-se a 37 °C e CO<sub>2</sub> a 5% durante 16 h. Após incubação, lavaram-se as lâminas em PBS, fixaram-se em metanol a 100% durante 10 s e coraram-se com solução DiffQuick II (Dade Behring Inc., Newark, DE) durante 2 min. Para analisar a formação de tubos, fotografou-se

digitalmente cada poço utilizando uma objectiva de 2,5x. Estabeleceu-se um nível limite para mascarar os tubos corados. A área correspondente foi medida como o número de pixéis utilizando o utilitário MetaMorph (Universal Imaging, Downingtown, PA). As experiências foram repetidas três vezes.

Tal como apresentado na figura 1C, ABI-007 bloqueou a formação de tubos em 75%, tanto a 5 nM como a 10 nM.

Determinação da dose biológica óptima in vivo de ABI-007 por medição de células endoteliais em circulação (CEC) e progenitores endoteliais em circulação (CEP). Distribuíram-se aleatoriamente ratinhos Balb/cJ fêmeas de seis a oito semanas de idade pelos oito grupos (n=5 em cada): não tratados, tratados com injeções de bolus i.p. de veículo de fármaco (solução salina a 0,9%/albumina) ou de ABI-007 a 1, 3, 6, 10, 15 ou 30 mg/kg de paclitaxel diariamente durante 7 dias. No final do período de tratamento recolheram-se amostras de sangue por punção cardíaca e recolheram-se em tubos vacutainer contendo EDTA (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Contaram-se as CEC e os CEP utilizando citometria de fluxo de quatro cores. Utilizaram-se anticorpos monoclonais específicos para CD45 para excluir células hematopoiéticas CD45+. Visualizaram-se as CEC e o seu subconjunto CEP utilizando marcadores endoteliais murinos de quinase 1/receptor 2 de VEGF (flk-1/VEGFR2) de fígado fetal, CD13 e CD117 (BD Pharmingen, San Diego, CA). Efectuou-se coloração nuclear (Procount; BD Biosciences, San Jose, CA) para excluir a possibilidade de interferência de plaquetas ou resíduos celulares na exactidão da contagem de CEC e CEP. Após lise de eritrócitos, avaliaram-se as suspensões celulares com um FACSCalibur (BD Biosciences) utilizando painéis de análise concebidos para excluir células mortas, plaquetas e resíduos. Obtiveram-se pelo menos 100 000 eventos/amostra de modo a analisar a percentagem de CEC e CEP. O número absoluto de CEC e CEP foi então calculado como a percentagem dos eventos recolhidos nos painéis de contagem de CEC e CEP multiplicada pelo número total da contagem de leucócitos. Determinaram-se as percentagens de células coradas e compararam-se com os controlos negativos adequados. A coloração positiva foi definida como sendo superior a coloração basal não específica.

Utilizou-se 7-aminoactinomicina D (7AAD) para contar células viáveis relativamente a apoptóticas e mortas.

A figura 2 demonstra que ABI-007 administrado i.p. diariamente durante 7 dias a 3, 10-30 mg/kg diminuiu significativamente os níveis de CEP em ratinhos Balb/cJ sem tumores. No entanto, ABI-007 a 10-30 mg/kg foi associado a uma diminuição significativa da contagem de leucócitos indicativa de toxicidade. Embora a diminuição dos níveis de CEP por ABI-007 a 6 mg/kg não tenha atingido significado estatístico, a diminuição da contagem de leucócitos não foi evidente. Assim concluiu-se que a dose biológica óptima in vivo para ABI-007 metronómico foi entre 3-10 mg/kg. Num estudo, Taxol® metronómico a 1,3, 3, 6 ou 13 mg/kg administrado i.p. diariamente durante 7 dias não diminuiu significativamente os níveis de CEP viáveis, enquanto Taxol® metronómico a 30 mg/kg ou superior resultou em toxicidade grave e eventualmente mortalidade em ratinhos. Foi relatado previamente que a administração i.p. de Taxol® a doses normalmente usadas em clínica resultaram em encapsulamento de paclitaxel em micelas de Cremophor® EL na cavidade peritoneal e consequentemente em concentrações plasmáticas de paclitaxel insignificantes (Gelderblom et al., *Clin. Cancer Res.* 8:1237-41 (2002)). Tal explicaria o porquê das doses metronómicas de Taxol® (1,3, 3, 6 e 13 mg/kg) que não causaram morte, falharam a alterar os níveis de CEP viáveis. Neste caso, a administração i.p. de Taxol® metronómico a 1,3 mg/kg não seria diferente da de 13 mg/kg. Assim seleccionou-se a dose mais baixa, 1,3 mg/kg, para minimizar a quantidade de Cremophor® EL por administração de paclitaxel para experiências subsequentes.

Efeitos antitumor de ABI-007 metronómico e MTD comparativamente a Taxol® metronómico e MTD. Obteve-se linha celular de cancro de próstata humano PC3 e linha celular de cancro da mama humano MDA-MD-231 de American Type Culture Collection (Manassas, VA). Injectaram-se células PC3 ( $5 \times 10^6$ ) s.c. em ratinhos SCID machos de 6 a 8 semanas de idade, enquanto as células MDA-MB-231 ( $2 \times 10^6$ ) foram implantadas ortotopicamente na massa gorda mamária de ratinhos SCID fêmea. Quando o volume do tumor primário atingiu aproximadamente 150-200 mm<sup>3</sup>, os animais foram distribuídos aleatoriamente por oito grupos (n=5-10/grupo). Cada grupo foi tratado com controlo de

veículo de solução salina a 0,9%/albumina, controlo de veículo Cremophor® EL, Taxol® metronómico (1,3 mg/kg, i.p., diariamente), ABI-007 metronómico (paclitaxel a 3, 6 ou 10 mg/kg, i.p., diariamente), Taxol® a MTD (13 mg/kg, i.p., diariamente x 5, 1 ciclo) ou ABI-007 a MTD (paclitaxel a 30 mg/kg, i.v., diariamente x 5, 1 ciclo). Mediram-se os diâmetros perpendiculares de tumor com uma craveira uma vez por semana e calcularam-se os seus volumes. No final do período de tratamento recolheram-se amostras de sangue por punção cardíaca de ratinhos em todos os grupos. Contaram-se CEC e CEP tal como aqui descrito.

ABI-007 (3, 6 e 10 mg/kg), mas não Taxol® (1,3 mg/kg) metronómicos administrados i.p. diariamente durante 4 semanas inibiu significativamente ( $p < 0,05$ ) o crescimento de tumores MDA-MB-231 e PC3 (figura 3A e figura 3B). Nem ABI-007, nem Taxol® administrados metronomicamente induziram qualquer perda de peso (figura 3C e figura 3D). Embora ABI-007 a MTD (30 mg/kg) inibisse o crescimento de tumor mais eficazmente do que Taxol® a MTD (13 mg/kg), verificou-se uma perda de peso significativa com o primeiro, indicativa de toxicidade. Além disso, dois dos cinco ratinhos tratados com ABI-007 a MTD apresentaram sinais de paralisia num dos membros 6 dias após a última dose do fármaco. A paralisia foi passageira e desapareceu em 24-48 horas. Curiosamente, o efeito antitumor de ABI-007 metronómico a 6 mg/kg foi aproximadamente o de Taxol® a MTD no modelo de xenoenxerto MDA-MB-231 (figura 3A). O aumento da dose de ABI-007 metronómico para 10 mg/kg não pareceu conferir uma inibição de crescimento de tumor mais pronunciada. Contrariamente, ABI-007 metronómico desencadeou uma resposta antitumor maior a 10 mg/kg do que a 3 e 6 mg/kg nos xenoenxertos PC3 (figura 3B).

ABI-007 metronómico diminuiu significativamente os níveis de CEP viáveis de uma forma dependente da dose em ratinhos com tumor MDA-MB-231 (figura 4A). Os níveis de CEP viáveis também apresentaram uma redução dependente da dose em resposta a ABI-007 metronómico em ratinhos com tumor PC3 mas só atingiram significado estatístico a 10 mg/kg (figura 4B). Os níveis de CEP não foram alterados pelo Taxol® metronómico em ambos os modelos de xenoenxerto (figuras 4A e 4B).

Estudaram-se os efeitos de ABI-007 metronómico e a MTD e de Taxol® a MTD na densidade dos micro-vasos intratumorais. Obtiveram-se secções de cinco  $\mu\text{m}$  de espessura a partir de tumores MDA-MB-231 e PC3 congelados e coraram-se com H&E para análise histológica por métodos padrão conhecidos dos peritos na especialidade. Para a detecção de microvasos, as secções foram coradas com um anticorpo de rato anti-CD31/PECAM-1 de ratinho (1:1000, BD Pharmingen) seguido pelo anticorpo secundário de cabra anti-rato conjugado a vermelho do Texas (1:200, Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, PA). Definiu-se um micro-vaso único como um agregado discreto ou célula única que cora positivamente com CD31/PECAM-1d e a presença de lúmen não foi necessária para classificação como micro-vaso. O MVD para cada tumor foi expresso como a contagem média dos três campos corados mais densamente identificados com uma objectiva 20x num sistema de imagem de microscópio de fluorescência Zeiss AxioVision 3.0. Analisaram-se quatro a cinco tumores diferentes por cada grupo de controlo de veículo ou de tratamento.

Em tumores MDA-MB-231, ABI-007 metronómico a 6 e 10 mg/kg bem como ABI-007 a MTD aparentemente reduziram a densidade de micro-vasos (MVD) ligeiramente, embora não se tenha atingido significado estatístico (figura 5A). Em tumores PC3, ABI-007 metronómico a 3 e 10 mg/kg aparentemente diminuiu MVD mas sem atingir significado estatístico (figura 5A). Curiosamente, havia uma correlação significativa entre MVD e o nível de CEP viáveis no modelo MDA-MB-231 (figura 5B;  $r=0,76$ ,  $P=0,04$ ) mas não no PC3 (figura 5C;  $r=-0,071$ ,  $P=0,88$ ).

Efectuou-se avaliação da angiogénese in vivo. Efectuou-se um ensaio de perfusão de tampão Matrigel com pequenas modificações a métodos conhecidos dos peritos na especialidade. Sucintamente, injectou-se s.c. 0,5 ml de Matrigel suplementado com factor de crescimento de fibroblastos básicos (bFGF; R&D Systems Inc., Minneapolis, MN) a 500 ng/ml, no dia 0, nos flancos de ratinhos Balb/cJ fêmeas de 10 semanas de idade. No dia 3, os animais foram distribuídos aleatoriamente por oito grupos ( $n = 5$  cada). Cada grupo foi tratado com veículo de controlo de solução salina a 0,9%/albumina, veículo de controlo de Cremophor® EL, Taxol® metronómico (1,3 mg/kg, i.p., diariamente), ABI-007

metronómico (paclitaxel a 3, 6 ou 10 mg/kg, i.p., diariamente), Taxol® a MTD (13 mg/kg, i.v., diariamente x 5), ou ABI-007 a MTD (paclitaxel a 30 mg/kg, i.v. diariamente x 5). Como controlo negativo, injectaram-se cinco ratinhos Balb/J fêmeas adicionais de idade semelhante apenas com Matrigel. No dia 10, todos os animais foram injectados i.v. com 0,2 ml de FITC-dextrano a 25 mg/ml (Sigma, St. Louis, MO). Subsequentemente, recolheram-se amostras de plasma. Removeram-se os tampões de Matrigel, incubaram-se com Dispase (Collaborative Biomedical Products, Bedford, MA) durante a noite a 37 °C e seguidamente homogeneizaram-se. Obtiveram-se as leituras de fluorescência utilizando um leitor de fluorescência de placas FL600 (Biotech Instruments, Winooski, VT). A resposta angiogénica foi expressa como a razão de fluorescência no tampão de Matrigel relativamente à fluorescência do plasma.

Aparentemente, ABI-007 metronómico a 6 e 10 mg/kg diminui a angiogénese, embora a inibição não tivesse atingido significado estatístico (figura 6). A angiogénese ficou aparentemente inalterada por ABI-007 metronómico a 3 mg/kg, ABI-007 a MTD, Taxol® a MTD e metronómico relativamente aos respectivos controlos de veículo (figura 6). Estas observações foram semelhantes aos resultados de MVD intratumoral aqui descritos.

**Exemplo 5. Nab-5109, nanopartículas de IDN5109 ligado a albumina (nab-5109) apresenta eficácia melhorada e menor toxicidade do que a formulação com Tween® (Tween®-5109, Ortataxel)**

Métodos: Prepararam-se nanopartículas nab-5109 utilizando tecnologia *nab* e caracterizaram-se por dispersão de luz com laser. Ensaíram-se Nab-5109 e Tween-5109 relativamente a xenoenxerto de carcinoma de cólon humano Pgp+ DLD-1 (que se sabe que é resistente a paclitaxel e docetaxel - Vredenburg et al, *JNCI* 93: 1234-1245, 2001) em ratinhos nus (n=5/grupo) a doses de 50 mg/kg (Tween®-5109, que se demonstrou previamente ser MTD) e 75 mg/kg (nab-5109) administrado de três em três dias x 4, i.v. Também se utilizaram grupos de controlo de PBS e albumina de soro humana (HSA).



**Resultados:** Nab-5109 proporcionou nanopartículas com um tamanho médio,  $Z_{Ave}=119$  nm e potencial zeta = -32,7 mV. Liofilizou-se Nab-5109 até se obter um pó seco que se dispersa facilmente em solução salina. In vivo, ocorreu uma perda de peso mais significativa (ANOVA,  $p<0,001$ ) em animais com tumor com Tween®-5109 (50 mg/kg, perda de peso de 8,8%) do que com nab-5109 (75 mg/kg, perda de peso de 3,4%) indicando toxicidade substancialmente menor de nab-5109 apesar de a dose ser 50% maior. Ocorreu supressão significativa de tumor por nab-5109 e Tween®-5109 (ANOVA,  $p<0,0001$  contra controlos) com atraso no crescimento de tumor de 36 e 28 dias, respectivamente para nab-5109 (75 mg/kg) e Tween®-5109 (50 mg/kg). Nab-5109 foi mais eficaz do que Tween®-5109 (ANOVA,  $p=0,0001$ ) a suprimir o crescimento de tumor. Não existiram diferenças entre o grupo de controlo de PBS e de HSA em termos de toxicidade e eficácia.

**Conclusão:** Prepararam-se com sucesso nanopartículas ligadas a albumina, nab-5109 e puderam ser administradas a uma dose 50% mais elevada do que Tween®-5109, com menor toxicidade apesar da maior dose. A esta dose mais elevada, 75 mg/kg (de três em três dias x 4), nab-5109 apresentou eficácia significativamente melhorada no xenoenxerto de cólon humano Pgp+ DLD-1 comparativamente a Tween®-5109.

**Exemplo 6. Nanopartículas ligadas a albumina (nab) de tiocolchicinas diméricas nab-5404, nab-5800 e nab-5801: Uma avaliação comparativa de actividade antitumor contra Abraxane™ e irinotecano**

**Métodos:** Prepararam-se nanopartículas de colchicinas utilizando tecnologia nab. Avaliou-se a citotoxicidade in vitro usando culturas de carcinoma de mama MX-1 humano. A actividade antitumor in vivo (xenoenxerto de tumor de cólon HT29 humano) em ratinhos nus foi comparada com Irinotecano e Abraxane™. Os níveis de dose de nab-colchicinas e Irinotecano foram 20 mg/kg, 30 mg/kg e 40 mg/kg, administradas de três em três dias x 4, i.v. Abraxane™ foi doseado à sua MTD, 30 mg/kg, administrado diariamente x 5.

**Resultados:** Os dímeros de tiocolchicina hidrofóbicos proporcionaram nanopartículas com tamanho médio  $Z_{Ave}$  (nm) de

119, 93 e 84 para nab-5404, nab-5800 e nab-5801, respectivamente. As suspensões de nanopartículas foram esterilizadas através de filtros de 0,22 µm e liofilizadas. *In vitro*, nab-5404 foi o mais potente dos três análogos contra MX-1 ( $p \leq 0,0005$ , ANOVA), ( $IC_{50}$  (µg/ml): 18, 36 e 77 para nab-5404, nab-5800 e nab-5801, respectivamente) bem como contra o xenoinxerto HT29 *in vivo* ( $p \leq 0,0001$ , ANOVA). O volume de tumor foi suprimido em 93%, 79% e 48% com nab-5404 a doses de 40 mg/kg, 30 mg/kg e 20 mg/kg, respectivamente. Contrariamente, o volume de tumor apenas foi suprimido em 31%, 16% e 21% com nab-5800; e 17%, 30% e 23% com nab-5801 a 40 mg/kg, 30 mg/kg e 20 mg/kg, respectivamente. Nab-5404 foi mais eficaz do que Irinotecano a todos os níveis de dose ( $p \leq 0,008$ , ANOVA) com volumes de tumor para Irinotecano suprimidos em apenas 48%, 34% e 29% a níveis de dose de 40 mg/kg, 30 mg/kg e 20 mg/kg, respectivamente. Em comparação com Abraxane™, nab-5404 foi mais activo à dose equitóxica (ETD) com base em igual perda de peso ( $p < 0,0001$ , ANOVA). O volume de tumor foi suprimido em 93% por nab-5404 (40 mg/kg, de quatro em quatro dias x 3) e 80% por Abraxane™ (30 mg/kg, diariamente x 5) às suas ETD respectivas.

**Conclusões:** A tecnologia nab foi utilizada para converter três tioconchicinas hidrofóbicas diméricas (IDN5404, IDN5800, IDN5801) em nanopartículas adequadas para administração I.V. Nab-5404 apresentou actividade antitumor superior *in vitro* e *in vivo* comparativamente a nab-5800 e nab-5801. Nab-5404 foi mais potente do que Irinotecano em igual dose. Na dose equitóxica, definida por perda de peso, nab-5404 foi mais potente do que Abraxane™. Estes dados exigem investigações adicionais de nab-5404.

#### **Exemplo 7. Abraxane™ contra Taxotere®: Uma comparação pré-clínica de toxicidade e eficácia**

**Métodos:** Comparou-se a toxicidade de Abraxane™ e Taxotere® num estudo de variação de dose em ratinhos nus aos quais se administrou os fármacos num plano de quatro em quatro dias x3. Os níveis de dose foram Taxotere® a 7, 15, 22, 33 e 50 mg/kg e ABX a 15, 30, 60, 120 e 240 mg/kg. A actividade antitumor de Abraxane™ e Taxotere® foram comparadas em ratinhos nus com

xenoinxertos mamários MX-1 humanos a uma dose de 15 mg/kg semanalmente durante 3 semanas.

Resultados: No estudo de aumento de dose em ratinhos, a dose máxima tolerada (MTD) de Taxotere® foi 15 mg/kg e a dose letal (LD<sub>100</sub>) foi 50 mg/kg. Contrariamente, a MTD de Abraxane™ foi entre 120 e 240 mg/kg e LD<sub>100</sub> foi 240 mg/kg. No estudo de tumor Abraxane™ foi mais eficaz do que doses iguais de Taxotere® em inibição de crescimento de tumor (79,8% contra 29,1%,  $p < 0,0001$ , ANOVA).

Conclusão: As nanopartículas de paclitaxel ligadas a albumina (Abraxane™) foram melhores do que Taxotere® no modelo de tumor MX-1 quando ensaiadas em doses iguais. Adicionalmente, a toxicidade de Abraxane™ foi significativamente menor do que a de Taxotere®, o que permitiria a dosagem de Abraxane™ a níveis substancialmente maiores. Estes resultados são semelhantes ao índice terapêutico melhorado verificado para Abraxane™ comparativamente a Taxol® e sugerem que a presença de tensioactivos pode prejudicar o transporte, a actividade antitumor e aumentar a toxicidade de taxanos. Estão a decorrer estudos adicionais com modelos de tumor de comparação entre Abraxane™ e Taxotere®.

**Exemplo 8. Nanopartículas de dímero de tiocolchicina ligadas a albumina (nab-5404) com mecanismos de acção duplos em tubulina e topoisomerase-1: Avaliação da actividade *in vitro* e *in vivo***

Métodos: Ensaiou-se IDN5404 para actividade citotóxica utilizando o carcinoma de mama MCF7-S e a sua variante resistente a múltiplos fármacos, MCF7-R (pgp+). A sua citotoxicidade foi também avaliada contra o painel de linha celular de tumor humano NCI-60. As nanopartículas ligadas a albumina nab-5404 foram administradas IV utilizando vários planos, a ratinhos SCID com implante s.c. de um xenoinxerto de tumor de ovário A121 humano.

Resultados: Contra as linhas celulares MCF7, o composto parental, colchicina, demonstrou inibição de crescimento de tumor com o valor de IC<sub>50</sub> (concentração de inibição de

crescimento de 50%) para células MCF7-S de  $3,9 \pm 0,2$  nM. A variante resistente MCF7-R apresentou um IC50 de  $66 \pm 8,6$  nM, um aumento de aproximadamente 17 vezes devido à resistência a fármaco. IDN5404 demonstrou actividade aumentada contra ambas as linhas celulares, com valores de IC50 de  $1,7 \pm 0,1$  e  $40 \pm 3,8$  nM, respectivamente. Estes resultados foram confirmados no painel de linha celular de tumor humano NCI 60 em que IDN5404 tem um valor médio de IC50  $<10^{-8}$  M e  $>10$  vezes resistência entre as linhas celulares MCF7-S e MCF7-R. O algoritmo COMPARE identificou IDN5404 como um ligante de tubulina semelhante aos alcalóides de vinca, confirmando os resultados anteriores. A eficácia e toxicidade de nab-5404 *in vivo* contra o xenoinxerto de tumor de ovários A121 foram dependentes da dose e plano. As nanopartículas nab-5404 foram bem toleradas e capazes de induzir regressão completa e cura: a 24 mg/kg administrado IV diariamente x 5, 5 de 5 ratinhos foram sobreviventes de longo prazo (LTS) sem qualquer evidência de tumor. No entanto, o aumento da dosagem para 30 mg/kg resultou em 5 de 5 mortes por toxicidade. Num plano de três em três dias x 4, 30 mg/kg resultou em 4 de 5 ratinhos LTS e a 50 mg/kg, 5 de 5 mortes por toxicidade. Utilizando um plano de sete em sete dias x 3, 40 mg/kg resultou em 3 de 5 ratinhos LTS e a 50 mg/kg, verificou-se 4 de 4 LTS.

Conclusões: IDN5404, um novo dímero de tiocolchicina com mecanismo de acção duplo, apresentou actividade em linhas celulares que expressam pgp e resistentes a cisplatina e topotecano. As nanopartículas ligadas a albumina nab-5404 foram activas *in vivo* contra xenoinxertos de ovário A121.

#### **Exemplo 9. Estudos de combinação de Abraxane™ e outros agentes**

Devido às propriedades vantajosas de Abraxane™ (ABX, as nanopartículas de paclitaxel ligadas a albumina) verificadas anteriormente, utilizou-se e está a ser utilizado para vários estudos com diferentes modos de administração e planos e em combinação com outros fármacos oncológicos, bem como radioterapia. Estes são listados seguidamente:

Em cancro da mama metastático, estes estudos incluem:

Ensaio de fase II randomizado de Abraxane™ semanalmente em combinação com gemcitabina em indivíduos com cancro de mama metastático negativo para HER2	ABX 125, Gem 1000 mg/m <sup>2</sup> , D1,8; de três em três semanas	Para avaliar a combinação de ABX e Gemcitabina em MBC de 1ª linha.
Um estudo de fase II de nanopartículas de paclitaxel (ABI-007) carboplatina, com dose densa semanalmente, com Herceptin® como terapia de primeira ou segunda linha de cancro da mama avançado positivo para HER2	ABX 100 mg/m <sup>2</sup> , Carbo AUC 2, ambos D1,8,15; Her 2 mg/kg (4 mg/kg na semana a) de quatro em quatro semanas x 6	Os dados serão importantes para usar ABX em combinação com carbo e/ou Herceptin®. Também é útil para outras combinações.
Semanalmente Vinorelbina e Abraxane™, com ou sem G-CSF, em cancro da mama de estágio IV: um estudo de fase I-II	L1: ABX 80, Nav 15; L2: ABX 90, Nav 20; L3: ABX 100, Nav 22,5; L4: ABX 110, Nav 25; L5: ABX 125, Nav 25 semanalmente	Estudo multicentro de ABX em combinação com Navelbine® em MBC de 1ª linha.
Ensaio de fase II de monoterapia de Abraxane™ semanalmente para MBC de 1ª linha (mais Herceptin® em doentes Her2+)	ABX 125 mg/m <sup>2</sup> três em quatro semanas	Um estudo de fase II relativamente grande de monoterapia ABX semanalmente a 125 mg/m <sup>2</sup> em MBC de 1ª linha.
Ensaio de fase I/II de Abraxane™ mais Doxil® para MBC com PK limitado	ABX + Antraciclina	
Ensaio de fase II de 3 braços em MBC de 1ª linha	ABX semanalmente (130 mg/m <sup>2</sup> ) contra de 2 em 2 semanas (260 mg/m <sup>2</sup> ) contra de 3 em 3 semanas (260 mg/m <sup>2</sup> )	Para otimizar o regime de monoterapia de ABX para MBC
Ensaio de fase II de 3 braços em MBC de 1ª linha e de 2ª linha, com análises de correlação biológica	ABX semanalmente contra ABX de 3 em 3 semanas contra Taxol® semanalmente	Ensaio ABX MBC randomizado para obter dados importantes: ABX semanalmente contra Taxol® semanalmente; ABX semanalmente contra ABX de 3 em 3 semanas; mais estudo de biomarcador (caveolina-1 e SPARC).
Estudo de fase I/II de Abraxane™ + GW572016	TBD	Combinação de ABX e GW572016 (um inibidor duplo de EGFR e um dos agentes biológicos mais promissores para BC).

Um estudo de fase I de aumento de dose de um impulso de quimiossensibilização oral de 2 dias de gefitinib administrado antes de Abraxane™ semanalmente em indivíduos com tumores sólidos avançados	Abraxane™ 100 mg/m <sup>2</sup> semanalmente, 3 em cada 4 semanas; Gefitinib com início a 1000 mg/d x 2 dias	Este ensaio de fase I serve para determinar a segurança e tolerabilidade de um impulso de gefitinib de 2 dias administrado antes da administração de Abraxane™.
Ensaio de fase II de MBC de 1ª linha	ABX semanalmente (125 mg/m <sup>2</sup> , 2 semanas de tratamento e 1 semana de intervalo) + Xeloda® a 825 mg/m <sup>2</sup> d 1-14 de 3 em 3 semanas	Para avaliar a combinação de ABX e Xeloda® em MBC de 1ª linha, utilizando um regime de ABX de 2 semanas de tratamento e 1 semana de intervalo.
Ensaio de fase II adjuvante piloto de Abraxane™ em cancro de mama	AC em dose densa + G CSF --> ABX semanalmente --> Avastin®	Um estudo adjuvante piloto de uma "superdose densa"
Abraxane™ em quimioterapia de dose densa adjuvante para cancro da mama em estágio inicial	AC de 2 em 2 semanas x 4 + G CSF --> ABX de 2 em 2 semanas x 4	Um estudo adjuvante piloto de regime de ABX de dose densa -- uma alternativa para o regime adjuvante padrão
Ensaio de fase piloto adjuvante de Abraxane™ em cancro de mama	AC de 2 em 2 semanas --> ABX de 2 em 2 semanas + G-CSF	Um estudo adjuvante piloto em preparação para o estudo de adjuvante de fase III

Em cancro de mama, os estudos de contexto de neo-adjuvante incluem:

Ensaio de fase II de dose densa neo-adjuvante de gemcitabina, epirrubicina, ABI-007 (GEA) em cancro da mama localizado avançado ou inflamatório	Neoadjuvante: Gem 2000, Epi 60, ABX 175 mg/m <sup>2</sup> , Neul 6 mg SC, todos D 1 de 2 em 2 semanas x 6 Adjuvante: Gem 2000, ABX 220, Neul 6 mg D1 de 2 sem 2 semanas x 4	Este estudo de neo-adjuvante baseia-se nos dados GET europeus que demonstraram elevada actividade. No regime actual, ABX substituirá T ou Taxol®.
Ensaio de fase II pré-operatório de Abraxane™ seguido por FEC (+ Herceptin® caso adequado) em cancro de mama	ABX 220 mg/m <sup>2</sup> de 2 em 2 semanas x 6 seguido por FEC x 4 (+Herceptin® para doentes Her2+)	
Estudo pré-clínico de interacção fármaco-fármaco	ABX + outros agentes	
Fase II neoadjuvante	(ABX + Herceptin®) seguido por (Navelbine® + Herceptin®)	

Ensaio de fase II randomizado de quimioterapia neo-adjuvante em indivíduos com cancro de mama	TAC contra AC seguido de ABX+carbo contra AC seguido ABX+carbo+Herceptin®	Para avaliar AC seguido por combinações ABX/carbo ou ABX/carbo/Herceptin® contra TAC (um regime BC de adjuvante aprovado pela FDA) em contexto de neo-adjuvante.
Ensaio de fase II de neo-adjuvante de Abraxane™ e capecitabina em cancro de mama localizado avançado	ABX: 200 mg/m <sup>2</sup> D1; Xel: 1000 mg/m <sup>2</sup> D1-14; de 3 em 3 semanas x 4	
Ensaio de fase II de quimioterapia de neo-adjuvante (NCT) com nanopartículas de paclitaxel (ABI-007, Abraxane™) em mulheres com cânceros de mama de estágio clínico IIA, IIB, IIIA, IIIB e IV (com primários intactos)	ABX: 300 mg/m <sup>2</sup> de 3 em 3 semanas	

Em cancro de pulmão, os estudos incluem:

Estudo de fase I/II de monoterapia de Abraxane™ em NSCLC avançado de 1ª linha	ABX semanalmente	O primeiro ensaio de fase II de combinação de ABX com carbo em NSCLC.
Ensaio de fase II de Abraxane™ semanalmente mais carboplatina em NSCLC de 1ª linha	ABX: 125 mg/m <sup>2</sup> D1,8,15; Carbo: AUC 6 D1; de 4 em 4 semanas	
Um ensaio de fase I de carboplatina e Abraxane™ num plano semanal e de três em três semanas em indivíduos com malignidades de tumores sólidos avançados	Braço 1: ABX 100, 125, 150 mg/m <sup>2</sup> D1,8,15 de 4 em 4 semanas; Braço 2: ABX 220, 260, 300 mg/m <sup>2</sup> D 1 de 3 em 3 semanas. Carbo AUC6 em ambos os braços	Este estudo de fase I de 2 braços gerará dados importantes da combinação ABX/carbo para estudos adicionais desta combinação em várias doenças.
Estudo de fase II de ABI 007 (Abraxane™) e carboplatina em cancro avançado de pulmão de células não pequenas	Nível (a) de ABX: 225 mg/m <sup>2</sup> ; Nível(b): 260 mg/m <sup>2</sup> ; Nível(3):300 mg/m <sup>2</sup> ; de 3 em 3 semanas Carbo fixo a AUC6 de 3 em 3 semanas	Este estudo de fase II de NSCLC gerará dados para um futuro ensaio de registo de fase III em cancro de pulmão
Estudo de fase I de ABI 007 (Abraxane™) e carboplatina	ABX de 3 em 3 semanas	
Estudo de fase I/II de Abraxane™ + Alimta® para NSCLC de 2ª linha	TBD	ABX e Alimta® podem ser uma combinação promissora devido aos perfis de toxicidade não sobreponíveis.

Ensaio de fase I/II de Abraxane™ mais cisplatina em NSCLC avançado		
Estudo de fase I/II de Abraxane™, Navelbine® e cisplatina para o tratamento de NSCLC avançado		
Fase II ABX mono em NSCLC de 1ª linha	ABX 260 mg/m <sup>2</sup> de 3 em 3 semanas	O 1º ensaio de ABX em NSCLC.
Estudo de fase II de monoterapia de Abraxane™ em NSCLC de 2ª linha	Grupo 1: ABX de 3 em 3 semanas; Grupo 2: ABX semanalmente. Doses TBD	
Ensaio de fase I/II de Abraxane™ semanalmente e carboplatina em NSCLC avançado	1ª linha	

Os estudos em próstata incluem:

Fase II randomizado de ABX semanalmente contra de 3 em 3 semanas em HRP de linha de frente	100 mg/m <sup>2</sup> semanalmente contra 260 mg/m <sup>2</sup> de 3 em 3 semanas	
Fase II ABX em cancro de próstata de 1ª linha	ABX semanalmente	Estudo de fase II de ABX semanalmente em HRPC de 1ª linha
Estudo de fase II de neo-adjuvante	TBD	Um ensaio multicentro de neo-adjuvante de ABX em cancro da próstata mais estudo de biomarcador.
Fase II ABX 100 mg semanalmente sem interrupções		

Os estudos em cancro de ovário incluem:

Estudo de fase II de Abraxane™ para o tratamento de cancro de ovário avançado (3ª linha)	TBD	
Estudo de fase I de Abraxane™ mais carbo para o tratamento de cancro de ovário avançado	ABX semanalmente + Carbo AUC 6	
Um ensaio de fase II de Abraxane™/Carboplatina em cancro de ovário recidivante		



Os estudos em quimiorradioterapia incluem:

Ensaio de fase I/II de Abraxane™ combinado com radiação em NSCLC		
Abraxane™ combinado com radiação	modelo animal	
H&N (Cancro da cabeça e pescoço)	TBD	

Outros estudos incluem:

Estudo de fase II de ABX no tratamento de carcinoma da cérvix persistente ou recidivante	125 mg/m <sup>2</sup> dl, 8, 15 de 28 em 28 dias	
Fase II em melanoma metastático tratado precocemente (100 ABX) e não tratado (150 ABX)	26-->70	
Fase II de uso de ABI-007 em tratamento simples para o tratamento de malignidades não hematológicas		
Abraxane™ combinado com agentes anti-angiogénicos, e.g., Avastin®.		
Abraxane™ combinado com inibidores de proteassoma e.g., Velcade®.		
Abraxane™ combinado com inibidores de EGFR e.g., Tarceva®.		
Ensaio de fase II randomizado de gemcitabina, Abraxane™ e irradiação externa semanalmente para cancro pancreático localizado avançado		

#### **Exemplo 10. Combinação de nanopartículas de fármacos do invento com outros agentes e modos de terapia.**

A menor toxicidade das nanopartículas do fármaco do invento aqui descritas permitem combinação com outros fármacos oncológicos e outros modos de tratamento com um resultado mais vantajoso. Estas incluem formas de nanopartículas de paclitaxel, docetaxel, outros taxanos e análogos, geldanamycin, colchicina e análogos, combretastatinas e

análogos, compostos de pirimidina hidrofóbicos, lomaiviticinas e análogos incluindo compostos com estruturas de núcleo de lomaiviticina, epotilonas e análogos, discodermolide e análogos e semelhantes. Os fármacos do invento podem ser combinados com paclitaxel, docetaxel, carboplatina, cisplatina, outras platinas, doxorubicina, epirubicina, ciclofosfamida, ifosfamida, gemcitabina, capecitabina, vinorelbina, topotecano, irinotecano, tamoxifeno, camptotecinas, 5-FU, EMP, etoposídeo, metotraxato e semelhantes.

**Exemplo 11. Combinação de Abraxane™ com carboplatina e Herceptin®**

A combinação de Taxol® e carboplatina demonstrou eficácia significativa contra cancro da mama metastático. Num plano semanal, nesta combinação, Taxol® só pode ser doseado até 80 mg/m<sup>2</sup>. As doses mais elevadas não podem ser toleradas devido a toxicidade. Além disso, os indivíduos positivos para HER-2 beneficiam grandemente quando se inclui Herceptin® no seu regime terapêutico. Este estudo aberto de fase II foi efectuado para determinar o efeito de sinergia terapêutica de ABI-007 (Abraxane™) com estes agentes. O presente estudo foi iniciado para avaliar a segurança e actividade antitumor de ABI-007/carboplatina com Herceptin® para indivíduos com doença positiva a HER-2. ABI-007 foi administrado em combinação com carboplatina e Herceptin® administradas intravenosamente semanalmente a indivíduos com cancro de mama avançado positivo para HER-2. Um grupo de 3 indivíduos recebeu ABI-007 a uma dose de 75 mg/m<sup>2</sup> IV seguido por carboplatina a AUC alvo = 2 semanalmente e infusão de Herceptin® (4 mg/kg na semana 1 e 2 mg/kg em todas as semanas subsequentes) para 1 ciclo. Estes indivíduos toleraram o fármaco muito bem, pelo que para todos os ciclos e indivíduos subsequentes a dose de ABI-007 foi escalada a 100 mg/m<sup>2</sup>. Até à data foram tratados seis indivíduos. Dos 4 indivíduos que foram avaliados para resposta, todos os 4 (100%) apresentaram uma resposta à terapia. Deve salientar-se que, devido à menor toxicidade de Abraxane™, foi possível administrar uma dose total de paclitaxel maior comparativamente a Taxol® resultando em benefícios para os indivíduos.

**Exemplo 12. Combinação de Abraxane™ com carboplatina**

A combinação de Taxol® e carboplatina demonstrou eficácia significativa em cancro de pulmão. Está a decorrer outro estudo com Abraxane™ in combinação com carboplatina num plano de 3 em 3 semanas em indivíduos com cancro de pulmão.

**Exemplo 13. Uso de Abraxane™ em combinação com radiação**Exemplo 13a

Abraxane™ combinado com radioterapia clínica aumenta a eficácia terapêutica e reduz a toxicidade para tecidos normais. Abraxane™ é usado para aumentar o ganho terapêutico de radioterapia para tumores; para melhorar a resposta do tumor a irradiação simples e fraccionada; para melhorar a resposta de tecidos normais a radiação e para aumentar a taxa terapêutica de radioterapia.

Utiliza-se um carcinoma de ovário murino, denominado OCa-I, que foi extensamente investigado. Primeiramente, agenda-se o intervalo de tempo óptimo de administração de Abraxane™ relativamente à radiação de tumor local para produzir a eficácia antitumor máxima. Geram-se os tumores na pata traseira direita de ratinhos por injeção i.m. de células de tumor e inicia-se o tratamento quando os tumores atingem 8 mm de tamanho. Tratam-se os ratinhos com irradiação de 10 Gy em dose simples, uma dose simples de Abraxane™ ou com terapia de combinação de Abraxane™ administrado a diferentes tempos 5 dias antes até 1 dia após irradiação. Utiliza-se uma dose de Abraxane™ igual a cerca de 1½ vezes maior do que a dose máxima tolerada de paclitaxel, uma dose de 90 mg/kg. O ponto final de eficácia é atraso no crescimento de tumor. Os grupos consistem de 8 ratinhos cada. Geram-se os tumores e tratam-se tal como descrito no Objectivo 1. O ponto final de eficácia é atraso no crescimento de tumor. Os tumores são irradiados com 5, 7,5 ou 10 Gy administrados em dose simples ou em doses fraccionadas de 1, 1,5 ou 2 Gy de radiação diariamente durante cinco dias consecutivos. Dado que Abraxane™ é mantido no tumor durante vários dias e exerce o seu efeito de melhoramento em cada uma das cinco fracções diárias, Abraxane™ é administrado uma vez no início do regime de radiação. Dado que o objectivo final na

radioterapia clínica é conseguir cura do tumor, determina-se o potencial de Abraxane™ melhorar a possibilidade de cura de tumor por radioterapia. Usa-se o esquema descrito para o estudo fraccionado de atraso no crescimento de tumor, excepto que se administra diariamente uma gama de doses de 2 a 16 Gy durante cinco dias consecutivos (dose total de radiação 10 a 80 Gy). Seguem-se os tumores para regressão e recrescimento durante até 120 dias após irradiação, altura em que se determina TCD<sub>50</sub> (a dose de radiação necessária para obter cura do tumor local em 50 por cento dos animais). Existem dois ensaios de TCD<sub>50</sub>: apenas radiação e Abraxane™ mais radiação e cada ensaio consiste de 10 grupos de dose de radiação contendo 15 ratinhos cada. Para proporcionar ganho terapêutico, qualquer agente de melhoramento de radiação, incluindo Abraxane™, deve aumentar a resposta de tumor a radiação mais do que o aumento normal de danos de tecidos por radiação. Avaliam-se os danos à mucosa jejunal, um tecido altamente proliferativo afectado por taxanos. Usa-se o ensaio de micro-colónia jejunal para determinar as células epiteliais de cripta que sobrevivem no jejuno de ratinhos expostos a radiação. Os ratinhos são expostos a irradiação corporal total (WBI) com doses diárias de raios X na gama de 3 a 7 Gy durante cinco dias consecutivos. Tratam-se os ratinhos com Abraxane™, a uma dose equivalente de paclitaxel de 80 mg/kg, administrada i.v. 24 h antes da primeira dose de WBI e matam-se 3,5 dias após a última dose de WBI. Preparam-se os jejunos para análise histológica e conta-se o número de criptas em regeneração na secção de jejuno. Para fazer as curvas de sobrevivência a radiação converte-se o número de criptas em regeneração em número de células sobreviventes.

#### Exemplo 13b

O objectivo deste estudo foi avaliar se ABI-007 (a) como um agente simples tem actividade antitumor contra o carcinoma de ovário OCa-1 murino singenésico e (b) melhora a resposta a radiação de tumores OCa-1 num regime de tratamento combinado tal como descrito no exemplo anterior com as seguintes modificações.

Injectaram-se células de tumor OCa-1 i.m. na pata traseira de ratinhos C3H. Quando os tumores cresceram até um diâmetro

médio de 7 mm iniciou-se um tratamento único com radiação local (10 Gy) na pata com tumor, ABI-007 90 mg/kg i.v. ou ambos. Para determinar o plano óptimo para o tratamento administrou-se ABI-007 desde 5 dias a 9 horas antes de radiação, bem como 24 horas após radiação. O ponto final do tratamento foi o atraso absoluto no crescimento de tumor (AGD), definido como a diferença em dias para crescer de 7-12 mm de diâmetro entre tumores tratados e não tratados. Para os grupos tratados com a combinação de ABI-007 e radiação calculou-se um factor de melhoria (EF) como a razão entre a diferença em dias para crescer de 7 para 12 mm entre os tumores tratados com a combinação e os tratados com ABI-007 sozinho e o AGD dos tumores tratados apenas com radiação. Para avaliar o efeito de melhoria de radiação de ABI-007 para um regime de radiação fraccionado no ponto final de cura do tumor efectuou-se um ensaio TCD50 e analisou-se 140 dias após tratamento. Foram administradas doses totais de 5 a 80 Gy em 5 fracções diárias, sozinhas ou combinadas com ABI-007 24 horas antes da primeira dose de radiação.

Como agente único, ABI-007 prolongou significativamente o atraso de crescimento do tumor OCa-1 (37 dias) comparativamente a 16 dias para tumores não tratados. ABI-007 como um agente único foi mais eficaz do que uma dose única de 10 Gy, que resultou num atraso de 29 dias. Para regimes de tratamento combinado, ABI-007 administrado em qualquer altura até 5 dias antes de radiação, produziu um efeito antitumor supra-aditivo. EF foi 1,3, 1,4, 2,4, 2,3, 1,9 e 1,6 a intervalos inter-tratamento de 9 h, 24 h e 2, 3, 4 e 5 dias, respectivamente. Quando se administrou ABI-007 após radiação, o efeito de tratamento combinado antitumor foi menor do que aditivo. O tratamento combinado com ABI-007 e radiação também teve um efeito significativo na cura de tumor desviando o TCD50 de 55,3 Gy para tumores tratados apenas com radiação para 43,9 Gy para os tratados com a combinação (EF 1,3).

Esta experiência demonstrou que ABI-007 tem actividade antitumor como agente único contra OCa-1 e melhora o efeito de radioterapia quando administrado vários dias antes. Tal como anteriormente demonstrado para paclitaxel e docetaxel, a melhoria na radiação é provavelmente resultado de múltiplos mecanismos, sendo dominante a paragem do ciclo celular em G2/M

a intervalos de tratamento curtos e reoxigenação do tumor a intervalos mais longos.

**Exemplo 14. Combinação de Abraxane™ e inibidores de tirosina quinase**

A utilização de doses em impulsos de gefitinib em combinação com Abraxane™ é útil para inibir a proliferação de tumores que expressam EGFr. Inoculam-se 120 ratinhos nus com células de tumor BT474 para obter pelo menos 90 ratinhos com xenoenxertos de tumor BT474 e separam-se em 18 braços experimentais (5 ratinhos cada). No braço 1 os ratinhos receberam injeções i.v. de controlo. Todos os outros ratinhos receberam injeções i.v. de Abraxane™ a 50 mg/kg semanalmente durante 3 semanas. O braço 2 recebeu apenas Abraxane™. Os braços 3, 4, 5, 6, 7, 8 receberam Abraxane™ semanalmente precedido em 2 dias por um impulso de gefitinib em doses crescentes. Os braços 9, 10, 11, 12, 13 receberam Abraxane™ semanalmente precedido em um dia por um impulso de gefitinib em doses crescentes. Os braços 14, 15, 16, 17, 18 receberam Abraxane™ semanalmente conjuntamente com administração diária de gefitinib em doses crescentes. Estabelece-se a dose máxima tolerada de gefitinib que pode ser administrada num impulso que precede em 1 ou 2 dias Abraxane™ semanal ou em administração contínua com Abraxane™. Além disso, a medição das respostas antitumor determinará se existe uma relação dose-resposta e se os impulsos de 2 dias ou de 1 dia são melhores. Estes dados são utilizados para seleccionar a dose óptima de impulso de gefitinib e de gefitinib diário contínuo administrado com Abraxane™.

Inoculam-se 120 ratinhos nus com células de tumor BT474 para obter 90 ratinhos com tumores. Dividem-se estes ratinhos em 6 grupos (15 cada). O braço 1 recebe injeções i.v. de controlo. O braço 2 recebe Abraxane™ a 50 mg/kg i.v. semanalmente durante 3 semanas. O braço 3 recebe gefitinib oral a 150 mg/kg/dia. O braço 4 recebe Abraxane™ a 50 mg/kg conjuntamente com gefitinib diariamente a uma dose previamente estabelecida. O braço 5 recebe Abraxane™ a 50 mg/kg precedido de um impulso de gefitinib a uma dose e duração previamente estabelecidas. O braço 6 recebe apenas um impulso semanal de gefitinib a uma dose previamente estabelecida. Após três

semanas de terapia, seguem-se os ratinhos até que os controlos atinjam os tamanhos de tumor máximos permitidos.

**Exemplo 15. Estudo de fase II de nab<sup>TM</sup>-Paclitaxel (Abraxane<sup>TM</sup>), carboplatina com Trastuzumab<sup>®</sup> semanalmente, com dose densa, como terapia de primeira linha para cancro da mama avançado positivo para HER-2**

Este estudo teve como objectivo avaliar (1) a segurança e tolerabilidade e (2) a taxa de resposta objectiva de trastuzumab/Abraxane<sup>TM</sup>/carboplatina semanalmente em dose densa como terapia citotóxica de primeira linha para doentes com cancro de mama que sobreexpressa HER-2 avançado/metastático (adenocarcinoma de estágio IV). Trastuzumab é um anticorpo monoclonal, também denominado Herceptin<sup>®</sup>, que se liga ao segmento extracelular do receptor erbB2.

Sucintamente, incluíram-se doentes sem terapia citotóxica ou radioterapia recentes. Aumentaram-se as doses de Abraxane<sup>TM</sup> de 75 mg/m<sup>2</sup> como infusões i.v. de 30 min. nos dias 1, 8, 15 até 100 mg/m<sup>2</sup> para ciclos subsequentes de acordo com a regra 3 + 3 padrão. Administrou-se carboplatina AUC = 2 em infusões i.v. de 30-60 min nos dias 1, 8, 15 e durante um ciclo inicial de 29 dias. Administrou-se Trastuzumab em infusões i.v. de 30-90 min nos dias 1, 8, 15, 22 a uma dose de 4 mg/kg na semana 1 e 2 mg/kg em todas as semanas subsequentes.

Em 8 dos 9 doentes avaliáveis para resposta, a taxa de resposta (confirmada e não confirmada) foi de 63% com 38% de doença estável. As toxicidades mais comuns foram neutropenia (grau 3: 44%; grau 4: 11%) e leucocitopenia (33%).

Estes resultados sugerem que trastuzumab com Abraxane<sup>TM</sup> e carboplatina demonstraram um elevado grau de actividade antitumor com tolerabilidade aceitável como terapia de primeira linha para MBC.

**Exemplo 16. Ensaio de fase II de capecitabina com nab<sup>TM</sup>-Paclitaxel (Abraxane<sup>TM</sup>) no tratamento de primeira linha de cancro de mama metastático**

O objectivo deste estudo de fase II foi avaliar a segurança, eficácia (tempo para progressão e sobrevivência global) e qualidade de vida de doentes com MBC que receberam capecitabina em combinação com Abraxane<sup>TM</sup>. Capecitabina é um carbamato de fluoropirimidina também denominado Xeloda<sup>®</sup> que se demonstrou ter uma eficácia substancial sozinho ou em combinação com taxanos no tratamento de MBC.

Neste estudo aberto de braço único, administrou-se Abraxane<sup>TM</sup> a 125 mg/m<sup>2</sup> por infusão i.v. no dia 1 e dia 8 de 3 em 3 semanas com capecitabina a 825 mg/m<sup>2</sup> administrada oralmente duas vezes por dia nos dias 1 a 14 de 3 em 3 semanas. Os doentes eram negativos para HER-2/neu com uma esperança de vida não superior a 3 meses. Os doentes não tinham tido quimioterapia anterior para doença metastática, nem terapia anterior com capecitabina, nem terapia anterior com fluoropirimidina e quimioterapia com paclitaxel administrado num contexto de adjuvante.

Inscreveram-se 12 doentes com análise de segurança completa nos primeiros 6 doentes e taxa de resposta avaliável após 2 ciclos nos primeiros 8 doentes. Não ocorreu toxicidade única ou inesperada, sem quaisquer toxicidades de grau 4, nem neuropatia superior a grau 1. Os dados de resposta foram confirmados apenas nos primeiros 2 ciclos de terapia (primeiro ponto de avaliação) em 6 doentes. Dois doentes completaram 6 ciclos com 1 resposta parcial e 1 doença estável. Nos primeiros 8 doentes após 2 ciclos, houve 2 respostas parciais e 4 com doença estável.

Estes resultados mostram que a combinação de capecitabina e Abraxane<sup>TM</sup> semanalmente a doses eficazes é exequível sem novas toxicidades até à data. A toxicidade relacionada com Abraxane<sup>TM</sup> foi principalmente neutropenia sem consequências clínicas e a principal toxicidade de capecitabina foi síndrome de mão-pé.



**Exemplo 17. Estudo piloto de doxorrubicina com ciclofosfamida seguido por nab-paclitaxel (Abraxane™) em dose densa em doentes com cancro da mama em estágio inicial**

O objectivo deste estudo foi avaliar a toxicidade de doxorrubicina (adriamicina) com ciclofosfamida seguido por Abraxane™ em cancro da mama em estágio inicial.

Os doentes tinham adenocarcinoma da mama operável, confirmado histologicamente num estágio inicial. Os doentes receberam doxorrubicina (adriamicina) a  $60 \text{ mg/m}^2$  com ciclofosfamida a  $600 \text{ mg/m}^2$  (AC) de 2 em 2 semanas durante 4 ciclos seguido por Abraxane™ a  $260 \text{ mg/m}^2$  de duas em duas semanas durante 4 ciclos.

Os 30 doentes receberam 4 ciclos de AC e 27 de 29 doentes receberam 4 ciclos de Abraxane™; 33% dos doentes receberam pegfilgrastim (Neulasta®) para incapacidade de recuperação de ANC (contagem de neutrófilos absoluta) durante Abraxane™. Nove doentes (31%) tiveram reduções da dose de Abraxane™ devido a toxicidade não hematológica. Um total de 9 doentes tiveram neuropatia periférica (PN) de grau 2 e 4 doentes tiveram grau 3; PN melhorou em  $\geq 1$  grau numa mediana de 28 dias.

Estes resultados indicam que a terapia de dose densa com doxorrubicina ( $60 \text{ mg/m}^2$ ) com ciclofosfamida ( $600 \text{ mg/m}^2$ ) de 2 em 2 semanas durante 4 ciclos seguida por Abraxane™ em dose densa ( $260 \text{ mg/m}^2$ ) de 2 em 2 semanas durante 4 ciclos foi bem tolerada em doentes com cancro da mama em estágio inicial.

**Exemplo 18. nab-Paclitaxel (Abraxane™) semanalmente como tratamento de primeira linha de cancro de mama metastático com adição de Trastuzumab em doentes positivos para HER-2/neu**

O objectivo do presente estudo foi transferir Abraxane™ semanalmente para um contexto de linha da frente e adicionar trastuzumab para doentes positivos para HER2/neu.

Este estudo de fase II, aberto incluiu 20 doentes positivos para HER2 e 50 doentes negativos para HER2 com cancro da mama localizado avançado ou metastático. Administrou-se Abraxane™ a  $125 \text{ mg/m}^2$  por infusão i.v. de 30

minutos nos dias 1, 8 e 15 seguido por uma semana de descanso. Administrou-se trastuzumab concomitantemente com o tratamento de estudo aos doentes que eram positivos para HER2. O ponto final primário foi a taxa de resposta e os pontos finais secundários foram tempo para progressão (TTP), sobrevivência global (OS) e toxicidade.

Na população de segurança, 23 doentes receberam uma mediana de 3 ciclos de Abraxane™ até à data. O efeito adverso relacionado com o tratamento mais comum foi neutropenia de grau 3 (8,7%) sem eventos adversos de grau 4. Um dos 4 doentes avaliáveis respondeu a terapia.

#### **Exemplo 19. Ensaio de fase I de nab-Paclitaxel (Abraxane™) e carboplatina**

O objectivo do presente estudo foi determinar a dose máxima tolerada de Abraxane™ (tanto semanalmente, como de 3 em 3 semanas) com carboplatina AUC = 6 e comparar os efeitos da sequência da administração na farmacocinética (PK).

Incluíram-se doentes com malignidade documentada histológica ou citologicamente que progrediram após "terapia padrão". O braço 1 recebeu Abraxane™ de 3 em 3 semanas num formato de aumento de dose baseado nas toxicidades do ciclo 1 (220, 260, 300, 340 mg/m<sup>2</sup>) de 3 em 3 semanas seguido por carboplatina AUC = 6. O braço 2 recebeu semanalmente (dias 1, 8, 15 seguido por 1 semana de intervalo) Abraxane™ (100, 125, 150 mg/m<sup>2</sup>) seguido por carboplatina AUC = 6. Para a parte PK do estudo, Abraxane™ foi seguido por carboplatina no ciclo 1 e a ordem de administração foi invertida no ciclo 2, determinando-se os níveis de PK nas 6, 24, 48 e 72 horas iniciais.

No plano de 3 em 3 semanas, as toxicidades mais comuns de grau 3/4 (3/17 de cada) foi neutropenia, trombocitopenia e neuropatia. No plano semanal, a forma mais comum de grau 3/4 foi neutropenia 5/13. As melhores respostas a administração semanal à dose mais elevada de 125 mg/m<sup>2</sup> (n = 6) foram 2 respostas parciais (cancro pancreático, melanoma) e 2 doenças estáveis (NSCLC). As melhores respostas à administração de 3 em 3 semanas à dose mais elevada de 340 mg/m<sup>2</sup> (n = 5) foram 1

doença estável (NSCLC) e 2 respostas parciais (SCLC, esofágico).

Estes dados indicam actividade de combinação de Abraxane™ e carboplatina. A MTD para a administração semanal foi 300 mg/m<sup>2</sup> e para a administração uma vez de 3 em 3 semanas foi 100 mg/m<sup>2</sup>.

**Exemplo 20. Ensaio de fase II de gemcitabina, epirrubicina e nab-Paclitaxel (Abraxane™) (GEA) em dose densa em cancro da mama localizado avançado/inflamatório**

Num estudo de fase II, aberto, instituiu-se um regime de terapia de indução/neo-adjuvante antes de intervenção local. O regime de terapia foi gemcitabina a 2000 mg/m<sup>2</sup> i.v. de 2 em 2 semanas durante 6 ciclos, epirrubicina a 50 mg/m<sup>2</sup> de 2 em 2 semanas durante 6 ciclos, Abraxane™ a 175 mg/m<sup>2</sup> de 2 em 2 semanas durante 6 ciclos, com pegfilgrastim a 6 mg s.c. no dia 2 de 2 em 2 semanas. O regime de terapia pós-operatória/adjuvante após intervenção local foi gemcitabina a 2000 mg/m<sup>2</sup> de 2 em 2 semanas durante 4 ciclos, Abraxane™ a 220 mg/m<sup>2</sup> de 2 em 2 semanas durante 4 ciclos e pegfilgrastim a 6 mg s.c. dia de 2 em 2 semanas. Os doentes incluíram mulheres com adenocarcinoma da mama, confirmado histologicamente, localizado avançado/inflamatório.

**Exemplo 21. Actividade citotóxica de nab-rapamicina em combinação com Abraxane™ em células vasculares de músculo liso**

Cultivaram-se células vasculares de músculo liso (VSMC) em placas de 96 poços na presença de concentrações crescentes de nab-rapamicina e Abraxane™ (ABI-007) 0 µM, 1 µM, 10 µM ou 100 µM. Para avaliar o efeito citotóxico de nab-rapamicina e Abraxane™, coraram-se VSMC tratadas com homodímero 1 de etídeo (Invitrogen, Carlsbad CA) e analisou-se a fluorescência vermelha. O homodímero 1 de etídeo é um corante fluorescente de ácido nucleico, de elevada afinidade, que só é capaz de passar através de membranas comprometidas de células mortas para corar os ácidos nucleicos. Tal como apresentado na figura 7A, nab-rapamicina, por si só, apresentou morte celular dependente de dose tal como demonstrado pelo aumento de fluorescência. A morte celular por nab-rapamicina não foi

melhorada por Abraxane™ a 1 µM ou 10 µM; no entanto, foi grandemente aumentada por Abraxane™ a 100 µM (ANOVA,  $p < 0,0001$ ). As células coradas com homodímero 1 de etídio, tal como apresentado na figura 7A, foram também expostas a calceína. A calceína AM (Invitrogen) é uma molécula não fluorescente que é hidrolisada formando calceína fluorescente por esterases citossólicas não específicas. As células vivas expostas a calceína AM apresentam fluorescência verde brilhante já que são capazes de gerar o produto fluorescente e retê-lo. Tal como apresentado na figura 7B, nab-rapamicina apresentou actividade citotóxica dependente de dose, tal como verificado pela quantidade reduzida de coloração fluorescente por calceína. Esta redução da fluorescência foi aumentada por co-incubação com Abraxane™ de uma forma dependente da dose. A estatística ANOVA deu  $p < 0,0001$  para todas as concentrações de fármaco de Abraxane™.

**Exemplo 22. Actividade citotóxica de nab-rapamicina em combinação com Abraxane™ contra xenoenxerto de tumor HT29 (carcinoma de cólon humano).**

Implantaram-se  $10^6$  células HT29 nos flancos direitos de ratinhos nus. Iniciou-se o tratamento quando o tumor era palpável e não maior do que 100-200 mm<sup>3</sup>. Distribuem-se aleatoriamente os ratinhos em 4 grupos ( $n = 8$  por grupo). O grupo 1 recebeu solução salina 3 vezes por semana durante 4 semanas, i.v.; o grupo 2 recebeu Abraxane™ a 10 mg/kg, diariamente durante 5 dias, i.p.; o grupo 3 recebeu nab-rapamicina a 40 mg/kg, 3 vezes por semana durante 4 semanas, i.v.; e o grupo 4 recebeu tanto nab-rapamicina (40 mg/kg, 3 vezes por semana durante 4 semanas, i.v.), como Abraxane™ (10 mg/kg, diariamente durante 5 dias, i.p.). Tal como apresentado na figura 8, a supressão de tumor foi superior para terapia de combinação com Abraxane™ e nab-rapamicina do que para qualquer dos grupos de terapia simples.

**Exemplo 23. Actividade citotóxica de nab-17-AAG em combinação com Abraxane™ contra xenoenxerto de tumor H358 (carcinoma de pulmão humano).**

Implantaram-se  $10^7$  células H358 nos flancos direitos de ratinhos nus. Iniciou-se o tratamento quando o tumor era

palpável e não maior do que 100-200 mm<sup>3</sup>. Distribuem-se aleatoriamente os ratinhos em 4 grupos (n= 8 por grupo). O grupo 1 recebeu solução salina 3 vezes por semana durante 4 semanas, i.v.; o grupo 2 recebeu Abraxane™ a 10 mg/kg, diariamente durante 5 dias, i.p.; o grupo 3 recebeu nab-17-AAG a 80 mg/kg, 3 vezes por semana durante 4 semanas, i.v.; e o grupo 4 recebeu tanto nab-17-AAG (80 mg/kg, 3 vezes por semana durante 4 semanas, i.v.), como Abraxane™ (10 mg/kg, diariamente durante 5 dias, i.p.). Tal como apresentado na figura 9, a supressão de tumor foi superior para a terapia de combinação de nab-17-AAG e Abraxane™ do que para qualquer dos grupos de terapia simples.

Lisboa, 2012-01-24

### REIVINDICAÇÕES

1. Composição compreendendo nanopartículas compreendendo um taxano e uma albumina para uso em combinação com pelo menos um outro agente quimioterapêutico no tratamento de cancro, em que o referido agente quimioterapêutico é seleccionado de anti-metabolitos, agentes baseados em platina, agentes alquilantes, inibidores de tirosina quinase, antibióticos antraciclina, alcalóides de vinca, inibidores de proteassoma, macrolídeos, anticorpos terapêuticos, agentes anti-angiogénicos e inibidores de topoisomerase.

2. Uso de nanopartículas compreendendo um taxano e uma albumina no fabrico de uma composição para o tratamento de cancro, em combinação com pelo menos um outro agente quimioterapêutico de cancro, em que o referido agente quimioterapêutico é seleccionado de anti-metabolitos, agentes baseados em platina, agentes alquilantes, inibidores de tirosina quinase, antibióticos antraciclina, alcalóides de vinca, inibidores de proteassoma, macrolídeos, anticorpos terapêuticos, agentes anti-angiogénicos e inibidores de topoisomerase.

3. A composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o referido outro agente quimioterapêutico está sob a forma de uma composição compreendendo nanopartículas compreendendo pelo menos um outro agente quimioterapêutico e albumina.

4. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que a dose do taxano na composição de nanopartículas é cerca de 50 a cerca de 250 mg/m<sup>2</sup>, quando administrado num plano semanal.

5. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que a dose do taxano na composição de nanopartículas é cerca de 100-400 mg/m<sup>2</sup> quando administrado num plano de três em três semanas.

6. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 5, em que a dose do taxano na composição de

nanopartículas é cerca de 180-300 mg/m<sup>2</sup> quando administrado num plano de três em três semanas.

7. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 4, em que a dose do taxano na composição de nanopartículas é cerca de 60 a cerca de 175 mg/m<sup>2</sup>, quando administrado num plano semanal sem interrupção.

8. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o referido agente quimioterapêutico é um anti-metabolito.

9. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 8, em que o referido anti-metabolito é gemcitabina, capecitabina ou fluorouracilo.

10. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 9, em que o referido anti-metabolito é gemcitabina.

11. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o referido agente quimioterapêutico é um agente baseado em platina.

12. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 11, em que o referido agente baseado em platina é cisplatina ou carboplatina.

13. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 12, em que o referido agente baseado em platina é carboplatina.

14. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o agente é o agente baseado em platina carboplatina, em que a dose do taxano na composição de nanopartículas é 100-150 mg/m<sup>2</sup> semanalmente e em que a quantidade do agente baseado em platina carboplatina é AUC=6 de três em três semanas.

15. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o agente é o agente baseado em platina carboplatina, em que a dose do taxano na composição de

nanopartículas é 200-340 mg/m<sup>2</sup> de três em três semanas e em que a quantidade de agente baseado em platina carboplatina é AUC=6 de três em três semanas.

16. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o referido inibidor de tirosina quinase é lapatinib.

17. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o referido agente quimioterapêutico é um anticorpo terapêutico.

18. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 17, em que o referido anticorpo terapêutico é um anticorpo anti-VEGF.

19. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 18, em que o referido anticorpo anti-VEGF é bevacizumab.

20. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 9, em que o referido anti-metabolito é capecitabina.

21. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o referido agente quimioterapêutico é um inibidor de topoisomerase.

22. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 21, em que o referido inibidor de topoisomerase é 17-AAG.

23. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o referido agente quimioterapêutico é um macrolídeo.

24. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 23, em que o referido macrolídeo é rapamicina.

25. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o referido agente quimioterapêutico é um antibiótico antraciclina.



26. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 25, em que o referido antibiótico antraciclina é epirrubicina.

27. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 11 a 13, em que o cancro é cancro de pulmão.

28. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o cancro é cancro da mama, cancro pancreático ou cancro de pulmão.

29. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 8 a 10, em que o cancro é cancro pancreático.

30. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a composição compreendendo nanopartículas compreendendo taxano e albumina e o agente quimioterapêutico são administrados simultaneamente.

31. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, em que a composição compreendendo nanopartículas compreendendo taxano e albumina e o agente quimioterapêutico são administrados sequencialmente.

32. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, em que a composição compreendendo nanopartículas compreendendo taxano e albumina e o agente quimioterapêutico são administradas concomitantemente.

33. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o taxano é paclitaxel.

34. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 33, em que a composição de nanopartículas está substancialmente isenta de Cremophor.

35. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 32, em que o taxano é docetaxel.

36. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o diâmetro médio das nanopartículas na composição não é superior a cerca de 200 nm.

37. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a composição de nanopartículas de taxano é esterilizável por filtração.

38. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a razão mássica da albumina e do taxano na composição de nanopartículas é cerca de 18:1 a cerca de 1:1.

39. Composição para uso ou uso de acordo com a reivindicação 38, em que a razão mássica da albumina e do taxano na composição de nanopartículas é cerca de 15:1 a cerca de 2:1.

40. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que as nanopartículas compreendendo o taxano e uma albumina compreendem taxano revestido com a albumina.

41. Composição para uso ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o indivíduo é um humano.

Lisboa, 2012-01-24

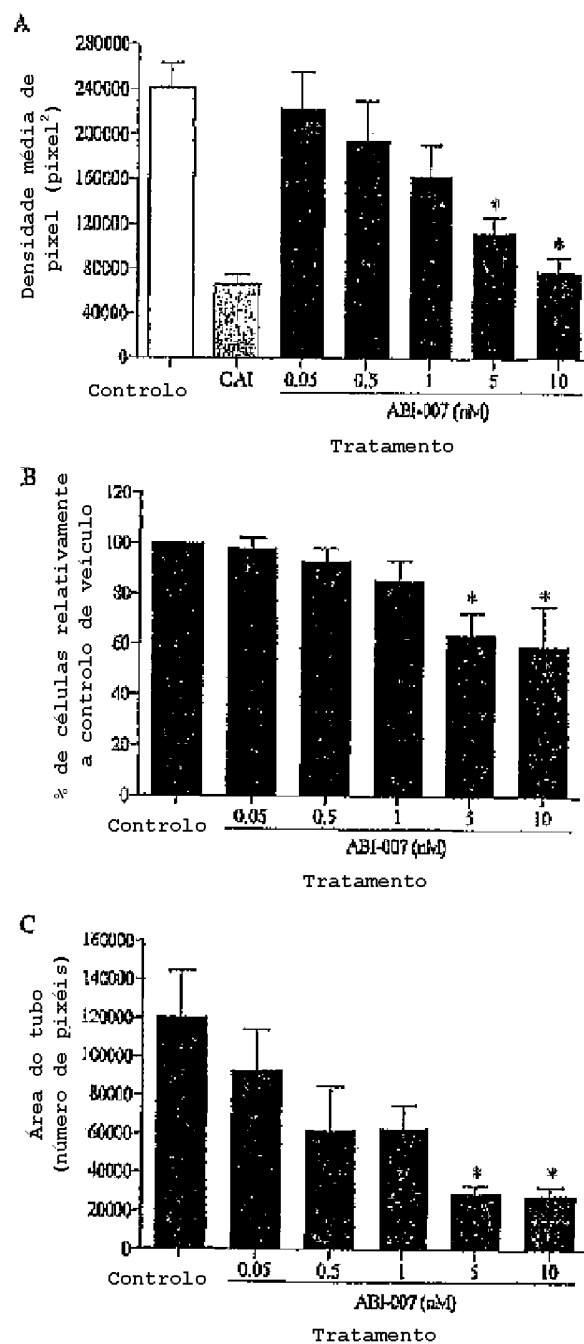


Fig. 2

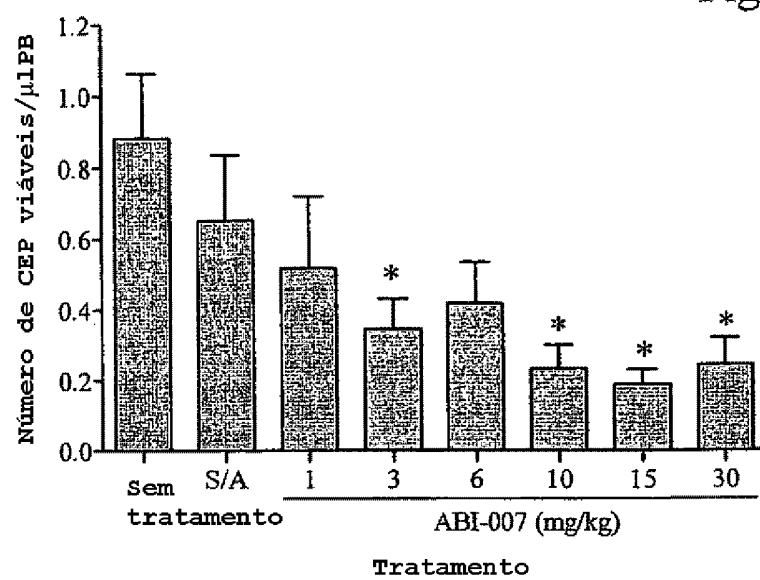


Fig. 3

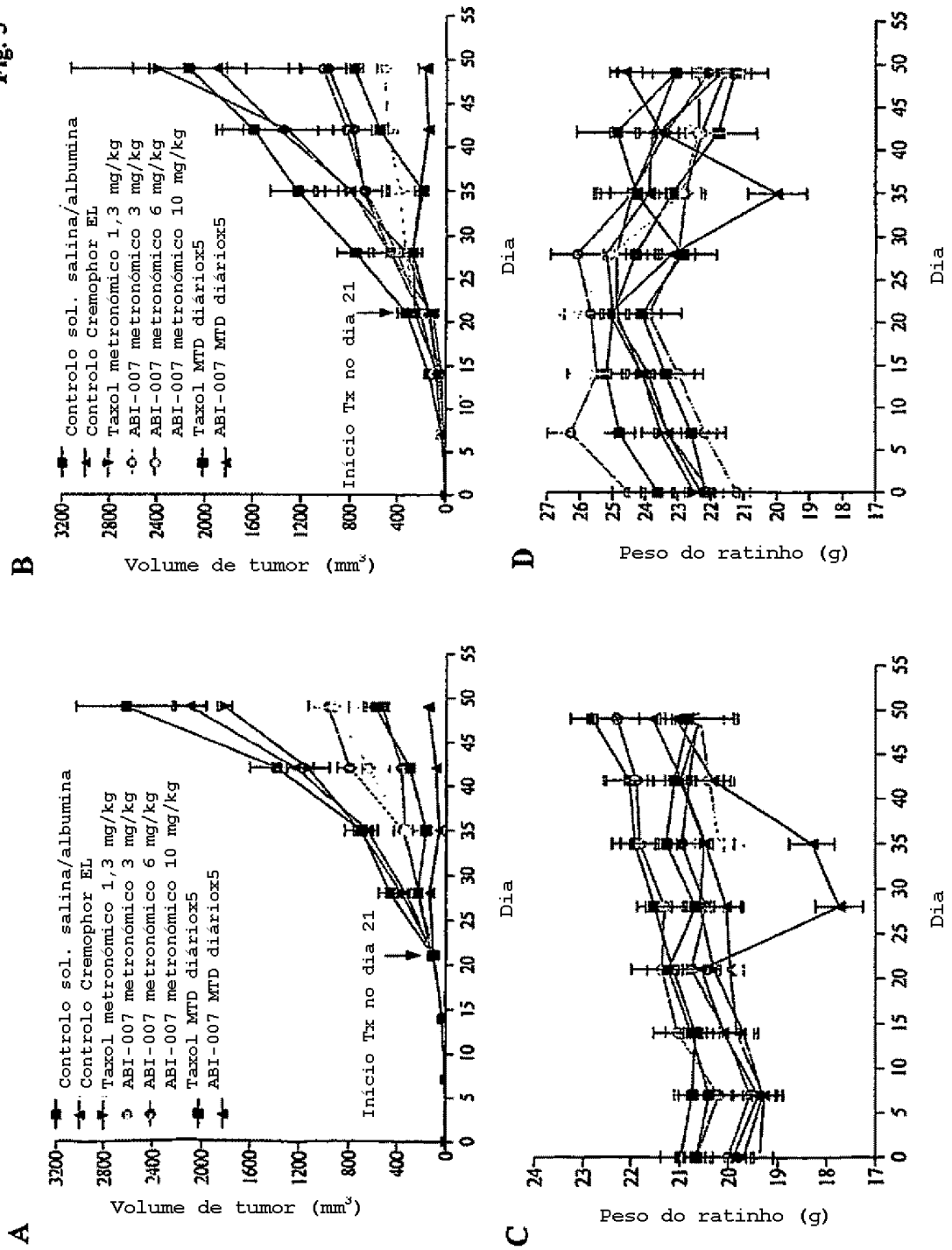


Fig. 4

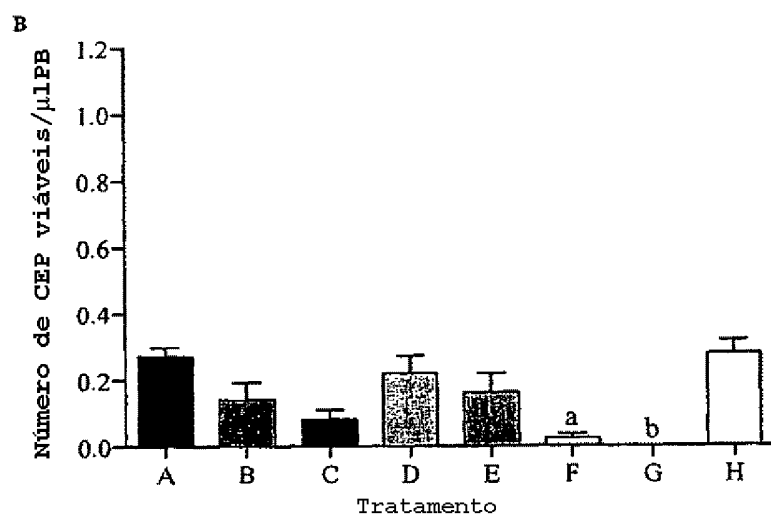
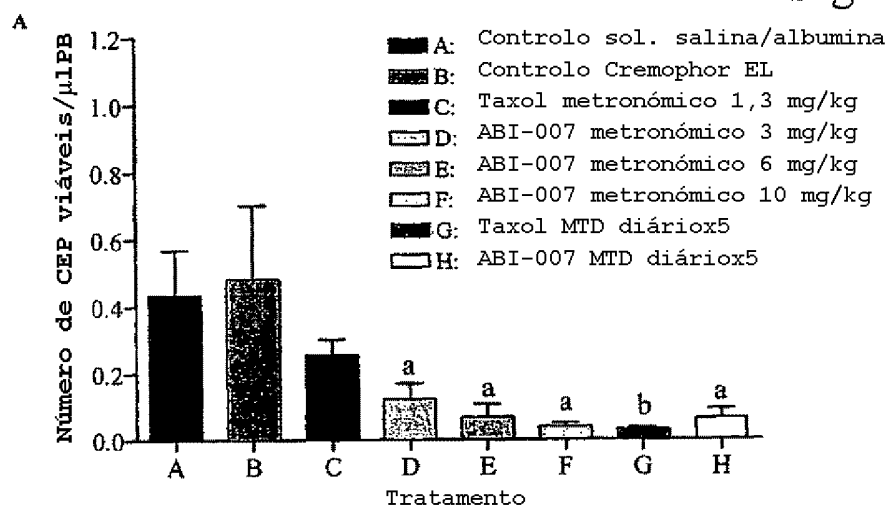


Fig. 5

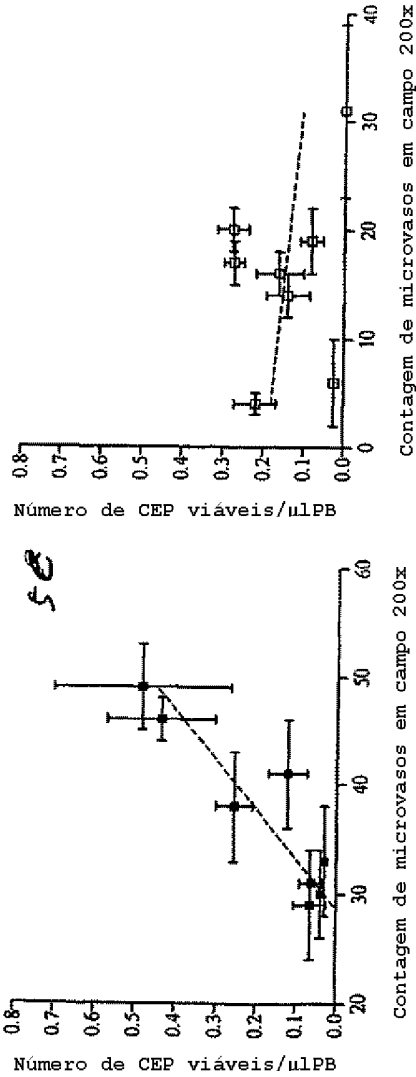
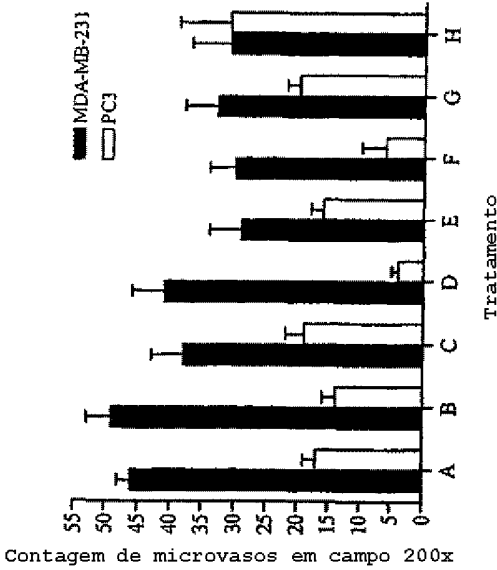


Fig. 6

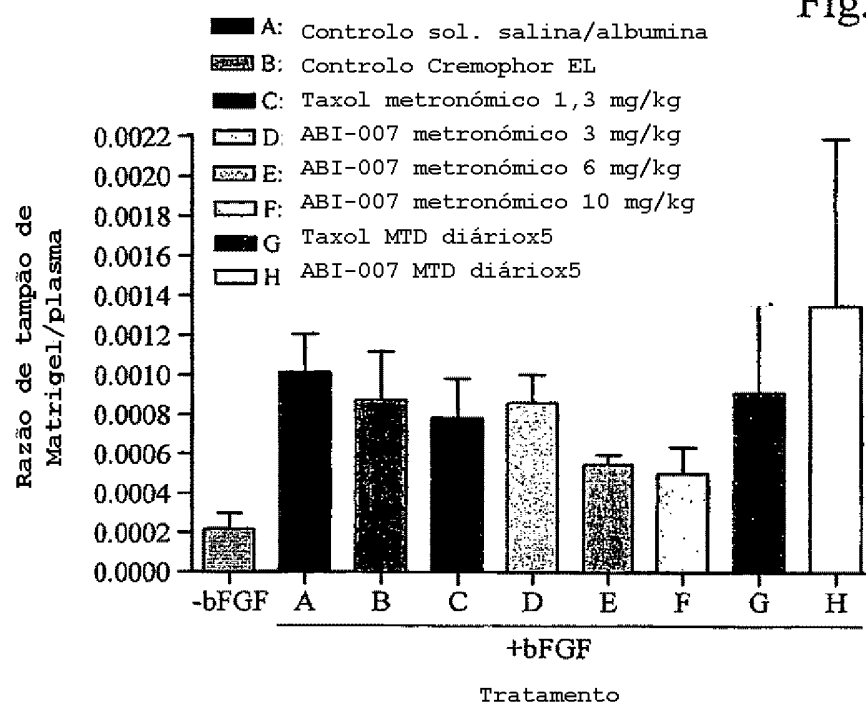




FIG. 7

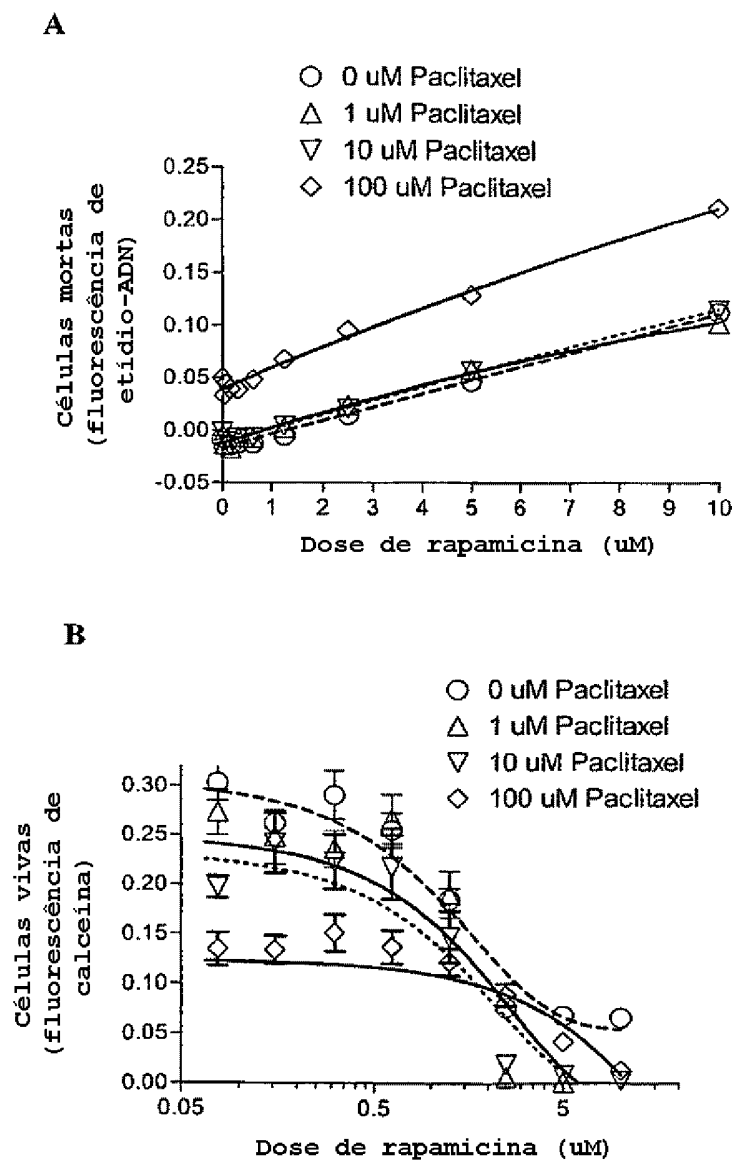


FIG. 8

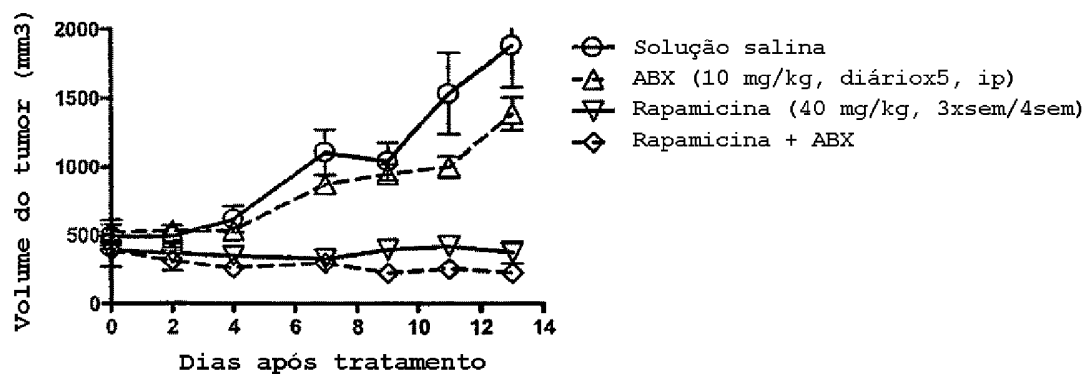


FIG. 9

