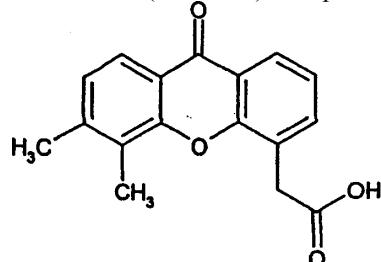


Настоящее изобретение относится к обладающим синергизмом комбинациям 5,6-диметилксантенон-4-уксусной кислоты (DMXAA) и соединения, выбираемого из платиновых соединений, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, которые обладают противоопухолевой активностью. Предпочтительно настоящее изобретение относится к обладающим синергизмом комбинациям 5,6-диметилксантенон-4-уксусной кислоты (DMXAA) и соединения, выбираемого из карбоплатина, гемцитабина, цисплатина, 5-фторурацила, циклофосфамида, этопозида, винкристина, доксорубицина и иринотекана. Более конкретно изобретение касается применения таких комбинаций в терапии злокачественных опухолей и фармацевтических композиций, содержащих такие комбинации.

5,6-Диметилксантенон-4-уксусная кислота (DMXAA) изображается следующей формулой:



Фаза I клинических испытаний DMXAA недавно завершена, с помощью динамического магнитно-резонансного изображения (MRI) показано, что она индуцирует значительное снижение кровотока в опухоли при хорошо переносимых дозах. Таким образом, DMXAA является одним из первых антиваскулярных агентов, для которых активность (необратимое подавление кровотока в опухоли) подтверждено на человеческих опухолях. Эти открытия согласуются с данными преклинических исследований с использованием опухолей и человеческих опухолевых ксенотрансплантатов, которые показали, что ее антиваскулярная активность обеспечивает продолжительное подавление кровотока в опухоли, приводящее к появлению обширных участков геморрагического некроза. Однако в таких исследованиях опухоли быстро возобновляются из выживавших клеток на хорошо кровоснабжаемой периферии. Временное подавление опухолевого роста, отмеченное у большинства преклинических моделей, согласуется с отсутствием опухолевой регрессии, отмеченном на фазе I клинических испытаний, и предполагает, что DMXAA вряд ли будет иметь клиническое применение в качестве одного агента.

Карбоплатин (параплатин®) является координационным соединением платины для химиотерапии злокачественных опухолей. Химическое название карбоплатина - цис-диаммин(1,1-циклобутандикарбоксилato)платина, (SP-4-2).

Цисплатин (платинол®) противоопухолевый платиновый агент для лечения разнообразных типов опухолей.

Гемцитабин (гемзар®) (HCl) является аналогом нуклеозида с антиметаболитными свойствами, обладающим противоопухолевой активностью. Гидрохлорид гемцитабина - это моногидрохлорид 2'-дезокси-2',2'-дифторцитидин ( $\beta$ -изомер).

5-Фторурацил (адруцил®) является противоопухолевым антиметаболитом, вводимым с помощью инъекций. Его химическое название 5-фтор-2,4(1Н,3Н)-пиримидиндион.

Циклофосфамид (цитоксан®) доступен в виде лиофилизированной лепешки для инъекции или таблеток для перорального применения. Циклофосфамид представляет собой синтетический противоопухолевой препарат, химически родственный азотистым ипритам. Химическое название циклофосфамида - моногидрат 2-[бис(2-хлорэтил)амино]тетрагидро-2Н-1,3,2-оксазафосфорин-2-оксида.

Доксорубицин-гидрохлорид (адриамицин®) является цитотоксическим антрациклическим антибиотиком, выделенным из *Streptomyces reuecttii* var. *caesius*. Он имеет химическое название гидрохлорид (8S,10S)-10-[(3-амино-2,3,6-тридезокси- $\alpha$ -L-ликсо-гексопиранозил)окси]-8-гликолил-7,8,9,10-тетрагидро-6,8,11-тригидрокси-1-метокси-5,12-нафтацендиона.

Винкристин (онковин®, винкасар PFS®, винкrex®) является противоопухолевым алкалоидом винка.

Этопозид (вепезид®) (также называемый обычно как VP-16) является ингибитором топоизомеразы II. Это полусинтетическое производное подофиллоксина. Он представляет собой 4'-деметилэпиподофиллотоксин-9-(4,6-O-этилиден- $\beta$ -D-глюкопиранозид). Этопозид доступен для перорального и внутривенного введения.

Иринотекан (кампто®, камптосар®) является ингибитором топоизомеразы I. Это полусинтетическое производное камптотецина. Химическое название тригидрат моногидрохлорида (S)-4,11-диэтил-3,4,12,14-тетрагидро-4-гидрокси-3,14-диоксо-1Н-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2]хинолин-9-ил-(1,4'-бипиперидин)-1'-карбоксилата.

В настоящее время неожиданно обнаружено, что при комбинировании DMXAA или вместе, или последовательно с соединениями, выбираемыми из платиновых соединений, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II,

предпочтительно с соединением, выбираемым из карбоплатина, гемцитабина, цисплатина, 5-фторурацила, циклофосфамида, этопозида, винкристина, доксорубицина и иринотекана, достигается потенцирование противоопухолевой активности.

Таким образом, по первому аспекту настоящее изобретение обеспечивает способ лечения рака, который включает введение млекопитающему, включая человека, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и совместное или последовательное введение эффективного количества соединения, выбираемого из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II.

По другому аспекту настоящее изобретение обеспечивает применение DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира при получении лекарственного средства для введения или совместно, или раздельно с соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, для лечения рака.

В дальнейшем аспекте настоящее изобретение обеспечивает применение соединения, выбираемого из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, при получении лекарственного средства для введения или совместно, или последовательно с DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой солью, или ее сложным эфиром с целью лечения рака.

Еще в другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает комбинацию DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира с соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II.

В соответствии с еще другим аспектом по настоящему изобретению обеспечивается набор, включающий в ассоциации для раздельного введения DMXAA, или ее фармацевтически приемлемую соль, или ее сложный эфир и соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II.

Примерами соответствующих платиновых соединений являются цисплатин и карбоплатин.

Примером соответствующего алкилирующего агента является циклофосфамид.

Примером соответствующего антрациклина является доксорубицин.

Примером соответствующего ингибитора топоизомеразы II является этопозид.

Примерами соответствующих антиметаболитов являются гемцитабин и 5-фторурацил.

Примером соответствующего ингибитора топоизомеразы I является иринотекан.

Таким образом, по настоящему изобретению соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, может быть, например, соединением, выбираемым из карбоплатина, гемцитабина, цисплатина, 5-фторурацила, циклофосфамида, этопозида, винкристина, доксорубицина и иринотекана.

В одном варианте воплощения по настоящему изобретению соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является соединением, выбираемым из карбоплатина, гемцитабина, цисплатина, 5-фторурацила, циклофосфамида, этопозида, винкристина и доксорубицина.

В другом варианте воплощения по настоящему изобретению соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является соединением, выбираемым из карбоплатина, гемцитабина, цисплатина, циклофосфамида, этопозида, винкристина и иринотекана.

В другом варианте воплощения по настоящему изобретению соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является соединением, выбираемым из карбоплатина, гемцитабина, цисплатина, циклофосфамида, этопозида и винкристина.

В другом варианте воплощения по настоящему изобретению соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является соединением, выбираемым из гемцитабина, цисплатина, 5-фторурацила, доксорубицина и иринотекана.

В другом варианте воплощения по настоящему изобретению соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является соединением, выбираемым из гемцитабина, цисплатина и иринотекана.

В другом варианте воплощения по настоящему изобретению соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является соединением, выбираемым из гемцитабина,

цисплатина, 5-фторурацила и доксорубицина.

В другом варианте воплощения по настоящему изобретению DMXAA применяется или присутствует либо DMXAA и соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, применяются или присутствуют в отсутствие антитела.

В другом варианте воплощения по настоящему изобретению, где соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является 5-фторурацил или доксорубицин, DMXAA применяется или присутствует либо DMXAA и соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, применяются или присутствуют в отсутствие антитела.

#### **Краткое описание чертежей**

Фиг. 1. Иллюстрирует задержку роста опухолей штамма MDAH-MCa-4 после внутрибрюшинной обработки мышей одним химиотерапевтическим препаратом (○) или совместным введением препарата с DMXAA (80 мкмоль/кг) (●). Величины означают среднее значение ± стандартное отклонение для групп из 6-8 мышей, не принимая во внимание смерти (d) или излечения (c), количество которых указано перед косой скобкой. Знаки \* и \*\* отображают  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ , соответственно, для значения задержки роста относительно соответствующего контроля ( $\pm$ DMXAA).

Фиг. 2. Левая панель: концентрации свободной платины в плазме после введения одного карбоплатина (316 мкмоль/кг) (●) или совместного введения с DMXAA (80 мкмоль/кг) (○). Правая панель: концентрации всей платины в опухоли после введения одного карбоплатина (316 мкмоль/кг) (●) или совместного введения с DMXAA (80 мкмоль/кг) (○).

DMXAA, или ее фармацевтически приемлемая соль, или ее сложный эфир и соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, могут быть введены совместно или последовательно. Предпочтительно DMXAA, или ее фармацевтически приемлемая соль, или ее сложный эфир и соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, вводят совместно.

Предпочтительно DMXAA, или ее фармацевтически приемлемая соль, или ее сложный эфир и соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, присутствуют в потенсирующем соотношении.

Термин «потенсирующее соотношение» используется в контексте для указания на то, что DMXAA, или ее фармацевтически приемлемая соль, или ее сложный эфир и соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, присутствуют в таком соотношении, что противоопухолевая активность комбинации выше, чем активность только DMXAA или только соединения, выбираемого из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, или выше аддитивной активности, которая была бы прогнозирована для комбинаций на основе активностей индивидуальных компонентов. Следовательно, индивидуальные компоненты проявляют синергизм в комбинации при условии, что они присутствуют в потенсирующем соотношении.

Потенсирующее соотношение DMXAA и антиметаболита, например гемцитабина и фторурацила, которое может быть успешно использовано в терапии рака, находится в пределах 1:100 до 1:2. Соответствующее потенсирующее соотношение находится в пределах 1:75 до 1:5. Дополнительное потенсирующее соотношение находится в пределах 1:50 до 1:10. Предпочтительное потенсирующее соотношение DMXAA:антиметаболит находится в пределах 1:30 до 1:15, более предпочтительно в пределах 1:25 до 1:20.

Потенсирующее соотношение DMXAA и соединения платины, например карбоплатина или цисплатина, которое может быть успешно использовано в терапии рака, находится в пределах 20:1 до 1:20. Например, в случае карбоплатина потенсирующее соотношение DMXAA:карбоплатин, которое может быть успешно использовано в терапии рака, находится в пределах 1:20 до 1:1. В случае карбоплатина соответствующее потенсирующее соотношение находится в пределах 1:16 до 1:2. Дополнительное потенсирующее соотношение находится в пределах 1:10 до 1:2. Предпочтительное в случае карбоплатина потенсирующее соотношение находится в пределах 1:8 до 1:3, более предпочтительно соотношение DMXAA:карбоплатин в пределах 1:6 до 1:4. Подобным образом в случае цисплатина потенсирующее соотношение DMXAA:цисплатин, которое может быть успешно использовано в терапии рака, находится в пределах 20:1 до 1:1. В случае цисплатина соответствующее потенсирующее соотношение находится в пределах 10:1 до 1:1. Дополнительное потенсирующее соотношение в случае цисплатина находится в интервале 8:1 до 1:1. Предпочтительное потенсирующее соотношение в случае цисплатина находится в пределах 6:1 до 2:1, более предпочтительное соотношение DMXAA:цисплатин находится в пределах 4:1

до 2:1.

Потенцирующее соотношение DMXAA и алкилирующих агентов, например циклофосфамида, которое может быть успешно использовано в терапии рака, находится в пределах 1:100 до 1:2. Соответствующее потенцирующее соотношение находится в пределах 1:50 до 1:5. Дополнительное потенцирующее соотношение находится в пределах 1:30 до 1:5. Предпочтительное потенцирующее соотношение DMXAA:алкилирующий агент находится в пределах 1:20 до 1:8, более предпочтительно в пределах 1:16 до 1:12.

Потенцирующее соотношение DMXAA и ингибиторов топоизомеразы II, например этопозида, которое может быть успешно использовано в терапии рака, находится в пределах 10:1 до 1:10. Соответствующее потенцирующее соотношение находится в пределах 5:1 до 1:5. Дополнительное потенцирующее соотношение находится в пределах 5:1 до 1:3. Предпочтительное потенцирующее соотношение DMXAA:ингибитор топоизомеразы II находится в пределах 3:1 до 1:2, более предпочтительно в пределах 2:1 до 1:2.

Потенцирующее соотношение DMXAA и алкалоидов винка, например винкристина, которое может быть успешно использовано в терапии рака, находится в пределах 200:1 до 5:1. Соответствующее потенцирующее соотношение находится в пределах 150:1 до 10:1. Дополнительное потенцирующее соотношение находится в пределах 100:1 до 40:1. Предпочтительное потенцирующее соотношение DMXAA:алкалоид винка находится в пределах 100:1 до 60:1, более предпочтительно в пределах 90:1 до 70:1.

Потенцирующее соотношение DMXAA и антрациклинов, например доксорубицина, которое может быть успешно использовано в терапии рака, находится в пределах 50:1 до 1:1. Соответствующее потенцирующее соотношение находится в пределах 25:1 до 1:1. Дополнительное потенцирующее соотношение находится в пределах 16:1 до 2:1. Предпочтительное потенцирующее соотношение DMXAA:антрациклин находится в пределах 8:1 до 2:1, более предпочтительно в пределах 6:1 до 4:1.

Предпочтительно фармацевтически приемлемой солью DMXAA является натриевая соль.

В одном варианте воплощения изобретения соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является карбоплатин.

В одном варианте воплощения изобретения соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является гемцитабин.

В одном варианте воплощения изобретения соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является цисплатин.

В одном варианте воплощения изобретения соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является 5-фторурацил.

В одном варианте воплощения изобретения соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является циклофосфамид.

В одном варианте воплощения изобретения соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является этопозид.

В одном варианте воплощения изобретения соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является винкристин.

В одном варианте воплощения изобретения соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является доксорубицин.

В одном варианте воплощения изобретения соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, является иринотекан.

Количество комбинации DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбираемого из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, необходимое для эффективности в качестве противоопухолевого агента, будет, безусловно, изменяться и в конечном итоге выбираться по усмотрению практикующего врача. Факторы, которые должны учитываться, включают путь введения, свойства лекарственной формы, массу тела, возраст и общее состояние мlekopитающего, природу и тяжесть заболевания, которое должно быть подвергнуто терапии.

Соответствующая эффективная доза DMXAA или ее фармацевтически приемлемой соли для введения человеку или совместно, или последовательно с соединением, выбираемым из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболи-

тов и ингибиторов топоизомеразы II, для лечения злокачественной опухоли находится в пределах 500 до 4900 мг/м<sup>2</sup>. Например, от 600 до 4900 мг/м<sup>2</sup>, приемлемо 600-3100 мг/м<sup>2</sup>, более приемлемо 1000-2500 мг/м<sup>2</sup> и особенно 1100-1500 мг/м<sup>2</sup>. Альтернативно количество DMXAA или ее фармацевтически приемлемой солью может быть, например, от 2500 до 4000 мг/м<sup>2</sup>, приемлемо от 1200 до 3500 мг/м<sup>2</sup>, более приемлемо от 200 до 3000 мг/м<sup>2</sup>, еще более приемлемо от 1200 до 2500 мг/м<sup>2</sup>, конкретно от 2500 до 3500 мг/м<sup>2</sup> и более конкретно от 2250 до 2750 мг/м<sup>2</sup>. Предпочтительно DMXAA или ее фармацевтически приемлемую соль вводят внутривенно один раз каждую неделю или каждые три недели.

Соответствующая эффективная доза платинового соединения, например карбоплатина или цисплатина, для введения человеку или совместно, или последовательно с DMXAA или ее фармацевтически приемлемой солью для терапии злокачественной опухоли находится, например, в пределах 10-500 мг/м<sup>2</sup>.

В случае карбоплатина соответствующая эффективная доза для введения человеку или совместно, или последовательно с DMXAA или ее фармацевтически приемлемой солью для терапии злокачественной опухоли находится, например, в пределах 100-500 мг/м<sup>2</sup>. Например, от 100 до 300 мг/м<sup>2</sup>, приемлемо от 250 до 400 мг/м<sup>2</sup>, более приемлемо от 150 до 350 мг/м<sup>2</sup>, конкретно от 150 до 250 мг/м<sup>2</sup> и более конкретно от 175 до 225 мг/м<sup>2</sup>.

Подобным образом в случае цисплатина, соответствующая эффективная доза для введения человеку или совместно, или последовательно с DMXAA или ее фармацевтически приемлемой солью для терапии злокачественной опухоли находится в пределах 10-200 мг/м<sup>2</sup>. Например, от 20 до 150 мг/м<sup>2</sup>, приемлемо от 30 до 120 мг/м<sup>2</sup>, более приемлемо от 40 до 100 мг/м<sup>2</sup>, конкретно от 40 до 80 мг/м<sup>2</sup>, более конкретно от 75 до 100 мг/м<sup>2</sup>.

Предпочтительно платиновое соединение, например карбоплатин или цисплатин, вводят внутривенно один раз каждые 4 недели.

Соответствующая эффективная доза антиметаболита, например гемцитабина или 5-фторурацила, для введения человеку или совместно, или последовательно с DMXAA или ее фармацевтически приемлемой солью для терапии злокачественной опухоли находится, например, в пределах 400-2000 мг/м<sup>2</sup>. Например, от 500 до 1500 мг/м<sup>2</sup>, приемлемо от 600 до 1200 мг/м<sup>2</sup>, более приемлемо от 600 до 1000 мг/м<sup>2</sup>, конкретно от 800 до 1200 мг/м<sup>2</sup>, более конкретно от 800 до 1000 мг/м<sup>2</sup>, предпочтительно от 750 до 980 мг/м<sup>2</sup>, более предпочтительно от 750 до 965 мг/м<sup>2</sup>.

Соответствующая эффективная доза антиметаболита, например гемцитабина или 5-фторурацила, для введения человеку или совместно, или последовательно с DMXAA или ее фармацевтически приемлемой солью для терапии злокачественной опухоли находится, например, в пределах 2-20 мг/кг. Например, от 2 до 15 мг/кг, приемлемо от 2 до 8 мг/кг, более приемлемо от 6 до 12 мг/кг, конкретно от 4 до 10 мг/кг и предпочтительно от 4 до 6 мг/кг.

Предпочтительно гемцитабин вводят внутривенно каждую неделю один раз, и предпочтительно 5-фторурацил вводят через день в течение примерно 2 недель.

Соответствующая эффективная доза алкилирующего агента, например циклофосфамида, для введения человеку или совместно, или последовательно с DMXAA или ее фармацевтически приемлемой солью для терапии злокачественной опухоли находится, например, в пределах 100-1000 мг/м<sup>2</sup>. Например, от 200 до 800 мг/м<sup>2</sup>, приемлемо от 200 до 500 мг/м<sup>2</sup>, более приемлемо от 350 до 700 мг/м<sup>2</sup>, конкретно от 450 до 650 мг/м<sup>2</sup>, более конкретно от 500 до 600 мг/м<sup>2</sup> и предпочтительно от 550 до 650 мг/м<sup>2</sup>.

Предпочтительно алкилирующий агент, например циклофосфамид, вводят внутривенно один раз каждые 4 недели.

Соответствующая эффективная доза ингибитора топоизомеразы II, например этопозида, для введения человеку или совместно, или последовательно с DMXAA или ее фармацевтически приемлемой солью для терапии злокачественной опухоли находится, например, в пределах 5-150 мг/м<sup>2</sup>.

Например, от 5 до 120 мг/м<sup>2</sup>, приемлемо от 10 до 100 мг/м<sup>2</sup>, более приемлемо от 15 до 50 мг/м<sup>2</sup>, конкретно от 60 до 120 мг/м<sup>2</sup>, более конкретно от 35 до 75 мг/м<sup>2</sup> и предпочтительно от 30 до 60 мг/м<sup>2</sup>.

Предпочтительно ингибитор топоизомеразы, например этопозид, вводят внутривенно ежедневно в течение 4-7 дней.

Соответствующая эффективная доза алкалоида винка, например винкристина, для введения человеку или совместно, или последовательно с DMXAA или ее фармацевтически приемлемой солью для терапии злокачественной опухоли находится, например, в пределах 0,1-2,0 мг/м<sup>2</sup>.

Например, от 0,125 до 1,75 мг/м<sup>2</sup>, приемлемо от 0,15 до 1,5 мг/м<sup>2</sup>, более приемлемо от 0,2 до 1,4 мг/м<sup>2</sup>, конкретно от 0,6 до 1,4 мг/м<sup>2</sup>, более конкретно от 0,8 до 1,4 мг/м<sup>2</sup> и предпочтительно от 0,5 до 1,0 мг/м<sup>2</sup>.

Предпочтительно алкалоид винка, например винкристин, вводят внутривенно один раз каждую неделю.

Соответствующая эффективная доза антрациклина, например, доксорубицина, для введения человеку или совместно, или последовательно с DMXAA или ее фармацевтически приемлемой солью для терапии злокачественной опухоли находится, например, в пределах 5-100 мг/м<sup>2</sup>.

Например, от 10 до 80 мг/м<sup>2</sup>, приемлемо от 20 до 60 мг/м<sup>2</sup>, более приемлемо от 40 до 75 мг/м<sup>2</sup>, конкретно от 20 до 50 мг/м<sup>2</sup>, более конкретно от 15 до 35 мг/м<sup>2</sup> и предпочтительно от 40 до 60 мг/м<sup>2</sup>.

Предпочтительно антрациклин, например доксорубицин, вводят внутивенно один раз каждые 3-4 недели.

DMXAA или ее фармацевтически приемлемая соль, или ее сложный эфир и соединение, выбираемое из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, могут быть введены в любой подходящей форме. Однако для применения по настоящему изобретению комбинация DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбиаемого из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, предпочтительно присутствуют в виде фармацевтической композиции.

Фармацевтические композиции включают активные ингредиенты (т.е. комбинацию DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбиаемого из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II) наряду с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями и необязательно другие терапевтические и/или профилактические ингредиенты. Носитель или носители должны быть приемлемы в смысле их совместимости с другими ингредиентами состава и не быть вредными для принимающего их пациента.

Соответственно настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую комбинацию DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбиаемого из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, совместно с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями.

Настоящее изобретение включает в дальнейшем способ получения фармацевтической композиции, включающий совмещение комбинации DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбиаемого из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями.

Фармацевтические композиции включают такие, пригодные для перорального, местного (включая кожное, трансбукиальное и подъязычное), ректальное и парентеральное (включая подкожное, внутривенное, внутримышечное и внутривенное) введение, а также введение с помощью носожелудочного зонда. Композиции, где уместно, могут быть для удобства представлены в дискретных стандартных дозах и могут быть получены любым из способов, хорошо известных специалистам в области фармации. Все способы включают этап объединения активных ингредиентов с фармацевтически приемлемым носителем или носителями, например, жидкими носителями или тонко измельченными твердыми носителями, или обоими и затем, если необходимо, формирование продукта в требуемую лекарственную форму.

Предпочтительно фармацевтические композиции адаптируют для парентерального введения, наиболее предпочтительно внутривенное введение. Например, соединения могут вводиться внутривенно с использованием для каждого соединения лекарственных форм, уже известных в данной области.

Фармацевтические композиции, пригодные для перорального введения, где носителем является твердое вещество, наиболее предпочтительно присутствуют в виде стандартных лекарственных форм, таких как блюсы, капсулы или таблетки, каждая содержит заданное количество активных ингредиентов. Таблетка может быть приготовлена прессованием или формированием, необязательно с одним или несколькими сопутствующими ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть приготовлены путем сжатия активных соединений в соответствующем аппарате в «свободно текущей» форме, такой как порошок или гранулы, необязательно смешанные со связующим веществом, смазывающим веществом, инертным разбавителем, смягчающим агентом, поверхностно-активным агентом или диспергирующим агентом. Фасонные таблетки могут быть приготовлены путем отливки в инертном жидким разбавителем. Таблетки необязательно могут быть с нанесенным покрытием и, если не имеют нанесенного покрытия, необязательно могут быть с бороздкой. Капсулы могут быть приготовлены заполнением капсулных оболочек активными ингредиентами, или одним, или в смеси с одним или несколькими вспомогательными ингредиентами и затем герметизацией капсул обычным способом. Кахетки аналогичны капсулам, где активный ингредиент вместе с вспомогательным ингредиентом или вспомогательными ингредиентами герметизируют в оболочке из рисовой бумаги. Комбинация DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбиаемого из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, может также быть разработана в виде диспергируемых гранул, которые могут быть, например, суспендированы в воде перед введением или добавлены в пищу. Гранулы могут быть упакованы, например, в пакет-саше. Композиции, пригодные для перорального введения, где носителем является жидкость, могут быть представлены в виде раствора или суспензии в водной жидкости или неводной жидкости, или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде.

Композиции для перорального введения включают лекарственные формы с регулируемым высвобождением, например, таблетки, в которых активные ингредиенты входят в состав соответствующей ре-

гулирующей высвобождение матрицы или имеют покрытие из соответствующей регулирующей высвобождение пленки. Такие лекарственные формы могут быть особенно удобны для профилактического применения.

Активные ингредиенты могут также иметь лекарственную форму в виде раствора или суспензии, пригодной для введения через носожелудочный зонд.

Фармацевтические композиции, пригодные для ректального введения, где носителем является твердое вещество, наиболее предпочтительно представлены в виде суппозиториев со стандартными дозами. Соответствующие носители включают масло бобов какао и другие материалы, обычно используемые в этой области. Суппозитории для удобства могут быть образованы путем смешения активной комбинации с размягченным или расплавленным носителем (носителями), затем охлаждением и профильтрованием в формах.

Фармацевтические композиции, пригодные для парентерального введения, включают стерильные растворы или суспензии активной комбинации в водных или маслянистых носителях. Препараты для инъекций могут быть адаптированы для болюсной инъекции или продолжительной инфузии. Такие препараты удобно представлять в контейнерах со стандартной дозой или в мультидозовых контейнерах, которые после введения композиции герметизируют до тех пор, пока не потребуется их применение. Альтернативно активные ингредиенты могут быть в виде порошка, в состав которого входит соответствующий носитель, такой как стерильная апирогенная вода, добавляемая перед применением.

Фармацевтические композиции могут быть, например, в виде липосомальных лекарственных форм.

Комбинация DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбиравшегося из соединений платины, алкалоидов винка, алкилирующих агентов, антрациклинов, ингибиторов топоизомеразы I, антиметаболитов и ингибиторов топоизомеразы II, может также быть разработана в виде долго действующей депо-формы препарата, которая может быть введена путем внутримышечной инъекции или путем имплантации, например, подкожно или внутримышечно. Депо-формы препаратов могут включать, например, соответствующие полимерные или гидрофобные вещества или ионообменные смолы. Такие долго действующие лекарственные формы особенно удобны для профилактического применения.

Следует понимать, что в добавление к упомянутым выше ингредиентам-носителям фармацевтические композиции для различных путей введения, описанных выше, могут включать, если уместно, один или несколько дополнительных ингредиентов-носителей, таких как разбавители, буферы, ароматизирующие агенты, связывающие вещества, поверхностно-активные агенты, загустители, смягчающие вещества, консерванты (включая антиоксиданты) и тому подобное, и вещества, включаемые с целью придания композиции изоточности по отношению к крови предполагаемого реципиента.

DMXAA может быть получена в соответствии со способами, описанными в публикации Journal of Medicinal Chemistry, 34(1): 217-22, январь 1991 г., содержание которой включено в контекст путем цитирования.

Соединения платины, алкалоиды винка, алкилирующие агенты, антрациклины, ингибиторы топоизомеразы I, антиметаболиты и ингибиторы топоизомеразы II, например карбоплатин, гемцитабин, цисплатин, 5-фторурацил, циклофосфамид, этопозид, винクリстин, доксорубицин и иринотекан, являются хорошо известными соединениями и могут быть получены способами, известными специалистам в данной области.

Понятно, что настоящее изобретение охватывает все комбинации соответствующих и предпочтительных групп соединений, описанных выше.

Злокачественные опухоли, которые могут подвергаться терапии по настоящему изобретению, включают, но без ограничения, солидные опухоли, например немелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак яичников, колоректальный рак, рак предстательной железы и рак желудка.

Настоящее изобретение будет теперь иллюстрироваться, но не подразумевается, что будет ограничено, посредством следующих примеров.

### Примеры

Пример 1.

Материалы и способы.

Соединения: исходный раствор DMXAA, синтезированной в Центре исследований Окландского онкологического общества, был приготовлен в забуференном фосфатом физиологическом растворе (ЗФР), защищен от света и хранился в замороженном состоянии. Цисплатин (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) растворяли в 0,9% физиологическом растворе. Исходные растворы карбоплатина и 5-фторурацила (Bristol Myers Squibb, Sermonita, Itally) и циклофосфамида (Mead Johnson Oncology Products, Princeton, NJ) разбавляли стерильной водой. Доксорубицин (Farmitalia Carlo Erba Pty Ltd., Clayton North, Australia), этопозид и винクリстин (Bristol Myers Squibb, Sermonita, Itally) разбавляли, используя 0,9% физиологический раствор. Все соединения вводили мышам путем внутрибрюшинной инъекции в дозе 0,01 мл/г массы тела.

Животные и опухоли: мышнюю карциному молочной железы MDAH-MCa-4 выращивали из

штаммов, замороженных в жидким азоте при шестой перевиваемой генерации. Опухоли (при использовании восьмой перевиваемой генерации) выращивали из 20 мкл клеточной супензии (7 мг уплотненных клеток), перевивали в.м. (внутримышечно) в правую брюхоножную мышцу мышей-самок линии С<sub>3</sub>H/HeN (массой 22-25 г во время обработки). Мышей рандомизировали для обработки, которую начинали, когда величина опухоль + диаметр лапки достигала 10-11 мм (0,5-0,7 г опухоли).

Проявляемая токсичность и противоопухолевая активность: мышей обрабатывали химиотерапевтическими препаратами в диапазоне доз при 1,33-кратном увеличении до ожидаемой максимально переносимой дозы (MTD), установленной в предварительных экспериментах или по данным литературы. Токсичность оценивали как летальность, потерю массы тела измеряли четыре дня после обработки. Всех агонизирующих животных забивали и при анализе рассматривали это как гибель, связанную с препаратом. Диаметр лапки с опухолью измеряли 3 раза в неделю после обработки. Противоопухолевую активность оценивали по задержке опухолевого роста, определяемую как разницу во времени до достижения конечной точки 13 мм (1,5 г опухоли) для обработанных и контрольной групп. Ответы классифицировали как излечение, если у животных не было явной опухоли в течение 120 дней после обработки. Статистически значимое подавление опухолевого роста анализировали с помощью дисперсионного анализа ANOVA, используя статистическое программное обеспечение SAS для Windows, критерий Даннетта, чтобы определить значения p для различий между обрабатываемыми группами. В экспериментах со значительным числом излечений (отсутствие опухоли в течение более 120 дней после обработки) статистическую значимость исследовали с помощью непараметрического дисперсионного анализа Крускала-Уоллиса, используя статистическое программное обеспечение SAS для Windows и различие между обработанной и контрольной группами с помощью критерия Данна с использованием статистической программы SigmaStat, версия 2,0. Градиент и стандартное отклонение дозозависимых кривых определяли с помощью линейной регрессии, используя программу SigmaStat и фактор модификации дозы (DMF), вычисленный как градиент с DMXAA/градиент без DMXAA.

Подавление опухолевого кровотока: анализировали опухолевый кровоток, используя флуоресцентный перфузионный маркер Hoechst 33342 (8 мг/мл в физиологическом растворе), который вводили внутривенно в различные периоды времени после обработки препаратом. Через 2 мин мышам делали надрезы, и готовили замороженные срезы (14 мкм) из дистального, центрального и проксимального участков каждой опухоли. Срезы исследовали на эпифлуоресцентном микроскопе Nikon при увеличении 10x, используя блочный фильтр UV-1A (возбуждение 365 нм, защитный фильтр 400 нм и дихроичное зеркало 400 нм). Использовали сеточку для образцов с 81 квадратом (100x100 мкм) для точечной количественной оценки окрашивания. Вся поверхность каждого среза была разделена бороздками, чтобы избежать смешения между перipherическими и центральными участками (которые были хуже перфузированы). Нормальную ткань исключали из рассмотрения, но включали некротические зоны. Различия между группами были обработаны для определения значимости с использованием t-критерия Стьюдента (программа SigmaStat, версия 2,0; Jandel Scientific Limited).

Фармакокинетика: мышам-самкам линии С<sub>3</sub>H/HeN с опухолями MDH-Mca-4 (0,5-0,7 г) вводили внутрибрюшинно карбоплатин (316 мкмоль/кг), DMXAA (80 мкмоль/кг) или одновременно карбоплатин и DMXAA в тех же самых дозах. В различные периоды времени отбирали кровь из ретроорбитального синуса мышей под наркозом в пробирки с гепарином и плазму отделяли центрифугированием. Опухоли быстро расслаивали и замораживали при -80°C. На каждую временную точку использовали группу из 2-5 мышей.

Анализ платины масс-спектрометрией с индуктивно связанный плазмой (ICP-MS): концентрации платины в плазме и опухолях определяли следующим ранее опубликованным способом ICP-MS. Опухоли взвешивали, помещали в пробирки на 15 мл с завинчивающимся колпачком, содержащие 1 мл 70% азотной кислоты (Riedel-de-Haen, Seelze, Germany), и оставляли стоять в течение ночи при комнатной температуре. На следующий день опухоли подвергали вывариванию в течение 2 ч при 90°C в наполненной песком жаровне, расположенной в вытяжном шкафу. После охлаждения растворенные опухолевые ткани доводили до объема в мерных колбах на 10 мл, используя воду Milli-Q, и затем вводили в ICP-MS. Плазму готовили для анализа путем осаждения белка плазмы метанолом. Плазму добавляли к равному объему охлажденного льдом метанола, перемешивали и оставляли стоять при -20°C в течение 18 ч. Образец центрифугировали, и аликвоту супернатанта разбавляли (1:40) в 0,1% азотной кислоте перед введением в ICP-MS.

Система ICP-MS включает масс-спектрометр с индуктивно связанный плазмой модели HP-4500 фирмы Hewlett Packard с никелевым дозирующим конусом, распылитель Бабингтона (v-образная бороздка) и двухходовую камеру впрыска Скотта, поддерживаемую при 2°C. Платину считывали при 195 атомных единицах массы с временем пребывания в системе 100 мс и дополнительным временем 6000 мс. Калибровочные кривые были линейными ( $r^2 > 0,98$ ) в широком диапазоне (0,5 до 5000 нг/мл). Изменчивость и восстановление во время анализов и между анализами были в приемлемых пределах. Пределы количественного определения составили 12,5 пг платины на мл плазмы и 10 нг платины на г опухолевой ткани.

Анализ DMXAA высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ): концентрации

DMXAA в плазме определяли следующим образом. Аликвоты плазмы (50 мкл) обрабатывали 1 мл охлажденной льдом смеси ацетонитрил:метанол (3:1, об./об.), центрифугировали и полученные супернатанты упаривали, используя концентратор растворителя Speed-Vac (Savant Instrument, NY). Остатки растворяли в 200 мкл 10 мМ аммонийацетатного буфера (рН5), и 25 мкл анализировали ВЭЖХ, используя систему HP 1100 с диодным матричным детектором (278 нм) и флуоресцентным детектором. Использовали колонку 3,3x150 мм, фаза C<sub>8</sub>, 5 мкм (Alltima Associates Inc., Deerfield, IL) и скорость потока 0,7 мл/мин, мобильная фаза 16% ацетонитрил (об./об.) в 10 мМ аммонийацетатном буфере (рН 5). Время удерживания для DMXAA составило 7,3 мин. Введение контрольной плазмы продемонстрировало линейность образца от 0,1-100 мкМ ( $r^2=0,999$ ). Определение точности и погрешности во время анализа и между анализами дало коэффициенты изменчивости <7% и среднее восстановление 70%. Предел более низкой чувствительности детектирования с помощью флуоресценции (соотношение сигнал:шум 3) составил 0,1 мкМ.

Фармакокинетическое моделирование: моделирование фармакокинетических данных проводили, используя программу ModelMaker, версия 4,0 (Cherwell Scientific Limited, The Magdalen Centre, Oxford Science Park, Oxford OX4 4GA, United Kingdom). Использовали следующие фармакокинетические параметры: K<sub>abs</sub>, константа скорости первого порядка для абсорбции в центральном компартменте; Cl, общий клиренс организма; C<sub>inter</sub>, интеркомпартментный клиренс; V<sub>d</sub>, кажущийся объем распространения центрального компартмента; V<sub>d2</sub>, кажущийся объем распространения второго компартмента; K<sub>m</sub>, константа Михаэлиса-Ментена; V<sub>max</sub>, теоретическая максимальная скорость; AUC, площадь под кривой концентрация-время. Для всех соединений было предположено, что все введенные дозы достигли центрального компартмента (т.е. биодоступность 100%). Различия между обработанными группами анализировали, используя F-критерий, сравнивающий кривые в целом, и если это различие было значимым (т.е. p≤0,05), оценки каждого индивидуального модельного параметра для обеих групп анализировали, используя двусторонний t-критерий. Концентрации свободной платины и общей платины в плазме и опухоли были аппроксимированы с однокомпартментной открытой моделью, предполагающей линейную фармакокинетику. Концентрации DMXAA в плазме были аппроксимированы, используя однокомпартментную открытую модель с насыщаемой (Михаэлис-Ментен) элиминационной кинетикой.

#### Результаты

Активность DMXAA + химиотерапевтические препараты в отношении опухоли MDAH-MCa-4. Противоопухолевую активность и проявляемую препаратом токсичность комбинаций DMXAA/цитотоксический препарат анализировали путем изменения дозы химиотерапевтического препарата до предельной токсичности при совместном введении с фиксированной дозой DMXAA (80 мкмоль/кг, примерно 80% MTD) и оценкой последующей задержки опухолевого роста, как показано на фиг. 1. Из семи исследованных препаратов четыре (доксорубицин, 5-фторурацил, циклофосфамид и цисплатин) проявили значительную активность против данной опухоли, на что указывает взаимозависимость доза-ответ, обеспечивающая значительные наклоны кривых при обработке данных с помощью линейной регрессии, и очень значительные задержки роста примерно 10 дней при их максимально переносимых дозах (которые приведены в табл. 1). Три другие соединения (карбоплатин, этопозид и винクリстин) были фактически неактивны, не было отдельных обработанных групп, проявляющих значительную активность (хотя карбоплатин дал слабые положительные ответы на дозы при обработке с помощью линейной регрессии).

DMXAA в отдельности проявила значительную активность в качестве единственного агента в дозе 80 мкмоль/кг, обеспечивая временные регрессии и средние задержки опухолевого роста в диапазоне 3,5-8,3 суток (общая средняя величина 6,6±0,6 суток). Совместное введение с DMXAA при этой дозе повышало свойственную доксорубицину токсичность, и максимально переносимая доза химиотерапевтического препарата в комбинации снижалась на один дозовый уровень (в 1,33 раза) (табл. 1). Для других соединений совместное введение с DMXAA не изменяло номинальной MTD, хотя некоторая дополнительная токсичность была очевидной, на что указывала более значительная потеря массы тела в случае комбинации.

В противоположность этому слабому воздействию на свойственную препаратуре токсичность, совместное введение с DMXAA производило значительное увеличение задержки опухолевого роста (табл. 1). Вклад DMXAA анализировали путем определения наклона каждой кривой доза-ответ с помощью линейной регрессии, и модифицирующий дозу фактор (DMF) для DMXAA рассчитывали как отношение наклона с DMXAA и без нее. По этому критерию значение синергизма понижалось в ряду винкристина > (карбоплатин, цисплатин, циклофосфамид, этопозид, доксорубицин) > 5-фторурацил. Для каждого из этих соединений, за исключением последнего, DMF был значительно выше единицы. В качестве альтернативного критерия максимальная задержка опухолевого роста, достигаемая при максимально переносимой дозе комбинации, снова свидетельствовала о синергизме для всех соединений с задержками роста в интервале 15-30 дней.

Фармакокинетика DMXAA и карбоплатина: проводили исследования, чтобы сделать вывод о том, лежит ли в основе синергизма терапевтического взаимовлияния между DMXAA и карбоплатином фармакокинетическое взаимодействие. Исследование проводили на мышах линии C<sub>3</sub>H с опухолями MDAH-MCa-4 того же размера, что и в терапевтических исследованиях. После введения карбоплатина (316 мкмоль/кг внутрибрюшинно) клиренс платины из плазмы (измеренный после освобождения от белка с

помощью ICP-MS) был двухфазным, и совместное введение с DMXAA не оказывало на него влияния (фиг. 2). Общее количество платины в опухоли также обладало двухфазной кинетикой, на которую не влияло совместное введение с DMXAA. Отсутствие воздействия DMXAA было подтверждено путем моделирования плазмы с опухолевой фармакокинетикой в виде двухкомpartmentной открытой модели с линейной фармакокинетикой, которая обеспечила модельные параметры табл. 2 и привела к заключению об отсутствии значительного влияния DMXAA.

Данное исследование анализирует гипотезу о том, что антиваскулярные агенты, такие как DMXAA, обладают потенциалом синергизма в лечении солидных опухолей при объединении с обычными цитотоксическими препаратами. Ранний пассаж опухоли молочной железы MDAH-MCa-4, использованный для данного сравнительного исследования, был умеренно устойчив к большинству тестируемых цитотоксических препаратов (при использовании доз одного препарата), но обнаруживал заметный ответ на доксорубицин, 5-фторурацил, циклофосфамид и цисплатин. DMXAA в отдельности проявляла совместимую активность того же порядка, что и эти четыре агента, но ни химиотерапевтические препараты, ни DMXAA не обеспечивали продолжительной регрессии или излечения.

Однако совместное введение DMXAA с цитотоксическими препаратами вызывало заметное усиление ответа (фиг. 1). Это взаимодействие может быть классифицировано как синергизм (сверхаддитивное действие) на основании увеличенного наклона кривой доза цитотоксического препарата - ответ при добавлении DMXAA. Взаимодействие, представленное в количественной форме как фактор модификации дозы (DMF) (соотношение наклона, полученное с помощью линейной регрессии, с DMXAA и без нее), было значительно больше единицы для всех препаратов, кроме 5-фторурацила. Примечательно, что взаимодействие с DMXAA приводило к существенной активности в случае нескольких соединений, которые по отдельности не проявляли никакой активности.

Таблица 1  
Влияние DMXAA на проявляемую токсичность и противоопухолевую активность химиотерапевтических препаратов в отношении опухоли MDAH-MCa-4.

Препараты вводили совместно с DMXAA внутрибрюшинной инъекцией.

Химиотерапевтический препарат	DMXAA (мкмоль/кг)	MTD (мкмоль/кг)	Изменение массы тела в день 4, %	Наклон кривой доза/ответ (дни/мкмоль/кг)	DMF
5-Фторурацил	- 80	1780 1780	-8,5±0,8 -14,1±1,5	0,0051±0,0001 <sup>a</sup> 0,0027±0,001	0,5±0,2
Карбоплатин	- 80	316 316	-5,6±1,5 -8,5±1,4	0,0094±0,0035 0,032±0,010	3,4±2,3
Цисплатин	- 80	42,1 42,1	-9,5±1,4 -14,4±2,3	0,19±0,06 0,35±0,12	1,8±1,2
Циклофосфамид	- 80	≥1335 ≥1335	-0,8±1,3 -9,2±1,4	0,0062±0,0001 0,0167±0,0013	2,7±0,3
Этопозид	- 80	≥75 75 (1d)	-2,0±1,7 -6,5±3,3	0,030±0,010 0,14±0,04	4,7±2,9
Винкристин	- 80	1,0 1,0	-7,0±1,2 -10,0±1,4	-0,0±1,3 14,1±5,4	>7 <sup>b</sup>
Доксорубицин	- 80	23,7 17,8	-3,9±0,6 -5,5±1,2	0,42±0,10 1,04±0,23	2,5±1,1

<sup>a</sup>Стандартное отклонение наклона кривой.

<sup>b</sup>Определено с использованием оценки верхнего отклонения наклона кривой только для химиотерапевтического препарата.

Таблица 2  
Фармакокинетические параметры для карбоплатина (316 мкмоль/кг) и DMXAA (80 мкмоль/кг) в плазме и опухоли мышей-самок C<sub>3</sub>H/HeN с опухолями MDAH-MCa-4 (примерно 0,7 г).

Параметр	Плазма		Опухоль
	Карбоплатин	DMXAA	Карбоплатин
K <sub>abs</sub> (ч <sup>-1</sup> )	12,6	9,3	14,0
K <sub>m</sub>	-	220	-
V <sub>max</sub> (мкМ ч <sup>-1</sup> )	-	63	-
Cl (1 ч <sup>-1</sup> кг <sup>-1</sup> )	1,9	-	0,28
Cl <sub>inter</sub> (1 ч <sup>-1</sup> кг <sup>-1</sup> )	0,41	-	2,3
V <sub>d</sub> (1 кг <sup>-1</sup> )	1,0	0,17	2,7
V <sub>d</sub> (1 кг <sup>-1</sup> ) (совместное введение)	-	-	-
V <sub>d2</sub> (1 кг <sup>-1</sup> )	7,4	-	11,3
AUC (мкМ·ч) <sup>a</sup>	112 <sup>b</sup>	3628 <sup>b</sup>	416 <sup>b</sup>
AUC (мкМ·ч) <sup>a</sup> (совместное введение)	118 <sup>b,в</sup>	3136 <sup>b</sup>	475 <sup>b,в</sup>

<sup>a</sup>AUC рассчитывали, используя линейное трапецидальное правило.

<sup>b</sup>0-24 ч

<sup>b</sup>Совместное введение с DMXAA.

<sup>c</sup>0-8 ч

<sup>d</sup>0-30 ч

## Пример 2.

### Материалы и способы.

Человеческие опухолевые ксенотрансплантаты (PSN1) были созданы путем подкожной инъекции 5x10<sup>6</sup> клеток в правый бок бестимусных мышей-самок линии MF1. PSN1 представляет собой карциному поджелудочной железы. Перед обработкой опухоли дали вырасти до диаметра 6-8 мм (объем приблизительно 0,15 см<sup>3</sup>). Для обработки группы рандомизировали таким образом, что средний объем опухоли в каждой группе на день обработки не был статистически различным. Исходные растворы DMXAA и гемцитабина (Eli Lilly & Company, Indiana) разбавляли в физиологическом растворе и инъецировали внутривенно мышам с опухолью через латеральную хвостовую вену. Для комбинированной терапии два препарата вводили в виде последовательных инъекций в две латеральные хвостовые вены. Контрольные мыши были необработанными.

Опухоли обмеряли в трех ортогональных измерениях 2-3 раза в неделю и объем выражали как объем опухоли относительно объема на день обработки. Опухоли измеряли до тех пор, пока, по меньшей мере, они не утраивались в объеме. Конечной точкой было время утроения объема опухоли.

### Результаты

В приведенной ниже таблице в колонке, озаглавленной «медиана», представлена медиана времени утроения опухолевого объема для панкреатических опухолевых ксенотрансплантатов PSN1, обработанных гемцитабином с DMXAA или без нее. В колонке, озаглавленной «обработанные - контрольные» представлено время утроения обработанных опухолей минус контрольные, т.е. преимущество применения препарата или комбинации препаратов над необработанными опухолями.

Данные по гемцитабину проанализированы как периоды удвоения и утроения объема. В обоих случаях комбинация из двух препаратов проявляла синергизм, причем показатель «обработанные минус контрольные» для комбинации выше, чем итог для каждого препарата, даваемого в одиночку.

### Периоды утроения объемов PSN1 (дни)

#### Гемцитабин плюс DMXAA

Обработка	Медиана	Обработ. - контрольная
Контроль	4,9	
20 мг/кг DMXAA	6,0	1,1
240 мг/кг гемцитабина	13,9	9,0
240 мг гемцитабина + 20 мг/кг DMXAA	> 17	> 12

Периоды удвоения объемов PSN1 (дни)  
Гемцитабин плюс DMXAA

Обработка	Медиана	Обработ. - контрольная
Контроль	3,2	
20 мг/кг DMXAA	3,6	0,4
240 мг/кг гемцитабина	9,7	7,5

Обработка	Медиана	Обработ. - контрольная
240 мг гемцитабина + 20 мг/кг DMXAA	15,4	12,2

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТНИЯ

1. Способ лечения рака, который включает введение млекопитающему, включая человека, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и одновременно или последовательно введение эффективного количества соединения, выбиравшего из ингибиторов топоизомеразы I и гемцитабина.

2. Способ по п.1, где в качестве соединения, выбиравшего из ингибиторов топоизомеразы I, используют иринотекан.

3. Способ лечения рака, который включает введение млекопитающему, включая человека, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и одновременно или последовательно введение эффективного количества соединения, выбиравшего из 5-фторурацила и доксорубицина, в отсутствие антитела.

4. Способ по любому из пп.1-3, где DMXAA, или ее фармацевтически приемлемую соль, или ее сложный эфир и соединение вводят в потенцирующем соотношении.

5. Применение DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира в производстве лекарственного средства для одновременного или последовательного введения с соединением, выбиравшим из ингибиторов топоизомеразы I и гемцитабина, при лечении рака.

6. Применение по п.5, где соединение, выбиравшее из ингибиторов топоизомеразы I, представлено иринотеканом.

7. Применение DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира в производстве лекарственного средства для одновременного или последовательного введения с соединением, выбиравшим из 5-фторурацила и доксорубицина, в отсутствие антитела, при лечении рака.

8. Применение соединения, выбранного из ингибиторов топоизомеразы I и гемцитабина, в производстве лекарственного средства для одновременного или последовательного введения с DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой солью, или ее сложным эфиром, при лечении рака.

9. Применение по п.8, где соединение, выбиравшее из ингибиторов топоизомеразы I, представлено иринотеканом.

10. Применение соединения, выбранного из 5-фторурацила и доксорубицина, в отсутствие антитела, в производстве лекарственного средства для одновременного или последовательного введения с DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой солью, или ее сложным эфиром, при лечении рака.

11. Применение по любому из пп.5-10, где DMXAA, или ее фармацевтически приемлемая соль, или ее сложный эфир и соединение присутствуют в потенцирующем соотношении.

12. Комбинация DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбранного из ингибиторов топоизомеразы I и гемцитабина.

13. Комбинация по п.12, где соединение, выбиравшее из ингибиторов топоизомеразы I, представлено иринотеканом.

14. Комбинация DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбранного из 5-фторурацила и доксорубицина, в отсутствие антитела.

15. Комбинация по любому из пп.12-14, где DMXAA, или ее фармацевтически приемлемая соль, или ее сложный эфир и соединение присутствуют в потенцирующем соотношении.

16. Фармацевтическая композиция, содержащая комбинацию из DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбиравшего из ингибиторов топоизомеразы I и гемцитабина, в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями.

17. Фармацевтическая композиция по п.16, где в качестве соединения, выбиравшего из ингибиторов топоизомеразы I, она содержит иринотекан.

18. Фармацевтическая композиция, содержащая комбинацию из DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбиравшего из 5-фторурацила и доксорубицина, в отсутствие антитела, в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями.

19. Фармацевтическая композиция по любому из пп.16-18, где композиция адаптирована для внут-

ривенного введения.

20. Фармацевтическая композиция по любому из пп.16-19, где DMXAA, или ее фармацевтически приемлемая соль, или ее сложный эфир и соединение присутствуют в потенцирующем соотношении.

21. Способ получения фармацевтической композиции, включающий объединение комбинации DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбиаемого из ингибиторов топоизомеразы I и гемцитабина, с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями.

22. Способ по п.21, в котором в качестве соединения, выбиаемого из ингибиторов топоизомеразы I, используют иринотекан.

23. Способ получения фармацевтической композиции, включающий объединение комбинации DMXAA, или ее фармацевтически приемлемой соли, или ее сложного эфира и соединения, выбиаемого из 5-фторурацила и доксорубицина, в отсутствие антитела, с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями.

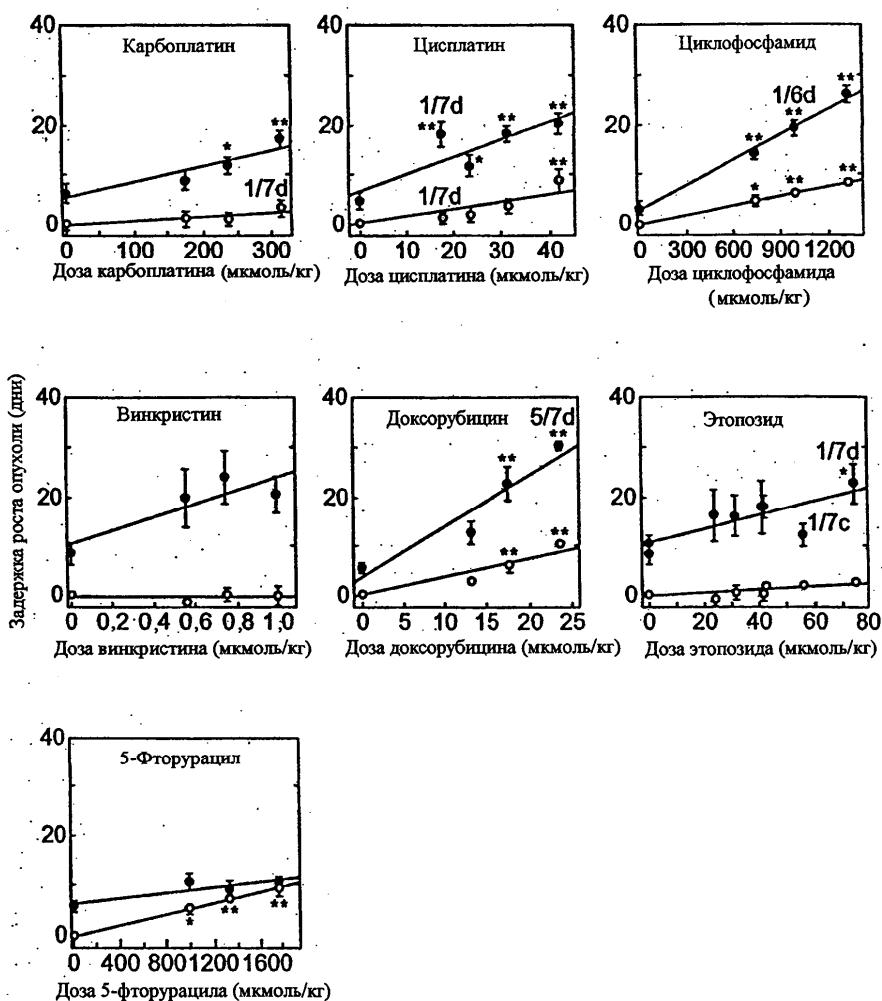
24. Способ по любому из пп.21-23, в котором DMXAA, или ее фармацевтически приемлемая соль, или ее сложный эфир и соединение присутствуют в потенцирующем соотношении.

25. Набор, содержащий в ассоциации для раздельного введения DMXAA, или ее фармацевтически приемлемую соль, или ее сложный эфир и соединение, выбиранное из ингибиторов топоизомеразы I и гемцитабина.

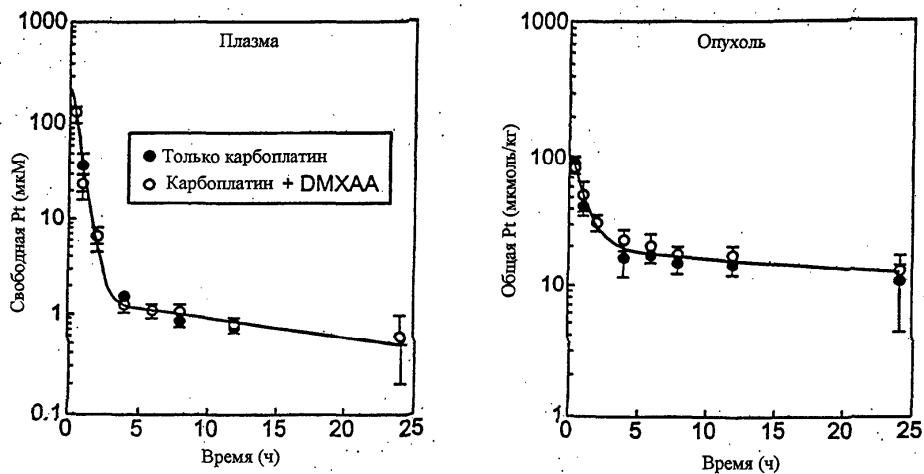
26. Набор по п.25, где соединение, выбиранное из ингибиторов топоизомеразы I, представлено иринотеканом.

27. Набор, содержащий в ассоциации для раздельного введения DMXAA, или ее фармацевтически приемлемую соль, или ее сложный эфир и соединение, выбиранное из 5-фторурацила и доксорубицина, в отсутствие антитела.

28. Набор по любому из пп.25-27, где DMXAA, или ее фармацевтически приемлемая соль, или ее сложный эфир и соединение присутствуют в потенцирующем соотношении.



Фиг. 1



Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕПАВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2/6