



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(51) МПК

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 31/337 (2006.01)

A61K 33/24 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2006105496/15, 23.07.2004

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
23.07.2004(30) Конвенционный приоритет:
25.07.2003 US 60/490,002
08.08.2003 US 60/493,971

(43) Дата публикации заявки: 10.06.2006

(45) Опубликовано: 27.04.2009 Бюл. № 12

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: US 6342219 B1, 29.01.2002. WO 00/75319 A1,
14.12.2000. Руководство по медицине «THE
MERCK MANUAL». - М.: Мир 1997, т.2, с.867-
870. ЭНЦИКЛОПЕДИЯ ЛЕКАРСТВ. - М.:
РЛС 2001 с.661. Справочник
Противоопухолевая терапия Под ред.
Переводчиковой Н.И. - М.: Медицина, 1993,
с.86-87.(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную
фазу: 26.02.2006(86) Заявка РСТ:
US 2004/023815 (23.07.2004)(87) Публикация РСТ:
WO 2005/011734 (10.02.2005)Адрес для переписки:
129010, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной, рег. № 517

(72) Автор(ы):

ХОУЛАШ Джослин (US),
ДЖАФФ Роберт (US),
ХУ Лиминь (US),
ЯНКОПУЛОС Джордж Д. (US)

(73) Патентообладатель(и):

РИДЖЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US),
ДЗЕ РИДЖЕНТС ОФ ДЗЕ ЮНИВЕРСИТИ
ОФ КАЛИФОРНИЯ (US)

(54) КОМПОЗИЦИЯ АНТАГОНИСТА VEGF И АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОГО СРЕДСТВА

(57) Реферат:

Предложено применение сочетания антагониста VEGF, представляющего собой VEGFR1R2-FcΔC1(a) или Flt1D2. Flk1D3. FcΔC1 (a) с антипролиферативным средством: паклитакселом, доцетакселом или цисплатиной, карбоплатиной, ипроплатиной, - для производства лекарственного средства для

лечения злокачественных опухолей и/или снижения или ингибирования роста опухоли у нуждающегося в этом индивидуума (варианты), соответствующие способ, фармацевтическая композиция и набор для лечения злокачественных опухолей. Выявлен сверхсуммарный эффект заявленного сочетания (97% подавление опухоли) при

RU 2 3 5 3 3 5 3 C 2

RU 2 3 5 3 3 5 3 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A61K 31/00 (2006.01)*A61K 39/395* (2006.01)*A61K 38/17* (2006.01)*A61K 31/337* (2006.01)*A61K 33/24* (2006.01)*A61P 35/00* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2006105496/15, 23.07.2004**(24) Effective date for property rights:
23.07.2004(30) Priority:
25.07.2003 US 60/490,002
08.08.2003 US 60/493,971(43) Application published: **10.06.2006**(45) Date of publication: **27.04.2009 Bull. 12**(85) Commencement of national phase: **26.02.2006**(86) PCT application:
US 2004/023815 (23.07.2004)(87) PCT publication:
WO 2005/011734 (10.02.2005)Mail address:
129010, Moskva, ul. B.Spasskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. E.E.Nazinoj, reg. № 517

(72) Inventor(s):

KhOULASh Dzhoslin (US),**DZhAFF Robert (US),****KhU Limin' (US),****JaNKOPULOS Dzhordzh D. (US)**

(73) Proprietor(s):

RIDZhENERON FARMAS'JuTIKALZ, INK.
(US),**DZE RIDZhENTS OF DZE JuNIVERSITI OF**
KALIFORNIJa (US)**(54) COMPOUND ANTAGONIST VEGF AND ANTIPROLIFERATIVE AGENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: there is disclosed application of compound antagonist VEGF representing VEGFR1R2-FcΔCl(a) or Flt1D2. Flk1D3. FcΔCl (a) and antiproliferative agent: paclitaxel, docetaxel, or cisplatin, carboplatin, iproplatin for making a medical product for cancer treatment and/or tumour

growth reduction or inhibition in an indigent person (versions), relevant method, pharmaceutical composition and a kit for cancer treatment.

EFFECT: overttotal effect of the disclosed combination (97% tumour suppression) observed without any by-effects.

10 cl, 2 dwg, 1 tbl

Область техники, к которой относится изобретение

Область изобретения относится к способам лечения злокачественных опухолей у млекопитающих с применением антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в сочетании с антипролиферативным средством и к фармацевтической композиции, содержащим антагонист VEGF и антипролиферативное средство.

Уровень техники

Фактор роста эндотелия сосудов признан важнейшим фактором, стимулирующим ангиогенез при патологических состояниях. Подходы к способам блокирования VEGF включают применение растворимых конструкторов рецептора, антисмысловых молекул, аптамеров РНК и антител. Для описания ловушки на основе антагонистов рецептора VEGF см., например, РСТ WO/0075319.

Для лечения злокачественных опухолей широко применяют противоопухолевые средства как по отдельности, так и в сочетании с хирургическим вмешательством и/или лучевой терапией. Известны способы комбинированного лечения (см., например, США 6342219) с применением антитела против VEGF и химиотерапевтических средств, таких как паклитаксел (ТаксолTM).

Раскрытие изобретения

В одном из аспектов изобретение относится к способу лечения злокачественных опухолей у индивидуума, нуждающегося в таком лечении, включающему введение индивидууму антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в сочетании с антипролиферативным средством, осуществляя лечение злокачественной опухоли. Хотя индивидуум, которому проводят лечение, может относиться к любому виду млекопитающих, предпочтительно нуждающимся индивидуумом является человек, страдающий злокачественной опухолью.

В частном осуществлении антагонист VEGF представляет собой ловушку VEGF, способную к высокоаффинному связыванию с VEGF. Более конкретно ловушка VEGF представляет собой Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1(a) (SEQ ID NO:1-2) или VEGFR1R2-FcΔC1(a) (SEQ ID NO:3-4). В частном осуществлении антипролиферативное средство представляет собой средство, стабилизирующее микротрубочки, такое как паклитаксел или такое его производное, аналог, как доцетаксел (Таксотер[®]), или их смесь; такие химиотерапевтические соединения на основе платины, как цисплатин, карбоплатин, ипроплатин и родственные соединения; или другие общепринятые цитотоксические соединения. ТаксолTM (Bristol-Myers Squibb) представляет собой одну из доступных торговых форм паклитаксела.

Во втором аспекте изобретение относится к способу уменьшения, замедления или ингибирования роста опухоли у нуждающегося в этом индивидуума, включающему введение индивидууму антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в сочетании с антипролиферативным средством, осуществляя уменьшение, замедление или ингибирование роста злокачественной опухоли.

В третьем аспекте изобретение относится к способу уменьшения количества химиотерапевтического средства, необходимого для достижения желаемого терапевтического эффекта, включающему введение химиотерапевтического средства с антагонистом VEGF. Более конкретно химиотерапевтическое средство представляет собой такое антипролиферативное средство, как паклитаксел или его производное, аналог, или их смесь; такие химиотерапевтические соединения на основе платины, как цисплатин, карбоплатин, ипроплатин и родственные соединения; или другие общепринятые цитотоксические соединения; и антагонист VEGF представляет собой ловушку VEGF. В одном из вариантов осуществления количество

химиотерапевтического средства, необходимое для достижения желаемого терапевтического эффекта, такого как, например, ингибирование роста опухоли, снижено по меньшей мере на 20% при совместном введении с ловушкой VEGF. В более частном осуществлении необходимое количество химиотерапевтического средства

5 снижено приблизительно на 40-50% в присутствии ловушки VEGF.

В четвертом аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей антагонист фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), антипролиферативное средство и фармацевтически приемлемый носитель. В более частном осуществлении антагонист VEGF представляет собой ловушку VEGF,

10 способную к высокоаффинному связыванию с VEGF, и антипролиферативное средство представляет собой средство, стабилизирующее микротрубочки, такое как паклитаксел или его производное, аналог, или их смесь. Еще более конкретно ловушка VEGF представляет собой Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1(a) (SEQ ID

15 NO:1-2), VEGFR1R2-FcΔC1(a) (SEQ ID NO:3-4) или их функциональный эквивалент. В предпочтительном осуществлении фармацевтическая композиция представляет собой VEGFR1R2-FcΔC1(a) (SEQ ID NO:3-4) и паклитаксел.

Другие задачи и преимущества будут очевидны из обзора последующего

20 детального описания.

Краткое описание чертежей

Фигуры 1-2 представляют собой гистограммы, на которых показано уменьшение опухоли (фиг.1) и объем асцитической жидкости (фиг.2) у животных, которым проводили лечение только индифферентным веществом (плацебо) (в качестве

25 контроля), только ловушкой VEGF, только Таксолом™ или ловушкой VEGF вместе с Таксолом™.

Детальное описание

Перед описанием настоящих способов и композиций необходимо понимать, что

30 данное изобретение не ограничивается конкретными способами и описанными экспериментальными состояниями, поскольку такие способы и состояния могут изменяться. Также необходимо понимать, что используемая в данном описании терминология представлена только в целях описания конкретных осуществлений и не подразумевает ограничений объема настоящего изобретения, который ограничивается

35 только приложенной формулой изобретения.

Как использовано в данном описании и приложенной формуле изобретения, форма единственного числа терминов "некоторый" и "этот" также относится и к множественному числу до тех пор, пока в контексте явно не указано иное. Таким

40 образом, например, ссылка на "способ" включает один или более способов, и/или стадий способа, указанного и/или очевидного для специалистов в данной области из прочтения этой информации, и т.д.

Как используется в данном описании, все технические и научные термины до тех пор, пока не определены иначе, имеют то же значение, в котором их, как правило,

45 понимает специалист в области, к которой относится настоящее изобретение.

Настоящим описывают предпочтительные способы и вещества, хотя для практического использования или проверки настоящего изобретения можно применять любые способы и вещества, представляющие собой эквиваленты или

50 подобные тем, которые описаны в данном описании. Все цитируемые публикации включены в настоящее описание в качестве ссылки для описания способов и/или веществ, в связи с которыми цитированы указанные публикации.

Общее описание

Изобретение основано на открытиях, что сочетанное введение антагониста VEGF, например, ловушки VEGF VEGFR1R2-FcΔC1(a), вместе с антипролиферативным средством, например, таксолом, приводит в результате к значительному ингибированию роста опухоли. Неожиданное взаимоусиливающее действие сочетания ловушки VEGF и паклитаксела (ТаксолTM) на рост опухоли обеспечивает многообещающий терапевтический подход к лечению злокачественных опухолей у человека. Для описания ловушек VEGF на основе антагониста рецептора VEGF Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1(a) (SEQ ID NO:1-2) и VEGFR1R2-FcΔC1(a) (SEQ ID NO:3-4) см. PCT WO/0075319, содержание которого полностью приведено в данном описании в качестве ссылки.

Паклитаксел представляет собой дитерпеновое противоопухолевое соединение, первоначально полученное из коры дерева *Taxus brevifolia* (тихоокеанский тис) (Wani et al. (1971) J. Am. Chem. Soc. 93:2325-2327). ТаксолTM представляет собой доступную торговую форму паклитаксела. Другие химиотерапевтические соединения, применяемые по способу изобретения в сочетании с антагонистом VEGF, включают, но не ограничиваются ими, доцетаксел (Таксотер[®]; Aventis Antony, Франция); нитрозомочевину, циклофосфамид, доксорубицин, эпирубицин, 5-фторурацил, топотекан и иринотекан, кармустин и эстрамустин. Предпочтительные химиотерапевтические средства включают такие соединения на основе платины, как цисплатин, карбоплатин и ипроплатин. Другие, подобные общепринятые цитотоксические химические соединения описаны Wiemann et al. (1985) в Medical Oncology (Calabresi et al., eds.), глава 10, McMillan Publishing.

Способы введения

Изобретение предоставляет способы лечения, включающие введение индивидууму эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей такой антагонист VEGF, как ловушка VEGF, и такое антипролиферативное средство, как паклитаксел. Известны различные системы доставки, которые можно применять для введения композиции по изобретению, например инкапсулирование в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать соединение, опосредуемый рецептором эндоцитоз (см., например, Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429-4432), конструкцию нуклеиновой кислоты в качестве части ретровирусного или другого вектора и т.д. Способы введения могут быть энтеральными или парентеральными и включают, но не ограничиваются ими, внутрикожные, внутримышечные, внутрибрюшинные, внутривенные, подкожные, интраназальные, внутриглазные и пероральные способы введения. Соединения можно вводить вместе с другими биологически активными веществами и любым удобным способом, например, посредством инфузии или болюсной инъекции, всасывания через эпителиальную или кожно-слизистую оболочки (например, слизистую оболочку полости рта, слизистую оболочку кишечника, включая прямую кишку, и т.д.). Введение может быть системным или местным. Введение может быть однократным или длительным (например, ежедневным, еженедельным, ежемесячным и т.д.), или в сочетании с другими средствами. Также можно применять ингаляционное введение, например, используя ингалятор или распылитель и препарат с аэрозольным средством.

В другом осуществлении активное вещество можно доставлять в везикуле, особенно в липосоме, в системах с контролируемым высвобождением или в насосе. В другом осуществлении, где активное вещество по изобретению представляет собой нуклеиновую кислоту, кодирующую белок, нуклеиновую кислоту для обеспечения экспрессии кодируемого ею белка можно вводить *in vivo* посредством

конструирования ее в качестве части соответствующей нуклеиновой кислоты вектора экспрессии и введения ее таким образом, чтобы она попала внутрь клетки, например, применяя ретровирусный вектор (см., например, патент США №4980286), прямой инъекцией, или применяя бомбардировку микрочастицами, или покрытие липидами или рецепторами клеточной поверхности, или средствами для трансфекции, или введением ее, связанной с гомеобоксподобным пептидом, для которого известно, что он проникает в ядро (см., например, Joliot et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 1864-1868) и т.д. Альтернативно для экспрессии нуклеиновую кислоту можно вводить внутриклеточно и включать посредством гомологичной рекомбинации в ДНК клетки хозяина.

В частном осуществлении может быть желательно местное введение фармацевтических композиций по изобретению в необходимую для лечения область; этого можно достичь, и не путем ограничения, например, местной инфузией в течение хирургического вмешательства, местным применением, например, инъекцией при помощи катетера или при помощи имплантата, где имплантат состоит из пористого, непористого или гелеобразного вещества, включая мембраны, такие как мембраны из силиконовой резины, волокна или коммерческие заместители кожи.

Композиция, пригодная для практического осуществления способов по изобретению, может представлять собой жидкость, содержащую в растворе, в суспензии или в них обоих средство по изобретению. Термин "раствор/суспензия" относится к жидкой композиции, где первая порция активного вещества находится в растворе, а вторая порция активного вещества находится в виде частиц, в суспензии жидкого раствора. Жидкая композиция также включает гель. Жидкая композиция может быть водной или в виде мази.

Водная суспензия или раствор/суспензия, пригодные для практического применения способов по изобретению, могут содержать в качестве суспендирующих средств один или более полимеров. Пригодные полимеры включают такие водорастворимые полимеры, как полимеры целлюлозы, и такие водонерастворимые полимеры, как карбоксилсодержащие полимеры с поперечными сшивками. одна суспензия или раствор/суспензия по настоящему изобретению предпочтительно являются вязкими или мукоадгезивными или, еще более предпочтительно, и вязкими, и мукоадгезивными.

Метрономная химиотерапия

Метрономная химиотерапия развивается как улучшенный способ проведения химиотерапии. Традиционную химиотерапию проводили разовыми дозами или короткими курсами лечения, применяя максимально возможную в отсутствие достижения угрожающего жизни уровня токсичности дозу, например, максимально переносимую дозу (МПД). Лечение МПД требует продолжительных пауз длительностью 2-3 недели между следующими один за другим циклами лечения. Несмотря на многочисленные проведения такой химиотерапии и большое количество клинических испытаний, предпринятых для ее проверки, был достигнут незначительный, с точки зрения излечения или значительного продления жизни пациентов со злокачественной опухолью, прогресс (Kerbel & Kamen (2004) Nature Reviews Cancer 4: 423-436).

Метрономная химиотерапия относится к частому, даже ежедневному, проведению химиотерапии в дозах, значительно ниже МПД, без продолжительных пауз в отсутствие лекарственного средства. Помимо снижения разовой токсичности представляется, что эффективность метрономной химиотерапии повышается при применении в сочетании с такими специфическими противоангиогенными

лекарственными средствами, как ингибиторы VEGF (Kerbel & Kramen (2004), выше). Соответственно, настоящее изобретение относится к метронушной химиотерапии для лечения злокачественных опухолей у индивидуума, нуждающегося в таком лечении, включающей введение индивидууму антагониста фактора роста эндотелия
 5 сосудов (VEGF) в сочетании с антипролиферативным средством, осуществляя лечение злокачественной опухоли. В этом варианте осуществления изобретения антагонист VEGF и антипролиферативное средство можно вводить вместе или последовательно через относительно короткий промежуток времени, например 1-12
 10 недель, с последующим регулярным введением антипролиферативного средства в течение продолжительного периода времени, например 6-24 месяцев.

Фармацевтические композиции

Настоящее изобретение предоставляет фармацевтические композиции, содержащие антагонист VEGF, антипролиферативное средство и фармацевтически приемлемый
 15 носитель. Термин “фармацевтически приемлемый” означает утвержденный контрольными органами федерального правительства или правительства штата, или указанный в фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее, для применения для животных и более конкретно для человека. Термин “носитель”
 20 относится к растворителю, вспомогательному лекарственному средству, эксципиенту или индифферентному веществу, с которым вводят лекарственное средство. Такие фармацевтические носители могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масла, включающие масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло,
 25 минеральное масло, кунжутное масло и подобные им. Приемлемые фармацевтические эксципиенты включают крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, муку, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое снятое молоко, глицерин, пропиленгликоль, воду, этанол и подобные им. При
 30 желании композиция может также содержать незначительные количества увлажнителей, или эмульгаторов, или pH буферных веществ. Эти композиции могут быть в виде растворов, суспензий, эмульсии, таблеток, драже, капсул, порошков, препаратов длительного высвобождения и подобных им. Примеры приемлемых фармацевтических носителей описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences" E.W.
 35 Martin.

Композиция по изобретению может быть получена в виде нейтрального вещества или в виде соли. Фармацевтически приемлемые соли включают такие образованные свободными аминогруппами соли, как производные хлористоводородной,
 40 фосфорной, уксусной, щавелевой, винной кислот и т.д., и такие образованные свободными карбоксильными группами соли, как производные изопропиламина, триэтиламина, 2-этиламиноэтанола, гистидина, прокаина, гидроксидов натрия, калия, аммония, кальция, железа и т.д.

Эффективное для предполагаемого применения в лечебных целях количество
 45 композиции по изобретению можно определять стандартными клиническими способами на основе настоящего описания. Кроме того, для определения оптимальных диапазонов доз можно, не обязательно, применять анализы *in vitro*. В целом, приемлемые для внутривенного введения диапазоны доз, как правило,
 50 приблизительно составляют 20-500 микрограмм активного соединения на килограмм массы тела. Как правило, приемлемые для интраназального введения диапазоны доз составляют приблизительно от 0,01 пг/кг массы тела до 1 мг/кг массы тела. Величины эффективных доз можно получить экстраполяцией кривых доза-ответ, полученных *in*

vitro или из систем проверки на животных моделях.

Терапевтически эффективную дозу для системного введения первоначально можно оценивать, основываясь на анализах *in vitro*. Например, дозу для достижения диапазона циркулирующих концентраций, включающего IC_{50} , определенную на культуре клеток, можно составлять на животных моделях. Такую информацию можно применять для более точного определения пригодных для человека доз. Также первоначальные дозы можно оценивать на основе данных, полученных *in vivo*, например, на животных моделях, применяя хорошо известные в данной области способы. Основываясь на данных животных моделей, специалист в данной области может легко подобрать оптимальное введение лекарственного средства человеку.

Чтобы обеспечить достаточный для поддержания терапевтического эффекта уровень соединений в плазме, количество дозы и интервал между ними можно определять индивидуально. В случаях местного введения или избирательного усвоения эффективная местная концентрация соединений может не соотноситься с концентрацией в плазме. Специалист в данной области может без лишних экспериментов определить оптимальные терапевтически эффективные местные дозы.

Количество вводимого соединения, конечно, зависит от индивидуума, которому проводят лечение, от массы индивидуума, тяжести заболевания, способа введения и оценки назначающего лечение терапевта. Лечение можно периодически повторять, пока симптомы выявляют или даже когда их не выявляют. Лечение можно проводить в отдельности или в сочетании с другими лекарственными средствами.

Наборы

Также изобретение предоставляет набор, включающий упаковочный материал и содержащееся в упаковочном материале фармацевтическое средство, где фармацевтическое средство содержит по меньшей мере один антагонист VEGF и по меньшей мере одно антипролиферативное средство и где упаковочный материал содержит ярлык или листок-вкладыш, в котором указано, что антагонист VEGF и антипролиферативное средство можно применять для лечения злокачественных опухолей или снижения роста опухоли.

Частные варианты осуществления

Как указано в примере 1, для мышей, которым вводили инокуляцией клетки OVCAR3, проводили лечение только индифферентным веществом (в качестве контроля), только ловушкой VEGF, только ТаксоломTM или ловушкой VEGF вместе с ТаксоломTM. Из результатов следовало, что у мышей, получавших ловушку VEGF в отдельности или в сочетании с ТаксоломTM, отсутствовал доступный наблюдению асцит. Сочетание ловушки VEGF с ТаксоломTM приводило к повышению подавления опухоли на 97%, и мыши, которым проводили комбинированное лечение, выглядели такими же здоровыми и свободными от побочных эффектов, как обычные, не имеющие опухоли животные. Также в этом эксперименте было выявлено, что добавление ловушки VEGF ведет к уменьшению необходимого для достижения ингибирования роста опухоли количества антипролиферативного средства. Кроме того, как описано в примере 2, три из пяти животных, которым проводили комбинированное лечение (60%), остаются живыми и здоровыми на этот момент времени, после завершения периода лечения.

Другие признаки изобретения будут очевидны в ходе последующих описаний примеров осуществлений, иллюстрирующих изобретение и не подразумевающих его ограничения.

ПРИМЕРЫ

Следующий пример приведен для предоставления специалистам в данной области полной информации и описания осуществления и применения способов и композиций по изобретению и не подразумевает ограничения объема того, что авторы рассматривают в качестве своего изобретения. Предпринимали меры для обеспечения точности в отношении используемых чисел (например, количеств, температуры и т.д.), но следует принимать во внимание некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Доли представляют собой массовые доли, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура представляет собой температуру по столбчатой шкале Цельсия и давление представляет собой атмосферное или близкое к нему.

Пример 1. Лечение опухоли с применением ловушки VEGF с ТаксоломTM и без него

Схема эксперимента. Два эксперимента, каждый с 4 группами безтимусных самок голых мышей (5-7 недель, 20 мышь/эксперимент, общее n=40), которым инокуляцией внутрибрюшинно вводили клетки OVCAR3. Через две недели после инокуляции 1 группе, в течение 4 недель, вводили подкожно ловушку VEGF, два раза в неделю, и внутрибрюшинно паклитаксел, три раза в неделю. Второй группе вводили только ловушку VEGF. Третьей группе вводили только паклитаксел. Оставшейся группе вводили индифферентное вещество. В конце экспериментов мышей подвергали эвтаназии, измеряли объем асцитической жидкости и удаляли и взвешивали всю видимую опухоль.

Контроль роста опухоли. По сравнению с контрольными образцами при применении ловушки VEGF с паклитакселем выявлено достоверное уменьшение опухолевой массы на 97,7% ($p<0,01$). В группах, где применяли только ловушку VEGF и только паклитаксел, по сравнению с контрольными образцами выявлено уменьшение опухолевой массы на 55,7% ($p<0,05$) и 54,8% ($p<0,05$) соответственно (фиг.1) (таблица).

Контроль развития асцита. В группах, где проводили комбинированное лечение или лечение только ловушкой VEGF, асцит, по существу, не развивался (фиг.2). По сравнению с контрольными образцами при применении только паклитаксела выявлено достоверное снижение развития асцита на 85,5% ($p<0,01$). В морфологических исследованиях показали, что в группе, где применяли ловушку VEGF с паклитакселем, бленные пятнистые опухоли были в значительной степени некротизированы и лишены сосудов. Девяносто процентов мышей в контрольной группе, в которой не проводили лечение, и группе, где применяли только ловушку VEGF, и 80% мышей в группе, где применяли только паклитаксел, имели опухоли на диафрагме. Девяносто процентов мышей в контрольной группе и 60% мышей в группах, где применяли только ловушку VEGF и только паклитаксел, имели опухоли в воротах печени. Однако в группах, где применяли сочетание ловушки VEGF с паклитакселем, опухолей в этих участках не выявили. Внешний вид и поведение мышей из группы, где применяли ловушку VEGF с паклитакселем, зрительно не отличались от таковых у обычных мышей того же возраста, которым не проводили инокуляцию. Эти данные позволяют предположить, что комбинированное лечение ловушкой VEGF с паклитакселем может представлять собой эффективный способ значительного уменьшения как опухолевой массы, так и развития асцита при распространенном эпителиальном раке яичника с минимально заметными побочными эффектами.

	Taxol™	Ловушка VEGF	Ловушка VEGF+ Taxol™
% снижения развития асцита	85,4	96,5	100
% уменьшения опухолевой массы	55,9	56,7	97,7

Пример 2. Влияние на время выживания лечения с применением ловушки VEGF с Таксолом™ и без него

В исследовании выживания двум группам безтимусных мышей вводили инокуляцией клетки клеточной линии рака яичника человека и через две недели вводили в течение четырех недель сочетание ловушки VEGF с паклитаксолом или индифферентное вещество (в качестве контроля), как описано выше в примере 1. Однако вместо умерщвления мышей в конце четырех недель их наблюдали в течение 110 дней со времени инокуляции раковой клетки или до возникновения необходимости в эвтаназии. Всех мышей из контрольной группы подвергали эвтаназии через 5-13 суток после прекращения лечения. Наоборот, в группе мышей, где применяли ловушку VEGF с паклитаксолом, три из пяти мышей в первой группе остаются живыми на 110 суток после инокуляции раковой клетки (68 суток после прекращения лечения) с обычными приемом пищи и физическим поведением. Одна из них имеет в области инокуляции опухоль 0,5×0,6 мм. Четвертую мышь, имевшую опухоль вокруг трахеи вследствие дыхательной недостаточности, подвергали эвтаназии на 89 суток после инокуляции раковой клетки и пятую, имевшую геморрагический асцит и опухолевую массу 0,53 г, подвергали эвтаназии на 81 сутки после инокуляции раковой клетки. Поведение мышей второй группы, в настоящее время исследуемой на выживание, сходно с таковым в первой группе.

Настоящее изобретение можно осуществить другими специфическими способами, не отходя от существа или его неотъемлемых свойств.

Формула изобретения

1. Применение сочетания антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и антипролиферативного средства, предназначенного для лечения злокачественной опухоли, для приготовления лекарственного средства для лечения злокачественной опухоли, где антагонист VEGF представляет собой ловушку VEGF, выбранную из VEGFR1R2-FcΔC1 (a) и Flt1D2. Flk1D3. FcΔC1 (a), при этом антипролиферативное средство представляет собой средство, стабилизирующее микротрубочки, выбранное из группы, включающей паклитаксел, доцетаксел или их производные, аналоги, или их смесь, или антипролиферативное средство представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины, выбранное из группы, включающей цисплатин, карбоплатин и ипроплатин.

2. Применение по п.1, где антагонист VEGF представляет собой VEGFR1R2-FcΔC1 (a), и антипролиферативное средство представляет собой паклитаксел или доцетаксел.

3. Применение по п.1 или 2, где индивидуумом является человек.

4. Применение сочетания антагониста VEGF и антипролиферативного средства для приготовления лекарственного средства, уменьшающего рост опухоли у индивидуума, где антагонист VEGF представляет собой ловушку VEGF, выбранную из VEGFR1R2-FcΔC1 (a) и Flt1D2. Flk1D3. FcΔC1(a), при этом антипролиферативное средство представляет собой средство, стабилизирующее микротрубочки, выбранное из группы, включающей паклитаксел, доцетаксел или их производные, аналоги, или их смесь, или антипролиферативное средство представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины, выбранное из группы, включающей цисплатин,

карбоплатин и ипроплатин.

5. Способ ингибирования или уменьшения роста опухоли у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), в сочетании с антипролиферативным средством, ингибируя
 5 рост опухоли, где антагонист VEGF представляет собой ловушку VEGF, выбранную из VEGFR1R2-FcΔC1 (a) и Flt1D2. Flk1D3. FcΔC1(a), при этом антипролиферативное средство выбирают из группы, включающей паклитаксел, доцетаксел или их производные, аналоги, или смесь паклитаксела и химиотерапевтического средства на
 10 основе платины, выбранного из группы, включающей цисплатин, карбоплатин и ипроплатин.

6. Фармацевтическая композиция, содержащая антагонист фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), антипролиферативное средство и фармацевтически приемлемый носитель, в которой антагонист VEGF представляет собой ловушку VEGF, выбранную
 15 из VEGFR1R2-FcΔC1 (a) и Flt1D2. Flk1D3. FcΔC1(a), при этом антипролиферативное средство представляет собой средство, стабилизирующее микротрубочки, выбранное из группы, включающей паклитаксел, доцетаксел или их производные, аналоги, или их смесь, или антипролиферативное средство представляет собой химиотерапевтическое
 20 средство на основе платины, выбранное из группы, включающей цисплатин, карбоплатин и ипроплатин.

7. Применение сочетания антагониста VEGF и химиотерапевтического средства для лечения злокачественной опухоли, где сочетание снижает количество химиотерапевтического средства, необходимое для достижения желаемого эффекта,
 25 для приготовления лекарственного средства для лечения злокачественной опухоли, где антагонист VEGF представляет собой ловушку VEGF, выбранную из VEGFR1R2-FcΔC1 (a) и Flt1D2. Flk1D3. FcΔC1(a), при этом антипролиферативное средство представляет собой средство, стабилизирующее микротрубочки, выбранное
 30 из группы, включающей паклитаксел, доцетаксел или их производные, аналоги, или их смесь, или антипролиферативное средство представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины, выбранное из группы, включающей цисплатин, карбоплатин и ипроплатин.

8. Применение по п.7, где необходимое для достижения желаемого
 35 терапевтического эффекта количество химиотерапевтического средства снижено по меньшей мере на 20%.

9. Применение по п.8, где необходимое для достижения желаемого
 40 терапевтического эффекта количество химиотерапевтического средства снижено приблизительно на 30-50%.

10. Набор для лечения злокачественной опухоли, содержащий:

(a) упаковочный материал; и

(b) содержащееся в упаковочном материале фармацевтическое средство, где фармацевтическое средство содержит по меньшей мере одну дозу ловушки фактора
 45 роста эндотелия сосудов (VEGF) и по меньшей мере одно антипролиферативное средство, и где на упаковочном материале указано, что антагонист VEGF и антипролиферативное средство можно применять для лечения злокачественной опухоли или уменьшения роста опухоли, при этом антагонист VEGF представляет собой ловушку VEGF, выбранную из VEGFR1R2-FcΔC1 (a) и Flt1D2. Flk1D3. FcΔC1(a),
 50 и антипролиферативное средство представляет собой средство, стабилизирующее микротрубочки, выбранное из группы, включающей паклитаксел, доцетаксел или их производные, аналоги, или их смесь, или антипролиферативное средство представляет

собой химиотерапевтическое средство на основе платины, выбранное из группы, включающей цисплатин, карбоплатин и ипроплатин.

Приоритет по п.10 установлен от 23.07.2004.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

Список последовательностей

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

<120> Композиции агониста VEGF и антипролиферативного средства

<130> REG 715B-WO

<140> Для определения
<141> Для определения

<150> 60/493,971
<151> 2003-08-08

<160> 2

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 1377
<212> ДНК
<213> homo sapiens

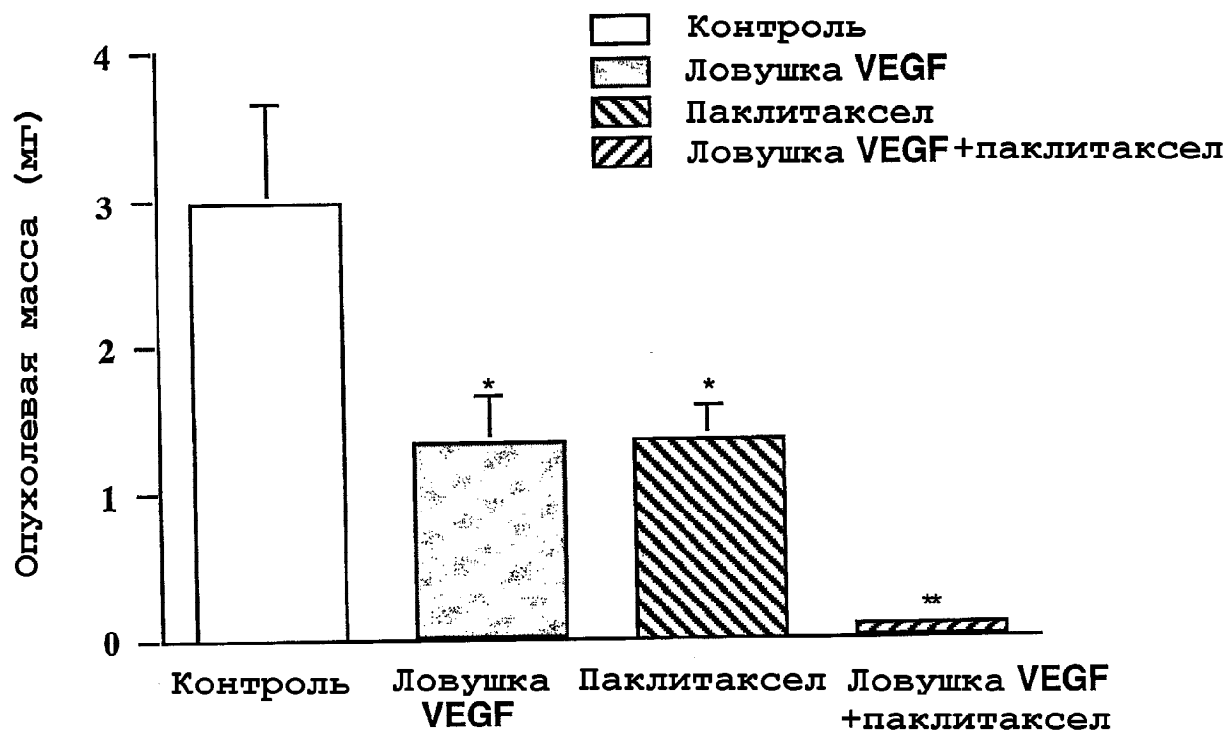
<400> 1
atggtcagct actgggacac cgggggtcctg ctgtgcgcgc tgctcagctg tctgcttctc 60
acaggatcta gttccggaag tgataccggt agacctttcg tagagatgta cagtgaatac 120
cccgaaatta tacacatgac tgaaggaagg gagctcgtca ttccctgccc ggttacgtca 180
cctaaccatca ctgttacttt aaaaaagttt ccacttgaca ctttgatccc tgatggaaaa 240
cgcataatct gggacagtag aaagggtctc atcatatcaa atgcaacgta caaagaaata 300
gggcttctga cctgtgaagc aacagtcaat gggcatttgt ataagacaaa ctatctcaca 360
catcgacaaa coaatacoat catagatgtg gttctgagtc ogtotcatgg aattgaaata 420
tctgttggag aaaagcttgt cttaatttgt acagcaagaa ctgaactaaa tgtggggatt 480
gacttcaact gggataccc ttcttcgaag catcagcata agaaacttgt aaaccgagac 540
ctaaaaaccc agtctgggag tgagatgaag aaatttttga gcaccttaac tatagatggg 600
gtaacccgga gtgaccaagg attgtacacc tgtgcagcat ccagtgggct gatgaccaag 660
aagaacagca catttgtcag ggtccatgaa aaggacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 720
ccagcaactg aactcctggg gggaccgtca gtcttctct tcccccaaaa acccaaggac 780
accctcatga tctcccgga ccttgaggtc acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa 840
gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 900
aagccgcggg agggagcagta caacagcacg tacctgtgtg tcagcgtctc caccgtcctg 960
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaggg tctccaacaa agcctctcca 1020
gcccccatcg agaaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 1080
accctgcccc catcccgga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcttggtc 1140
aaaggcttct atcccagcga catgcccgtg gagtggggaga gcaatgggca gccggagaaac 1200

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttctc ctacagcaag 1260
ctcacctggt acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1320
gaggctctgc acaaccacta cagcagaag agcctctccc tgtctcggg taaatga 1377

<210> 2
<211> 458
<212> белок
<213> homo sapiens

<400> 2
Met Val Ser Tyr Trp Asp Thr Gly Val Leu Leu Cys Ala Leu Leu Ser

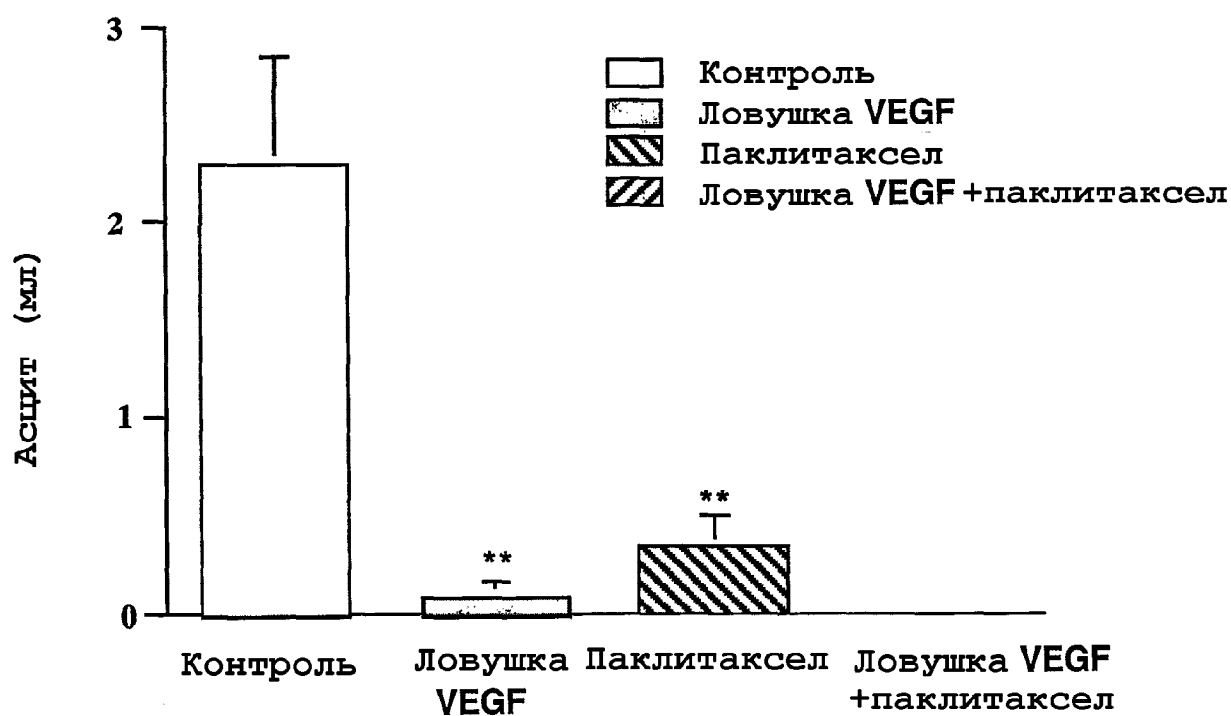
1	5	10	15
Cys Leu Leu Leu Thr Gly Ser Ser Ser Gly Ser Asp Thr Gly Arg Pro			
20	25	30	
Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu			
35	40	45	
Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr			
50	55	60	
Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly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



*, $P < 0,05$ по сравнению с контролем

**, $P < 0,01$ по сравнению с контролем;

ФИГ. 1



*, $P < 0,05$ по сравнению с контролем

**, $P < 0,01$ по сравнению с контролем;

ФИГ. 2