

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2001.08.23**

(30) Prioridade(s): **2000.08.25 US 227970 P**
2000.09.29 US 237009 P
2000.11.10 US 709170

(43) Data de publicação do pedido: **2003.05.28**

(45) Data e BPI da concessão: **2009.06.03**
169/2009

(73) Titular(es):

GENTA INCORPORATED
2 OAK WAY BERKELEY HEIGHTS, NJ 07922 US

(72) Inventor(es):

RAYMOND P. JR. WARREL US
ROBERT E. KLEM US
HOWARD FINGERT US

(74) Mandatário:

MANUEL ANTÓNIO DURÃES DA CONCEIÇÃO ROCHA
AV LIBERDADE, Nº. 69 1250-148 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **MÉTODOS DE TRATAMENTO DE UMA CONDIÇÃO PATOLÓGICA BCL-2 COM OLIGÓMEROS ANTI-SENTIDO BCL-2**

(57) Resumo:

RESUMO

“MÉTODOS DE TRATAMENTO DE UMA CONDIÇÃO PATOLÓGICA BCL-2 COM OLIGÓMEROS ANTI-SENTIDO BCL-2”

Esta invenção refere-se ao uso de oligómeros anti-sentido bcl-2 para o tratamento e prevenção de condições patológicas relacionadas com a bcl-2. Estas condições patológicas incluem cancros, tumores, carcinomas e condições patológicas relacionadas com a proliferação celular. Numa concretização da invenção, o oligómero anti-sentido da bcl-2 é administrado em doses elevadas. Esta invenção refere-se também a um método de prevenção ou tratamento de uma condição patológica relacionada com a bcl-2, em especial o cancro, que compreende a administração de um oligómero anti-sentido da bcl-2 durante curtos períodos de tempo. Esta invenção refere-se ainda à utilização de oligómeros anti-sentido da bcl-2 para aumentar a sensibilidade de um sujeito à terapêutica do cancro. A invenção diz também respeito a composições farmacêuticas que compreendem um ou mais oligómeros anti-sentido da bcl-2, que podem incluir um ou mais agentes de terapêutica do cancro.

DESCRIÇÃO

“MÉTODOS DE TRATAMENTO DE UMA CONDIÇÃO PATOLÓGICA BCL-2 COM OLIGÓMEROS ANTI-SENTIDO BCL-2”

Descrição

1. INTRODUÇÃO

Esta invenção é dirigida ao uso de oligómeros anti-sentido da bcl-2 para o tratamento e prevenção de condições patológicas relacionadas com a bcl-2. Estas condições patológicas incluem cancros, tumores, carcinomas e condições patológicas relacionadas com a proliferação celular. Numa concretização da invenção, o oligómero anti-sentido da bcl-2 é administrado em doses elevadas. Esta invenção é também dirigida a um método de prevenção ou tratamento de uma condição patológica relacionada com a bcl-2, em especial o cancro, incluindo a administração de um oligómero anti-sentido da bcl-2 durante curtos períodos de tempo. Esta invenção é também ainda dirigida à utilização de oligómeros anti-sentido da bcl-2 para aumentar a sensibilidade de um sujeito à terapêutica do cancro. A invenção diz também respeito às composições farmacêuticas que compreendem um ou mais oligómeros anti-sentido da bcl-2, e que podem incluir um ou mais agentes de terapêutica do cancro.

2. ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

As abordagens tradicionais ao tratamento do cancro sofrem de falta de especificidade. A maioria dos medicamentos desenvolvidos são produtos naturais ou derivados que bloqueiam as vias enzimáticas ou interagem casualmente com o ADN. Além disso, a maioria dos medicamentos para o tratamento do cancro são acompanhados por graves toxicidades limitadoras da dose devido aos baixos índices terapêuticos. Por exemplo, a maioria dos medicamentos contra o cancro, quando administrados a um doente, matam não só as células cancerosas mas também as normais, as células não cancerosas. Devido a estes efeitos perniciosos, são necessários tratamentos que afectem mais especificamente as células cancerosas.

Foi descoberto que uma classe de genes, os oncogenes, está envolvida na transformação das células, e na manutenção de um estado pré-cancerígeno. Em especial, impedir a transcrição destes genes ou, por outro lado, inibir os efeitos dos seus produtos proteicos, pode ter um resultado terapêutico favorável. O papel dos oncogenes na etiologia de muitos cancros no ser humano tem sido revisto em Bishop, 1987, "Cellular Oncogenes and Retroviruses", Science, 235:305-311. Em muitos tipos de cancros do ser humano, um gene denominado bcl-2 (linfoma/leucemia2 das células B) existe com elevada expressão, e esta expressão pode estar associada a uma tumorigenicidade (Tsujiimoto et al., 1985, "Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma", Science 228:1440-1443). Pensa-se que o gene bcl-2 contribui para a patogénese do cancro, assim como para a resistência ao tratamento, principalmente por prolongar a sobrevivência da célula em vez de acelerar a divisão celular.

O gene bcl-2 humano está implicado na etiologia de certas leucemias, tumores linfóides, linfomas,

neuroblastomas e carcinomas nasofaríngeos, da próstata, da mama e do cólon (Croce et al., 1987, "Molecular Basis Of Human B and T Cell Neoplasia" in: Advance in Viral Oncology, 7:35-51, G.Klein (ed.), Nova Iorque: Raven Press; Reed et al., 1991, "Expressão diferencial do protooncogene bcl-2 no neuroblastoma e outras linhas celulares tumorais humanas de origem neural", *Cancer Res.* 51:6529-38; Yunis et al., 1989, "Bcl-2 e outras alterações genómicas no prognóstico de linfomas em grandes células", *N. Engl. J. Med.* 320:1047-54; Campos et al., 1993, "Elevada expressão da proteína bcl-2 na leucemia mielóide aguda associada à fraca resposta à quimioterapia", *Blood* 81:3091-6; McDonnell et al., 1992, "Expressão do protooncogene bcl-2 e a sua associação com o cancro da próstata androgeno-independente emergente", *Cancer Res.* 52:6940-4; Lu et al., 1993, "Expressão do protooncogene bcl-2 no Carcinoma Nasofaríngeo Associado ao Vírus Epstein Barr", *Int. J. Cancer* 53:29-35; Bonner et al., 1993, "Protooncogene bcl-2 e o modelo de desenvolvimento do tumor epitelial da mucosa gastrointestinal relacionado com as sequências morfológicas e moleculares propostas", *Lab. Invest.* 68:43A. Foi encontrada uma grande expressão de bcl-2 numa variedade de tumores incluindo o linfoma, mas não o de Hodgkin, cancro do pulmão, cancro da mama, cancro colorrectal, cancro da próstata, cancro do rim e leucemias agudas e crónicas (Reed, 1995, "Regulação da apoptose por proteínas da família bcl-2 e o seu papel no cancro e quimiorresistência", *Curr. Opin. Oncol.* 7:541-6).

Os oligonucleótidos anti-sentido proporcionam potenciais ferramentas terapêuticas para a quebra específica da função do oncogene. Estes ADNs sintéticos monocatenários curtos (regra geral inferiores a 30 bases) possuem uma sequência complementar às áreas pré-mARN ou mARN de um gene alvo, e formam uma hélice híbrida por um emparelhamento à base de ligação de hidrogénio. Esta

hibridação pode quebrar a expressão tanto do mRNA alvo como da proteína que codifica, e pode, desse modo, interferir com interações e sinalizações descendentes. Visto que uma molécula mRNA produz múltiplas cópias de proteínas, a inibição do mRNA pode ser mais eficaz e mais específico do que provocar a quebra ao nível proteico, por exemplo, através da inibição de um local activo da enzima.

Os oligodidesoxinucleótidos sintéticos complementares ao mRNA do oncogene c-myc têm sido utilizados para inibir especificamente a produção da proteína c-myc, suspendendo assim o crescimento de células de leucemia humana *in vitro* (Holt et al., 1988, Mol. Cell Biol. 8:963-73; Wickstrom et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:1028-32). Os oligodidesoxinucleótidos têm também sido utilizados como inibidores específicos de retrovírus, incluindo o vírus da imunodeficiência humana (Zamecnik e Stephenson, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75:280-4; Zamecnik et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83:4143-6).

A utilização de oligonucleótidos anti-sentido, com a sua capacidade de fixar e inibir individualmente os genes relacionados com o cancro, demonstrou uma esperança nos modelos pré-clínicos do cancro. Estes oligómeros anti-sentido de fosforotioato demonstraram uma capacidade para inibir a expressão da bcl-2 *in vitro* e erradicar tumores em modelos de ratos com linfoma xenográfico. A resistência à quimioterapia nalguns cancros tem estado associada à expressão do oncogene bcl-2 (Grover et al., 1996, "Bcl-2 no melanossarcoma e importância do seu prognóstico", Bur. J. surg. Oncol. 22(4):347-9). A administração de um oligómero anti-sentido da bcl-2 pode selectivamente reduzir os níveis proteicos da bcl-2 nos xenógrafos de tumor nos ratinhos de laboratório (Jansen et al., 1998, "Terapia antimensageira bcl-2 quimiosensibiliza o melanoma humano em ratos SCID", Nat.

Med. 4(2):232-4). Além disso, a administração de um oligómero anti-sentido da bcl-2 pode tornar os xenógrafos de tumor em ratinhos de laboratório mais susceptíveis aos agentes quimioterapêuticos (Jansen et al., 1998, "Terapia antimensageira bcl-2 quimiosensibiliza o melanoma humano em ratos SCID", Nat. Med. 4(2):232-4). Nos ratinhos, o tratamento sistémico com um oligómero anti-sentido bcl-2 reduziu a proteína bcl-2 e aumentou a apoptose. O tratamento apenas com oligómero anti-sentido bcl-2 obteve uma actividade antitumoral modesta, mas foi observado um aumento da actividade antitumoral quando combinada com DTIC (também conhecido como dacarbazina). Em dez dos treze animais não foram detectados xenógrafos do melanossarcoma após a administração do oligómero anti-sentido bcl-2 juntamente com o tratamento DTIC. Permanece uma grande necessidade em alargar estes tratamentos antitumorais para o combate ao cancro nos seres humanos.

O prognóstico de muitos pacientes com cancro é fraco apesar do aumento da disponibilidade de terapias biológicas, com fármacos e combinadas. Por exemplo, apesar de o DTIC ser habitualmente utilizado para o tratamento do melanoma metastático, poucos pacientes apresentaram melhoramentos a longo prazo. De facto, a fase III do ensaio clínico extensivo não demonstrou qualquer melhoria de sobrevivência quando o DTIC foi utilizado juntamente com cisplatinum, carmustina e tamoxifeno (Chapman et al., 1999, "Fase III do ensaio aleatório multicêntrico do regime de Dartmouth versus dacarbazina em pacientes com melanoma metastático", J. Clin. Oncol. 17(9):2745-51). Estas graves lacunas nos tratamentos do cancro realçam para a necessidade de novas abordagens aos tratamentos.

3. RESUMO DA INVENÇÃO

Esta invenção é dirigida aos compostos farmacológicos compreendendo oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 e medicamentos para o tratamento do cancro. A invenção é parcialmente baseada na descoberta dos Requerentes que alegam que os oligómeros anti-sentido bcl-2, quando administrados em pacientes em elevadas doses para o tratamento do cancro, obtêm respostas terapêuticas significativas, incluindo baixa toxicidade, elevada tolerância e sobrevivência prolongada. Os Requerentes descobriram também que os oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17, quando administrados em pacientes em elevadas doses por um curto período de tempo, ou seja, inferior a 14 dias, obtiveram um resultado de respostas terapêuticas significativas no tratamento de pacientes com cancro. Estes regimes terapêuticos envolveram ainda a administração de oligómeros anti-sentido bcl-2 em doses elevadas por um curto período de tempo com uma ou mais terapêuticas do cancro. Surpreendentemente, uma dose reduzida de uma ou mais terapêuticas do cancro, quando administrada juntamente com uma pequena administração de oligómeros anti-sentido bcl-2, demonstrou também respostas terapêuticas significativas no tratamento de pacientes com cancro. Assim, os regimes terapêuticos desta invenção proporcionam um método terapêuticamente eficaz no tratamento do cancro de duração e toxicidade reduzidas, e, assim, resulta numa melhoria da tolerância.

Numa concretização, esta invenção fornece uma composição/medicamento para o tratamento do cancro, e uma composição farmacêutica em forma de dose unitária compreendendo doses especialmente elevadas de oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17, de modo que a quantidade eficaz de oligómeros anti-sentido bcl-2 na dita composição farmacêutica é uma dose eficaz para obter uma

dose de cerca de 10 a 50 mg/kg/dia. De acordo com esta concretização da invenção, a quantidade eficaz de oligómeros anti-sentido bcl-2 da dita composição farmacêutica é uma dose eficaz para obter um nível de circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 no mínimo de 30 nM (nanomolar). Numa concretização, o nível de circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 é de 1 a 10 μ M (micromolar). Noutra concretização, o nível de circulação desejado de oligómeros anti-sentido bcl-2 de, pelo menos, 30 nM é obtido cerca de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 horas após a administração dos oligómeros anti-sentido bcl-2. Noutra concretização, o nível de circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 de, pelo menos, 30 nM é obtido em cerca de 36 a 48 horas, de preferência de 24 a 35 horas, e ainda preferencialmente de 12 a 24 horas. O mais preferível é mesmo abaixo das 12 horas.

Noutra concretização, esta invenção fornece uma substância e medicamento para o tratamento do cancro e uma composição farmacêutica compreendendo uma dose de oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 a administrar por um curto período de tempo, isto é, inferior a 14 dias, de modo que a quantidade eficaz de oligómeros anti-sentido bcl-2 a ser administrada para a duração deste pequeno ciclo de tratamento vai de 0,01 a 50 mg/kg/dia. Noutra concretização, a quantidade eficaz de oligómeros anti-sentido bcl-2 a ser entregue para a duração deste pequeno ciclo de tratamento é uma dose eficaz para obter um nível de circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 de, no mínimo, 30 nM. Noutra concretização, o nível de circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 é de 1 a 10 μ M (micromolar).

Noutra concretização, esta invenção fornece uma substância/medicamento para o tratamento do cancro e uma composição farmacêutica compreendendo uma dose de oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 a administrar

por um curto período de tempo, isto é, inferior a 14 dias, juntamente com uma ou mais terapêuticas do cancro, em que a dita terapêutica do cancro deverá ser administrada antes de, após ou simultaneamente com os oligómeros anti-sentido bcl-2. A quantidade eficaz de oligómeros anti-sentido bcl-2, a ser administrada durante este curto protocolo de tratamento, vai de 0,01 a 50 mg/kg/dia. A quantidade eficaz da terapêutica do cancro a administrar juntamente com os oligómeros anti-sentido bcl-2 pode ser administrada na sua dose normal ou, em alternativa, administrada numa dose reduzida. De acordo com esta concretização da invenção, a quantidade eficaz de oligómeros anti-sentido bcl-2 da dita composição farmacêutica é uma dose eficaz para obter um nível de circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 de, pelo menos, 30 nM. Numa concretização específica, o nível de circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 é obtido em cerca de 36 a 48 horas, de preferência de 24 a 35 horas, e ainda preferencialmente inferior a 24 horas.

Uma condição patológica relacionada com o bcl-2 envolve tumores, cancro, carcinomas e condições patológicas de proliferação de células.

De acordo com esta invenção, um curto período de tempo envolve um período de tempo para a administração dos mensageiros bcl-2, inferior a 14 dias, e de 3 a 9 dias, de 4 a 7 dias ou de 5 a 6 dias.

De acordo com esta invenção, a dose de oligómeros anti-sentido bcl-2 a ser administrada por um curto período de tempo de 0,01 a 50 mg/kg/dia, de preferência numa dose de 4 a 9 mg/kg/dia, e ainda preferencialmente com uma dose de 5 a 7 mg/kg/dia.

Esta invenção envolve também composições farmacêuticas compreendendo uma quantidade eficaz de um ou mais oligómeros anti-sentido bcl-2 a ser administrada de acordo com os métodos desta invenção. As ditas composições farmacêuticas envolvem uma dose de oligómeros anti-sentido

bcl-2 de 0,01 a 50 mg/kg/dia, de preferência numa dose de 4 a 9 mg/kg/dia, e ainda preferencialmente com uma dose de 5 a 7 mg/kg/dia, juntamente com um veículo farmacologicamente aceite. Noutra concretização, as composições farmacêuticas desta invenção envolvem também uma ou mais terapêuticas adicionais do cancro. As ditas composições farmacêuticas são formuladas para serem entregues como uma perfusão contínua, ou numa ou mais administrações do bolo, ou numa ou mais administrações durante um protocolo de tratamento.

De acordo com esta invenção, as composições farmacêuticas da invenção que compreendem oligómeros anti-sentido bcl-2 podem ser administradas em separado das composições farmacêuticas que compreendem agentes da terapêutica do cancro.

Estes e outros aspectos desta invenção serão melhor apreciados com referência às seguintes Figuras e Descrição Detalhada.

3.1. DEFINIÇÕES

A expressão "condição patológica relacionada com a bcl-2" aqui utilizada diz respeito a uma alteração que envolve a regulação do gene bcl-2, e inclui, mas não só, doenças que envolvam células que expressam genes bcl-2. Esta alteração engloba doenças que envolvem células ou tecidos que expressem o gene bcl-2 ou um gene relacionado com o bcl-2, ou doenças que envolvam células ou tecidos que já não expressem o gene bcl-2, mas habitualmente o fazem. As condições patológicas relacionadas com o bcl incluem, mas não se limitam a, condições relacionadas com a proliferação de células, assim como patologias de células ou tecidos afectados por células que expressem o gene bcl-2 ou um gene relacionado com o bcl-2.

O termo "cancro" aqui utilizado descreve um estado da doença no qual um agente ou agentes cancerígenos

provocam a transformação de uma célula saudável numa célula anormal, seguindo-se uma invasão dos tecidos adjacentes por estas células anormais, podendo seguir-se uma propagação linfática ou por via sanguínea destas células anormais para os gânglios linfáticos e/ou locais distantes, ou seja, metastização.

O termo "tumor" ou "crescimento" aqui utilizado significa o aumento da massa do tecido, o que inclui maior número de células em resultado de uma divisão celular mais rápida e/ou taxas de mortalidade celular mais baixas. Os tumores podem ser cancros malignos ou não malignos.

As expressões "tratamento de cancro" e "tratamento do cancro" aqui utilizadas significam a inibição da replicação de células cancerosas, inibição da expansão do cancro, decréscimo das dimensões do tumor, diminuir ou reduzir o número de células cancerosas no organismo, ou melhoria ou alívio dos sintomas da doença provocada pelo cancro. O tratamento é considerado terapêutico se existir um decréscimo na mortalidade e/ou morbidade, ou um decréscimo no manifesto peso da doença pelo número reduzido de células malignas no organismo.

As expressões "prevenir o cancro" e "prevenção do cancro" aqui utilizadas significam a prevenção da ocorrência ou recorrência do estado da doença do cancro. Como tal, um tratamento que impede, inibe ou interfere com metástases, crescimento do tumor ou proliferação do cancro possui uma actividade preventiva.

A expressão "oligómero anti-sentido" aqui utilizada significa um oligonucleótido anti-sentido, um análogo ou derivado do mesmo, e refere-se à gama de espécies químicas que reconhecem sequências alvo de polinucleótidos através de interações de ligações de hidrogénio Watson e Crick com as bases nucleótidas das sequências alvo. As sequências alvo podem ser ARN ou ADN, e podem ser monocatenárias ou

bicatenárias. As moléculas alvo incluem, mas não se limitam a, pré-mARN, mARN e ADN.

A expressão "expressão do gene bcl-2" aqui utilizada refere-se à transcrição do gene bcl-2 que produz bcl-pré-mARN, bcl-2 mARN e/ou proteína bcl-2.

O termo "derivado" aqui utilizado refere-se a qualquer homólogo, análogo ou fragmento farmacologicamente aceite correspondente à composição farmacêutica da invenção.

A expressão "terapêutica" ou "agentes terapêuticos" aqui utilizada refere-se a quaisquer moléculas, compostos ou tratamentos que auxiliam no tratamento da doença. Como tal, uma terapêutica do cancro é uma molécula, composto ou protocolo de tratamento que auxilia no tratamento de tumores ou cancros. O protocolo de tratamento inclui, mas não só, radioterapia, terapia dietética, fisioterapia e psicoterapia.

A expressão "químio-agente" ou "agente anticancro" ou "terapêutica do cancro" aqui utilizada refere-se a qualquer molécula, composto ou tratamento que auxilia no tratamento de tumores ou cancro.

A expressão "dose baixa" ou "dose reduzida" aqui utilizada refere-se a uma dose que está abaixo da gama habitualmente administrada, isto é, a dose padrão tal como sugerida pelo Physicians' Desk Reference, 54^a edição (2000), ou referência idêntica. Esta dose pode ser suficiente para inibir a proliferação celular, ou demonstrar efeitos melhorados num ser humano, ou demonstrar eficácia com poucos efeitos secundários, quando comparada com tratamentos padrão do cancro. As gamas de doses normais utilizadas para agentes de terapêutica específica e tratamentos de cancro padrão aplicados para doenças específicas podem ser encontradas no Physicians' Desk Reference, 54^a edição (2000), ou em Cancro: Princípios e Prática da Oncologia, DeVita, Jr., Hellman, e Rosenberg

(eds.) 2ª edição, Filadélfia, PA: J.B. Lippincott Co., 1985.

A expressão "toxicidade reduzida" aqui utilizada refere-se aos efeitos secundários e toxicidades reduzidos observados relativamente à administração de oligonucleótidos anti-sentido, e terapêutica do cancro por um período de tempo mais curto e/ou em doses mais baixas, quando comparadas com outros protocolos de tratamento e fórmulas de dosagem, incluindo os protocolos de tratamento padrão e fórmulas de dosagem tal como descrito no Physicians' Desk Reference, 54ª edição (2000), ou em Cancro: Princípios e Prática da Oncologia, DeVita, Jr., Hellman, e Rosenberg (eds.) 2ª edição, Filadélfia, PA: J.B. Lippincott Co., 1985.

A expressão "ciclo de tratamento" ou "ciclo" aqui utilizada refere-se a um período de tempo durante o qual é administrada uma simples terapêutica ou sequência de terapêuticas. Numa concretização que engloba a utilização de uma dose elevada de oligómeros anti-sentido bcl-2, juntamente com uma dose padrão de uma terapêutica do cancro, o período de tempo preferido para um ciclo de tratamento é inferior a 14 dias. Esta invenção contempla, pelo menos, um ciclo de tratamento, regra geral, de preferência mais do que um ciclo. Nalgumas situações, poderá ser desejável um ciclo de tratamento, como por exemplo, no caso em que é obtido um efeito terapêutico significativo após um ciclo de tratamento.

A expressão "veículo farmacologicamente aceite" aqui utilizada refere-se a um veículo de transporte que não interfira com a eficácia da actividade biológica do ingrediente activo. O dito veículo de transporte é essencialmente quimicamente inerte e não-tóxico.

A expressão "farmacologicamente aceite" aqui utilizada significa aprovado pela agência de regulação do Governo federal ou um governo estatal, ou constante na

Pharmacopeia dos EUA, ou outra farmacopeia geralmente reconhecida para utilização em animais, e especialmente para utilização em seres humanos.

O termo "veículo" aqui utilizado refere-se a um diluente, adjuvante, excipiente ou veículo com o qual a terapêutica é administrada. Estes veículos podem ser líquidos estéreis, tais como soluções salinas na água, ou óleos, incluindo os de petróleo, de origem animal, vegetal ou sintética, tais como óleo de amendoim, óleo de soja, óleo mineral, óleo de sésamo ou idêntico. Quando a composição farmacêutica é administrada por via intravenosa o veículo preferido é uma solução salina. As soluções salinas e dextrose aquosa e soluções glicéricas podem também ser utilizadas como veículos líquidos, em especial para soluções injectáveis. Os excipientes farmacológicos adequados incluem goma, glicose, lactose, sacarina, gelatina, malte, arroz, farinha, giz, gel de sílica, estearato de sódio, monoestearato de glicerina, talco, cloreto de sódio, leite em pó, glicerina, propileno, glicol, água, etanol e outros idênticos. Se desejado, o veículo pode também conter pequenas quantidades de agentes de humedecimento ou emulsionantes, ou agentes tampão de pH. Estas substâncias podem também ser sob a forma de soluções, suspensões, emulsões, comprimidos, pílulas, cápsulas, pós, fórmulas de libertação contínua e outros idênticos. A substância pode ser formulada como um supositório, com os tradicionais ligantes e veículos tais como os triglicéridos. Exemplos de veículos farmacológicos adequados encontram-se descritos em Remington's Pharmaceutical Sciences de E.W. Martin. Exemplos de veículos farmacológicos adequados são uma variedade de lípidos catiónicos, incluindo, mas não só, cloreto de N(1(2,3-dioleiloxi)propileno)-N, N, N-trimetiloamónia (DOTMA) e diolesilfosfotidiletanolamina (DOPE). Os lipossomas são também veículos adequados para os oligómeros

anti-sentido da invenção. Tais substâncias devem conter uma quantidade terapêuticamente eficaz do composto, juntamente com uma quantidade adequada do veículo de modo a proporcionar a forma para uma administração adequada ao paciente. A formulação deverá ser adequada ao modo de administração.

A expressão "sais farmacologicamente aceites" aqui utilizada refere-se aos sais preparados a partir de ácidos e bases farmacologicamente aceites, essencialmente não tóxicos, incluindo ácidos e bases inorgânicos e orgânicos. Os sais farmacologicamente aceites incluem os formados com grupos amina livres, tais como os derivados dos ácidos clorídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, etc., e os formados com grupos de carboxilo livres, tais como os derivados do sódio, potássio, amónia, cálcio, hidróxidos férricos, isopropilamina, trietilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína, etc.

4. BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Figura 1: Desregulação de Bcl-2 após 5 dias de tratamento com oligómeros anti-sentido Bcl-2 em biopsias ao melanoma do paciente #12.

Figura 2: Coloração de biopsias TUNEL tumorais do paciente #12 (perna direita) antes do tratamento (a), após o tratamento com oligómeros anti-sentido Bcl-2 (b) e após o tratamento com oligómeros anti-sentido Bcl-2 e DTIC.

Figura 3: Metástases da pele (a) e tomografia da região pélvica (b) do paciente #12 antes e depois de três ciclos de tratamento com oligómeros anti-sentido Bcl-2 e DTIC com 6,5 mg/kg/dia.

5. DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Esta invenção fornece substâncias e medicamentos com oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 para a prevenção ou tratamento do cancro, em especial o cancro. A invenção fornece também composições farmacêuticas com oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17, assim como métodos profiláticos e terapêuticos, incluindo regimes de entrega e terapêutica de medicamentos.

A invenção tem como base, em parte, a descoberta de que os ciclos de tratamento dos oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17, individual ou juntamente com outros agentes de terapêutica, possuem efeitos que produzem melhorias inesperadamente potentes em pacientes que sofrem da doença. Este regime de tratamento curto manifesta benefícios adicionais ao sujeito humano, tais como a conveniência, a redução do trauma psicológico, e uma melhor probabilidade de cumprimento com o protocolo de tratamento. Outras descobertas incluem: (1) ciclos de tratamento curtos e doses reduzidas de agentes de terapêutica quando utilizados juntamente com oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17, (2) modos de entrega simplificados para as composições farmacêuticas com, pelo menos, um oligómero anti-sentido bcl-2 com ou sem outros agentes de terapêutica, e (3) regimes de tratamento clinicamente significativos para muitos tipos de cancro. Assim, a descoberta dos Requerentes de que o oligómero anti-sentido bcl-2, quando administrado para um ciclo de tratamento curto, pode apresentar respostas terapêuticas significativas num paciente com uma condição patológica relacionada com o bcl-2, fornece composições farmacêuticas melhoradas e úteis, métodos de tratamento e modos de entrega.

A invenção tem também como base, em parte, a descoberta de que doses elevadas de oligómeros anti-sentido

bcl-2 de SEQ ID NO:17, individual ou juntamente com outros agentes de terapêutica, possuem uma toxicidade reduzida, incluindo inesperadamente poucos efeitos secundários, quando comparado com a maioria dos tratamentos do cancro padrão, e possuem efeitos que produzem melhorias em pacientes que sofrem da doença. Um regime de tratamento que engloba uma dose elevada de oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 manifesta benefícios adicionais ao sujeito humano, tais como ciclos de tratamento mais curtos, menos tratamentos ou melhoramento da eficácia.

Numa concretização, um composto com bcl-2 de SEQ ID NO:17 é administrado a um ser humano num ciclo de tratamento curto para prevenir ou tratar o cancro. Noutra concretização, o oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado a um ser humano em doses elevadas para prevenir ou tratar o cancro. Para além de afectar o tecido doente, o oligómero anti-sentido bcl-2 pode proteger ou tratar tecidos normais, incluindo tecidos com células que habitualmente expressam o gene bcl-2. Adicionalmente, o oligómero anti-sentido bcl-2 pode proteger ou tratar tecidos normais que, apesar de não expressarem o gene bcl-2, são compostos por tecidos doentes.

Numa concretização específica, a invenção engloba ainda a utilização de uma terapia combinada para a prevenção ou o tratamento do cancro. Esta terapia inclui a utilização de uma ou mais moléculas, compostos ou tratamentos que auxiliam na prevenção ou no tratamento da doença. Exemplos das terapêuticas contempladas incluem tratamentos biológicos, químicos e terapêuticos (por exemplo, tratamento com irradiação).

Noutra concretização específica, a invenção fornece um oligómero anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 administrado a um ser humano, juntamente com um ou mais agentes de terapêutica do cancro, para a prevenção ou tratamento do cancro. Esta terapêutica do cancro inclui uma

ou mais moléculas, compostos ou tratamentos que possuem actividade anticancerígena. Exemplos das terapêuticas contempladas incluem tratamentos biológicos, químicos e terapêuticos (por exemplo, tratamento com irradiação).

Ainda outra concretização específica, a invenção fornece um oligómero anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 administrado a um ser humano juntamente com um ou mais agentes de terapêutica do cancro em doses reduzidas, para a prevenção ou tratamento do cancro. Estes tratamentos podem incluir doses elevadas, doses padrão ou doses baixas de um ou mais oligómeros anti-sentido bcl-2, cujos ciclos de tratamento podem ser de pequena ou de longa duração. Numa concretização específica, a invenção fornece uma dose especialmente elevada de oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 administrada a um ser humano, juntamente com um ou mais agentes de terapêutica do cancro em doses ainda mais reduzidas para ciclos de tratamento encurtados, para a prevenção ou tratamento do cancro.

5.1 OLIGÓMERO ANTI-SENTIDO BCL-2

A invenção contempla a utilização de uma substância com oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17, ou seus derivados, análogos, fragmentos, híbridos, miméticos e congêneres. O termo "derivado" aqui utilizado refere-se a qualquer homólogo, análogo ou fragmento farmacologicamente aceite correspondente à composição farmacêutica da invenção. Os oligómeros anti-sentido aceites para utilização na invenção incluem oligómeros nucleótidos com dimensões de 5 a 10, 10 a 20, 20 a 50, 50 a 75 ou 75 a 100 bases em comprimento, de preferência 10 a 40 bases em comprimento, ou mais preferível ainda 15 a 25 bases em comprimento, ou ainda preferencialmente de 18 bases em comprimento. As sequências-alvo podem ser de ARN ou ADN, e podem ser monocatenárias ou bicatenárias. As moléculas-alvo

incluem, mas não só, pré-mARN, mARN e ADN. Numa concretização, a molécula alvo é a mARN. Numa concretização preferida, a molécula alvo é pré-mARN bcl-2 ou mARN bcl-2. Numa concretização específica, os oligómeros anti-sentido hibridizam uma parte em qualquer local ao longo da pré-mARN bcl-2 ou mARN. Os oligómeros anti-sentido são, de preferência, seleccionados dos oligómeros que hibridizam o local de iniciação da tradução, local de excisão do dador, local de excisão do aceitante, locais de transporte ou locais para degradação do pré-mARN bcl-2 ou mARN.

Vários oligómeros anti-sentido bcl-2 foram previamente avaliados com resultados vários (Ver, por exemplo, SEQ. ID. NOS:1-17 na Patente US No.5,831,066). Exemplos de oligómeros anti-sentido bcl-2 encontram-se descritos em pormenor na Patente US No.08/217,082, actual Patente US No.5,734,033, na Patente US No. 08/465,485, actual Patente US No.5,831,066, e na Patente No.09/080,285, actual Patente US No.6,040,181.

O oligómero anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 é consideravelmente complementar a uma parte do bcl-2 pré-mARN ou mARN. O oligómero anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 hibridiza ainda uma parte do local de iniciação da tradução da cadeia codificadora do pré-mARN. Os oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 podem hibridizar uma parte da cadeia codificadora do pré-mARN, que compreende o local de iniciação da tradução do gene bcl-2 humano. Os oligómeros anti-sentido bcl-2 podem compreender uma sequência TAC complementar à sequência de iniciação AUG do pré-mARN bcl-2 ou ARN.

Os oligómeros anti-sentido bcl-2 podem hibridizar uma parte do local de excisão do dador da cadeia codificadora pré-mARN para o gene bcl-2 humano. De preferência, este nucleótido compreende uma sequência CA, complementar à sequência GT de excisão do dador do gene bcl-2, e, de preferência, compreende ainda partes

flanqueadoras de 5 a 50 bases, de preferência ainda de cerca de 10 a 20 bases, que hibridizam partes da cadeia codificadora do gene *bcl-2*, flanqueando o local de excisão do dador.

Os oligómeros anti-sentido *bcl-2* podem hibridizar uma parte do local de excisão do aceitante da cadeia codificadora pré-mARN para o gene humano *bcl-2*. De preferência, este nucleótido compreende uma sequência TC, complementar à sequência de excisão do aceitante do gene *bcl-2*, e, de preferência, compreende ainda partes flanqueadoras de 5 a 50 bases, ainda preferencialmente cerca de 10 a 20 bases, que hibridizam partes da cadeia codificadora do gene *bcl-2*, flanqueando o dito local de excisão do aceitante. Noutra concretização, o oligómero anti-sentido *bcl-2* hibridiza partes do pré-mARN ou ARN envolvido na excisão, transporte e degradação.

Qualquer um que conheça medianamente a técnica pode reconhecer que os oligómeros anti-sentido podem também ser significativamente complementares aos outros locais ao longo do pré-mARN *bcl-2* ou mARN, e podem formar híbridos. O técnico perito irá apreciar que os oligómeros anti-sentido, que hibridizam uma parte do pré-mARN *bcl-2* ou mARN, cuja sequência não ocorre com frequência nas transcrições de genes não relacionados, são mesmo assim para manter a especificidade do tratamento.

A concepção da sequência do oligómero anti-sentido *bcl-2* pode também ser determinada por ensaios e avaliação empíricos de eficácia clínica, independentemente do seu grau de sequência de homologia para, ou hibridização com, o gene *bcl-2*, pré-mARN *bcl-2*, nARN *bcl-2* ou *bcl-2* relacionados com sequências nucleótidas. O vulgar perito na técnica irá apreciar que os oligómeros anti-sentido *bcl-2* com, por exemplo, menos homologia de sequência, maior ou menor quantidade de nucleótidos modificados, ou comprimentos menores ou maiores, comparado com os da

concretização preferida, mas que, mesmo assim, apresentam respostas em tratamentos clínicos, encontram-se também no âmbito da invenção.

O oligómero anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 é o ADN, ou um seu derivado. A forma especial do oligómero anti-sentido pode afectar os parâmetros farmacocinéticos do oligómero, tais como a biodisponibilidade, o metabolismo, a semivida, etc. Como tal, a invenção contempla derivados de oligómeros anti-sentido com propriedades que melhoram a fixação celular, realçam a resistência à nuclease, melhoram a ligação à sequência alvo, ou aumentam a clivagem ou degradação da sequência alvo. Os oligómeros anti-sentido podem conter bases com, por exemplo, fosforotionatos ou metilfosfonatos. Em vez disso, os oligómeros anti-sentido podem ser oligómeros mistos com combinações de nucleótidos de fosfodiestéres, fosforotionatos e/ou metilfosfonatos, entre outros. Tais oligómeros podem possuir modificações que compreendem, mas não só, modificações de açúcar de 2-O'-alquilo ou 2-O'-halo, modificações estruturais (por exemplo, metilfosfonato, fosfoditionato, fosforotionato, formacetal, 3'-tioformacetal, sulfona, sulfamato, estrutura de nitróxido, derivados de morfolina e derivados de ácido nucleico péptido (PNA)), ou derivados em que as fracções base foram modificadas (Egholm, et al., 1992, Ácidos Nucleicos Péptidos (CPN)- (CPN) - Análogos de Oligonucleótidos com Estrutura Aquiral Péptida). Noutra concretização, os oligómeros anti-sentido compreendem conjugados dos oligonucleótidos e seus derivados (Goodchild, 1990, "Conjugados de oligonucleótidos e oligonucleótidos modificados: revisão das suas sínteses e propriedades", Bioconjug. Chem. 1(3):165-87).

Para a utilização terapêutica *in vivo*, é preferível o derivado de fosforotionato do oligómero anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17, pelo menos parcialmente devido à maior resistência à degradação. Numa concretização, o oligómero

anti-sentido bcl-2 é um oligómero híbrido com bases de fosforotionato. Noutra concretização, o oligómero anti-sentido bcl-2 contém, pelo menos, uma ligação de fosforotionato. Noutra concretização, o oligómero anti-sentido bcl-2 contém, pelo menos, três ligações de fosforotionato. Ainda noutra concretização, o oligómero anti-sentido bcl-2 contém, pelo menos, três ligações de fosforotionato consecutivas. Ainda noutra concretização, o oligómero anti-sentido bcl-2 é totalmente composto por ligações de fosforotionato. Os métodos para a preparação de derivados de oligonucleótidos são conhecidos na área. Ver, por exemplo, Stein et al., 1988, Nucl. Acids Res., 16:3209-21 (fosforotionato); Blake et al., Bioquímica 24:61, 32-38 (metilfosfonato); Morvan et al., 1986, Nucl. Acids Res. 14:5019-32 (alfadioxinucleótidos); Monia et al., 1993, "Avaliação de oligonucleótidos 2'-modificados com intervalos de dioxi 2' com inibidores anti-sentido de expressão genética", J. Biol. Chem. 268:14514-22 (2'-O-metil-ribonucleósidos); Asseline et al., 1984, Proc. Natl Acad. Sci. USA 81:3297-3301 (acridina); Knorre et al., 1985, Biochemie 67:783-9; Vlassov et al., 1986, Ácidos Nucleicos Res. 14:4065-76 (N-2-cloroacetilamina e fenazina); Webb et al., 1986, Ácidos Nucleicos Res. 14:7661-74 (5-metilo-N⁴-N⁴-etanocitosina); Boutorin et al., 1984, FEBS Letters 172:43-6 (Fe-ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA) e análogos); Chi-Hong et al., 1986, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:7147-51 (5-glicilamido-1, 10-o-fenantrolina); e Chu et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:963-7 (derivados do ácido dietilenotriamino pentacético (DTPA)).

A dose eficaz de oligómeros anti-sentido bcl-2 a ser administrada durante o ciclo de tratamento abrange de 0,01 a 0,1, 0,1 a 1, ou 1 a 10 mg/kg/dia. A dose de oligómeros anti-sentido bcl-2 a ser administrada pode depender do modo de administração. Por exemplo, a

administração por via intravenosa de oligómeros anti-sentido bcl-2 poderá ter um resultado provável com uma dose corporal total significativamente maior do que com uma dose corporal total resultante de implantação local com uma composição farmacêutica com oligómeros anti-sentido bcl-2. Numa concretização, o oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado subcutaneamente com uma dose de 0,01 a 10 mg/kg/dia, de preferência com uma dose de 4 a 9 mg/kg/dia, e ainda de preferência com uma dose de 5 a 7 mg/kg/dia. Noutra concretização, um oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado por via intravenosa com uma dose de 0,1 a 10 mg/kg/dia, de preferência com uma dose de 4 a 9 mg/kg/dia, ou ainda preferencialmente com uma dose de 5 a 7 mg/kg/dia. Ainda noutra concretização, um oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado localmente com uma dose de 0,01 a 10 mg/kg/dia, de preferência com uma dose de 0,01 a 0,1, ou ainda preferencialmente com uma dose de 1 a 5 mg/kg/dia. Será evidente para os entendidos na área de que as administrações locais podem resultar em baixas doses corporais totais. Por exemplo, os métodos de administração local, tais como a administração intratumoral, injeção intraocular, ou implantação, podem produzir elevadas concentrações locais de oligómeros anti-sentido bcl-2, mas representam uma dose relativamente baixa no que diz respeito ao peso total do corpo. Assim, nestes casos, a administração local de um oligómero anti-sentido bcl-2 é planeada para resultar numa dose corporal total de cerca de 0,01 a 5 mg/kg/dia.

Noutra concretização, é administrada uma dose especialmente elevada de oligómeros anti-sentido bcl-2, de cerca de 10 a 20, 20 a 30, ou 30 a 50 mg/kg/dia, durante o ciclo de tratamento.

Além disso, a dose eficaz de um oligómero anti-sentido bcl-2 em especial pode depender de factores adicionais, incluindo o tipo de cancro, o estado ou fase da

doença, a toxicidade do oligómero, a fixação do oligómero pelas células cancerosas, tais como o peso, idade e saúde do indivíduo ao qual o oligómero vai ser administrado. Devido aos muitos factores presentes *in vivo* que podem interferir com a acção ou actividade biológica do oligómero anti-sentido bcl-2, aqueles que são peritos na área podem apreciar que a quantidade eficaz de um oligómero anti-sentido bcl-2 pode ser diferente para cada indivíduo.

Noutra concretização, um oligómero anti-sentido bcl-2 apresenta-se numa dose que resulta em concentrações plasmáticas em circulação do oligómero anti-sentido bcl-2 que é de, pelo menos, 30 nM (nanomolar). Tal como irá ser evidente para os conhecedores da técnica, podem ser preferíveis elevadas concentrações plasmáticas do oligómero anti-sentido bcl-2, dependendo do modo de administração. Por exemplo, concentrações plasmáticas do oligómero anti-sentido bcl-2 de, pelo menos, 30 nM podem ser adequadas relativamente aos métodos de administração por via intravenosa, subcutânea, intramuscular, de libertação controlada e oral, só para mencionar algumas. Noutro exemplo, poderão ser, contudo, desejáveis níveis plasmáticos em circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 relativamente baixos ao serem utilizados métodos de administração local como, por exemplo, administração intratumoral, administração intraocular ou de implantação, que, não obstante, podem produzir concentrações localmente elevadas e clinicamente eficazes de oligómero anti-sentido bcl-2.

Ainda noutra concretização, a concentração plasmática em circulação de, pelo menos, 30 nM (nanomolar) de oligómeros anti-sentido bcl-2 é obtida cerca de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 horas após a administração de oligómeros anti-sentido bcl-2. Ainda noutra concretização, a concentração plasmática em circulação de, pelo menos, 30 nM de oligómeros anti-sentido bcl-2 é obtida em cerca de 36

a 48 horas, de preferência 24 a 35 horas, ou ainda de preferência de 12 a 24 horas, ou ainda preferencialmente até às 12 horas.

Numa concretização específica, a dose de oligómeros anti-sentido bcl-2 é uma dose elevada. Numa concretização, a concentração plasmática em circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 é de, pelo menos, 30 nM. Noutra concretização, o nível de circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 é de 1 μM a 10 μM . Ainda noutra concretização, o nível de circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 é de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 μM . Ainda numa outra concretização, o nível de circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 de 1 μM a 10 μM é obtido em cerca de 36 a 48 horas, de preferência de 24 a 35 horas, ainda preferencialmente de 12 a 24 horas. O preferível será inferior às 12 horas.

A dose elevada pode ser obtida por várias administrações por ciclo. Em alternativa, a dose elevada pode ser administrada numa única administração do bolo. Uma única administração de uma dose elevada pode resultar em níveis plasmáticos em circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 transitoriamente mais elevados do que 30 nM. Além disso, as administrações únicas de doses especialmente elevadas de oligómeros anti-sentido bcl-2 podem resultar numa concentração plasmática em circulação de oligómeros anti-sentido bcl-2 de 1 μM a 10 μM em muito menos de 12 horas, até mesmo em menos de uma hora.

Adicionalmente, a dose de um oligómero anti-sentido bcl-2 pode variar de acordo com o oligómero anti-sentido bcl-2 em especial utilizado. É provável que a dose aplicada exprima um equilíbrio de considerações, dentre as quais está a estabilidade, localização, fixação celular e toxicidade do oligómero anti-sentido bcl-2 em especial. Por exemplo, um oligómero anti-sentido bcl-2 em especial quimicamente modificado pode apresentar maior resistência à

degradação, ou pode apresentar elevada afinidade para com o ácido nucleico alvo, ou pode apresentar um aumento na fixação da célula ou núcleo celular, tudo isto podendo permitir a utilização de doses baixas. Ainda noutro exemplo, um oligómero anti-sentido bcl-2 em especial quimicamente modificado pode apresentar toxicidade inferior a outros oligómeros anti-sentido e, desse modo, pode ser utilizado em doses elevadas. Assim, para um oligómero anti-sentido bcl-2 em especial, uma dose adequada a administrar pode ser relativamente elevada ou relativamente baixa. As doses adequadas serão avaliadas pelos peritos na técnica, e a invenção contempla a avaliação contínua dos momentos ideais para tratamento para certas espécies de oligómeros anti-sentido bcl-2. A dose diária pode ser administrada num ou mais tratamentos.

Outros factores a ter em consideração para determinar uma dose eficaz de oligómeros anti-sentido bcl-2 incluem se o oligómero será administrado juntamente com outras terapêuticas. Nestes casos, a toxicidade relativa da outra terapêutica pode indicar a utilização de um oligómero anti-sentido bcl-2 em doses baixas. Em alternativa, o tratamento com uma dose elevada de oligómero anti-sentido bcl-2 pode resultar numa combinação de terapias com doses reduzidas de terapêuticas. Numa concretização específica, o tratamento com uma dose especialmente elevada de oligómeros anti-sentido bcl-2 pode resultar em terapias combinadas com doses muito reduzidas de terapêutica do cancro. Por exemplo, o tratamento de um paciente com 10, 20, 30, 40 ou 50 mg/kg/dia de um oligómero anti-sentido bcl-2 pode aumentar mais a sensibilidade de um sujeito à terapêutica do cancro. Nestes casos, a dose especialmente elevada de oligómeros anti-sentido bcl-2 é combinada com, por exemplo, um plano muito curto de radioterapia. Noutro exemplo, uma dose especialmente elevada de um oligómero anti-sentido

bcl-2 produz um aumento significativo da força dos agentes de terapêutica do cancro.

Adicionalmente, as doses especialmente elevadas de oligómeros anti-sentido bcl-2 podem encurtar ainda mais o período de administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de oligómeros anti-sentido bcl-2 e/ou da terapêutica do cancro, de modo tal que a duração de um ciclo de tratamento é muito mais inferior do que 14 dias.

Noutra concretização, um oligómero anti-sentido bcl-2 de fosforotionato de 18 bases da sequência 5'-TCTCCCAGCGTGCGCCAT-3', complementar aos primeiros códãos do mRNA bcl-2 e que hibridiza as respectivas bases ARN-alvo, é administrado durante um curto ciclo de tratamento, definido como inferior a duas semanas.

O G3139 é administrado numa dose de 3 a 4, ou 9 a 10 mg/kg/dia, de preferência numa dose de 4 a 9 mg/kg/dia, e ainda preferencialmente numa dose de 5 a 7 mg/kg/dia para de 3 a 9 dias. Ainda noutra concretização, o G3139 é administrado na dita dose para de 4 a 7 dias. Numa concretização preferida, o G3139 é administrado na dita dose para de 5 a 6 dias. Numa concretização ainda mais preferida, o G3139 é administrado numa dose de 5 a 7 mg/kg/dia para de 5 a 6 dias. A invenção contempla outros regimes de tratamento preferidos, dependendo do oligómero anti-sentido bcl-2 em especial a utilizar, ou dependendo do modo de administração em especial, ou ainda dependendo se o oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado como parte de uma terapia combinada, por exemplo, em associação com o agente de terapia do cancro. A dose diária pode ser administrada num ou mais tratamentos.

Noutra concretização, o G3139 é administrado numa dose especialmente elevada de cerca de 10 a 50 mg/kg/dia. Numa concretização específica, o G3139 é administrado numa dose especialmente elevada de cerca de 10 a 15, 16 a 20, 21 a 25, 26 a 30, 31 a 35, 36 a 40, 41 a 45,

ou 46 a 50 mg/kg/dia. Noutra concretização, o G3139 é administrado na dita dose para de 3 a 4 dias. A invenção contempla outros regimes de tratamento preferidos dependendo do oligómero anti-sentido bcl-2 em especial a ser utilizado, ou dependendo do modo de administração em especial, ou ainda dependendo se o oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado como parte de uma terapia combinada, por exemplo, em combinação com o agente de terapia do cancro. A dose diária pode ser administrada num ou mais tratamentos.

5.2 TERAPÊUTICA DO CANCRO

A invenção aqui descrita engloba substâncias/medicamentos para a prevenção ou tratamento do cancro compostos por uma quantidade terapêuticamente eficaz do oligómero anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17, incluindo, mas não só, doses elevadas do oligómero, num ser humano que necessite dessa terapia. A invenção engloba ainda a utilização de um período curto de administração de um oligómero anti-sentido bcl-2. As células normais, não cancerosas, dividem-se a uma frequência característica para um tipo de célula em especial. Quando uma célula foi transformada num estado canceroso, o resultado é a proliferação celular descontrolada e a redução da morte de células e, desse modo, a divisão ou crescimento celular promiscuo é um indicador de um tipo de célula cancerosa. Exemplos de tipos de cancros incluem, mas não só, linfoma não-Hodgkin, doença de Hodgkin, leucemia (por ex.: leucemia aguda como a leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloblástica aguda, leucemia mieloblástica crónica, leucemia linfocítica crónica, mieloma múltiplo), cancro do cólon, cancro rectal, cancro do pâncreas, cancro da mama, cancro do ovário, cancro da próstata, carcinoma das células renais, hepatoma, carcinoma dos canais biliares,

coriocarcinoma, cancro do colo do útero, cancro testicular, cancro do pulmão, cancro da bexiga, melanoma, cancro da cabeça e do pescoço, cancro cerebral, cancros em locais principais desconhecidos, neoplasmas, cancros do sistema nervoso periférico, cancros do sistema nervoso central, tumores (por ex.:, fibrossarcoma, mixossarcoma, lipossarcoma, condrossarcoma, osteossarcoma, cordoma, angiossarcoma, endotheliosarcoma, lymphangiosarcoma, lumphangioendotheliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, família de tumores de Ewing, leiomyosarcoma, rhabdomyosarcoma, carcinoma espinocelular, carcinoma basocelular, adenocarcinoma, carcinoma da glândula sudorípara, carcinoma das glândulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, seminoma, carcinoma embrionário, tumor de Wilm, carcinoma das pequenas células do pulmão, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craniofanringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, neuroblastoma e retinoblastoma), doença da cadeia pesada, metástases ou qualquer doença ou condição patológica caracterizada por crescimento anormal ou descontrolado das células.

Numa concretização preferida, a invenção engloba ainda a utilização de terapia combinada para a prevenção ou tratamento do cancro. Por exemplo, o cancro da próstata pode ser tratado com uma composição farmacêutica composta por um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com paclitaxel, docetaxel, mitoxautrona e/ou receptor antagonista andrógeno (por ex.: flutamida). Como outro exemplo, o cancro da mama pode ser tratado com uma composição farmacêutica composta por um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com docetaxel, paclitaxel, cisplatinum, 5-fluorouracilo, doxorubicina e/ou VP-16 (etoposido). Como outro exemplo, a leucemia pode ser

tratada com uma composição farmacêutica composta por um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com fludarabina, citosina arabinósida, gentuzumabo (MYLOTARG), daunorubicina, metrotexato, vincristina, 6-mercaptopurina, idarubicina, mitoxantrona, etoposido, asparaginase, prednisona e/ou ciclofosfamida. Como outro exemplo, o mieloma pode ser tratado com uma composição farmacêutica composta por um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com dexametasona. Como outro exemplo, o melanoma pode ser tratado com uma composição farmacêutica composta por um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com dacarbazina. Como outro exemplo, o cancro colorrectal pode ser tratado com uma composição farmacêutica composta por um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com irinotecano. Como outro exemplo, o cancro do pulmão pode ser tratado com uma composição farmacêutica composta por um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com paclitaxel, docetaxel, etoposido e/ou cisplatinum. Como outro exemplo, o linfoma não-Hodgkin pode ser tratado com uma composição farmacêutica composta por um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com ciclofosfamida, CHOP, etoposido, bleomicina, mitoxantrona e/ou cisplatinum. Como outro exemplo, o cancro do estômago pode ser tratado com uma composição farmacêutica composta por um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com cisplatinum. Como outro exemplo, o cancro do pâncreas pode ser tratado com uma composição farmacêutica composta por um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com gemcitabina. Estas terapias combinadas podem também ser utilizadas para a prevenção do cancro ou cancro recorrente.

As terapias combinadas incluem também, para além da administração de um oligómero anti-sentido bcl-2, a utilização de uma ou mais moléculas, substâncias ou tratamentos que auxiliam na prevenção ou tratamento do cancro, cujas moléculas, substâncias ou tratamentos incluem, mas não só, quimio-agentes, imunoterapias, vacinas

para o cancro, agentes anti-angiogénicos, citocinas, terapias hormonais, terapias genéticas e radioterapias.

Numa concretização, um ou mais quimio-agentes, para além de um oligómero anti-sentido bcl-2, é administrado para o tratamento de pacientes com cancro. Exemplos de quimio-agentes contemplados por esta invenção incluem, mas não só, citosina arabinósida, taxoides (por ex.: paclitaxel, docetaxel), agentes anti-tubulina (por ex.: paclitaxel, docetaxel, Epothilone B ou análogo), cisplatinum, carboplatina, adriamicina, tenoposido, mitozantrona, 2-clorodeoxiadenosina, agentes alquilantes (por ex.: ciclofosfamida, mecloroetamina, tioepa, clorambucil, melfalan, carmustina (BSNU), lomustina (CCNU), ciclotosfamida, busulfano, dibromomanitol, estreptozotocina, mitocina C, e cis-diclorodiamina platinum (II) (DDP) cisplatinum, tio-tepa), antibióticos (por ex.: dactinomicina (antigo actinomicina), bleomicina, mitramicina, antramicina), antimetabolitos (por ex.: metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracilo, fludarabina, gemcitabina, dacarbazina, temozolamida), asparaginase, *Bacillus Calmette e Guerin*, toxina da difteria, hexametilmelamina, hidroxiureia, LYSODREN®, análogos do nucleosídeo, alcalóides de plantas (por ex.: Taxol, paclitaxel, camptotecina, topotecano, irinotecano (CAMPTOSAR, CPT-11), vincristina, alcalóides de vinca tais como vinblastina), podofilotoxina (incluindo derivados tais como epipodofilotoxina, VP-16 (etoposido), VM-26 (teniposide)), citocalasina B, graminicida D, brometo de etidio, emetina, mitomicina, procarbazona, mecloroetamina, antraciclina (por ex.: daunorubicina (anterior daunomicina), doxorubicina lipossomal), dihidroxiantracindiona, mitozantrona, mitramicina, actinomicina D, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol, puromicina, agentes antimetabólicos, abrina, ricina A, exotocina pseudomonas, factor de crescimento do

nervo, factor de crescimento derivado das plaquetas, activador tecidual do plasminogénio, aldesleuquino, alutamina, anastrozole, bicalutamina, biaomicina, busulfano, capecitabina, carboplatino, clorobusilo, cladribina, cilarabina, daclínomicina, estramúsina, floxuridina, gamcitabina, gosereína, idarubicina, itosfamida, acetato de lauprolida, levamisol, lomuslina, mecloroetamina, magestrol, acetato, mercaptopurina, mesna, mitolanco, pegaspergase, picamicina, riuxnab, campato-1, estraplozocina, tioguanina, tretinoína, vinorelbina ou quaisquer fragmentos, da família, ou respectivos derivados, incluindo respectivos sais farmacologicamente aceites. As substâncias que compreendem um ou mais quimio-agentes (por ex.: FLAG, CHOP) são também contemplados por esta invenção. O FLAG é composto por fludarabina, citarabina (Ara-C) e G-CSF. O CHOP é composto por ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina e prednisona.

Numa concretização, o dito quimio-agente é a dacarbazina numa dose de 200 a 4000 mg/m²/ciclo. Numa concretização preferida, as ditas doses vão de 700 a 1000 mg/m²/ciclo. Noutra concretização, o dito quimio-agente é a fludarabina numa dose de 25 a 50 mg/m²/ciclo. Noutra concretização, o dito quimio-agente é a citosina arabinósida (Ara-C) numa dose de 200 a 2000 mg/m²/ciclo. Noutra concretização, o dito quimio-agente é o docetaxel numa dose de 1,5 a 7,5 mg/kg/ciclo. Noutra concretização, o dito quimio-agente é o paclitaxel numa dose de 5 a 15 mg/kg/ciclo. Ainda noutra concretização, o dito quimio-agente é a cisplatina numa dose de 5 a 20 mg/kg/ciclo. Ainda noutra concretização, o dito quimio-agente é o 5-fluorouracilo numa dose de 5 a 20 mg/kg/ciclo. Ainda noutra concretização, o dito quimio-agente é a doxorubicina numa dose de 2 a 8 mg/kg/ciclo. Ainda noutra concretização, o dito quimio-agente é o epipodofilotoxina numa dose de 40 a 160 mg/kg/ciclo. Ainda noutra concretização, o dito quimio-

agente é a ciclofosfamida numa dose de 50 a 200 mg/kg/ciclo. Ainda noutra concretização, o dito quimio-agente é o irinotecano numa dose de 50 a 75, 75 a 100, 100 a 125, ou 125 a 150 mg/m²/ciclo. Ainda noutra concretização, o dito quimio-agente é a vinblastina numa dose de 3,7 a 5,4, 5,5 a 7,4, 7,5 a 11, ou 11 a 18,5 mg/m²/ciclo. Ainda noutra concretização, o dito quimio-agente é a vincristina numa dose de 0,7 a 1,4, ou 1,5 a 2 mg/m²/ciclo. Ainda noutra concretização, o dito quimio-agente é o metotrexato numa dose de 3,3 a 5, 5 a 10, 10 a 100, ou 100 a 1000 mg/m²/ciclo.

Numa concretização preferida, a invenção engloba ainda a utilização de doses baixas de quimio-agentes quando administrados como parte de um regime de oligómeros anti-sentido bcl-2. Por exemplo, o tratamento inicial com oligómeros anti-sentido bcl-2 aumenta a sensibilidade de um tumor para posteriormente provocar com uma dose de quimio-agente, cuja dose está próxima ou abaixo da gama inferior de dosagens quando o quimio-agente é administrado sem oligómeros anti-sentido bcl-2. Numa concretização, são administrados um oligómero anti-sentido bcl-2 e uma dose baixa (por ex.: 6 a 60 mg/m²/dia ou menos) de docetaxel a um paciente com cancro. Noutra concretização, são administrados um oligómero anti-sentido bcl-2 e uma dose baixa (por ex.: 10 a 135 mg/m²/dia ou menos) de paclitaxel a um paciente com cancro. Ainda noutra concretização, são administrados oligómeros anti-sentido bcl-2 e uma dose baixa (por ex.: 2,5 a 25 mg/m²/dia ou menos) de fludarabina a um paciente com cancro. Ainda noutra concretização, são administrados oligómeros anti-sentido bcl-2 e uma dose baixa (por ex.: 0,5 a 1,5 mg/m²/dia ou menos) de citosina a um paciente com cancro.

A invenção contempla, deste modo, a utilização de um ou mais oligómeros anti-sentido bcl-2, administrados antes de, subsequentemente ou simultaneamente com doses

baixas de quimio-agentes, para a prevenção ou tratamento do cancro.

Numa concretização, o dito quimio-agente é a cisplatinum, por ex.:, PLATINOL ou PLATINOL-AQ (Bristol Myers), numa dose de 5 a 10, 10 a 20, 20 a 40 ou 40 a 75 mg/m²/ciclo. Noutra concretização, é administrada uma dose de cisplatinum de 5 a 10, 10 a 20, 20 a 40 ou 40 a 75 mg/m²/ciclo, a um paciente com cancro do ovário. Noutra concretização, é administrada uma dose de cisplatinum de 5 a 50 mg/m²/ciclo, a um paciente com cancro da bexiga.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é a carboplatina, por ex.:, PARAPLATIN (Bristol Myers), numa dose de 2 a 4, 4 a 8, 8 a 16, 16 a 35 ou 35 a 75 mg/m²/ciclo. Noutra concretização, é administrada uma dose de carboplatina de 7,5 a 75 mg/m²/ciclo a um paciente com cancro do ovário. Noutra concretização, é administrada uma dose de carboplatina de 5 a 50 mg/m²/ciclo a um paciente com cancro da bexiga. Noutra concretização, é administrada uma dose de carboplatina de 2 a 20 mg/m²/ciclo a um paciente com cancro testicular.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é a ciclofosfamida, por ex.: CYTOXAN (Bristol Myers Squibb), numa dose de 0,25 a 0,5, 0,5 a 1, 1 a 2, 2 a 5, 5 a 10, 10 a 20, 20 a 40, mg/kg/ciclo. Noutra concretização, é administrada uma dose de ciclofosfamida de 4 a 40 mg/kg/ciclo a um paciente com cancro maligno. Noutra concretização, é administrada uma dose de ciclofosfamida de 0,25 a 2,5 mg/kg/ciclo a um paciente com cancro não-maligno.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é a citarabina, por ex.:, CYTOSAR-U (Pharmacia & Upjohn), numa dose de 0,5 a 1, 1 a 4, 4 a 10, 10 a 25, 25 a 50 ou 50 a 100 mg/m²/ciclo. Noutra concretização, é administrada uma dose de citarabina de 10 a 100 mg/m²/ciclo a um paciente com leucemia aguda. Noutra concretização, é administrada

uma dose de citarabina de 0,5 a 5 mg/m²/ciclo a um paciente com leucemia meníngea. Noutra concretização, é administrada uma dose de lipossoma citarabina, por ex.:, DEPOCYT (Chiron Corp.) de 5 a 50 mg/m²/ciclo a um paciente com cancro.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é a dacarbazina, por ex.:, DTIC ou DTIC-DOME (Bayer Corp.), numa dose de 15 a 250 mg/m²/ciclo ou de 0,2 a 2 mg/kg/ciclo. Noutra concretização, é administrada uma dose de dacarbazina de 15 a 150 mg/m²/ciclo a um paciente com doença de Hodgkin. Noutra concretização, é administrada uma dose de dacarbazina de 0,2 a 2 mg/kg/ciclo a um paciente com melanossarcoma.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é o topotecano, por ex.:, HYCAMTIN (SmithKline Beecham), numa dose de 0,1 a 0,2, 0,2 a 0,4, 0,4 a 0,8, ou 0,8 a 1,5 mg/m²/ciclo.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é o irinotecano, por ex.:, CAMPTOSAR (Pharmacia & Upjohn), numa dose de 5 a 10, 10 a 25, ou 25 a 50 mg/m²/ciclo.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é a fludarabina, por ex.:, FLUDARA (Berlex Laboratories), numa dose de 2,5 a 5, 5 a 10, 10 a 15, ou 15 a 25 mg/m²/ciclo.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é a citosina arabinósida (Ara-C) numa dose de 200 a 2000 mg/m²/ciclo.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é o docetaxel, por ex.:, TAXOTERE (Rhone Poulenc Rorer), numa dose de 6 a 10, 10 a 30, ou 30 a 60 mg/m²/ciclo.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é o paclitaxel, por ex.:, TAXOL (Bristol Myers Squibb), numa dose de 10 a 20, 20 a 40, 40 a 70, ou 70 a 135 mg/kg/ciclo.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é o 5-fluorouracilo numa dose de 0,5 a 5 mg/kg/ciclo.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é a doxorubicina, por ex.:, ADRIAMICINA (Pharmacia & Upjohn),

DOXIL (Alza), RUBEX (Bristol Myers Squibb), numa dose de 2 a 4, 4 a 8, 8 a 15, 15 a 30, ou 30 a 60 mg/kg/ciclo.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é o etoposido, por ex.:, VEPESID (Pharmacia & Upjohn), numa dose de 3,5 a 7, 7 a 15, 15 a 25, ou 25 a 50 mg/m²/ciclo. Noutra concretização, é administrada uma dose de etoposido de 5 a 50 mg/m²/ciclo a um paciente com cancro testicular. Noutra concretização, é administrada uma dose de etoposido de 3,5 a 35 mg/m²/ciclo a um paciente com cancro das pequenas células do pulmão.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é a vinblastina, por ex.:, VELBAN (Eli Lilly), numa dose de 0,3 a 0,5, 0,5 a 1, 1 a 2, 2 a 3, ou 3 a 7 mg/m²/ciclo.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é a vincristina, por ex.:, ONCOVIN (Eli Lilly), numa dose de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 ou 0,7 mg/m²/ciclo.

Noutra concretização, o dito quimio-agente é o metotrexato numa dose de 0,2 a 0,9, 1 a 5, 5 a 10, 10 a 20.

Noutra concretização, é administrado um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com um ou mais agentes de imunoterapia, tais como anticorpos e imunomoduladores, incluindo, mas não só, rituxan, rituximab, campato-1, gemtuzumab ou trastuzumab.

Noutra concretização, é administrado um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com um ou mais agentes antiangiogénicos, incluindo, mas não só, angiostatina, talidomida, kringle 5, endoestatina, Serpin (Inibidor da Protease da Serina) antitrombina, 29 kDa N-terminal e um fragmento proteolítico 40 kDa C-terminal da fibronectina, fragmento proteolítico 16 kDa da prolactina, fragmento proteolítico 7,8 kDa do factor 4 das plaquetas, um 13-aminoácido péptido correspondente a um fragmento do factor 4 das plaquetas (Maione et al., 1990, Cancer Res. 51:2077-2083), um aminoácido 14 péptido correspondente a um fragmento de colagénio I (Tolma et al., J. Cell Biol. 122:497-511), um

aminoácido 19 péptido correspondente a um fragmento de Trombospondina I (Tolma et al., 1993, J. Cell Biol. 122:497-511), um aminoácido 20 péptido correspondente a um fragmento de SPARC (Sage et al., 1995, J. Cell Biochem. 57:1329-1334), ou quaisquer fragmentos, da família, ou seus derivados, incluindo respectivos sais farmacologicamente aceites.

Outros péptidos que inibem a angiogénese e correspondem a fragmentos de laminina, fibronectina, procolagénio e EGF têm sido também descritos (ver Cão, 1998, Prog. Mol. Subcell. Biol.20:161-176). Tem sido demonstrado que os anticorpos monoclonais e pentapéptidos cíclicos, que bloqueiam certos integrinos que ligam as proteínas RGD (isto é, possuem o motivo péptido Arg-Gly-Asp), possuem actividades de anti-vascularização (Brooks et al., 1994, Science 264:569-571; Hammes et al., 1996, Nature Medicine 2:529-533). Também, a inibição do activador receptor plasminogénico da uroquinase por antagonistas receptores inibem a angiogénese, o crescimento e metástases de tumores (Min et al., 1996, Cancer Res. 56:2428-33; Crowley et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5021-25). A utilização destes agentes antiangiogénicos é também contemplada por esta invenção.

Noutra concretização, é administrado um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com um regime de radiação.

Noutra concretização, é administrado um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com uma ou mais citocinas, incluindo, mas não só, linfocinas, factores de necrose tumoral, factor de necrose tumoral parecido às citocinas, linfotoxina- α , linfotoxina- β , α -interferão, β -interferão, proteínas inflamatórias dos macrófagos, factor de estimulação de colónias de granulócitos e monocitos, interleucinas (incluindo, mas não só, interleucina-1, interleucina-2, interleucina-6, interleucina-12, interleucina-15, interleucina-18), ligandos OX40, CD27,

CD30, CD40 ou CD 137, Ligando Fas-Fas, 4-1 BBL, proteína de activação do monocito endotelial ou quaisquer fragmentos, de família, ou seus derivados, incluindo respectivos sais farmacologicamente aceites.

Ainda noutra concretização, é administrado um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com uma vacina contra o cancro. Exemplos de vacinas contra o cancro incluem, mas não só, células ou tecidos autólogas, antigénios carcinoembriónicos, alfa-fetoproteína, gonadotrofina coriónica humana, vacina com organismo vivos BCG, proteínas citogenéticas do melanócito (por ex.:, gp100, MART-1/MelanA, TRP-1 (gp75), tirosinase, antígenos específicos de tumores grandemente partilhados (por ex.:, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, MAGE-1, MAGE-3, N-acetilglucosaminiltransferase-V, p15), antígenos mutados específicos do tumor (β -catenina, MUM-1, CDK4), antígeno não-melanoma (por ex.:, HER-2/neu (carcinoma da mama e do ovário), vírus do papiloma humano-E6, E7 (cancro do colo do útero), MUC-1 (carcinoma da mama, do ovário e do pâncreas)). Para os antígenos de tumores humanos reconhecidos pelas células T, ver geralmente Robbins e Kawakami, 1996, Curr. Opin. Immunol. 8:628-36. As vacinas contra o cancro podem ou não ser preparados purificados.

Ainda noutra concretização, um oligómero anti-sentido bcl-2 é utilizado juntamente com um tratamento hormonal. Os tratamentos de terapêutica hormonal são compostos por agonistas hormonais, antagonistas hormonais (por ex.: flutamida, tamoxifeno, acetato de leuprolida (LUPRON)), e esteróides (por ex.:, dexametasona, retinóides, betametasona, cortisol, cortisona, prednisona, dehidrotosterona, glucocorticóide, mineralocorticóides, estrogénios, testosterona, progestinas).

Ainda noutra concretização, um oligómero anti-sentido bcl-2 é utilizado juntamente com um programa de terapêutica genética no tratamento do cancro.

Ainda noutra concretização, é administrado um oligómero anti-sentido bcl-2 combinado com, pelo menos, um agente de terapêutica do cancro, por um ciclo de tratamento curto a um paciente com cancro para tratar o cancro. Numa concretização, o dito ciclo de tratamento dura cerca de 2 a 13 dias. Noutra concretização, o dito ciclo de tratamento dura cerca de 3 a 9 dias. Noutra concretização, o dito ciclo de tratamento dura cerca de 4 a 7 dias. Ainda noutra concretização, o dito ciclo de tratamento dura cerca de 5 a 6 dias. A duração do tratamento com o agente de terapêutica do cancro pode variar de acordo com o agente de terapêutica do cancro utilizado. A invenção contempla também a administração descontinuada ou doses diárias divididas em várias administrações parciais. Um tempo de tratamento adequado para um agente de terapêutica do cancro específico será avaliado pelo perito na área, e a invenção contempla a avaliação contínua de planos de tratamentos ideais para cada agente de terapêutica do cancro.

Esta invenção contempla, pelo menos, um ciclo, de preferência mais do que um ciclo durante o qual é administrada uma única terapêutica ou sequência de terapêuticas. Numa concretização preferida, o ciclo é inferior a 14 dias. Numa concretização, a duração de um ciclo é de 10 a 13 dias. Numa concretização preferida, a duração de um ciclo é de 7 a 9 dias. Numa concretização ainda mais preferida, a duração de um ciclo é de 5 a 6 dias. Um período de tempo adequado para um ciclo será avaliado pelos peritos na área, assim como o número total de ciclos, e o intervalo entre eles. A invenção contempla a avaliação contínua dos planos de tratamento ideais para cada oligómero anti-sentido bcl-2 e agente de terapêutica do cancro.

5.3 COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

Esta invenção fornece ainda uma composição farmacêutica composta por oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 e um veículo farmacologicamente aceite. Os veículos adequados farmacologicamente aceites incluem essencialmente compostos quimicamente inertes e não-tóxicos que não interfiram com a eficácia da actividade biológica do composto farmacológico. Exemplos de veículos adequados farmacologicamente aceites incluem, mas não só, soluções salinas, soluções glicéricas, etanol, N-(1-(2,3-dioleiloxi)propilo)-N, N, cloreto de N-trimetiloamónio (DOTMA), diolesilfosfotidiletanolamina (DOPE) e lipossomas. Tais substâncias deverão conter uma quantidade da substância terapêuticamente eficaz, juntamente com uma quantidade adequada de veículo de modo a fornecer a forma de administração adequada ao paciente. A fórmula deverá ser adequada ao modo de administração. Por exemplo, a administração oral necessita de revestimentos entéricos para proteger o oligómero anti-sentido da degradação no tracto gastrointestinal. Noutro exemplo, o oligómero anti-sentido pode ser administrado numa fórmula lipossomal para proteger o oligómero anti-sentido das enzimas que degradam, facilitar o transporte no sistema circulatório, e efectuar a entrega através das membranas celulares para os locais intracelulares.

Noutra concretização, uma composição farmacêutica é composta por oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 e um ou mais agentes de terapêutica e um veículo farmacologicamente aceite. Numa concretização em especial, a composição farmacêutica é composta por oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 e um ou mais agentes de terapêutica do cancro e um veículo farmacologicamente aceite.

Numa concretização preferida, uma composição farmacêutica, composta por oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17, com ou sem outros agentes de terapêutica, e um veículo farmacologicamente aceite, possui a sua dose eficaz.

Numa concretização, a composição farmacêutica é composta por oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 numa dose de cerca de 4 a 9 mg/kg/dia, de preferência numa dose de 5 a 7 mg/kg/dia, e um veículo farmacologicamente aceite. A verdadeira quantidade de oligómeros anti-sentido administrada pode depender de vários factores, tais como o tipo de cancro, a toxicidade do oligómero anti-sentido para com as células do organismo, a velocidade de absorção do oligómero anti-sentido pelas células tumorais, e o peso e idade do indivíduo ao qual é administração o oligómero anti-sentido. Devido aos muitos factores presentes *in vivo* susceptíveis de interferir com a acção ou actividade biológica do oligómero anti-sentido, a quantidade eficaz de oligómeros anti-sentido pode variar em cada indivíduo.

Noutra concretização, as composições farmacêuticas da invenção são compostas por oligómeros anti-sentido bcl-2 de ID NO:17 numa dose especialmente elevada, de 10 a 50 mg/kg/dia. Numa concretização em especial, é administrada uma dose especialmente elevada de oligómeros anti-sentido bcl-2, de 11 a 15, 16 a 20, 21 a 25, 26 a 30, 31 a 35, 36 a 40, 41 a 45, ou 46 a 50 mg/kg/dia, durante o ciclo de tratamento.

A selecção da dose eficaz preferida pode ser determinada (por ex.:, através de ensaios clínicos) por peritos da técnica com base na consideração de vários factores que serão conhecidos para quem lida diariamente com a situação. Tais factores incluem a forma especial do oligómero anti-sentido, dos parâmetros farmacocinéticos do oligómero tais como a biodisponibilidade, o metabolismo, a semivida, etc., estabelecida durante os procedimentos de

desenvolvimento normalmente aplicados na obtenção da aprovação regulamentar de uma composição farmacêutica. Ainda outros factores a ter em consideração para a dose incluem a doença a tratar, o benefício a atingir num paciente, a massa corporal do paciente, o estado imunológico do paciente, o método de administração, se a administração do oligómero anti-sentido ou do agente de terapêutica combinada é aguda ou crónica, medicações concomitantes, e outros factores conhecidos por quem lida com a técnica que possam afectar a eficácia dos agentes farmacológicos administrados.

As substâncias da invenção podem ser formuladas sob formas neutras ou em sais. Os sais farmacologicamente aceites incluem os formados com grupos de aminados livres, tais como os derivados dos ácidos clorídricos, fosfóricos, acéticos, oxálicos, tartáricos, etc., e os formados com grupos de carboxil livres como os derivados do sódio, potássio, amónio, cálcio, hidróxidos férricos, isopropilamina, trietilamina, 2-etilaminoetanol, histidina, procaína, etc.

Numa concretização preferida, a substância é formulada de acordo com os procedimentos de rotina, como uma composição farmacêutica adaptada para injeção subcutânea ou administração por via intravenosa nos seres humanos. Regra geral, as substâncias para injeção subcutânea ou administração por via intravenosa são soluções aquosas tampão isotónicas esterilizadas. Quando necessário, a substância pode também incluir um agente solúvel e um anestésico local como a lidocaína para amenizar a dor no local de injeção. Regra geral, os ingredientes são fornecidos em separado ou misturados em forma de dose unitária, por exemplo, como um pó liofilizado seco ou concentrado sem água num recipiente hermeticamente fechado como uma ampola ou uma saqueta com a indicação da quantidade do agente activo. Quando a finalidade da

substância é ser administrada por perfusão, pode ser dispensada com um frasco para perfusão, saco, ou outro recipiente aceite, com água pura farmacologicamente estéril, soro ou outros diluentes aceites. Quando a finalidade da substância é ser administrada por injeção, pode ser fornecida uma ampola de água esterilizada para injeção ou soro para que os ingredientes possam ser misturados antes da administração.

5.4 MODOS DE ADMINISTRAÇÃO

A administração das composições farmacêuticas da invenção inclui, mas não só, administração oral, perfusão intravenosa, injeção subcutânea, intramuscular, tópica, injeção *depo*, implantação, modo de libertação retardada, intracavitária, endonasal, inalação, intratumoral, intraocular, e de libertação controlada. As composições farmacêuticas da invenção podem também ser introduzidas pelo modo parentérico, pela mucosa (por ex.:, oralmente,), nasal, rectal, intravaginal, sublingual, submucosal ou transdermicamente. De preferência, a administração é parentérica, ou seja, não através do canal alimentar mas sim através de outra via de acesso, por exemplo, administração por via intravenosa, subcutânea, intramuscular, intraperitoneal, intraorbital, intracapsular, intra-espinal, intra-arterial ou intradérmica. Os peritos na área podem avaliar as vantagens e desvantagens específicas a ter em consideração na escolha do modo de administração. Os vários modos de administração são englobados pela invenção. Por exemplo, um oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado através de injeção subcutânea, em que é administrado um agente de terapêutica combinada por perfusão intravenosa. Também, a administração de uma ou mais espécies de oligómeros anti-sentido bcl-2, com ou sem outros agentes de terapêutica, pode ocorrer em

simultâneo (ou seja, co-administração) ou sequencialmente. Por exemplo, um oligómero anti-sentido bcl-2 é primeiramente administrado para aumentar a sensibilidade de um tumor para posterior administração de um agente de terapêutica do cancro ou terapia de irradiação. Noutra concretização, os períodos de administração de uma ou mais espécies de oligómeros anti-sentido bcl-2, com ou sem outros agentes de terapêutica podem sobrepor-se. Por exemplo, um oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado durante 7 dias, e um segundo agente de terapêutica é introduzido com início no quinto dia do tratamento com oligómeros anti-sentido bcl-2, e o tratamento com o segundo agente de terapêutica continua para além do tratamento de 7 dias dos oligómeros anti-sentido bcl-2.

As composições farmacêuticas adaptadas para a administração oral podem ser fornecidas, por exemplo, como cápsulas ou comprimidos, pós ou granulados, soluções, xaropes ou suspensões (em líquidos aquosos ou não-aquosos), como vulgares espumas ou sprays, ou emulsões. Os comprimidos ou cápsulas gelatinosas rijas podem ser compostas, por exemplo, por lactose, goma ou seus derivados, estearato de magnésio, sacarina de sódio, celulose, carbonato de magnésio, ácido esteárico ou respectivos sais. As cápsulas de gelatina macia podem ser compostas, por exemplo, por água, polióis e açúcares.

Um agente activo para a administração oral pode ser revestido ou misturado com um material (por ex.:, monoestearato de glicol ou distearato de glicol) que atrase a desintegração ou afecte a absorção do agente activo no tracto gastrointestinal. Assim, por exemplo, a libertação controlada de um agente activo pode ser obtida por muitas horas e, se necessário, o agente activo pode ser protegido da degradação no tracto gastrointestinal. Obtendo a vantagem das várias condições de pH e enzimáticas ao longo do tracto gastrointestinal, as composições farmacêuticas

para administração oral podem ser formuladas para facilitar a libertação de um agente activo num local gastrointestinal específico.

As composições farmacêuticas adaptadas para a administração parentérica incluem, mas não só, soluções ou suspensões injectáveis aquosas e não-aquosas estéreis, que podem conter antioxidantes, soluções tampão, bacteriostats e solutos que tornam as substâncias significativamente isotónicas com o sangue de um receptor final. Outros elementos que podem estar presentes nestas substâncias incluem água, álcoois, polióis, glicerina e óleos vegetais, por exemplo. As substâncias adaptadas à administração parentérica podem ser apresentadas em recipientes de doses unitárias ou várias doses, por exemplo, ampolas e frascos selados, e podem ser armazenadas em condições liofilizadas que exijam a adição de um veículo líquido estéril, por exemplo, solução salina estéril para injeções, imediatamente antes da utilização. Podem ser preparadas soluções ou suspensões magistrais para injeção a partir de pós estéreis, grânulos e comprimidos. Estas substâncias deverão conter uma quantidade terapêutica eficaz de um oligómero anti-sentido bcl-2 ou outro agente terapêutico, juntamente com uma quantidade adequada de veículo para proporcionar a forma para a administração adequada ao paciente. A formulação deverá ser adequada ao modo de administração.

As composições farmacêuticas adaptadas para a administração transdérmica podem ser fornecidas como adesivos discretos com a finalidade de se manterem em estreito contacto com a epiderme durante um longo período de tempo. As composições farmacêuticas adaptadas para a administração tópica podem ser fornecidas como, por exemplo, pomadas, cremes, suspensões, loções, pós, soluções, pastas, géis, sprays, aerossóis ou óleos. As pomadas ou cremes para uso tópico são, de preferência,

utilizados para administração tópica na pele, boca, olhos ou outros tecidos externos. Aquando da formulação da pomada, o ingrediente activo pode ser empregue com uma base de parafina ou de pomada miscível com água. Em alternativa, o ingrediente activo pode ser formulado num creme com uma base directa (óleo na água) ou base indirecta (água no óleo).

As composições farmacêuticas adaptadas para a administração tópica no olho incluem, por exemplo, colírios ou substâncias injectáveis. Nestas substâncias, o ingrediente activo pode ser dissolvido ou suspenso num veículo adequado, que inclua, por exemplo, um solvente aquoso com ou sem carboximetilcelulose. As composições farmacêuticas adaptadas para a administração tópica na boca incluem, por exemplo, rebuçados, pastilhas e bochechos.

As composições farmacêuticas adaptadas para a administração nasal podem ser compostas por veículos sólidos tais como pós, preferencial, com partículas de dimensões cerca de 20 a 500 microns. Os pós podem ser administrados de modo que quando se aspira, ou seja, pela rápida inalação pelo nariz com o recipiente de pó próximo do nariz. Em alternativa, as substâncias adaptadas para a administração nasal podem ser compostas por veículos líquidos tais como, por exemplo, sprays ou gotas nasais. Estas substâncias podem ser compostas por soluções aquosas ou oleosas do ingrediente activo. As substâncias para a administração por inalação podem ser fornecidas em dispositivos especialmente adaptados incluindo, mas não só, aerossóis pressurizados, nebulizadores ou insufladores, que podem ser concebidos de modo a proporcionar certas doses do ingrediente activo.

As composições farmacêuticas adaptadas para a administração rectal podem ser fornecidas como supositórios ou clisteres. As composições farmacêuticas adaptadas para a administração vaginal podem ser fornecidas, por exemplo,

como pessários, tampões, cremes, géis, pastas, espumas ou fórmulas em spray.

Numa concretização, uma composição farmacêutica da invenção é entregue por um sistema de libertação controlada. Por exemplo, a composição farmacêutica pode ser administrada através de perfusão intravenosa, uma bomba osmótica implantável, um adesivo transdérmico, lipossomas, ou outros modos de administração. Noutra concretização, pode ser utilizada uma bomba (Ver por ex.:, Langer, 1990, *Science* 249:1527-33; Sefton, 1987, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201; Buchwald et al., 1980, *Cirurgia* 88:507; Saudek et al., 1989, *N. Engl. J. Med.* 321:574). Noutra concretização, a substância pode ser entregue numa vesícula, em especial um lipossoma (Ver por ex.:, Langer, *Science* 249:1527-33 (1990); Treat et al., 1989, em *Lipossomas na Terapia de Doenças Infecciosas e do Cancro*, Lopez Berestein e Fidler (eds.), Liss, Nova Iorque, pp.353-65; Lopez-Berestein, *ibid.*, pp.317-27, *Publicação de Patente Internacional No. WO 91/04014; Patente US No. 4,704,355*). Noutra concretização, podem ser utilizados materiais polímeros (Ver, por ex.:, *Aplicações Médicas de Libertação Controlada*, Langer e Wise (eds.), CRC Press: Boca Raton, Florida, 1974; *Biodisponibilidade de Drogas Controladas, Conceção e Desempenho de Medicamentos*, Smolen e Ball (eds.), Wiley: Nova Iorque (1984); Ranger e Peppas, 1953, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61; Levy et al., 1985, *Science* 228:190; During et al., 1989, *Ann. Neurol.* 25_351; Howard et al., 1989, *J. Neurosurg.* 71:105).

Ainda noutra concretização, pode ser colocado um sistema de libertação controlada nas proximidades do alvo. Por exemplo, uma microbomba pode entregar as doses controladas directamente no cérebro, sendo que para isso exige apenas uma fracção da dose sistémica (Ver, por ex.:, Goodson, 1984, em *Aplicações Médicas de Libertação Controlada*, vol.2, pp. 115-138).

Numa concretização, pode ser desejável administrar a composição farmacêutica da invenção localmente na área que necessita de tratamento. Tal pode ser obtido, por exemplo, e não apenas de modo ilustrativo, pela perfusão local durante a cirurgia, aplicação tópica (por ex.: juntamente com um penso seco após a cirurgia), injeção, através de um cateter, através de um supositório, ou através de um implante. Um implante pode ser de material poroso, não-poroso ou gelatinoso, incluindo membranas, tais como membranas sialásticas ou fibras.

Regra geral, os supositórios contêm ingredientes activos na ordem dos 0,5% a 10% de peso. As fórmulas orais contêm, de preferência, 10% a 95% de ingredientes activos por peso.

Os oligómeros anti-sentido bcl-2 de SEQ ID NO:17 podem ser administrados antes, durante e/ou após a administração de um ou mais agentes de terapêutica. Numa concretização, um oligómero anti-sentido bcl-2 pode ser administrado em primeiro lugar para reduzir a expressão de bcl-2, aumentando a sensibilidade do tumor para posteriormente desafiar com um agente de terapêutica do cancro. Noutra concretização, um oligómero anti-sentido bcl-2 pode ser administrado após a administração de um agente de terapêutica do cancro para reduzir a expressão tumoral de bcl-2, o que pode impedir a resistência do tumor e, desse modo, prevenir recidivas ou minimização da resposta ao agente de terapêutica do cancro. Ainda noutra concretização, poderá existir um período de sobreposição entre a administração do oligómero anti-sentido bcl-2 e um ou mais agentes de terapêutica.

A invenção fornece ainda um kit farmacológico composto pela quantidade eficaz de oligómeros bcl-2 de SEQ ID NO:17, em combinação com um agente de terapêutica do cancro, para proteger do ou tratar uma condição patológica relacionada com bcl-2. Noutra concretização, a quantidade

eficaz de oligómeros bcl-2 de SEQ ID NO:17 e um veículo farmacologicamente aceite pode ser embalada num frasco, ou outro recipiente, com uma dose única. Numa concretização específica, o oligómero bcl-2 compreende G3139 (SEQ ID NO.:17). O kit pode compreender um ou mais recipientes cheios com um ou mais ingredientes das composições farmacêuticas da invenção. Opcionalmente associados a este recipiente(s) pode estar um aviso sob a forma prescrita pelo organismo governamental que regula o fabrico, utilização ou venda de produtos farmacológicos ou biológicos, sendo que este aviso reflecte a aprovação, pelo organismo, do fabrico, utilização ou venda para administração em seres humanos.

Esta invenção pode ser melhor compreendida fazendo-se referência aos Exemplos não restritos que se seguem, fornecidos apenas como exemplo da invenção. Os exemplos que se seguem são apresentados para melhor ilustrar as concretizações preferidas da invenção. Não devem, contudo, ser analisados como limitadores do âmbito global da invenção.

6. EXEMPLO 1: TERAPIA DE ANTI-SENTIDO BCL-2 QUIMIO-SENSIBILIZA O MELANOSSARCOMA

Este exemplo demonstra a utilização bem sucedida de um oligómero anti-sentido bcl-2 para o tratamento de pacientes com melanossarcoma avançado. Neste estudo, seis dos pacientes que foram tratados com o oligómero anti-sentido bcl-2, foram sistematicamente administrados com o oligómero a 5,3 ou 6,5 mg/kg/dia durante sete dias, juntamente com um quimio-agente. As descobertas verificadas neste Exemplo demonstraram que, quando o oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado em doses elevadas durante curtos períodos de tempo, o tratamento exhibe baixa toxicidade conforme os critérios de toxicidade comuns,

reduz a Bcl-2 no tumor, facilita a apoptose e conduz a respostas objectivas do tumor e prolonga a sobrevivência do paciente. Incluídos nos pacientes que obtiveram respostas estavam vários com "cancro resistente ao tratamento" que tinham progredido na doença durante o tratamento com agentes anticancro padrão, em que o tratamento com agentes padrão, tais como a dacarbazina utilizada individualmente, teria poucos ou nenhuns benefícios. Pelo contrário, a terapia combinada com anti-sentido bcl-2 e dacarbazina conduziu a respostas duráveis inesperadas e prolongou a sobrevivência. Ainda, um estudo de acompanhamento, que utilizou doses mais elevadas durante curtos períodos de tempo em cinco pacientes, demonstrou tolerância satisfatória quando o oligómero anti-sentido bcl-2 foi administrado sistematicamente com 7 mg/kg/dia durante cinco dias. Assim, os resultados indicam que a administração de um oligómero anti-sentido bcl-2 em doses elevadas durante curtos períodos de tempo é uma terapia segura e eficaz para o melanoma. A abordagem realçada neste estudo fornece uma estratégia de aplicação mais ampla para o tratamento de outros tipos de cancro.

6.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Catorze pacientes com melanoma metastático de fase IV foram escolhidos para este estudo de aumento progressivo da dose de fase I/II se tivessem doença extensiva, e se as metástases cutâneas fossem acessíveis para a biopsia e inicialmente positivos para a expressão BCL-2 para o método de Western Blot (Tabela 1). Foi exigido que os pacientes tivessem funções renais, hepáticas e hematopoiéticas normais e recebida nenhuma quimio ou imunoterapia quatro semanas antes da inclusão neste estudo.

O oligómero anti-sentido BCL-2 (sequência 5'-TCTCCAGCGTGCGCCAT-3') foi administrado como uma perfusão

intravenosa contínua (CIV) durante 14 dias por uma bomba de perfusão ambulatoria (Sims Deltec Inc., St. Paul, MN, USA) através de uma linha venosa central. Com a utilização de uma linha intravenosa periférica, foi administrado DTIC em doses de 200 mg/m²/dia dadas por perfusões de uma hora durante 5 dias nos dias 5 ao 9 da terapia de 14 dias com oligómeros anti-sentido bcl-2. Os ciclos de tratamento foram repetidos mensalmente. O aumento progressivo da dose teve início com 0,6 mg/kg/dia e continuou com 1,3, 1,7, 2,1, 3,1, 4,1, 5,3 e 6,5 mg/kg/dia de ASO BCL-2. Foi estabelecida uma segurança num grupo com, pelo menos, 3 pacientes a um nível de dose administrado, foi incluído um novo grupo seguinte no nível de dose superior (Waters et al., 2000, J. Clin. Oncol. 18(9):1812-23). Foi autorizada a repetição de ciclos de 28 dias e aumento progressivo da dose entre pacientes, em pacientes estáveis ou dos quais se obteve resposta após um período de observação de duas semanas.

Para ganhar experiência clínica com uma via e plano alternativos, seis pacientes dos grupos tratados com 5,3 ou 6,5 mg/kg/dia receberam o seu primeiro ciclo por perfusão intravenosa e foram então trocados para administração subcutânea de oligómeros anti-sentido bcl-2 em ciclos subsequentes. Estes pacientes tratados pela via SC receberam a mesma dose total diária, administrada por injeções SC duas vezes ao dia nos dias 1 até ao dia 7, combinada com DTIC 800 mg/m² dada por perfusão durante uma hora no dia 5.

Os efeitos antitumorais foram avaliados após cada ciclo de tratamento, com o recurso à medição com um compasso e fotodocumentação detalhada dos pacientes com metástases na pele. Foram documentadas metástases viscerais e acompanhadas por tumografias computadorizadas. Foram utilizados os critérios da OMS, para a classificação da resposta tumoral, tendo sido exigida muita documentação com

duração de, pelo menos, 4 semanas. A resposta completa foi definida como desaparecimento das metástases detectáveis. A resposta parcial foi definida como uma redução de 50%, ou mais, das metástases mensuráveis. Nos pacientes que demonstravam várias metástases num único órgão, foram documentadas um máximo de 5 lesões alvo, como base, e depois acompanhadas para determinar a resposta. Um aumento na doença mensurável em mais de 25%, ou o surgimento de novas lesões metastáticas, foi definido como doença progressiva. Além disso, as situações em que houve regressão dos diâmetros das lesões em menos de 50%, mas mais de 25%, foram designadas como pequena resposta. Todas as outras situações foram definidas como doença estável. A sobrevivência foi avaliada a partir do momento do primeiro tratamento neste protocolo.

A toxicidade foi registada pelos critérios de toxicidade comuns e diariamente monitorizados durante a administração da substância, depois semanalmente entre ciclos. Qualquer grau de toxicidade III ou IV relacionado com o tratamento não solucionado nas duas semanas entre os ciclos de tratamento foi considerado como toxicidade limitativa da dose. Foram recolhidas amostras de plasma, para determinar a farmacocinética do oligómero anti-sentido BCL-2, na hora 0 antes do tratamento, depois nos dias 2, 3, 5, 6, 10 e 14 em pacientes que receberam a perfusão intravenosa de duas semanas de ASO BCL-2. Foram determinados perfis farmacocinéticos de 12 horas em pacientes que receberam oligómeros anti-sentido BCL-2 como injeções subcutâneas do bolo na região abdominal. Os níveis de plasma de oligómeros anti-sentido BCL-2 foram avaliados pela Pharmanalyt, Baden, Áustria, com HPLC (Chen et al., 1997, J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl. 692:43-51).

A expressão BCL-2 e a taxa de apoptose das metástases do melanoma foram avaliadas pelo método de

Western Blot e TUNEL, respectivamente (Jansen et al., 1998, Nat. Med. 4(2):232-4). As reduções de BCL-2 de menos de 20%, comparadas com os níveis base, não foram consideradas significativas devido às limitações técnicas. Os tumores sujeitos a biopsia foram seleccionados com base nas dimensões, local e características clínicas, idênticas às lesões alvo utilizadas para medir a resposta. Foram efectuadas por excisão das metástases de melanoma cutâneo na base e no dia 5 de cada nível de dose de oligómeros anti-sentido BCL-2 antes da administração do DTIC. Foram obtidas biopsias adicionais até ao dia 14 do ciclo para documentar os efeitos do tratamento combinado de oligómeros anti-sentido BCL-2 e DTIC. Foi investigado um total de 2 a 4 biopsias tumorais por paciente por nível de dose. A parte da biopsia tumoral utilizada para o método de Western Blot e TUNEL foi também avaliada pela histopatologia de rotina para garantir um conteúdo de células tumorais consistente e limitar confundir os efeitos de células não-tumorais na amostra da biopsia.

6.2 RESULTADOS

Foi tratado um total de 14 pacientes com oligómeros anti-sentido BCL-2 (0,6 a 6,5 mg/kg/dia) combinados com DTIC, de acordo com dois regimes de tratamento (I.V. ou S.C.) anteriormente mencionados.

Os níveis de plasma em estado estável de oligómeros anti-sentido BCL-2 foram observados após um dia de perfusão intravenosa contínua e linearmente aumentados com a dose administrada. As doses de oligómeros anti-sentido BCL-2 > 1,7 mg/kg/dia conduziram a níveis consistentes de plasma em estado estável superiores a 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, um nível de plasma determinado a ser bioreactivo em modelos animais (Raynaud et al., 1997, J. Pharmacol. Exp. Ther. 281:420-7). A 6,5 mg/kg/dia, foi atingido um nível médio de plasma em estado

estável de $6,47 \mu\text{g/ml} \pm \text{SD} = 2,51 \mu\text{g/ml}$ em 24 horas. Os níveis de plasma de oligómeros anti-sentido BCL-2 das injeções do bolo SC, administradas duas vezes por dia, eram campanulados durante mais de 12 horas. Foi observada uma concentração máxima de $8,6 \mu\text{g/ml} \pm \text{SD} = 1,26 \mu\text{g/ml}$ três a quatro horas após a injeção da dose SC de $3,25 \text{ mg/kg}$ administrada em intervalos de 12h. Mais de 90% do período de 12 horas entre as injeções subcutâneas, os níveis de plasma ultrapassaram o nível de plasma alvo de 1 mg/ml , associados com a actividade biológica. Não foram observadas alterações nas propriedades farmacocinéticas nos pacientes que receberam vários ciclos de terapia. O tratamento DTIC em simultâneo não afectou os níveis de plasma de oligómeros anti-sentido BCL-2.

Como base de referência, a expressão da proteína BCL-2 de metástases do melanoma cutâneo (Selzer et al., 1998, 8(3):197-203; Cerroni et al., 1995, Am. J. Dermatopathol. 7:7-11), foi confirmada pelo método de Western Bolt em todos os 14 pacientes seleccionados para este estudo. Biopsias em série de lesões comparáveis demonstraram reduções em níveis de proteína BCL-2 durante a administração de oligómeros anti-sentido BCL-2 (Tabela 1). No paciente 10, espécimes de tumor em série não foram avaliados para o método Western Bolt devido à falta de células de melanoma no tecido da biopsia. Foi observada uma redução máxima da proteína BCL-2, em pacientes tratados com perfusão contínua de oligómeros anti-sentido BCL-2 durante 14 dias, no dia 5 com mais nenhuma redução adicional no dia 14. 83% dos pacientes validados com níveis de plasma de oligómeros anti-sentido BCL-2 superiores a $1 \mu\text{g/ml}$ (10 a 12 pacientes) demonstraram uma nítida redução na expressão BCL-2 (Tabela 1). Os ciclos de tratamento com oligómeros anti-sentido BCL-2 em doses $> 1,7 \text{ mg/kg/dia}$ demonstraram uma redução média da proteína BCL-2, sendo a redução de 40% no dia 5.

Um aumento de células apoptóticas em espécimes tumorais após 5 dias de tratamento com oligômeros anti-sentido BCL-2 foi observado pelo método de coloração TUNEL (aumento base de 0,85%, +/- SD = 0,47%; para 3,17%, +/- SD = 1,16%) (Figura 2B). Contudo, em biopsias obtidas após a adição de estímulo apoptótico (DTIC), pôde ser observado um melhoramento drástico adicional na morte de células apoptóticas (Figura 2C, 19,4% +/- SD = 4,2%). A terapia combinada de oligômeros anti-sentido BCL-2 e DTIC foi bem tolerada até, e incluindo, 6,5 mg/kg/dia de oligômeros anti-sentido BCL-2 sem a toxicidade limite por dose (Tabela 2).

As anormalidades hemotológicas foram suaves ou moderadas (grau I-III, Tabela 2), e acompanharam o padrão de valores nadir entre ciclos de tratamento típicos apenas para os agentes DTIC. Nenhum dos pacientes apresentou neutropenia febril ou outras toxicidades hematológicas clínicas. Foi observada anemia de grau II-III que requereu transfusão em dois pacientes durante o estudo, mas a anemia esteve presente desde o início nestes mesmos pacientes, possivelmente provocada por terapias anteriores. Foi observada linfopenia de grau II-III, mas sem sequelas clínicas tais como infecções virais ou fúngicas, ou outra evidência clínica para imunossupressão, apesar da repetição de ciclos ter durado mais de um ano nalguns pacientes. Foi observado um grau II-III transitório do tempo parcial de tromboplastina em três pacientes sem hemorragia clínica.

Os efeitos adversos não-hematológicos constam da parte inferior da Tabela 2. As doses de oligômeros anti-sentido BCL-2 superiores a 4,1 mg/kg/dia foram associadas a febre transitória na maioria dos pacientes. Na maioria, a febre atingiu os 38°C nos dias 2-3 da terapia e desapareceu espontaneamente ou com a administração de acetaminofeno e administração continuada de oligômeros anti-sentido. Nos níveis de doses de 4,1 a 6,5 mg/kg/dia,

foram observados aumentos transitórios de grau II-III de transaminases e bilirrubina em 4 pacientes. Contudo, não foi estabelecida em todos os pacientes uma relação causal para com os oligómeros anti-sentido BCL-2, pois os pacientes padeciam de hepatite e alcoolismo, respectivamente, e as anormalidades transitórias da função hepática foram observadas após o DTIC, o que pode também conduzir a essas alterações laboratoriais. As anormalidades da função hepática foram habitualmente solucionadas no espaço de 1 semana entre ciclos de tratamento, e não foram consideradas clinicamente significativas ou limitativas da dose. Os efeitos adversos dermatológicos incluíram erupções e urticária transitórias, todas de grau I excepto um paciente que apresentou urticária transitória de grau II. Estas reacções dermatológicas responderam a anti-histamínicos e não evitaram terapia posterior. Não foram observadas toxicidades cumulativas. Alguns pacientes foram tratados com até 10 ciclos de terapia sem necessitar de modificações dos planos de tratamento preparados.

Apesar de a toxicidade ter sido o ponto final deste ensaio de aumento progressivo da dose, a actividade antitumoral foi evidente em 6 dos 14 pacientes (43%, Tabela 1) com melanoma fase IV, incluindo respostas verificadas dentre os 12 pacientes que se inscreveram no estudo após fracasso do tratamento de terapias de melanoma sistémico. 1 RC, 2 RP e 2 MR com estabilização prolongada de doença com duração superior a 1 ano foram anotadas (Tabela 1). Foi também observada actividade antitumoral clínica em mais dois pacientes com estabilização da doença que estava em progressão antes do desenvolvimento do estudo. O paciente #12, que padecia de metástases volumosas com dimensões superiores a 5 cm nos gânglios linfáticos pélvicos e no local de um enxerto de pele anterior, demonstrou uma resposta rápida após 2 ciclos e uma resposta completa após 4 ciclos (Tabela 1, Figura 3). Após 4 ciclos de terapia,

uma biopsia da área cutânea, que anteriormente tinha resultado positivo para neoplasma, apresentou apenas fibrose sem melanoma (resposta patológica total). Os pacientes 2 e 3 demonstraram uma resposta parcial das lesões alvo sem aumento de sobrevivência com duração superior a um ano. No início deste estudo, os pacientes 2 e 3 padeciam de metástases progressivas, apesar de tratamentos anteriores com carboplatina e interferão (paciente #2) e DTIC com IL-2 (paciente #3). Os pacientes 5 e 9 iniciaram o estudo com doença metastática progressiva, apesar de terapia sistémica com DTIC + interferão ou apenas interferão, e desenvolveram pequenas respostas com terapia antimensageira BCL-2 e DTIC. A sobrevivência média estimada ultrapassa, pelo menos, um ano em todos os pacientes.

6.3 CONCLUSÃO

Este relatório demonstra a segurança e a credibilidade do tratamento com uma droga antimensageira combinada com quimioterapia em doentes com cancro. O tratamento com oligómeros anti-sentido BCL-2 foi bem tolerado, reduziu a proteína alvo no tumor, facilitou a apoptose e conduziu a respostas tumorais objectivas com sobrevivência prolongada também nos pacientes que iniciaram o estudo após tratamento fracassado com outras terapias (Tabela 1).

O objectivo principal deste estudo foi determinar a toxicidade dos oligómeros anti-sentido BCL-2 combinados com a terapia DTIC. Relativamente aos efeitos secundários não-hematológicos (Tabela 2), até, e incluindo, os níveis de dose de 3,1 mg/kg/dia, neste estudo não foram observados efeitos secundários, excepto os relatados para a terapia com apenas o agente DTIC. Com as doses de oligómeros anti-sentido BCL-2 de, e superiores a, 4,1 mg/kg/dia combinadas com DTIC, foram observadas elevações de grau II-

III de transaminases e/ou bilirrubinas (Tabela 2). Neste estudo, as anormalidades da função hepática não foram limitativas da dose nem associadas a sequelas clínicas adversas. Não foram verificadas alterações não limitadoras da dose de α PTT de e superior a doses de 5,3 mg/kg de oligómeros anti-sentido BCL-2.

A linfopenia foi também o efeito secundário mais frequente observado neste estudo. A linfopenia não foi clinicamente significativa, e não existiram infecções involgares em pacientes tratados com terapia cíclica e acompanhados durante mais de um ano. Pelo contrário, foram observados alguns níveis de trombocitopenia com múltiplas drogas antimensageiras de fosforotioato, e esta toxicidade foi limitativa da dose no estudo de oligómeros anti-sentido BCL-2 em pacientes com NHL (Waters et al., 2000, J. Clin, Oncol. 18(9):1812-23). Apesar de este estudo ter combinado oligómeros anti-sentido BCL-2 com quimioterapia, conduzindo a mielo-supressão após DTIC, e de os níveis de plasma em estado estável ultrapassarem os relatados no estudo NHL, não observámos trombocitopenia limitadora da dose. Resumindo, não foram observadas toxicidades cumulativas nem limitadoras de dose entre DTIC e oligómeros anti-sentido BCL-2 neste conjunto de pacientes.

Os nossos dados demonstram que os níveis de plasma em estado estável biologicamente relevantes ($> 1 \mu\text{g/ml}$) podem ser facilmente obtidos com doses de oligómeros anti-sentido BCL-2 de cerca de 2 mg/kh/dia, e a dose máxima tolerável não foi atingida em combinação com a quimioterapia DTIC.

Num recente acompanhamento dos regimes de tratamento investigados neste ensaio, os oligómeros anti-sentido BCL-2 administrados por via intravenosa por perfusão (7 mg/kg/dia) durante mais de 5 dias foram administrados a um grupo alargado (5 pacientes) antes da

DTIC 1000 mg/m² em cada ciclo de 21 dias, tendo sido demonstrada uma tolerância satisfatória.

Deste modo, os resultados indicam que os oligómeros anti-sentido BCL-2 podem ser administrados em segurança combinados com uma substância anticâncer no estúdio clínico. Os resultados divergem dos dados anteriormente publicados que demonstram actividade biológica e respostas clínicas com uma perfusão de 14 dias dada apenas com uma perfusão subcutânea (Waters et al., 2000, J. Clin. Oncol. 18(9):1812-23), visto que os resultados aqui descritos demonstram múltiplas vias (perfusão intravenosa, várias injeções subcutâneas diárias) e programas de administração mais curtos de 5-7 dias podem também conduzir a uma actividade biológica do G3139 e respostas clínicas. Nos pacientes dos quais se obteve resposta, a actividade antitumoral inicial foi rapidamente verificada em 2-3 ciclos. A maioria dos pacientes iniciou o estudo com doença metastática progressiva após o fracasso do tratamento com DTIC com regimes ou após outros tratamentos padrão para o melanoma metastático. No entanto, foram observadas respostas antitumorais em 6 dos 14 pacientes (43%), e ainda em dois pacientes foi observada uma estabilização da doença. A sobrevivência média estimada de todos os pacientes ultrapassou os 12 meses. Estes resultados iniciais comparam-se favoravelmente às taxas de resposta desprezíveis e tempos de sobrevivência média de cerca de 4 a 5 meses observados em pacientes com melanoma avançado após fracasso do tratamento da terapia sistémica de primeira linha.

Tabela 1: Síntese do Estudo

Paciente No.	Idade/Sexo	Data do primeiro diagnóstico	Metástases do Melanoma	Fase do tumor	Terapia anterior	ASO BCL-2 (mg/kg/dia)	% max BCL-2	Resposta	Sobrevivência (em meses)
1	49/F	8/95	LNN, Pele	IV	DTIC, IF, RT, HEP	0,6	0	PD	6,6
2*	41/F	3/95	Pele	IV	CO, IFN- α , RT, HEP	0,6-6,5	40	PR	20,5
3*	69/M	6/94	LNN, Pele	IV	DTIC, IL-2, GM, CSF	0,6-6,5	40	PR	23,3*
4	52/M	5/98	LNN, Pele	IV	DTIC, IFN- α	0,6-4,1	35	MR	13,7
5	63/F	1/92	Pele	IV	DTIC, IFN- α	3,1-4,1	20	MR	5,1
6	56/M	8/96	Pulmão, Pele	IV	DTIC, IFN- α	3,1-5,3	60	PD	2,4
7	61/F	5/97	Pulmão, Fígado, Pele	IV	DTIC, FOT	4,1	20	PD	7,1
8*	60/F	3/95	Pele	IV	IFN- α , RT	5,3-6,5	60	Estável	15,3*
9*	75/F	6/98	LNN, Pele	IV	IFN- α	5,3-6,5	60	MR	15,3*
10	44/F	4/86	LNN, Pele	IV	IFN- α	6,5	NA	PD	14,4*
11	63/M	4/97	Pulmão, Pele	IV	IFN- α , CP, CIS	6,5	0	PD	12,5*
12*	90/F	7/94	LNN, Pele	IV	Nenhum	6,5	70	CR	12,5*
13*	67/M	6/96	Pulmão, Pele	IV	Nenhum	6,5	0	PD	1,1
14	76/M	4/99	Pulmão, Pele	IV	IFN- α	6,5	40	Estável	7,8

CP = Carboplatina; CIS = Cisplatinum; FOT = Fotemustina; HEP = perfusão de extremidade hipertérmica; IFN- α = interferão; NA = não aplicável; RT = radioterapia. Foram administrados um total de 47 ciclos de ASO BCL-2 e DTIC. *Pacientes que receberam também ASO BCL-2 subcutaneamente com doses de 5,3 e 6,5 mg/kg/dia, administrados após ciclos de tratamento inicial por via intravenosa. †Continua o período de observação.

Tabela 2: Reações Adversas Durante o Tratamento

	Grau de critérios de toxicidade comuns				
	Nº de pacientes				
	0	1	2	3	4
Reações hematológicas					
Anemia	12			2	
Leucopenia	7	2	3	2	
Neutropenia	10	2	2		
Linfopenia	1	1	7	5	
Trombocitopenia	8	4	2		
Coagulação	3	8	2	1	
Reações não-hematológicas					
Cardiovasculares	14				
Pulmonares	14				
Renais	14				

Gastrointestinais	9	5			
Fígado (SGOT, Bilirrubina)	1	7	2	4	
Neurológicas (cefaleias)	11	3			
Dermatológicas	9	4	1		
Febre	7	1	6		
Lista de reacções independentemente da relação causal à terapia ASO BCL-2					

7. EXEMPLO 2: 1ª Fase, Estudo Correlativo Farmacocinético e Biológico da G3139 (oligonucleótido anti-sentido bcl-2) e Docetaxel em Pacientes com Cancro da Próstata Hormono-Refractário

Este exemplo demonstra a utilização bem sucedida de um oligómero anti-sentido bcl-2 para o tratamento de pacientes com cancro da próstata hormono-refractário, resistente à terapia de ablação andrógena e quimioterapia citotóxica. O oligómero anti-sentido bcl-2 foi sistematicamente administrado com 5 a 7 mg/kg/dia, combinado com um quimio-agente. Este estudo diz respeito a dois pacientes, tratados com o oligómero anti-sentido bcl-2 e o quimio-agente, e que apresentaram respostas ao tratamento. As descobertas relatadas neste Exemplo demonstram que, quando um oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado em doses elevadas por curtos períodos de tempo, o tratamento apresenta baixa toxicidade enquanto demonstra respostas clínicas objectivas. A abordagem descrita neste estudo fornece uma estratégia largamente aplicável ao tratamento de outros tipos de cancro.

7.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste estudo, o G3139 foi administrado como uma perfusão intravenosa contínua durante cinco dias por ciclo no ciclo de tratamento dos dias 1-6, seguido por docetaxel administrado por via intravenosa no dia 6. Foram repetidas séries a cada 21 dias. Onze pacientes com cancro da próstata hormono-refractário receberam terapia com três

níveis de dose de G3139 a 5 mg/kg/dia com 60 mg/m² de docetaxel a G3139 com 7 mg/kg/dia seguido de 75 mg/m² de docetaxel.

7.2 RESULTADOS

A maior parte das toxicidades foi idêntica às da docetaxel individual. Um paciente com muitos tratamentos prévios padeceu de neutropenia sem complicações prolongadas (> 5 dias) de grau 4. Outras toxicidades incluem estomatite de grau 1 em três pacientes, e neutropenia febril durante o 2º desenvolvimento num paciente. Os resultados farmacocinéticos preliminares (HPLC) revelaram concentrações médias de concentrações de plasma em estado estável G3139 de 3,09 µg/mL a um nível de dose de 5 mg/kg/dia. As análises preliminares do fluxo citométrico e de Western Blot indicaram uma desregulação > 50% de proteína Bcl-2 no dia 6 em células mononucleares do sangue periférico antes do tratamento com docetaxel. Foram observados antígeno específico da próstata e respostas sintomáticas em 2 dos 3 pacientes avaliados com *taxane-ingénuo*, incluindo uma redução de nove vezes no antígeno específico da próstata de duração superior à dos ciclos.

7.3 CONCLUSÃO

O G3139 pode ser administrado em segurança combinado com docetaxel, e tal como estes resultados demonstram, a combinação possui efeitos terapêuticos significativos no tratamento do cancro. Os resultados diferem dos dados anteriormente publicados demonstrando uma actividade biológica e respostas clínicas com uma perfusão de 14 dias dada apenas por uma perfusão subcutânea contínua (Waters et al., 2000, J. clin. Oncol. 18(9):1812-23), visto

que os resultados aqui descritos demonstram que programas mais curtos de administração (5 dias), dados por uma via alternativa (via intravenosa), podem também conduzir a actividade biológica do G3139 e respostas clínicas. O tratamento com G3139 é biologicamente activo durante os cinco dias de administração, demonstrados por desregulação eficaz da proteína Bcl-2 nas células mononucleares do sangue periférico, e possui actividade antitumoral preliminar encorajadora nos pacientes com cancro da próstata hormono-refractário.

8. EXEMPLO 2: 1ª FASE DO ENSAIO COM GENASENSE™ (G3139), UM ANTI-SENTIDO BCL-2 NA LEUCEMIA AGUDA REFRACTÁRIA OU REINCIDIVA

Este exemplo demonstra a utilização bem sucedida de um oligómero anti-sentido bcl-2 para o tratamento de pacientes com leucemia aguda. O oligómero anti-sentido bcl-2 foi sistematicamente administrado com 4 mg/kg/dia durante dez dias, combinado com dois quimio-agentes. Este estudo revela que cinco dos dez pacientes, tratados com o oligómero anti-sentido bcl-2 e um quimio-agente, obtiveram respostas ao tratamento. Ainda, foram também nítidas respostas em pacientes aos quais foi administrada fludarabina e citosina arabinósida, em doses inferiores às doses padrão habitualmente utilizadas para o tratamento de leucemia ou outros cancros. As descobertas reveladas neste Exemplo demonstraram que podem ser obtidas respostas clínicas objectivas quando um oligómero anti-sentido bcl-2 é administrado durante um curto período de tempo.

8.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Administrou-se G3139 (4 mg/kg/dia) a pacientes (dez no total) nos dias 1-10, sendo que a fludarabina (iniciada

com uma dose reduzida de 15 mg/m²), a citosina arabinósida (Ara-C) (iniciada a uma dose reduzida de 1000 mg/m²) e a G-CSF (FLAG) foram administradas nos dias 6-10 do ciclo de tratamento, e aumentadas progressivamente em coortes sucessivas. O regime de combinação FLAG normal inclui doses duas vezes mais elevadas de fludarabina e Ara-C que as doses utilizadas neste estudo.

Idade/sexo dos pacientes	Dx & Estado Pré-G3139	Tempo para REL (m) ¹	Regimes anteriores	HDAC ² anterior	Resposta	Estado da doença (d) ³
69/F	REF primário ALL	NA ⁴	1	Não	RC ⁵	NED ⁶ (53)
55/F	REF primário AML	NA	3	Sim	RC	REL (142)
57/F	2° REL AML	12	2	Sim	RC	NED (111)
23/M	1° REL AML	3	1	Sim	RP ⁶	REL (83)
61/F	1° REL AML	7	1	Não	RP	NED (76)
54/M	REF primário AML	NA	1	Não	NR ⁷	REF
61/F	1° REL AML	6	2	Não	NR	REF
73/F	2° REL AML	8	2	Sim	NR	REF
39/M	2 REL AML	3	2	Sim	NR	REF
55/F	2° REF AML	6	3	Sim	NR	REF

(m), meses do RC; ² dose elevada de Ara-C; ³(d), dias desde o início de G3139; ⁴NA, não aplicável; ⁵RC, resposta completa; ⁶RP, resposta parcial; ⁷NR, nenhuma resposta; ⁸NED, nenhuma evidência de doença; REF, refractário; REL, recidiva.

8.2 RESULTADOS

Febres, náuseas, vômitos, hipocalcemia, hipofosfatemia e retenção de líquidos relacionados com a terapia não foram limitativos da dose. As toxicidades hematológicas foram as esperadas. Os níveis plasmáticos de G3139 em estado estável que ultrapassaram o nível alvo relevante (1 µg/ml) foram obtidos após 24 horas. Três pacientes obtiveram respostas completas e receberam uma segunda série de terapia. Dois dos pacientes continuaram sem evidências da doença no dia 53 e dia 111. Dois pacientes não revelaram evidências, mas sim neutropenia/trombocitopenia persistente no dia 52 e dia 55. Um deles continua sem revelar evidências da doença no dia

76. Três dos cinco que obtiveram respostas tinham sido sujeitos a tratamento anterior com dose elevada de Ara-C, por isso, foi inesperada a documentação de uma grande resposta a um outro programa de combinação Ara-C, tal como descrito neste estudo, especialmente com a utilização de doses mais baixas às utilizadas nos regimes de tratamentos anteriores.

8.3 CONCLUSÃO

Os resultados indicam que o G3139 é fiável para adicionar aos regimes de indução de vários ciclos para leucemia aguda que, neste estudo, demonstraram uma taxa de resposta de 50%, incluindo pacientes com leucemia aguda refractária e tratamento anterior com doses elevadas de Ara-C. Foram também observadas respostas importantes com a utilização de níveis de doses abaixo do normal de fludarabina e Ara-C, quando combinadas com um regime de bcl-2 anti-sentido.

Todas as referências aqui citadas são especialmente incluídas por referência tal como aqui totalmente previstas.

Tendo sido aqui anteriormente reveladas as concretizações ilustrativas desta invenção, os peritos na técnica irão reconhecer que esta demonstração é apenas ilustrativa de modo que as várias alternativas, adaptações e modificações são incluídas no âmbito da invenção, e são contempladas pelos Requerentes. Consequentemente, esta invenção não se limita às concretizações específicas anteriormente ilustradas, mas é sim definida pelas reivindicações que se seguem.

LISTA DE SEQUÊNCIAS

<110> Warrell, Raymon

Klem, Robert
Fingert, Howard

<120> MÉTODOS DE TRATAMENTO DE CONDIÇÃO PATOLÓGICA
BCL-2 COM OLIGÓMEROS ANTI-SENTIDO BCL-2

<130> 10412-003-228

<140> A atribuir

<141> 2001-08-24

<150> 09/709,170

<151> 2000-11-10

<150> 60/237,009

<151> 2000-09-29

<160> 29

<170> Versão 3.0 da Patente

<210> 1

<211> 20

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 1

cagcgtg'gc catccttccc 20

<210> 2

<211> 35

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 2
cttttcctct gggaaggatg gcgcacgctg ggaga

<210> 3
<211> 20
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 3
gatgcaccta cccagcctcc 20

<210> 4
<211> 33
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 4
acggggtacg gaggctgggt aggtgcatct ggt 33

<210> 5
<211> 20
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 5
acaaaggcat cctgcagttg 20

<210> 6
<211> 36
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 6
cccccaactg caggatgcct ttgtggaact gtacgg 36

<210> 7
<211> 20
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 7
gggaaggat gcgcacgctg 20

<210> 8
<211> 17
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 8
cgcgtgacgac cctcttg 17

<210> 9
<211> 17
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 9
taccgctgc gaccctc 17

<210> 10
<211> 17
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 10
tcctaccgcg tgcgacc 17

<210> 11
<211> 17
<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 11

ccttcctacc gcgtgcg 17

<210> 12

<211> 17

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 12

gacccttct accgcgt 17

<210> 13

<211> 17

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 13

ggagaccctt cctaccg 17

<210> 14

<211> 15

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 14

gcggcggcag cgcgg 15

<210> 15

<211> 15

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 15

cggcggggcg acgga 15

<210> 16

<211> 16

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 16

cgggagcgcg gcgggc 16

<210> 17

<211> 18

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 17

tctccagcg tgcgcat 18

<210> 18

<211> 18

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 18

tgcactcacg ctcgccct 18

<210> 19

<211> 5086

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 19

gcgcccgcc ctccgcgcg cctgcccgcc cgcccgcgc gctcccgcc gccgtctcc 60
gtggccccgc cgcgctgcg ccgcgcgcg tgccagcga ggtgccggg ctccgggcc 120
tcctgccg cggccgtag cgctcggagc gaactgcgcg acgggagtc cgggaggca 180

ccgtagtgcg gccgcccgcg aggaccagga ggaggagaaa ggggtgcgcag cccggaggcg 240
gggtgcgccg gtgggggtgca gcggaagagg ggggtccaggg gggagaactt cgtagcagtc 300
atccttttta ggaaaagagg gaaaaataa aaccctcccc caccacctcc ttctccccac 360
ccctcgcgcg accacacaca gcgcgggctt ctagcgcctc gcaccggcgg gccaggcgcg 420
tctgccttc atttatccag cagcttttcg gaaaatgcat ttgctgttcg gagttaaatc 480
agaagacgat tcctgcctcc gtccccggct cttcatcgt cccatctccc ctgtctctct 540
cctggggagg cgtgaagcgg tcccgtggat agagattcat gcctgtgtcc gcgcgtgtgt 600
gcgcgcgat aaattgccga gaaggggaaa acatcacagg acttctgcga atacgggact 660
gaaaattgta attcatctgc cgccgcgcgt gccaaaaaaa aactcgagct cttgagatct 720
ccggttggga ttctgcgga ttgacatttc tgtgaagcag aagtctggga atcgatctgg 780
aaatcctcct aatttttact cctctcccc ccgactcctg attcattggg aagtttcaaa 840
tcagctataa ctggagagtg ctgaagattg atgggatcgt tgccttatgc atttgttttg 900
gttttacaaa aaggaaactt gacagaggat catgctgtac ttaaaaaata caagtaagtc 960
tcgcacagga aattggttta atgtaacttt caatggaaac ctttgagatt tttacttaa 1020
agtgcattcg agtaaattta atttccaggc agcttaatac attgttttta gccgtgttac 1080
ttgtagtgtg tatgccctgc tttcactcag tgtgtacagg gaaacgcacc tgatttttta 1140
cttattagtt tgtttttct ttaacctttc agcatcacag aggaagtaga ctgatattaa 1200
caatacttac taataataac gtgcctcatg aaataaagat ccgaaaggaa ttggaataaa 1260

aatttctgc gtctcatgcc aagagggaaa caccagaatc aagtgttccg cgtgattgaa 1320
gacaccccc ctgccaagaa tgcaaagcac atccaataaa atagctggat tataactcct 1380
cttctttctc tgggggcccgt ggggtgggag ctggggcgag aggtgccgtt ggccccggtt 1440
gcttttctc tgggaaggat ggcgcacgct gggagaacgg ggtacgaca cccgggagata 1500
gtgatgaagt acatccatta taagctgtcg cagaggggct acgagtggga tgcgggagat 1560
gtgggcgccg cgccccggg ggccgcccc gcaccgggca tcttctctc ccagcccggg 1620
cacacgcccc atccagcgc atcccgcgac ccggtcgcca ggacctgcc gctgcagacc 1680
ccggtgccc ccggcgcgc gcgggggcct gcgctcagcc cggtgccacc tgtgtccac 1740
ctggccctcc gccaaagcgg cgacgacttc tcccgcgct accgcccga cttcgccgag 1800
atgtccagcc agctgcacct gacgcccttc accgcgcggg gacgcttgc cacggtggtg 1860
gaggagctct tcagggaagg ggtgaactgg gggaggattg tggccttct tgagttcgg 1920
ggggtcatgt gtgtggagag cgtcaaccgg gagatgtcgc ccctgggtga caacatgcc 1980
ctgtggatga ctgagtacct gaaccggcac ctgcacacct ggatccagga taaccgaggc 2040
tgggatgcct ttgtggaact gtacggcccc agcatgcggc ctctgtttga tttctcctgg 2100
ctgtctctga agactctgct cagtttggcc ctggtgggag cttgcatcac cctgggtgcc 2160
tatctgagcc acaagtgaag tcaacatgcc tgccccaaac aaatatgcaa aaggttcaact 2220
aaagcagtag aaataatatg cattgtcagt gatgtacat gaaacaaagc tgcaggctgt 2280
ttaagaaaa ataacacaca tataaacatc acacacacag acagacacac acacacacaa 2340
caattaacag tcttcaggca aaacgtcgaa tcagctatct actgccaag ggaaatatca 2400
tttatttttt acattattaa gaaaaagat ttattttttt aagacagtcc catcaaaact 2460
ccgtctttgg aaatccgacc actaattgcc aaacaccgct tcgtgtggct ccacctggat 2520
gttctgtgcc tgtaaacata gattcgttt ccatgttgtt ggccggatca ccactggaag 2580
agcagacgga tggaaaaagg acctgatcat tggggaagct ggctttctgg ctgctggagg 2640

ctggggagaa ggtgttcatt cacttgcatt tctttgccct gggggcgtga tattaacaga 2700
gggaggggttc ccgtgggggg aagtccatgc ctccctggcc tgaagaagag actctttgca 2760
tatgactcac atgatgcata cctggtggga ggaaaagagt tgggaacttc agatggacct 2820
agtaccact gagatttcca cgccgaagga cagcgatggg aaaaatgcc ttaaatcata 2880
ggaaagtatt tttttaagct accaattgtg ccgagaaaag catttttagca atttatacaa 2940
tatcatccag taccttaaac cctgattgtg tatattcata tattttggat acgcaccccc 3000
caactcccaa tactggctct gtctgagtaa gaaacagaat cctctggaac ttgaggaagt 3060
gaacatttcg gtgacttccg atcaggaagg ctagagttac ccagagcatc aggccgccac 3120
aagtgcctgc ttttaggaga ccgaagtccg cagaacctac ctgtgtccca gcttggaggc 3180
ctggtcctgg aactgagccg ggccctcact ggccctcctcc agggatgatc aacagggtag 3240
tgtgtctcc gaatgtctgg aagctgatgg atggagctca gaattccact gtcaagaaaag 3300
agcagtagag ggggtgtggct gggcctgtca ccctggggcc ctccaggtag gcccgtttc 3360
acgtggagca taggagccac gacccttctt aagacatgta tcaactgata gggaaagAAC 3420
agaggccctg ggccttctta tcagaaggac atggtgaagg ctgggaacgt gaggagaggc 3480
aatggccacg gcccatTTTT gctgtagcac atggcacgtt ggctgtgtgg ccttggccac 3540
ctgtgagttt aaagcaaggc ttaaatgac tttggagagg gtcacaaatc ctaaaagaag 3600
cattgaagtg aggtgtcatg gattaattga cccctgtcta tggaattaca tgtaaaacat 3660
tatcttgtca ctgtagtttG gttttatttg aaaacctgac aaaaaaaaaag ttccaggtgt 3720
ggaatatggg ggttatctgt acatcctggg gcattaaaaa aaaatcaatg gtggggaact 3780
ataaagaagt aacaaaagaa gtgacatctt cagcaaataa actaggaaat ttttttttct 3840
tccagtttag aatcagcctt gaaacattga tggaaataact ctgtggcatt attgcattat 3900
ataccattta tctgtattaa ctttggaatg tattctgttc aatgtttaat gctgtggttg 3960
atatttcgaa agctgcttta aaaaaataca tgcatctcag cgtttttttg ttttaattg 4020
tatttagtta tggcctatac actatttgtg agcaaagggtg atcgttttct gtttgagatt 4080
tttatctctt gattcttcaa aagcattctg agaagggtgag ataagccctg agtctcagct 4140
acctaagaaa aacctggatg tcaactggcca ctgaggagct ttgtttcaac caagtcatgt 4200
gcatttccac gtcaacagaa ttgtttattg tgacagttat atctgttgtc ctttgacct 4260
tgtttcttga aggtttctc gtccctgggc aattccgcat ttaattcatg gtattcagga 4320
ttacatgcat gtttggttaa acccatgaga ttcattcagt taaaaatcca gatggcgaat 4380
gaccagcaga ttcaaatcta tgggtggttg acctttagag agttgcttta cgtggcctgt 4440
ttcaacacag acccaccag agccctcctg ccctccttcc gcgggggctt tctcatggct 4500
gtccttcagg gtcttcctga aatgcagtgg tcgttacgct ccaccaagaa agcaggaaac 4560
ctgtggtatg aagccagacc tccccggcg gcctcagggg acagaatgat cagaccttg 4620
aatgattcta atttttaagc aaaatattat tttatgaaag gtttacattg tcaaagtgat 4680
gaatatggaa tatccaatcc tgtgctgcta tcctgcaaaa atcattttaa tggagtcagt 4740
ttgcagtatg ctccacgtgg taagatcctc caagctgctt tagaagtaac aatgaagaac 4800
gtggacgttt ttaatataaa gcctgttttg tcttttgttg ttgttcaaac ggcatcaca 4860
gagtatttga aaaatgtata tatattaaga ggtcacgggg gctaattgct agctggctgc 4920
cttttgctgt ggggttttgt tacctggttt taataacagt aaatgtgcc agcctcttgg 4980
ccccagaact gtacagtatt gtggctgcac ttgctctaag agtagttgat gttgcatttt 5040
ccttattggt aaaaacatgt tagaagcaat gaatgtatat aaaagc 5086

<210> 20
<211> 717
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 20

```
atggcgcacg ctgggagaac ggggtacgac aaccgggaga tagtgatgaa gtacatccat 60
tataagctgt cgcagagggg ctacgagtgg gatgcgggag atgtggggcg cgcgcccccg 120
ggggccgccc ccgcaccggg catcttctcc tcccagcccg ggcacacgcc ccatccagcc 180
gcatcccgcg acccggtcgc caggacctcg ccgctgcaga ccccggtgc ccccggcgcc 240
gccgcggggc ctgcgctcag cccggtgcc a cctgtggtcc acctggccct ccgcccgaagc 300
ggcgacgact tctcccgcgc ctaccgcggc gacttcgccc agatgtccag ccagctgcac 360
ctgacgccct tcaccgcgcg gggacgcttt gccacggtgg tggaggagct cttcagggac 420
ggggtgaact gggggaggat tgtggccttc tttgagtctg gtgggggtcat gtgtgtggag 480
agcgtcaacc gggagatgtc gccctggtg gacaacatcg ccctgtggat gactgagtac 540
ctgaaccggc acctgcacac ctggatccag gataacggag gctgggatgc ctttgtggaa 600
ctgtacggcc ccagcatgcg gcctctgttt gatttctcct ggctgtctct gaagactctg 660
ctcagtttgg ccctggtggg agcttgcata accctgggtg cctatctgag ccacaag 717
```

<210> 21
<211> 239
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 21

```
Met Ala His Ala Gly Arg Thr Gly Tyr Asp Asn Arg Glu Ile Val Met
1           5           10           15
Lys Tyr Ile His Tyr Lys Leu Ser Gln Arg Gly Tyr Glu Trp Asp Ala
20          25          30
Gly Asp Val Gly Ala Ala Pro Pro Gly Ala Ala Pro Ala Pro Gly Ile
35          40          45
Phe Ser Ser Gln Pro Gly His Thr Pro His Pro Ala Ala Ser Arg Asp
50          55          60
Pro Val Ala Arg Thr Ser Pro Leu Gln Thr Pro Ala Ala Pro Gly Ala
65          70          75          80
```

Ala Ala Gly Pro Ala Leu Ser Pro Val Pro Pro Val Val His Leu Ala
85 90 95
Leu Arg Gln Ala Gly Asp Asp Phe Ser Arg Arg Tyr Arg Gly Asp Phe
100 105 110
Ala Glu Met Ser Ser Gln Leu His Leu Thr Pro Phe Thr Ala Arg Gly
115 120 125
Arg Phe Ala Thr Val Val Glu Glu Leu Phe Arg Asp Gly Val Asn Trp
130 135 140
Gly Arg Ile Val Ala Phe Phe Glu Phe Gly Gly Val Met Cys Val Glu
145 150 155 160
Ser Val Asn Arg Glu Met Ser Pro Leu Val Asp Asn Ile Ala Leu Trp
165 170 175
Met Thr Glu Tyr Leu Asn Arg His Leu His Thr Trp Ile Gln Asp Asn
180 185 190
Gly Gly Trp Asp Ala Phe Val Glu Leu Tyr Pro Ser Met Arg Pro
195 200 205
Leu Phe Asp Phe Ser Trp Leu Ser Leu Lys Thr Leu Leu Ser Leu Ala
210 215 220
Leu Val Gly Ala Cys Ile Thr Leu Gly Ala Tyr Leu Ser His Lys
225 230 235

<210> 22
<211> 615
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 22

atggcgcacg ctgggagaac ggggtacgac aaccgggaga tagtgatgaa gtacatccat 60
tataagctgt cgcagagggg ctacgagtgg gatgcgggag atgtgggagc cgcgccccg 120
ggggccgccc ccgcaccggg catcttctcc tcccagcccg ggcacacgcc ccatccagcc 180
gcatcccgcg acccggtcgc caggacctcg ccgctgcaga ccccggtgc ccccggcgcc 240
gccgcggggc ctgcgctcag cccggtgcca cctgtggtcc acctggcctt ccgccaagcc 300
ggcgacgact tctcccgcg ctaccgcggc gacttcgccc agatgtccag ccagctgcac 360
ctgacgccct tcaccgcgcg gggacgcttt gccacggtgg tggaggagct cttcaggagc 420
ggggtgaact gggggaggat tgtggccttc tttgagttcg gtgggggtcat gtgtgtggag 480
agcgtcaacc gggagatgtc gccctggtg gacaacatcg ccctgtggat gactgagtac 540
ctgaaccggc acctgcacac ctggatccag gataacggag gctgggtagg tgcattctggt 600
gatgtgagtc tgggc 615

<210> 23
<211> 205
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Ala His Ala Gly Arg Thr Gly Tyr Asp Asn Arg Glu Ile Val Met
1 5 10 15
Lys Tyr Ile His Tyr Lys Leu Ser Gln Arg Gly Tyr Glu Trp Asp Ala
20 25 30
Gly Asp Val Gly Ala Ala Pro Pro Gly Ala Ala Pro Ala Pro Gly Ile
35 40 45
Phe Ser Ser Gln Pro Gly His Thr Pro His Pro Ala Ala Ser Arg Asp
50 55 60
Pro Val Ala Arg Thr Ser Pro Leu Gln Thr Pro Ala Ala Pro Gly Ala
65 70 75 80
Ala Ala Gly Pro Ala Leu Ser Pro Val Pro Pro Val Val His Leu Ala
85 90 95
Leu Arg Gln Ala Gly Asp Asp Phe Ser Arg Arg Tyr Arg Gly Asp Phe
100 105 110
Ala Glu Met Ser Ser Gln Leu His Leu Thr Pro Phe Thr Ala Arg Gly
115 120 125
Arg Phe Ala Thr Val Val Glu Glu Leu Phe Arg Asp Gly Val Asn Trp
130 135 140
Gly Arg Ile Val Ala Phe Phe Glu Phe Gly Gly Val Met Cys Val Glu
145 150 155 160
Ser Val Asn Arg Glu Met Ser Pro Leu Val Asp Asn Ile Ala Leu Trp
165 170 175
Met Thr Glu Tyr Leu Asn Arg His Leu His Thr Trp Ile Gln Asp Asn
180 185 190
Gly Gly Trp Asp Ala Phe Val Gly Asp Val Ser Leu Gly
195 200 205

<210> 24
<211> 18

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 24

tctcccagcg tgcgcat 18

<210> 25

<211> 17

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 25

tgcactcacc tcggcct 17

<210> 26

<211> 20

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 26

gcgcggcggg cgggcgggca 20

<210> 27

<211> 20

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 27 20

gggcggaggc cggccggcgg 20

<210> 28

<211> 20

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 28 20
agcggcgggcg gcggcagcgc 20

<210> 29
<211> 20
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 29 20
gggccgggaa gggcgcccgc 20

REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para a conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento de Patente Europeia. Embora muito cuidado tenha sido tomado na compilação das referências, erros e omissões não podem ser excluídos e o EPO nega qualquer responsabilidade neste sentido.

Documentos de Patente citados na descrição

- US 5831066 A [0045] [0045]
- US 217082 A [0045]
- US 5734033 A [0045]
- US 465485 A [0045]
- US 080285 A [0045]
- US 6040181 A [0045]
- WO 9104014 A [0116]
- US 4704355 A [0116]
- WO 10412003228 A [0153]
- WO 09709170 A [0153]
- WO 60237009 A [0153]

Literatura citada na descrição, para além das patentes de invenção

- **Bishop.** Cellular Oncogenes and Retroviruses. *Science*, 1987, vol. 235, 305-311 [0003]
- **Tsujimoto et al.** Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science*, 1985, vol. 228, 1440-1443 [0003]
- Molecular Basis Of Human B and T Cell Neoplasia. **Croce et al.** *Advance in Viral Oncology*. Raven Press, 1987, vol. 7, 35-51 [0004]
- **Reed et al.** Differential expression of bcl-2 protooncogene in neuroblastoma and other human tumor cell lines of neural origin. *Cancer Res.*, 1991, vol. 51, 6529-38 [0004]
- **Yunis et al.** Bcl-2 and other genomic alterations in the prognosis of large-cell lymphomas. *N. Engl. J. Med.*, 1989, vol. 320, 1047-54 [0004]
- **Campos et al.** High expression of bcl-2 protein in acute myeloid leukemia is associated with poor response to chemotherapy. *Blood*, 1993, vol. 81, 3091-6 [0004]

- **McDonnell et al.** Expression of the protooncogene bcl-2 and its association with emergence of androgen- independent prostate cancer. *Cancer Res.*, vol. 52, 6940-4 [0004]
- **Lu et al.** Bcl-2 protooncogene expression in Epstein Barr Virus-Associated Nasopharyngeal Carcinoma. *Int. J. Cancer*, 1993, vol. 53, 29-35 [0004]
- **Bonner et al.** bcl-2 protooncogene and the gastrointestinal mucosal epithelial tumor progression model as related to proposed morphologic and molecular sequences. *Lab. Invest.*, 1993, vol. 68, 43A [0004]
- **Reed.** Regulation of apoptosis by bcl-2 family proteins and its role in cancer and chemoresistance. *Curr. Opin. Oncol.*, 1995, vol. 7, 541-6 [0004]
- **Holt et al.** *Mol. Cell Biol.*, 1988, vol. 8, 963-73 [0006]
- **Wickstrom et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, vol. 85, 1028-32 [0006]
- **Zamecnik ; Stephenson.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978, vol. 75, 280-4 [0006]
- **Zamecnik et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, vol. 83, 4143-6 [0006]
- **Grover et al.** Bcl-2 expression in malignant melanoma and its prognostic significance. *Bur. J. Surg. Oncol.*, 1996, vol. 22 (4), 347-9 [0007]
- **Jansen et al.** bcl-2 antisense therapy chemosensitizes human melanoma in SCID mice. *Nat. Med.*, 1998, vol. 4 (2), 232-4 [0007] [0007]
- **Chapman et al.** Phase III multicenter randomized trial of the Dartmouth regimen versus dacarbazine in patients with metastatic melanoma. *J. Clin. Oncol.*, 1999, vol. 17 (9), 2745-51 [0008]
- Physicians' Desk Reference. 2000 [0029] [0029] [0030]
- **Cancer: Principles & Practice of Oncology.** J.B. Lippincott Co, 1985 [0029] [0030]
- **Egholm et al.** *Peptide Nucleic Acids (CPN)-Oligonucleotide Analogues With An Achiral Peptide Backbone*, 1992 [0051]
- **Goodchild.** Conjugates of oligonucleotides and modified oligonucleotides: a review of their synthesis and properties. *Bioconjug. Chem.*, 1990, vol. 1 (3), 165-87 [0051]
- **Stein et al.** *Nucl. Acids Res.*, 1988, vol. 16, 3209-21 [0052]
- **Blake et al.** *Biochemistry*, 1985, vol. 24 (61), 32-38 [0052]

- **Morvan et al.** *Nucl. Acids Res.*, 1986, vol. 14, 5019-32 [0052]
- **Monia.** Evaluation of 2'-modified oligonucleotides containing 2' deoxy gaps as antisense inhibitors of gene expression. *J. Biol. Chem.*, 1993, vol. 268, 14514-22 [0052]
- **Asseline et al.** *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1984, vol. 81, 3297-3301 [0052]
- **Knorre et al.** *Biochemie*, 1985, vol. 67, 783-9 [0052]
- **Vlassov et al.** *Nucl. Acids Res.*, 1986, vol. 14, 4065-76 [0052]
- **Webb et al.** *Nucl. Acids Res.*, 1986, vol. 14, 7661-74 [0052]
- **Boutorin et al.** *FEBS Letters*, 1984, vol. 172, 43-6 [0052]
- **Chi-Hong et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, vol. 83, 7147-51 [0052]
- **Chu et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci, USA*, 1985, vol. 82, 963-7 [0052]
- **Maione et al.** *Cancer Res.*, 1990, vol. 51, 2077-2083 [0091]
- **Tolma et al.** *J. Cell Biol.*, 1993, vol. 122, 497-511 [0091]
- **Tolsma et al.** *J. Cell Biol.*, 1993, vol. 122, 497-511 [0091]
- **Sage et al.** *J. Cell. Biochem.*, 1995, vol. 57, 1329-1334 [0091]
- **Cao.** *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, 1998, vol. 20, 161-176 [0092]
- **Brooks et al.** *Science*, 1994, vol. 264, 569-571 [0092]
- **Hammes et al.** *Nature Medicine*, 1996, vol. 2, 529-533 [0092]
- **Min et al.** *Cancer Res.*, 1996, vol. 56, 2428-33 [0092]
- **Crowley et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, 5021-25 [0092]
- **Robbin ; Kawakami.** *Curr. Opin. Immunol.*, 1996, vol. 8, 628-36 [0095]
- **Langer.** *Science*, 1990, vol. 249, 1527-33 [0116] [0116]
- **Sefton.** *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.*, 1987, vol. 14, 201 [0116]
- **Buchwald et al.** *Surgery*, 1980, vol. 88, 507 [0116]
- **Saudek et al.** *N. Engl. J. Med.*, 1989, vol. 321, 574 [0116]

- the Therapy of Infectious Disease and Cancer. **Treat et al.** Liposomes. Liss, 1989, 353-65 [0116]
- **Lopez-Berestein.** LIPOSOMES. 317-27 [0116]
- Medical Applications of Controlled Release. CRC Press, 1974 [0116]
- Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance. Wiley, 1984 [0116]
- **Ranger ; Peppas.** *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem*, 1953, vol. 23, 61 [0116]
- **Levy et al.** *Science*, 1985, vol. 228, 190 [0116]
- **During et al.** *Ann. Neurol.*, 1989, vol. 25, 351 [0116]
- **Howard et al.** *J. Neurosurg.*, 1989, vol. 71, 105 [0116]
- **Goodson.** *Medical Applications of Controlled Release*, 1984, vol. 2, 115-138 [0117]
- **Waters et al.** *J. Clin. Oncol.*, 2000, vol. 18 (9), 1812-23 [0125] [0142] [0146]
- **Chen et al.** *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.*, 1997, vol. 692, 43-51 [0128]
- **Jansen et al.** *Nat. Med.*, 1998, vol. 4 (2), 232-4 [0129]
- **Raynaud et al.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1997, vol. 281, 420-7 [0131]
- **Cerroni et al.** *Am. J. Dermatopathol.*, 1995, vol. 7, 7-11 [0132]

Lisboa, 26/08/2009

REIVINDICAÇÕES

1. Utilização de uma composição que compreende oligonucleótidos anti-sentido da bcl-2 de SEQ ID NO:17 no fabrico de um medicamento aplicado a um ser humano a uma dose de 3-4 mg/kg/dia, 4-9 mg/kg/dia, 9-10 mg/kg/dia ou 10-50 mg/kg/dia de oligonucleótido anti-sentido da bcl-2, durante 3-9 dias, para o tratamento do cancro num ser humano antes, durante e/ou após administração de um ou mais agentes de terapêutica do cancro.

2. Uma composição que compreende oligonucleótidos anti-sentido da bcl-2 de SEQ ID NO:17 para o tratamento do cancro num ser humano antes, durante e/ou após administração de um ou mais agentes de terapêutica do cancro, **caracterizado por** a composição ser administrada a um ser humano a uma dose de 3-4 mg/kg/dia, 4-9 mg/kg/dia, 9-10 mg/kg/dia ou 10-50 mg/kg/dia de oligonucleótido anti-sentido da bcl-2 durante 3-9 dias.

3. A utilização ou a composição das reivindicações 1 ou 2, **caracterizadas por** a quantidade de oligonucleótido anti-sentido da bcl-2 ser suficiente para administrar 5-7 mg/kg/dia de oligonucleótido.

4. A utilização ou a composição das reivindicações 1 ou 2, **caracterizadas por** o medicamento ou a substância ser adequada para a utilização num sistema de libertação controlada.

5. A utilização ou a composição da reivindicação 4, **caracterizada por** o medicamento ou a substância se destinarem a administração local, subcutânea

ou intradérmica, perfusão intravenosa, administração por meio de bomba, administração através de sistema transdérmico, administração por meio de vesículas ou lipossomas, administração através de implante ou administração através de um material polímero.

6. A utilização ou a composição das reivindicações 1 ou 2, **caracterizadas por** a quantidade de oligonucleótido anti-sentido da bcl-2 ser suficiente para administrar 3-4 mg/kg/dia, 4-9 mg/kg/dia ou 9-10 mg/kg/dia do oligonucleótido durante 4-7 dias.

7. A utilização ou a composição das reivindicações 1 ou 2, **caracterizadas por** o oligonucleótido anti-sentido da bcl-2 compreender, pelo menos, duas ligações fosforotioato.

8. A utilização ou a composição das reivindicações 1 ou 2, **caracterizadas por** o medicamento ou a composição terem a forma de dose unitária, composição para administração parentérica, composição para administração oral ou composição para administração local.

9. A utilização ou a substância da reivindicação 8, **caracterizada por** o medicamento ou a composição serem uma composição para injeção subcutânea.

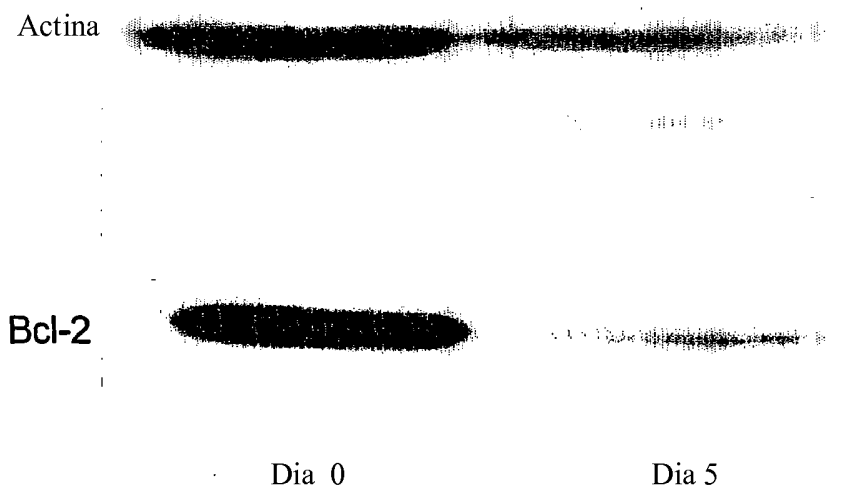


FIG.1

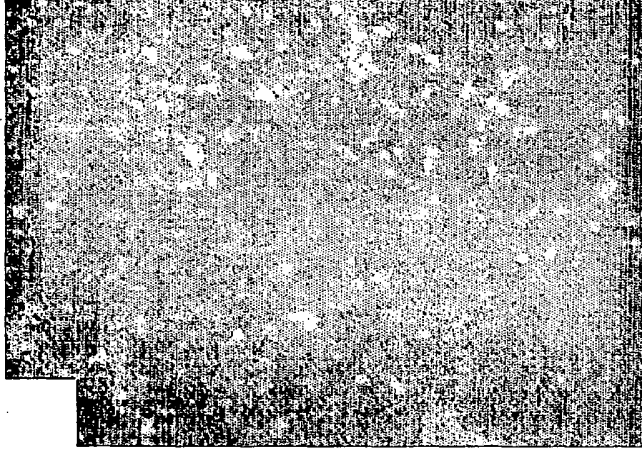


FIG.2C

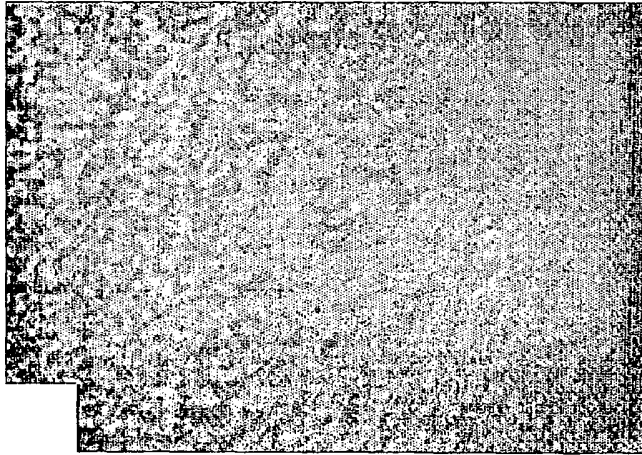


FIG.2B



FIG.2A

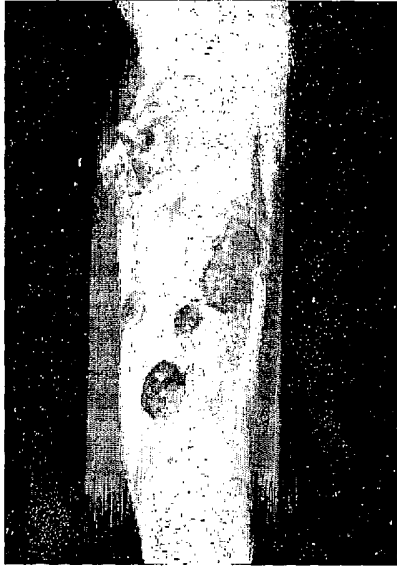


FIG.3A

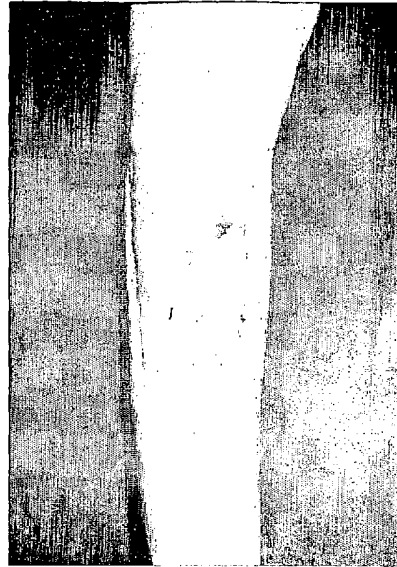


FIG.3B

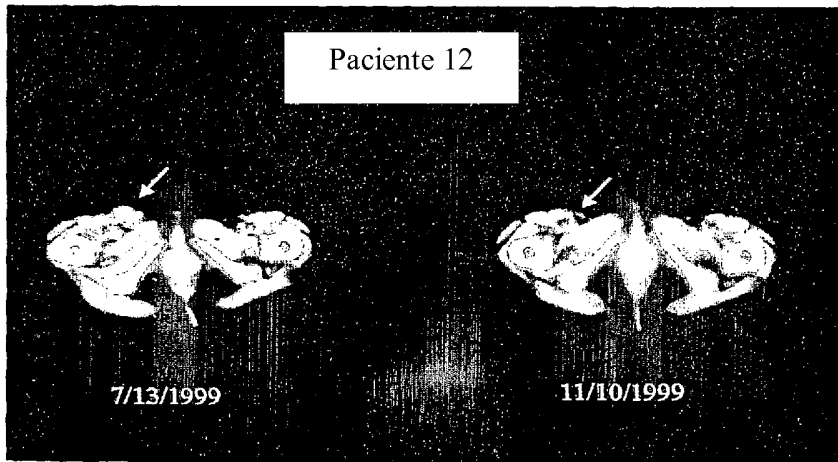


FIG.3C