

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU⁽¹¹⁾ 2 528 884⁽¹³⁾ C2

(51) МПК
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2009110102/15, 17.08.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
17.08.2007

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
21.08.2006 EP 06017330.9

(43) Дата публикации заявки: 27.09.2010 Бюл. № 27

(45) Опубликовано: 20.09.2014 Бюл. № 26

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2006133396 A2 , 14.12.2006. US 20030232323 A1, 18.12.2003. TERRAZAS L.I. et al. Role of the programmed Death-1 pathway in the suppressive activity of alternatively activated macrophages in experimental cysticercosis.//Int J Parasitol. 2005 Nov;35(13): 1349-58.- реферат. Найдено из Интернета [он-лайн] на сайте 11.02.2014 (см. прод.)

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 23.03.2009

(86) Заявка РСТ:
EP 2007/007276 (17.08.2007)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2008/022746 (28.02.2008)

Адрес для переписки:
105082, Москва, Спартаковский пер., д. 2, стр. 1,
секция 1, этаж 3, "ЕВРОМАРКПАТ"

(54) ЛЕЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ АНТИТЕЛА К VEGF

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к медицине, а именно к онкологии, и может быть использована для предупреждения или снижения метастазов у пациента, страдающего рецидивирующими HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения антителом к HER2. Для этого пациенту вводят лекарственное средство, представляющее собой

(72) Автор(ы):

Томас ФРИСС (DE),
Макс ХАСМАНН (DE),
Вернер ШОЙЕР (DE)

(73) Патентообладатель(и):

Ф.ХОФФМАНН-ЛЯ РОШ АГ (CH)

R U
C 2
C 2
4
8
8
2 5 2 8 8 8 4
R U

R U
2 5 2 8 8 8 4
C 2

антитело к VEGF. Также предложен способ снижения метастазов, в процессе или после лечения антителом к HER2. Группа изобретений обеспечивает эффективность антитела к VEGF, для подавления метастазирования HER2-позитивных опухолей. 2 н. и 14 з.п. ф-лы, 4 табл., 2 ил., 1 пр.

R U

2 5 2 8 8 8 4

C 2

R U 2 5 2 8 8 8 4 C 2

(56) (продолжение):

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16126211>. GENG H. et al. HSP70 vaccine in combination with gene therapy with plasmid DNA encoding sPD-1 overcomes immune resistance and suppresses the progression of pulmonary metastatic melanoma. // Int J Cancer. 2006 Jun 1;118(11):2657-64. Найдено из Интернета [он-лайн] на сайте 11.02.2014 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16425224>

RUSSIAN FEDERATION



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) RU (11) 2 528 884⁽¹³⁾ C2

(51) Int. Cl.
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2009110102/15, 17.08.2007

(24) Effective date for property rights:
17.08.2007

Priority:

(30) Convention priority:
21.08.2006 EP 06017330.9

(43) Application published: 27.09.2010 Bull. № 27

(45) Date of publication: 20.09.2014 Bull. № 26

(85) Commencement of national phase: 23.03.2009

(86) PCT application:
EP 2007/007276 (17.08.2007)

(87) PCT publication:
WO 2008/022746 (28.02.2008)

Mail address:

105082, Moskva, Spartakovskij per., d. 2, str. 1,
sektsija 1, ehtazh 3, "EVROMARKPAT"

(72) Inventor(s):

Tomas FRISS (DE),
Maks KhASMANN (DE),
Verner ShOJER (DE)

(73) Proprietor(s):

F.KhOFFMANN-LJa ROSh AG (CH)

C 2

C

4

8

8

8

2

5

2

U

R

(54) TREATING TUMOURS WITH VEGF ANTIBODY

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: group of inventions refers to medicine, namely to oncology, and can be used to prevent or relieve metastasis in a patient suffering recurrent HER2-positive cancer in the course of or after the HER2 antibody therapy. That is ensured by administering a therapeutic agent representing a VEGF

antibody. What is also presented is a method for relieving metastasis in the course of or after the HER2 antibody therapy.

EFFECT: group of inventions provides the efficacy of the VEGF antibody for suppression of metastatic HER2-positive tumours.

16 cl, 4 tbl, 2 dwg, 1 ex

R
U
2 5 2 8 8 8 4
C 2

Настоящее изобретение относится к лечению пациента, страдающего рецидивирующими HER2-позитивным раком, с помощью антитела к VEGF, которое применяют в процессе или после лечения антителом к HER2.

Предпосылки создания изобретения

- 5 Ангиогенез принимает участие в патогенезе различных нарушений, включая плотные опухоли, синдромы внутриглазной неоваскуляризации, такие как пролиферативные ретинопатии или связанная с возрастом дегенерация желтого пятна (AMD), ревматоидный артрит и псориаз (Folkman J. и др., *J. Biol. Chem.* 267, 1992, cc.10931-10934; Klagsbrun M. и др., *Annu. Rev. Physiol.* 53, 1991, cc.217-239; и Garner A., *Vascular diseases*,
10 в: *Pathobiology of ocular disease, A dynamic approach*, 2-ое изд., под ред. Garner A. и Klintworth G.K., изд-во Marcel Dekker, New York, 1994, cc.1625-1710). В случае плотных опухолей неоваскуляризация приводит к тому, что опухолевые клетки приобретают преимущество с позиций роста и автономии пролиферации по сравнению с здоровыми клетками. Так, обнаружена корреляция между плотностью микрососудов в срезах опухоли и
15 выживанием пациента, страдающего раком молочной железы, а также в случае некоторых других опухолей (Weidner N. и др., *N. Engl. J. Med.* 324, 1991, cc.1-6; Horak E.R. и др., *Lancet* 340, 1992, cc.1120-1124 и Macchiarini P. и др., *Lancet* 340, 1992, cc.145-146).

- Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) участвует в регуляции
20 нормального и аномального ангиогенеза и неоваскуляризации, ассоциированной с опухолями и внутриглазными нарушениями (Ferrara N. и др., *Endocr. Rev.* 18, 1997, cc.4-25; Berkman R.A. и др., *J. Clin. Invest.* 91, 1993, cc.153-159; Brown L.F. и др., *Human Pathol.* 26, 1995, cc.86-91; Brown L.F. и др., *Cancer Res.* 53, 1993, cc. 4727-4735; Mattern J. и др., *Brit. J. Cancer* 73, 1996, cc. 931-934; и Dvorak H.F. и др., *Am. J. Pathol.* 146, 1995, cc. 1029-25 1039). Нейтрализующие антитела к VEGF подавляют рост различных человеческих линий опухолевых клеток в организме мышей (Kim K.J. и др., *Nature* 362, 1993, cc.841-844; Warren R.S. и др., *J. Clin. Invest.* 95, 1995, cc.1789-1797; Borgstrom P. и др., *Cancer Res.* 56, 1996, cc.4032-4039; и Melnyk O. и др., *Cancer Res.* 56, 1996, cc.921-924). В WO 94/10202, WO 98/45332, WO 2005/00900 и WO 00/35956 описаны антитела к VEGF.
30 Гуманизированное моноклональное антитело бевацизумаб (поступает в продажу под товарным знаком Avastin®) представляет собой антитело к VEGF, которое применяют для терапии опухолей и которое является единственным антиангидиогенным лекарственным средством, разрешенным для лечения рака (WO 98/45331).

- HER2 является представителем семейства рецепторов человеческого эпидермального
35 фактора роста и обладает протеинкиназной активностью в своем цитоплазматическом домене. В опухолевых клетках происходит сверхэкспрессия HER2, и это коррелирует с неблагоприятным прогнозом и коротким временем выживания. Таким образом, HER2 представляет собой важную мишень при лечении рака молочной железы. Антитела к HER2 описаны у Takai N. и др., *Cancer* 104, 2005, cc.2701-2708; Yeon C.H. и др., *Invest. New Drugs* 23, 2005, cc.391-409; Wong W.M. и др., *Cancer Pract.* 7, 1999, cc. 48-50; Albanell J. и др., *Drugs Today (Bare)*. 35, 1999, cc. 931-46.

- Трастузумаб (поступает в продажу под товарным знаком Herceptin®) представляет собой рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к HER2, которое применяют для лечения метастатического рака молочной железы, характеризующегося
45 сверхэкспрессией HER2/амплификацией гена HER2. Доклинические исследования продемонстрировали, что антитело обладает противоопухолевой активностью *in vivo* и *in vitro*. Кроме того, на мышиных моделях обнаружена аддитивная или повышенная в результате синергизма противоопухолевая активность трастузумаба при его

применении в сочетании с различными противоопухолевыми агентами. В клинических исследованиях выявлено более продолжительное выживание пациентов, страдающих метастатическим раком молочной железы, который характеризуется сверхэкспрессией HER2.

- 5 В WO 2005/012531 описаны антитела, которые можно применять совместно с антителами к ErbB (например, антителом Herceptin®, известным также как трастузумаб) и/или антителом к VEGF (например, Avastin®, известным также как бевацизумаб) при лечении колоректального рака, метастатического рака молочной железы и рака почки. Согласно WO 2005/063816 антитела к VEGF можно объединять с антителами к ErbB
- 10 при лечении метастатического рака молочной железы. Согласно WO 98/45331 можно повышать эффективность антитела к VEGF в отношении предупреждения или лечения заболевания путем введения антитела периодически или в сочетании с другим агентом, который обладает эффективностью в отношении таких состояний, например, с антителом, которое обладает способностью связываться с рецептором HER2. В WO
- 15 2005/00090 и WO 2003/077841 описана также комбинация антител к VEGF и антител к ЕгъВ2, предназначенная для лечения опухолей. У Pogram M.D. и др., Seminars in Oncology 29, 2002, сс.29-37, описана комбинация антител к ErbB2 с антителами к VEGF, применяемая при лечении рака молочной железы.

Практикующие онкологи сходятся во мнении, что отсутствие успеха в лечении рака не обязательно связано с ростом первичной опухоли, с которой, как правило, можно бороться с помощью хирургического вмешательства, а скорее с метастатическим распространением в другие органы. Регресс первичных опухолей, достигаемый с помощью различных цитотоксических лекарственных средств, не всегда является показателем антиметастатической активности *per se*. Наоборот, обнаружен повышенный уровень метастазирования в ответ на применение некоторых противораковых лекарственных средств (Geldof A.A. и др., Anticancer Res. 8, 1988, сс. 1335-1339; Murphy S.B., J. Clin. Oncol. 11, 1993, сс. 199-201; и De Larco J.E. и др., Cancer Res. 61, 2001, сс. 2857-2861). Очевидно, что существует потребность в разработке лекарственных терапий, мишенью которых является не только первичная опухоль, но которые обладают также способностью подавлять метастазы.

Такую антиметастатическую активность можно оценивать с помощью метода, описанного у Schneider T. и др., Clin. Exp. Metas. 19, 2002, сс.571-582.

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к применению антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения пациента, который страдает рецидивирующими HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения антителом к HER2.

Следующим вариантом осуществления изобретения является применение антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, предназначенного для предупреждения или уменьшения метастазов у пациента, который страдает рецидивирующими HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения антителом к HER2.

Кроме того, изобретение относится к антителу к VEGF, предназначенному для лечения пациента, который страдает рецидивирующими HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения антителом к HER2.

Еще одним вариантом осуществления изобретения является антитело к VEGF, предназначенное для предупреждения или уменьшения метастазов у пациента, который страдает рецидивирующим HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения

антителом к HER2.

Предпочтительно лечение с помощью антитела к HER2 представляет собой монотерапию первой линии с использованием антитела к HER2.

Предпочтительно антитело к VEGF связывается с тем же эпитопом, что и бевацизумаб.

⁵ Предпочтительно антитело к VEGF представляет собой бевацизумаб.

Предпочтительно антитело к HER2 представляет собой трастузумаб. В предпочтительном варианте осуществления изобретения осуществляют совместное введение пациенту антитела к VEGF и антитела к HER2.

Настоящее изобретение относится также к изделию, представляющему собой

¹⁰ контейнер, в который входит композиция, содержащая антитело к VEGF, и листовка-вкладыш в упаковке с инструкцией по применению композиции для введения антитела к VEGF пациенту, страдающему рецидивирующими HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения антителом к HER2.

Подробное описание изобретения

¹⁵ Понятие «VEGF» в контексте изобретения относится к фактору роста сосудистых эндотелиальных клеток (Swiss-Prot №P 15692), его полученным в результате альтернативного сплайсинга формам (см., например, Leung D.W. и др., Science, 246, 1989, сс.1306-1309; и Houck K.A. и др., Mol. Endocrin. 5, 1991, сс.1806-1814) и активным фрагментам, предпочтительно N-концевым фрагментам.

²⁰ Понятие «антитело к VEGF» в контексте настоящего изобретения относится к антителу, которое специфически связывается с VEGF и обладает антиангиогенной активностью. Связывание предпочтительного гуманизированного антитела к VEGF или варианта антитела к VEGF, предлагаемого в изобретении, с человеческим VEGF характеризуется значением Kd, составляющим не более чем примерно 1×10^{-6} М и

²⁵ предпочтительно не более чем примерно 5×10^{-9} М. Предпочтительно антитело к VEGF представляет собой моноклональное антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к VEGF (бевацизумаб), созданное согласно методу, описанному у Presta L.G. и др., Cancer Res.

³⁰ 57, 1997, сс.4593-4599. Предпочтительным антителом является бевацизумаб. Антитела к VEGF и методы их получения описаны, например, в US 6054297, US 2003/0190317, US 6632926, US 6884879 и US 2005/0112126.

Бевацизумаб содержит мутантные каркасные участки человеческого IgGl и антигенсвязывающие гипервариабельные участки мышного моноклонального антитела к hVEGF, которое блокирует связывание человеческого VEGF с его рецепторами.

³⁵ Примерно 93% аминокислотной последовательности бевацизумаба, включающей большую часть каркасных участков, выведено из человеческого IgGl, а примерно 7% последовательности выведено из мышного антитела A4.6.1. Бевацизумаб имеет молекулярную массу примерно 149000 Да и является гликозилированным. Бевацизумаб и метод его получения описаны в EP 1325932.

⁴⁰ В контексте изобретения понятие «HER2» относится к имеющему молекулярную массу 185 кДа рецептору фактора роста, который обозначают также как pei и c-erbB-2 (Slamon D.J. и др., Science 235, 1987, сс.177-182; Swiss-Prot P04626), функция которого связана с неопластической трансформацией клеток рака молочной железы человека.

⁴⁵ Сверхэкспрессия этого белка обнаружена у 20-30% пациентов, страдающих раком молочной железы, что коррелирует с региональным прогрессированием заболевания, повышенной вероятностью рецидива опухоли и уменьшенной продолжительностью жизни пациентов. У 30-40% пациентов, страдающих раком желудка, эндометрия, слюнных желез, немелкоклеточным раком легкого, раком поджелудочной железы,

яичника, перитонеальным раком, раком предстательной железы или колоректальным раком, также может иметь место сверхэкспрессия этого белка.

Понятие «антитело к HER2» согласно изобретению относится к антителу, которое специфически связывается с тем же эпитопом HER2, что и мышье антитело к HER2

5 4D5, описанное у Hudziak и др., Mol. Cell. Biol. 9, 1989, сс.1165-1172. Антитела к HER2, которые связываются с «характерным для 4D5 эпитопом HER2» («эпитоп 4D5 HER2»), включают само антитело к HER2 4D5, методы получения которого описаны например, в US 6054297, WO 89/06692, US 6399063, US 6165464, US 6054297, US 5772997, WO 2003/087131, WO 01/00245, WO 01/00238, WO 00/69460, WO 99/31140 и WO 98/17797. В

10 предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к HER2 представляет собой трастузумаб, рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к HER2 (гуманизированная версия мышьного антитела к HER2 4D5, обозначенная как rhuMAb HER2 или трастузумаб), которое обладает активностью в клинических условиях для пациентов, страдающих сверхэкспрессирующими HER2 метастатическим раком

15 молочной железы, которых ранее подвергали интенсивной противораковой терапии (Baselga и др., J Clin. Oncol. 14, 1996, сс.737-744). Трастузумаб и метод его получения описаны в EP 590058.

«Эпитоп 4D5» представляет собой область во внеклеточном домене ErbB2, с которым связывается антитело 4D5 (ATCC CRL 10463). Эпитоп прымкает к трансмембранный 20 области ErbB2. Для скрининга антител, которые связываются с эпитопом 4D5, можно осуществлять общепринятый анализ перекрестного блокирования, например, описанный в: Antibodies, A Laboratory Manual, под ред. Harlow и David Lane, изд-во Cold Spring Harbor Laboratory, 1988. В другом варианте для оценки того, связывается ли антитело с эпитопом 4D5 ErbB2, можно осуществлять эпитопное картирование.

25 Понятие «эпитоп» в контексте настоящего описания относится к белковой детерминанте, обладающей способностью специфически связываться с антителом. Как правило, эпитопы состоят из химически активных групп, расположенных на поверхности молекул, таких как боковые цепи аминокислот или сахаров, и они обычно имеют специфические характеристики трехмерной структуры, а также специфические

30 характеристики зарядов. Известны конформационные и неконформационные эпитопы, характеризующиеся тем, что связывание с первым, в отличие от связывания с последним, утрачивается в присутствии денатурирующих растворителей. В зависимости от размера антигена, которому принадлежит эпитоп, у одного антигена может быть доступно более одного эпитопа, что естественно, приводит к возможности того, что на каждый

35 антиген может приходиться более одного сайта связывания антитела (т.е. эпитопа).

Антитела могут вырабатываться в ответ на обработку, например, человеческими, мышьными или крысиными полипептидами. Под объем изобретения подпадают антитела, как поликлональные, так и моноклональные, которые специфически распознают антиген-мишень. Для получения указанных антител используют

40 стандартные иммунологические методы, известные специалистам в данной области. Антитела могут быть поликлональными или моноклональными, или их можно получать рекомбинантно, такие как гуманизированные антитела. Определение того, связывается или не связывается антитело с тем же эпитопом, что и известное терапевтическое антитело, легко можно осуществлять с помощью системы конкурентного анализа.

45 Возможное перекрывание эпитопов двух антител, связывающихся с одним и тем же антигеном-мишенью, можно определять с помощью системы конкурентного анализа. Для этой цели, например, можно применять ферментный иммуноанализ, который позволяет оценивать степень, с которой новое антитело конкурирует с известным

антителом за связывание с иммобилизованным антигеном-мишенью. Для этой цели соответствующий иммобилизованный антиген-мишень инкубируют с известным антителом в меченой форме и избытком рассматриваемого антитела. Путем определения связывания метки можно легко оценивать степень, с которой рассматриваемое антитело может вытеснять известное антитело из сайта связывания (т.е. эпитопа). Если замещение составляет более 10%, предпочтительно более 20%, при такой же концентрации или более высоких концентрациях, предпочтительно в случае 10^5 -кратного избытка рассматриваемого антитела относительно известного антитела, то имеет место перекрывание эпитопов. Это означает, что рассматриваемое антитело связывается с тем же эпитопом, что и известное антитело.

10 Понятие «антиген-мишень» относится к биологической молекуле, которая связывается соответствующим ей терапевтическим антителом. Например, антигеном-мишенью терапевтического антитела к HER2 (т.е. ErbB2 или p185^{neu}) типа Herceptin® или Omnitarg®, является HER2, терапевтического антитела к EGFR типа Erbitux®, является EGFR, терапевтического антитела к VEGF типа Avastin®, является VEGF. Антиген-мишень может представлять собой либо растворимый, т.е. секретируемый или выделяемый антиген-мишень, либо связанный с (клеточной) мембранный антиген-мишень.

15 Иммуноанализы хорошо известны специалистам в данной области. Методы 20 осуществления таких анализов, а также их практическое применение и процедуры обобщены в соответствующих руководствах. Примерами соответствующих руководств являются Tijssen P., Preparation of enzyme-antibody or other enzyme-macromolecule conjugates, в: Practice and theory of enzyme immunoassays, под ред. Burdon R.H. и v. Knippenberg P.H., изд-во Elsevier, Amsterdam, 1990, сс. 221-278; и различные тома Methods in Enzymology, 25 под ред. Colowick S.P. и Caplan N.O., изд-во Academic Press, в которых описаны методы иммунологического выявления, прежде всего тома 70, 73, 74, 84, 92 и 121.

Подразумевается, что понятие «сверхэкспрессия» белка рецептора HER2 относится к аномальному уровню экспрессии белка рецептора HER2 в клетке, полученной из опухоли конкретной ткани или органа пациента, относительно уровня экспрессии в здоровой клетке, полученной из этой же ткани или органа. Пациентов, которые страдают раком, характеризующимся сверхэкспрессией рецептора HER2, можно выявлять с помощью стандартных анализов, известных в данной области. Предпочтительно сверхэкспрессию оценивают в фиксированных клетках замороженных или погруженных в парафин срезов ткани с помощью иммуногистохимического (ИГХ) обнаружения. С помощью гистологического окрашивания можно выявлять локализацию целевого белка и можно оценивать уровень его экспрессии в опухоли как качественно, так и полуколичественно. Такие ИГХ-анализы известны в данной области и включают анализ в клиническом исследовании (Clinical Trial Assay (CTA)), поступающий в продажу тест фирмы LabCorp 4D5 и поступающий в продажу тест фирмы DAKO HercepTest® (фирма DAKO, Карпинтерия, шт.Калифорния). Последний анализ основан на оценке степени специфического окрашивания клеток, с использованием шкалы баллов от 0 до 3+ обозначает нормальный уровень экспрессии, 3+ обозначает наиболее высокую положительную экспрессию) для идентификации рака, характеризующегося сверхэкспрессией белка HER2 (см. полную предоставленную информацию о Herceptin® (трастузумаб), сентябрь 1998 г., фирма Genentech Inc., Сан-Франциско, шт.Калифорния). 40 Так, для пациентов, рак которых характеризуется сверхэкспрессией белка HER2 на уровне 1+, 2+ или 3+, предпочтительно 2+ или 3+, более предпочтительно 3+, должно оказывать благоприятное воздействие применение способов лечения, предлагаемых в настоящем изобретении.

Понятие «HER2-позитивный рак» относится к раковому заболеванию, такому как рак молочной железы, рак желудка, рак эндометрия, рак слюнных желез, немелкоклеточный рак легкого, рак поджелудочной железы, рак яичника, перитонеальный рак, рак предстательной железы или колоректальный рак, который

5 характеризуется сверхэкспрессией белка HER2.

HER2-позитивный рак может представлять собой, например, рак легкого, немелкоклеточный рак легкого (NSCL), альвеолярно-клеточный рак легкого, рак костной ткани, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы и шеи, кожную или внутриглазную меланому, рак матки, рак яичника, ректальный рак, рак анальной

10 области, рак желудка, гастральный рак, рак ободочной кишки, рак молочной железы, рак матки, карциному фалlopиевых труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, болезнь Ходжкина, рак пищевода, рак тонкого кишечника, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак паразитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак

15 мочеиспускательного канала, рак пениса, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеиспускательного канала, печеночноклеточную карциному, карциному почечной лоханки, мезотелиому, печеночноклеточный рак, рак желчного пузыря, хронический или острый лейкоз, лимфоцитарную лимфому, неоплазмы центральной нервной системы (ЦНС), опухоли спинномозговых позвонков, глиому

20 ствола головного мозга, мультиформную глиому, астроцитомы, невриномы, эпендимомы, медуллобластомы, менингиомы, плоскоклеточные карциномы,adenомы гипофиза, включая устойчивые варианты любого из перечисленных выше видов рака или комбинацию одного или нескольких вышеперечисленных видов рака. Предраковое состояние или повреждение включает, например, группу таких состояний или

25 повреждений, как оральная лейкоплакия, старческий кератоз (солнечный кератоз), предраковые полипы ободочной или прямой кишки, гастральную эпителиальную дисплазию, adenomatозную дисплазию, наследственный неполипозный раковый синдром ободочной кишки (HNPCC), язва пищевода Барнета, дисплазия мочевого пузыря и предраковые состояния шейки матки. В предпочтительном варианте осуществления

30 изобретения рак представляет собой рецидивирующий HER2-позитивный рак молочной железы, который можно лечить предпочтительно в процессе или после монотерапии первой линии с использованием антитела к HER2, где антитело к HER2 предпочтительно представляет собой трастузумаб.

Понятие «рак молочной железы» относится к неконтролируемому росту аномальных клеток молочной железы. Оно включает относящуюся к протоку карциному *in situ*, инвазивную относящуюся к протоку карциному *in situ*, карциному долек *in situ*, инвазивную карциному долек, медуллярную карциному, болезнь Педжета (рак соска) и метастатический рак молочной железы.

Понятие «рецидивирующий рак» относится к неконтролируемому росту аномальных клеток у страдающих раком пациентов, которые первоначально реагировали на предыдущую терапию, но у которых терапевтический ответ не сохранился. Понятие «рецидивирующий HER2-позитивный рак» относится к неконтролируемому росту аномальных клеток, характеризующихся сверхэкспрессией белка HER2, у страдающих раком пациентов, которые первоначально реагировали на предыдущую терапию с

40 использованием антитела к HER2, предпочтительно трастузумаба, но у которых терапевтический ответ не сохранился в процессе лечения указанным антителом к HER2. Страдающие опухолью пациенты, которые первоначально реагировали на предшествующую терапию с использованием антитела к HER2, предпочтительно

трастузумаба, но у которых терапевтический ответ не сохранился, обозначены как «пациенты на стадии рецидива».

Терапевтический ответ (RE) оценивают на основе медицинского заключения лечащего врача по результатам клинических и лабораторных исследований, которые, как правило, 5 применяют в данной области для оценки воздействия лечения на пациента. Такие данные можно получать, например, на основе клинического обследования, цитологических и гистологических методов, эндоскопии и лапароскопии, ультразвукового обследования, КТ (компьютерная томография) и ЯМР-томографии, рентгеноскопии грудной клетки и маммографии, и на основе оценки концентрации опухолевых маркеров, таких как 10 КЭА (карциноэмбриональный антиген), Cyfra, CA15-3, интерлейкин 8 и растворимый HER2. Предпочтительно можно использовать критерии RECIST (критерии оценки ответа плотных опухолей) для определения ответа опухоли (RE) (Therasse P. и др., J. Nat. Cancer Institute 92, 2000, сс.205-216).

Согласно этим RECIST-критериям ответ плотных опухолей (Therasse P. и др., J.Nat. 15 Cancer Institute 92, 2000, сс.205-216) классифицируют в зависимости от увеличения объема или регресса опухолей (например, по данным КТ) по 4 уровням: полный ответ (CR) или частичный ответ (PR), стабильное состояние болезни (SD) и прогрессирующее 20 состояние болезни (PD) (см. таблицу 1). Кроме того, Европейской организацией по исследованию и лечению рака (European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC)) предложена классификация по 4 приведенным ниже уровням в зависимости от метаболизма опухолей, что оценивают с помощью позитронной эмиссионной 25 томографии с использованием 2-[¹⁸F]-фтор-2-дезоксиглюкозы (ФДГ-ПЭТ) (Young H. и др., Eur. J. Cancer 35, 1999, сс.1773-1782 и Kellof G. J. и др., Clin. Cancer Res. 11, 2005, сс. 2785-2808): полный метаболический ответ (CMR) или частичный метаболический ответ (PMR), стабильное метаболическое состояние болезни (SMD) и прогрессирующее метаболическое состояние болезни (PMD) (см. таблицу 2).

Таблица 1		КТ-критерии (по RECIST)
30	КТ-оценка: Изменение в сумме наиболее длинных диаметров	RECIST
	Исчезновение; подтверждено на 4 неделе (после начала лечения)	CR
	Снижение на 30%; подтверждено на 4 неделе	PR
35	Не выполняются ни PR-, ни PD-критерии	SD
	Повышение на 20%, не зафиксированы ни CR, PR, SD перед усилением болезни	PD

Таблица 2	
40	Предложенные ФДГ-ПЭТ - критерии (по EORTC, см. Young H. и др., Eur J Cane 35, 1999, сс. 1773-1782)
	ПЭТ-оценка
	Полное отсутствие поглощения опухолью 2-[¹⁸ F]-фтор-2-дезоксиглюкозы (ФДГ)
45	Снижение минимум на 15-25% стандартизованного объема поглощения (SUV) после одного цикла лечения и >25% после более одного цикла лечения
	Повышение стандартизированного объема поглощения (SUV) <25% или снижение SUV <15%. Отсутствие заметного повышения уровня поглощения ФДГ опухолью

Повышение SUV $>25\%$ Заметное повышение поглощения опухолью ФДГ ($>20\%$ наиболее длинного размера). Появление новых областей поглощения ФДГ в метастатических повреждениях	PMD
--	-----

5 Таким образом, наиболее предпочтительно «Ответ (RE)» и «Отсутствие ответа (NR)» согласно настоящему изобретению определяют на основе данных, полученных путем комбинации компьютерной томографии (КТ) и позитронной эмиссионной томографии с использованием 2-[P]-фтор-2-дезоксиглюкозы (ФДГ-ПЭТ) (Kellof G.J. и др., Clin. Cancer Res. 11, 2005, cc.2785-2808 и Young H. и др., Eur. J. Cane. 35, 1999, cc.1773-1782), с 10 использованием описанных выше и RECIST-, и ФДГ-ПЭТ-критериев. Таким образом, наличие Ответа (RE) и Отсутствие ответа (NR) согласно настоящему изобретению определяют следующим образом:

15 Ответ (RE): CR или PR определяют с помощью КТ-RECIST-критерия (таблица 1) и одновременно определяют CMR или PMR посредством ФДГ-ПЭТ (таблица 2). Таким образом «Ответ» (RE) означает соответствие одному из четырех вариантов объединенной КТ- или ПЭТ-оценки: CR и CMR, PR и PMR, CR и PMR, и PR и CMR.

20 Отсутствие ответа (NR): SD или PD определяют на основе КТ-RECIST-критерия (таблица 1) и одновременно определяют SMD или PMD с помощью ФДГ-ПЭТ (таблица 2). Таким образом, «Отсутствие ответа» (NR) означает соответствие одному из четырех вариантов объединенной КТ- или ПЭТ-оценки: SD и SMD, SD и PMD, PD и SMD, и PD и PMD.

25 Как правило, ответ определяют примерно через 3-8 недель, предпочтительно примерно через 6 недель, после начала лечения. Этот ответ определяют, как правило, повторно, с интервалами 4-8 недель, предпочтительно 6-8 недель. Когда при первом определении идентифицирован выраженный ответ (RE), то рецидив (что означает «Отсутствие ответа» (NR) после первого определения) может быть обнаружен не ранее, чем при определении второго ответа. Лечение с использованием антитела к VEGF начинают максимально рано после определения рецидива HER2-позитивного рака. Предпочтительно лечение с использованием антитела к VEGF пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, начинают не раньше, чем через 12 недель, более предпочтительно через 15 недель и наиболее предпочтительно через 18 недель, с момента времени, когда начато лечение с использованием антитела к HER2. В 30 предпочтительном варианте осуществления изобретения рак, подлежащий лечению, представляет собой рецидивирующй HER2-позитивный рак, предпочтительно рецидивирующий HER2-позитивный рак молочной железы.

35 Понятие «пациент, страдающий рецидивирующим HER2-позитивным раком» относится к пациенту, у которого при первой оценке ответ классифицирован как «Ответ» (RE), а второй или последующие ответы классифицированы как «Отсутствие ответа» (NR).

40 В контексте настоящего описания понятие «пациент» предпочтительно относится к человеку, нуждающемуся в лечении рака или предракового состояния или повреждения. Однако понятие «пациент» относится также среди прочего к животным кроме человека, предпочтительно млекопитающим, таким как собаки, кошки, лошади, коровы, свиньи, овцы и приматы кроме человека, которые нуждаются в лечении.

45 Понятие «группа» относится к группе пациентов, а также к подгруппе пациентов.

Изобретение относится к применению антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, которое предназначено для лечения пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения антителом

к HER2.

Изобретение относится также к антителу к VEGF, которое предназначено для лечения пациента, страдающего рецидивирующими HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения антителом к HER2. Антитело к VEGF предпочтительно представляет собой бевацизумаб, который предпочтительно вводят после монотерапии первой линии с использованием трастузумаба.

Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является применение антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, которое предназначено для лечения пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, в процессе лечения антителом к HER2. Это относится к применению антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, которое предназначено для лечения пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, которое заключается в том, что совместно вводят антитело к VEGF и антитело к HER2 пациенту после рецидива HER2-позитивного рака.

Таким образом, лекарственное средство вводят пациенту в процессе лечения антителом к HER2. Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является применение антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, которое предназначено для лечения пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, в процессе монотерапии первой линии антителом к HER2. Таким образом, предпочтительно лекарственное средство вводят пациенту в процессе монотерапии первой линии антителом к HER2.

Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является применение антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, которое предназначено для лечения пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, после лечения антителом к HER2. Это относится к применению антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, которое предназначено для лечения пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, заключающемуся в том, что вводят антитело к VEGF индивидуально пациенту после рецидива HER2-позитивного рака. Таким образом, предпочтительно лекарственное средство вводят пациенту после лечения антителом к HER2. Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является применение антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, которое предназначено для лечения пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, после монотерапии первой линии антителом к HER2. Таким образом, предпочтительно лекарственное средство вводят пациенту после монотерапии первой линии антителом к HER2.

Предпочтительно антитело к VEGF связывается с тем же эпитопом, что и бевацизумаб.

Предпочтительно антитело к VEGF представляет собой бевацизумаб.

Предпочтительно антитело к HER2 представляет собой трастузумаб.

Понятие «терапия первой линии» в контексте настоящего описания относится к

первому типу лекарственной терапии, применяемой для лечения рака или метастазов. Она может представлять собой вспомогательную или невспомогательную химиотерапию или иммунотерапию, которую осуществляют сразу после диагностирования и/или операции. Понятие «вспомогательная химиотерапия или иммунотерапия» в контексте настоящего описания относится к лечению после операции с целью предупреждения

рецидива рака, понятие «невспомогательная химиотерапия или иммунотерапия» в контексте настоящего описания относится к лечению, применяемому до операции с целью снижения размера опухоли. Понятие «химиотерапия» в контексте настоящего описания относится к химиотерапии рака, для которой применяют химические или

биохимические субстанции типа цитотоксических лекарственных средств, таких как 5-фторурацил, или терапевтические средства направленного действия, предназначенные для лечения рака, такие как моноклональные антитела типа трастузумаба, или ингибиторы киназ, такие как эрлотиниб.

5 Понятие «монотерапия первой линии» в контексте настоящего описания относится к терапии первой линии, как она определена выше, с использованием одной химической или биохимической субстанции (в противоположность понятию «комбинированная терапия первой линии», которое относится к терапии первой линии, для которой используют два или большее количество химических или биохимических субстанций).

10 Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является совместное введение антитела к VEGF и антитела к HER2 пациенту.

Понятие «способ приготовления лекарственного средства» относится к приготовлению лекарственного средства, предназначенного для применения при показаниях, указанных в настоящем описании, и, в частности, предназначенного для 15 лечения опухолей, метастазов опухолей или рака в целом.

Изобретение относится также к способу лечения пациента, страдающего рецидивирующими HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения антителом к HER2, заключающемуся в том, что пациенту вводят в терапевтически эффективном количестве антитело к VEGF.

20 Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является способ лечения пациента, страдающего рецидивирующими HER2-позитивным раком, в процессе лечения антителом к HER2, заключающийся в том, что пациенту совместно вводят в терапевтически эффективном количестве антитело к VEGF и антитело к HER2 после рецидива HER2-позитивного рака.

25 Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является способ лечения пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, после лечения антителом к HER2, заключающийся в том, что пациенту вводят в терапевтически эффективном количестве только антитело к VEGF после рецидива HER2-позитивного рака.

30 Понятие «лечение» в контексте настоящего описания, если не указано иное, означает реверсию, ослабление, ингибирование развития или предупреждение, либо частичное, либо полное, роста опухолей, метастазов опухолей или других вызывающих рак или неопластических клеток у пациента. Понятие «лечение» в контексте настоящего описания, если не указано иное, относится к акту лечения.

35 Понятие «способ лечения» или его эквиваленты, применительно, например, к раку, относится к процедуре или последовательности действий, направленных на снижение или элиминацию количества раковых клеток в организме пациента или облегчение симптомов рака. «Способ лечения» рака или другого пролиферативного нарушения не обязательно означает, что раковые клетки или другое нарушение должны быть

40 фактически элиминированы, что количество клеток или степень другого нарушения должны быть фактически снижены, или что симптомы рака или другого нарушения должны быть фактически ослаблены. Часто способ лечения рака можно осуществлять даже при небольшой вероятности успеха, но, если при этом с учетом истории болезни или ожидаемой продолжительности жизни пациента, тем не менее можно ожидать 45 благоприятного воздействия лечения.

Очевидно, что антитела вводят пациенту в терапевтически эффективном количестве, которое представляет собой количество предлагаемого в изобретении соединения или комбинации, которое должно вызывать биологический или медицинский ответ ткани,

системы, животного или человека, которое выбирается исследователем, ветеринаром, доктором медицины или другим клиницистом.

Количество вводимого антитела к VEGF или совместно вводимых антитела к VEGF и антитела к HER2 и время введения должны зависеть от типа (вид, пол, возраст, вес и т.д.) и состояния пациента, подлежащего лечению, и серьезности заболевания или состояния, подлежащего лечению. Как правило, используют общепринятые дозы антитела к VEGF и антитела к HER2 типа бевацизумаба и трастузумаба. Например, дозы, в которых можно применять антитела, предлагаемые в изобретении, могут составлять примерно от 1 мкг /кг до 50 мг/кг (например, 0,1-20 мг/кг) антитела, и их вводят один или несколько раз или путем непрерывной инфузии. Обычно типичная суточная доза может составлять от примерно 1 мкг/кг до примерно 100 мг/кг. В предпочтительном объекте изобретения антитела вводят каждые две-три недели в дозе от примерно 1 до примерно 15 мг/кг. Предпочтительная доза трастузумаба представляет собой ударную дозу 4 мг/кг, которую вводят путем непрерывной инфузии, и затем в течение 3 недель вводят путем непрерывных инфузий от 2 до 6 мг/кг, предпочтительно 2 мг/кг, до выявления развития заболевания. Предпочтительная доза бевацизумаба составляет от 5 до 15 мг/кг, предпочтительно от 5 до 10 мг/кг, более предпочтительно 5 мг/кг, один раз в день ежедневно в течение 14 дней в виде IV-инфузии.

Понятие «в процессе лечения антителом к HER2» относится к «совместному

применению» или «совместному введению» антитела к VEGF, которое вводят в дополнение к антителу к HER2. «Совместное применение» означает, что антитело к VEGF вводят в дополнение к антителу HER2 либо одновременно, либо последовательно. Совместное применение может быть одновременным или последовательным в любом порядке, предпочтительно в течение времени, когда оба (или все) действующие вещества одновременно проявляют их биологическую активность. Когда оба антитела применяют одновременно, то дозу вводят в один и тот же день в виде одного введения, например, с помощью одной непрерывной инфузии. Когда оба антитела применяют последовательно, то дозу вводят либо в один и тот же день в виде двух отдельных введений, например, путем двух отдельных непрерывных инфузий, либо одно антитело вводят в день 1, а второе антитело вводят в день 2-7, предпочтительно в день 2-4.

Понятия «совместное применение» или «совместное введение» в контексте поддерживающих доз антитела к VEGF и антитела к HER2 означает, что поддерживающие дозы можно применять либо одновременно, например, с помощью одной непрерывной инфузии, если такой цикл лечения является приемлемым для

применения обоих антител, либо поддерживающие дозы применяют последовательно, в течение одного или нескольких дней, например, поддерживающую дозу антитела к HER2 вводят каждые 3 недели, а поддерживающую дозу антитела к VEGF вводят каждые 2 недели. Для обоих антител можно применять также другие циклы лечения, как правило, от 1 до 4 недель, предпочтительно от 2 до 3 недель.

Понятие «после лечения антителом к HER2» относится к применению антитела к VEGF, которое вводят после прекращения лечения антителом к HER2.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения лекарственное средство можно применять для уменьшения метастазов у указанного пациента, увеличения продолжительности жизни указанного пациента, удлинения продолжительности жизни до прогрессирования заболевания, удлинения продолжительности ответа, что приводит к статистически достоверному и клинически значимому улучшению состояния подвергнутого лечению пациента с позиций продолжительности жизни, продолжительности жизни до прогрессирования заболевания, уровня ответа или

продолжительности ответа. В предпочтительном варианте осуществления изобретения лекарственное средство применяют для повышения уровня ответа в группе пациентов.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения лекарственное средство можно применять для уменьшения метастазов у пациента, страдающего

- 5 рецидивирующими HER2-позитивным раком, в процессе лечения антителом к HER2 путем совместного введения пациенту антитела к VEGF, предпочтительно бевацизумаба, и антитела к HER2, предпочтительно трастузумаба.

Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является применение антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, предназначенного для

- 10 предупреждения или уменьшения метастазов у пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения антителом к HER2.

Другим вариантом осуществления изобретения является антитело к VEGF, предназначенное для предупреждения или уменьшения метастазов у пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения

- 15 антителом к HER2. Предпочтительно антитело к VEGF представляет собой бевацизумаб, который предпочтительно после монотерапии первой линии с использованием трастузумаба.

Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является применение антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, предназначенного для

- 20 предупреждения или уменьшения метастазов у пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, в процессе лечения антителом к HER2.

Так, предпочтительно указанное лекарственное средство вводят в процессе лечения антителом к HER2.

Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является применение

- 25 антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, предназначенного для предупреждения или уменьшения метастазов у пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком, в процессе монотерапии первой линии с использованием антитела к HER2.

Так, предпочтительно указанное лекарственное средство вводят в процессе

- 30 монотерапии первой линии с использованием антитела к HER2.

Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является применение антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, предназначенного для предупреждения или уменьшения метастазов у пациента, страдающего рецидивирующим HER12-позитивным раком, после лечения антителом к HER2.

- 35 Так, предпочтительно указанное лекарственное средство вводят после лечения антителом к HER2.

Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является применение антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, предназначенного для

- 40 предупреждения или уменьшения метастазов у пациента, страдающего рецидивирующим НЕК2-позитивным раком, после монотерапии первой линии с использованием антитела к HER2.

Так, предпочтительно указанное лекарственное средство вводят после монотерапии первой линии с использованием антитела к HER2.

Понятие «метастазирование» согласно настоящему изобретению относится к

- 45 трансмиссии раковых клеток от первичной опухоли еще в одну или несколько областей в организме пациента. Методы определения, является ли опухоль метастазирующей, известны в данной области и включают сканирование костной ткани, рентгеноскопию грудной клетки, компьютерную трансаксиальную томографию (САТ), ЯМР-томографию

и оценку маркеров опухолей.

Понятия «лекарственное средство, предназначенное для предупреждения метастазов» или «лекарственное средство, предназначенное для уменьшения метастазов» в контексте настоящего описания относятся к применению лекарственного средства в качестве

- 5 профилактического агента для защиты от метастазов пациента, страдающего рецидивирующими HER2-позитивным раком, путем ингибирования или снижения дополнительной трансмиссии раковых клеток от первичной опухоли еще в одну или несколько областей в организме пациента. Это означает, что метастазы первичной, метастатической опухоли или рака предупреждаются, их развитие замедляется или
- 10 ингибируется. Предпочтительно предупреждаются или уменьшаются метастазы в печень, это означает, что метастатическая трансмиссия раковых клеток от первичной опухоли в печень предупреждается или снижается.

В контексте настоящего изобретения дополнительные другие цитотоксические, химиотерапевтические или противораковые средства или соединения, которые усиливают действие указанных средств, можно применять для комбинированной терапии с использованием антитела к VEGF плюс антитела к HER2 или лечения с использованием антитела к VEGF после безуспешности предшествующей терапии, предпочтительно предшествующей монотерапии первой линии, с использованием антитела к HER2 (т.е. для пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком после монотерапии первой линии с использованием трастузумаба). Предпочтительно комбинированная терапия с использованием антитела к VEGF плюс антитела к HER2 или лечение с использованием антитела к VEGF применяют без дополнительных указанных цитотоксических, химиотерапевтических или противораковых средств или соединений, которые усиливают действие указанных средств.

Указанные средства представляют собой, например: алкилирующие агенты или агенты с алкилирующим действием, такие как циклофосфамид (CTX; например Cytoxan®), хлорамбуцил (CHL; например, Leukeran®), цисплатин (CisP; например, Platinol®), бусульфан (например, Myleran®), мелфалан, карmustин (BCNU), стрептозотоцин, триэтиленмеламин (TEM), митомицин С и т.п.; антиметаболиты, такие как метотрексат (MTX), этопозид (VP 16; например, Vepesid®), 6-меркаптопурин (6MP), 6-тиогуанин (6TG), цитабин (Ага-С), 5-фторурацил (5-FU), капецитабин (например, Xeloda®), дакарбазин (DTIC) и т.п.; антибиотики, такие как актиномицин D, доксорубицин (DXR; например, Adriamycin®), даунорубицин (дауномицин), блеомицин, митрамицин и т.п.; алкалоиды, такие алкалоиды барвинка, такие как винкристин (VCR), винбластин и т.п.; и другие противоопухолевые средства, такие как паклитаксел (например, Taxol®) и производные паклитаксела, цитостатические агенты, глюкокортикоиды, такие как дексаметазон (DEX; например, Decadron®), кортикостероиды, такие как преднизон, ингибиторы нуклеозидных ферментов, такие как гидроксимочевина, истощающие аминокислоты ферменты, такие как аспарагиназа, лейковорин и другие производные фолиевой кислоты и аналогичные разнообразные противоопухолевые агенты. В качестве дополнительных агентов можно использовать также: арифостин (например, Ethyol®), дактиномицин, мехлорэтамин (азотное производное горчичного газа), стрептозоцин, циклофосфамид, ломустин (CCNU), доксорубицин липо (например, Doxil®), гемцитабин (например, Gemzar®), даунорубицин липо (например, DaunoXome®), прокарбазин, митомицин, доцетаксел (например, Taxotere®), альдеслеукин, карбоплатин, оксалиплатин, кладрибин, камптотецин, СРТ 11 (иринотекан), 10-гидрокси-7-этилкамптотецин (SN38), флоксуридин, флударабин, ифосфамид, идарубицин, месна, интерферон бета, интерферон альфа, митоксанtron,

топотекан, леупролид, мегестрол, мелфалан, меркаптопурин, пликамицин, митотан, пегаспаргаз, пентостатин, пипоброман, пликамицин, томоксифен, тенипозид, тестолактон, тиогуанин, тиотепу, урацил мустард, винорелбин, хлорамбуцил.

Предпочтительно комбинированную терапию с использованием антитела к VEGF плюс 5 антитела к HER2 или лечение с использованием антитела к VEGF применяют без указанных дополнительных средств.

В контексте настоящего изобретения антигормональное средство можно применять для комбинированной терапии с использованием антитела к VEGF плюс антитела к HER2 или лечения с использованием антитела к VEGF после безуспешности

- 10 предшествующей терапии, предпочтительно предшествующей монотерапии первой линии, с использованием антитела к HER2 (т.е. для пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком). В контексте настоящего описания понятие «антигормональный агент» включает встречающиеся в естественных условиях или синтетические органические или пептидные соединения, которые обладают способностью регулировать или ингибировать гормональное действие на опухоли. К антигормональным агентам относятся, например: антагонисты стероидного рецептора, антиэстрогены, такие как тамоксифен, ралоксифен, ингирующие ароматазу 4(5)-имидазолы, другие ингибиторы ароматазы, 42-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY 117018, онапристон и торемифен (например, Fareston®); антиандрогены, 15 такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, леупролид и госерелин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных агентов; агонисты и/или антагонисты гликопротеиновых гормонов, таких как фолликулостимулирующий гормон (ФСК), тиреотропный гормон (ТГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ) и ЛГРФ (рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона); 20 и агонист ЛГРФ госерелина ацетат, поступающий в продажу под товарным знаком Zoladex® (фирма AstraZeneca); и антагонист ЛГРФ D-аланинамид N-ацетил-3-(2-нафтalenil)-D-аланил-4-хлор-D-фенилаланил-3-(3-пиридинил)-D-аланил-L-серил-N6-(3-пиридинилкарбонил)-L-лизил-N6-(3-пиридинилкарбонил)D-лизил-L-лейцил-N6-(1-метилэтил)-L-лизил-L-пролина (например, Antide®, фирма Ares-Serono); антагонист 25 ЛГРФ ганиреликса ацетат; стероидные антиандрогены ципротерона ацетат (СРА) и мегестрола ацетат, поступающий в продажу под товарным знаком Megace® (фирма Bristol-Myers Oncology); нестероидный антиандроген флутамид (2-метил-N-[4,20-нитро-3-(трифторметил)фенилпропанамид), поступающий в продажу под товарным знаком Eulexin® (фирма Schering Corp.); нестероидный антиандроген нилутамид, (5,5-диметил-3-[4-нитро-3-(трифторметил-4'-нитрофенил)-4,4-диметилимидазолидиндион); и 30 антагонисты других необязательных рецепторов, например антагонисты RAR (рецептор ретиноевой кислоты), RXR (ретиоидный X-рецептор), TR (тиреоидный рецептор), VDR (рецептор витамина-D) и т.п. Предпочтительно комбинированную терапию с использованием антитела к VEGF плюс антитела к HER2 или лечение с использованием 35 антитела к VEGF применяют без указанного дополнительного антигормонального средства.

Применение цитотоксических и других противораковых агентов, описанных выше, в химиотерапевтических режимах в целом хорошо известно в области терапии рака, и их применение предусматривает использование также условий мониторинга

- 45 толерантности и эффективности и контроля путей введения и доз с определенным их регулированием. Например, фактические дозы цитотоксических агентов могут варьироваться в зависимости от реакции клеток пациента в культуре, которую определяют в культуре с помощью гистологических методов. Как правило, дозу можно

снижать по сравнению с количеством, применяемым в отсутствии дополнительных других агентов.

Типичные дозы эффективного цитотоксического агента могут находиться в диапазонах, рекомендованных производителем, и, если это установлено по ответам *in vitro* или по ответам в созданных на животных моделях, могут содержать сниженные примерно на порядок концентрацию или количество. Так, фактическая доза должна зависеть от рекомендаций лечащего врача, состояния пациента и эффективности терапевтического метода, оцененной *in vitro* на основе восприимчивости первичных злокачественных клеток в культуре или образце ткани, который культивируют для гистологических методов, или по ответам, полученным с использованием соответствующих созданных на животных моделях.

В контексте настоящего изобретения дополнительные антитролиферативные агенты можно применять в сочетании с комбинированной терапией с использованием антитела к VEGF плюс антитела к HER2 или лечением с использованием антитела к VEGF после безуспешности предшествующей терапии, предпочтительно предшествующей монотерапии первой линии, с использованием антитела к HER2, такие, например, как: ингибиторы фермента фарнезилпротеинтрансферазы и ингибиторы рецепторной тирозинкиназы PDGFR, включая соединения, описанные и заявленные в US 6080769; 6194438; 6258824; 6586447; 6071935; 6495564; 6150377; 6596735 и 6479513 и в опубликованной международной заявке на патент WO 01/40217. Предпочтительно комбинированную терапию с использованием антитела к VEGF плюс антитела к HER2 или лечение с использованием антитела к VEGF применяют без указанных дополнительных антитролиферативных агентов.

В контексте настоящего изобретения можно использовать ионизирующее излучение в эффективной дозе и/или применять радиофармацевтическое лечение в дополнение к комбинированной терапии с использованием антитела к VEGF плюс антитела к HER2 или лечению с использованием антитела к VEGF после безуспешности предшествующей терапии, предпочтительно предшествующей монотерапии первой линии, с использованием антитела к HER2 (т.е. у пациента, страдающего рецидивирующим HER2-позитивным раком). Источник излучения может быть либо внешним, либо внутренним по отношению к подлежащему лечению пациенту. Когда источник является внешним по отношению к пациенту, такую терапию относят к внешней дистанционной лучевой терапии (EBRT). Когда источник излучения является внутренним по отношению к пациенту, такое лечение относят к близкофокусной лучевой терапии (брехитерапия, BT). Радиоактивные атомы, которые можно применять в контексте настоящего изобретения, выбирают из группы, которая включает (но не ограничена только ими), радий, цезий-137, иридий-192, америций-241, золото-198, кобальт-57, медь-67, технеций-99, йод-123, йод-131 и индий-111. Когда ингибитор киназы EGFR, предлагаемый в настоящем изобретении, представляет собой антитело, то оно может представлять собой также антитело, меченное указанными радиоактивными изотопами.

Предпочтительно комбинированную терапию с использованием антитела к VEGF плюс антитела к HER2 или лечение с использованием антитела к VEGF применяют без ионизирующего излучения.

Лучевая терапия представляет собой стандартное лечение, применяемое для контроля нерезектабельных или неоперабельных опухолей и/или метастазирующих опухолей. Были получены улучшенные результаты при совместном применении лучевой терапии и химиотерапии. Принципом, положенным в основу лучевой терапии, является то, что высокая доза излучения, достигающая области-мишени, может приводить к гибели

репродуктивных клеток в опухоли и в здоровых тканях. Используемую дозу излечения, как правило, обозначают в понятиях радиационной поглощенной дозы (Гр), времени и фракционирования, и ее должен тщательно подбирать онколог. Доза излучения, которую получает пациент, должна зависеть от различных концентраций, но двумя

- 5 более важными факторами являются локализация опухоли относительно других имеющих решающее значение для организма структур или органов, и степень распространения опухоли. Обычный курс лечения пациента, подвергающегося лучевой терапии, должен соответствовать режиму лечения продолжительностью в 1-6 недель, при этом общая вводимая доза при ежедневной обработке составляет от 10 до 80 Гр,
- 10 1,8 -2,0 Гр в день, 5 дней в неделю. В предпочтительном варианте осуществления изобретения при обработке опухолей больного комбинацией, предлагаемой изобретением, в сочетании с лучевой терапией, обнаружен синергизм. Другими словами, ингибирование роста опухоли с помощью агентов, входящих в комбинацию, предлагаемую в изобретении, усиливается при совместном применением с излучением, необязательно
- 15 в сочетании с химиотерапевтическими или противораковыми лекарственными средствами. Параметры вспомогательных лучевых терапий описаны, например, в опубликованной международной заявке на патент WO 99/60023.

Антитела вводят пациенту с помощью известных методов, путем внутривенного введения в виде болюсной инъекции или путем непрерывной инфузии в течение 20 определенного периода времени, внутримышечно, внутрибрюшинно, в спинной мозг, подкожно, внутрисуставно, внутрисиновиально или подоболочечно. Предпочтительным является внутривенное или подкожное введение антител.

Изобретение относится к изделию, представляющему собой контейнер, в который входит композиция, содержащая антитело к VEGF, и листовка-вкладыш в упаковке с 25 инструкцией по применению композиции для введения антитела к VEGF пациенту, страдающему рецидивирующими HER2-позитивным раком, в процессе или после лечения антителом к HER2.

Понятие «листовка-вкладыш в упаковке» относится к инструкциям, которые обычно 30 входят в поступающие в продажу упаковки терапевтических продуктов, они могут включать информацию о показаниях, применении, дозе, пути введения, противопоказаниях и/или мерах предосторожности, касающихся применения таких терапевтических продуктов.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения входящие в состав изделия 35 контейнеры могут содержать также фармацевтически приемлемый носитель. В состав изделия может входить также стерильный разбавитель, который предпочтительно хранят в отдельном дополнительном контейнере.

В контексте настоящего описания под «фармацевтически приемлемом носителем» 40 подразумеваются любой и все материалы, пригодные для фармацевтического применения, включая растворители, диспергирующие среды, материалы для нанесения покрытий, антибактериальные и противогрибковые агенты, придающие изотоничность и замедляющие абсорбцию агенты и другие материалы и соединения, пригодные для фармацевтического применения. За исключением некоторых общепринятых сред или агентов, несовместимых с действующим веществом, указанные среды или агенты можно применять в композициях, предлагаемых в изобретении. В композиции можно включать 45 также дополнительные действующие вещества.

Ниже представлены примеры и чертежи, предназначенные для лучшего понимания настоящего изобретения, истинный объем которого определяется приведенной ниже формулой изобретения. Следует понимать, что конкретные методы и обсуждаемые

результаты даны только с целью иллюстрации изобретения и никоим образом не направлены на его ограничение.

Описание чертежей

На чертежах показано:

- 5 на фиг.1 - противоопухолевая активность в отношении воздействия на рост опухоли а) комбинированной терапии с использованием трастузумаба и бевацизумаба и б) лечения только бевацизумабом, после безуспешного лечения трастузумабом. На оси ординат представлены средние значения объема опухоли (мм); на оси абсцисс представлено количество дней после инъекции. А) наполнитель (окружности), Б) лечение
- 10 трастузумабом с использованием ударной дозы 30 мг/кг и поддерживающей дозы 15 мг/кг один раз в неделю (квадраты). В день 60 животных группы Б подразделяли на три дополнительные группы Б' (квадраты после дня 60) В и Г. Лечение только трастузумабом сохраняли только в группе Б', используя еженедельно дозы 15 мг/кг (поддерживающая доза). В) с дня 61 трастузумаб использовали в поддерживающей
- 15 дозе 15 мг/кг один раз в неделю в сочетании с дополнительной обработкой бевацизумабом в дозе 5 мг/кг дважды в неделю (треугольники) и Г) с дня 61 бевацизумаб использовали в дозе 5 мг/кг дважды в неделю после прекращения обработки трастузумабом (крестики). Моменты времени, когда одну мышь (*) или несколько мышей (***) умерщвляли на основании критериев окончания опыта обозначены одной
- 20 или несколькими звездочками (*);
- на фиг.2 - воздействие (А) отсутствия обработки - группа, обработанная наполнителем, (Б) обработка только трастузумабом (до дня 83), (В) комбинированной обработки трастузумабом и бевацизумабом (день 61 - день 112) после обработки только трастузумабом (день 27 - день 60) и (Г) обработка только бевацизумабом (день 61 -
- 25 день 112) после обработки только трастузумабом (день 27 - день 60) на метастазы в печень. Средние значения уровня экспрессии последовательности Alu-элемента человеческой ДНК (пг/мл) оценивали количественно в ткани печени с помощью ПЦР в реальном времени и откладывали на оси ординат.

Экспериментальные процедуры

30 Введение

В настоящем исследовании оценивали противоопухолевую активность а) комбинации трастузумаба и бевацизумаба и б) лечения только бевацизумабом после безуспешного лечения только трастузумабом на модели с использованием человеческого ксенотрансплантата рака молочной железы. Дополнительными задачами исследования 35 была оценка эффективности лечения в отношении метастазов.

Изучаемые агенты

Трастузумаб получали в виде маточного раствора с концентрацией 25 мг/мл в гистидине-HCl, альфа-альфа трегалозе (б0ММ), 0,01% полисорба, pH 6,0 (Herceptin®). Бевацизумаб получали в виде маточного раствора с концентрацией 25 мг/мл в Na-40 фосфате, альфа-альфа трегалозе (60 mM), 0,01% полисорба, pH 6,0 (Avastin®). Оба раствора разводили соответствующим образом в ЗФР для инъекций.

Клеточные линии и условия культивирования

Человеческую линию клеток рака молочной железы KPL-4 получали из злокачественного плеврального истечения пациента, страдающего раком молочной 45 железы с воспалительными кожными метастазами и характеризующегося сверхэкспрессией семейства ErbB-рецепторов (Kurebayashi J. и др., Br. J. Cancer 79, 1999, 707-717). Опухолевые клетки согласно общепринятому методу культивировали в среде DMEM (фирма PAA Laboratories, Австрия), дополненной 10% фетальной бычьей

сыворотки (PAA) и 2 мМ L-глутамином (фирма Gibco) при 37°C в насыщенной водой атмосфере с 5% CO₂. Пассажи культуры осуществляли дважды в неделю с расщеплением трипсином/ЭДТК 1×(PAA). Клеточный пассаж Р6 использовали для опыта *in vivo*.

Животные

Мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (SCID) с врожденным отсутствием естественных клеток-киллеров (C.B.-17); возрастом 10-12 недель; вес тела 18-20 г (фирма Charles River, Сулзфельд, Германия) содержали в специфических безпатогенных условиях с суточным циклом 12 ч света/12 ч темноты согласно международным руководствам (GV-Solas; Felasa; TierschG). После получения животных помещали в отсек вивария для карантина на одну неделю для того, чтобы они могли привыкнуть к новым условиям, и для обследования. На регулярной основе осуществляли постоянный мониторинг состояния здоровья. Животные имели свободный доступ к корму (Alltromin) и воде (подкисленной до значения pH 2,5-3).

Опыты по ингибированию роста опухоли *in vivo*

Собирали опухолевые клетки (трипсин-ЭДТК) из культуральных колб (Greiner TriFlask) и переносили в 50 мл культуральной среды, однократно промывали и ресуспендировали в ЗФР. После дополнительной стадии промывки ЗФР и фильтрации (клеточный фильтр; Falcon, 100 мкм) конечный титр клеток доводили до $0,75 \times 10^8$ /мл. Суспензию опухолевых клеток осторожно смешивали с помощью пипетки для переноса для того, чтобы избежать агрегации клеток. Осуществляли анестезию с помощью устройства для ингаляции мелких животных типа Stephens с камерой для предварительной инкубации (из плексигласа), индивидуальной наркозной маской, пригодной для носа мыши (из силикона), и изофлураном (фирма Pharmacia-Upjohn, Германия) в замкнутой циркуляционной системе. За два дня до инъекции у животных сбивали шерсть. Для инъекции в жировое тело молочной железы (i.f.m.p.) клетки вводили ортопотически в объеме 20 мкл в жировое тело правой предпоследней паховой молочной железы каждой анестезированной мыши. Для ортопотической имплантации клеточную суспензию инъектировали через кожу под соском. День инъекции опухоли соответствовал дню 1 эксперимента.

Мониторинг

Животных подвергали ежедневному контролю, определяя клинические симптомы побочных воздействий. Для мониторинга в течение всего эксперимента регистрировали вес тела животных два раза в неделю и определяли объем опухоли с помощью кронциркуля дважды в неделю. Первичный объем опухоли рассчитывали согласно протоколу NCI (Национальный онкологический институт) ($TW = 1/2ab^2$, где *a* и *b* представляют собой размеры длинного и короткого диаметра опухоли в мм (Teicher B., Anticancer drug development guide, изд-во Humana Press, 5, 1997, с.92). Рассчитанные величины регистрировали в виде среднего значения и стандартного отклонения.

Обработка животных

Несущих опухоли мышей произвольно разделяли на группы, когда объем опухоли достигал примерно 100 mm³ (n=10 в каждой группе). Перед опытом состояния здоровья животных в каждой группе были близкими, эксперимент начинали через 27 дней после инъекции опухолевых клеток. Группа А: группа, обработанная наполнителем- животным вводили 10 мл/кг ЗФР внутрибрюшинно (i.p.) один раз в неделю. Группа Б: животным вводили трастузумаб i.p. в ударной дозе 30 мг/кг, а затем один раз в неделю дозы 15 мг/кг (поддерживающая доза). В день 60 животных группы Б подразделяли на три дополнительные группы Б', В и Г. Обработку только трастузумабом сохраняли в только

группе Б' с использованием еженедельных доз 15 мг/кг (поддерживающая доза). Группа В: в день 61 обработку группы В изменяли на комбинированную обработку трастузумабом (15 мг/кг один раз в неделю, i.p.) и бевацизумабом (5 мг/кг дважды в неделю, i.p.). Группа Г: в день 61 обработку группы Г изменяли на монотерапию бевацизумабом (5 мг/кг дважды в неделю, i.p.), прекращая обработку трастузумабом.

5 Оценка метастазов

Распространение опухолевых клеток в легкое определяли у умерщвленных животных. Метастазы определяли согласно методу, описанному у Schneider T. и др., Clin. Exp. Metastasis 19, 2002, cc.571-582. В целом, метод состоял в следующем: изымали ткань 10 легкого и уровень экспрессии человеческих последовательностей Alu оценивали количественно с помощью ПЦР в реальном времени. Более высокие уровни человеческой ДНК, определенные с помощью ПЦР в реальном времени, соответствуют более высокому уровню метастазов.

Результаты

15 Воздействие лечения на рост первичных опухолей представлено на фиг.1 и в таблице 3. Опухоли в группе, обработанной наполнителем (группа А), быстро росли, и мышей умерщвляли через 73 дня после инъекции опухолевых клеток из-за изъязвления опухолей и развития клинических симптомов. Обработка трастузумабом (группа Б) значительно подавляла рост опухолей; однако у опухолей начинался повторный рост примерно к 20 50 дню. Замена на комбинированную обработку трастузумабом и бевацизумабом (группа В), а также замена на монотерапию бевацизумабом (группа Г), которые начинали в день 61, обе приводили к полному ингибированию роста опухолей в течение эксперимента (день 112), и лечение хорошо переносилось.

25 Таблица 3
Противоопухолевая активность а) комбинации трастузумаба и бевацизумаба и б) лечения только бевацизумабом на рост опухолей после безуспешного лечения трастузумабом (см. данные на фиг.1) Представлен средний объем опухоли в мм^3 и стандартное отклонение (С.К.О)

	День	Наполнитель (А)	СКО	Трастузумаб (Б+Б')	СКО	Замена лечения трастузумабом на трастузумаб+бевацизумаб (В)	СКО	Замена лечения трастузумабом на монотерапию бевацизумабом (Г)	СКО
	27	85	27	81	29				
	29	115	42	106	36				
	34	136	66	100	49				
	37	193	108	97	70				
	41	235	163	133	100				
30	44	335	220	139	128				
	48	406	309	172	181				
	51	591	463	201	203				
	55	690	479	263	286				
	58	565	333	315	383				
	60	729	402	393	426				
35	63	911	391	493	531	407	263	427	365
	65	898	313	585	582	350	210	306	220
	70	1213	440	798	776	190	45	180	142
	73	1015	330	961	841	149	44	154	112
40	77			861	418	146	45	129	78
	79			896	434	159	92	127	84
	83			1034	485	158	148	97	80
45	87					193	228	95	57
	91					159	166	100	82
	94					225	292	120	106
	98					242	340	112	95

101				154	160	120	108
105				119	109	92	85
108				175	157	104	105
112				122	68	110	103

5 Воздействие лечения на метастазы в легкое показано на фиг.2 и в таблице 4.

Совместная обработка трастузумабом и бевацизумабом после безуспешного лечения трастузумабом приводила к резкому снижению метастазов. Уровни человеческих последовательностей Alu-элемента (которые коррелируют с инвазией опухолевых клеток во вторичную ткань) значительно ниже у животных, которых подвергали комбинированной терапии в течение 31 дня, начиная с 61 дня, по сравнению с обработанными наполнителем животными, которых умерщвляли в день 73. При анализе животных, которых умерщвляли в день 83 или 112 соответственно, установлено, что метастазирование подавлялось также при использовании монотерапии трастузумабом или бевацизумабом. Это неожиданно установленное при создании изобретения 10 воздействие на метастазы противоположно действию, характерному для других цитотоксических лекарственных средств (Geldof A. A. и др., Anticancer Res. 8, 1988, 1335-1339; Murphy J., Clin. Oncol. 11, 1993, сс. 199-201 и De Larco J.E. и др., Cancer Res. 61, 2001, сс. 2857-2861).

15

Таблица 4 Воздействие лечения на метастазы в печень. Уровни Alu-элемента ДНК оценивали количественно с помощью ПЦР в реальном времени, и результаты представлены для каждого животного				
	Наполнитель (А) (день 73)	Трастузумаб (Б+ Б') (день 83)	Бевацизумаб (Г) (день 112)	Трастузумаб+бевацизумаб (В) (день 112)
Человеческая ДНК [пг/мл]	41,750	21,000	12,250	7,155
	51,400	10,550	7,405	6,785
	54,500	26,600	45,600	15,500
	19,300	12,250	29,200	8,040
	6,545	37,900	7,640	8,305
	48,550	25,050	22,900	
			7,740	
Среднее значение	37,008	22,225	18,962	9,157

Формула изобретения

1. Применение антитела к VEGF для приготовления лекарственного средства, которое предназначено для предупреждения или снижения метастазов у пациента, страдающего рецидивирующими HER2-позитивным раком груди, в процессе или после лечения 35 антителом к HER2.

2. Применение по п.1, отличающееся тем, что лекарственное средство предназначено для введения в процессе лечения антителом к HER2.

3. Применение по п.2, отличающееся тем, что лекарственное средство предназначено для введения вслед за монотерапией первой линии с использованием антитела к HER2.

40 4. Применение по п.1, отличающееся тем, что лекарственное средство предназначено для введения после лечения антителом к HER2.

5. Применение по п.4, отличающееся тем, что лекарственное средство предназначено для введения после монотерапии первой линии с использованием антитела к HER2.

45 6. Применение по одному из пп.1-5, отличающееся тем, что антитело к VEGF представляет собой бевацизумаб.

7. Применение по одному из пп.1-5, отличающееся тем, что антитело к HER2 представляет собой трастузумаб.

8. Способ снижения метастазов у пациента, страдающего рецидивирующим HER2-

позитивным раком груди, в процессе или после лечения антителом к HER2, включающий применение антитела к VEGF.

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что лекарственное средство предназначено для введения в процессе лечения антителом к HER2.

5 10. Способ по п.9, отличающийся тем, что лекарственное средство предназначено для введения вслед за монотерапией первой линии с использованием антитела к HER2.

11. Способ по п.8, отличающийся тем, что лекарственное средство предназначено для введения после лечения антителом к HER2.

10 12. Способ по п.11, отличающийся тем, что лекарственное средство предназначено для введения после монотерапии первой линии с использованием антитела к HER2.

13. Способ по одному из пп.8-12, отличающийся тем, что антитело к VEGF представляет собой бевацизумаб.

14. Способ по одному из пп.8-12, отличающийся тем, что антитело к HER2 представляет собой трастузумаб.

15 15. Способ по п.8, отличающийся тем, что антитело к VEGF представляет собой бевацизумаб, предназначенный для введения после монотерапии первой линии с использованием трастузумаба.

20 16. Применение по п.1, отличающееся тем, что антитело к VEGF представляет собой бевацизумаб, предназначенный для введения после монотерапии первой линии с использованием трастузумаба.

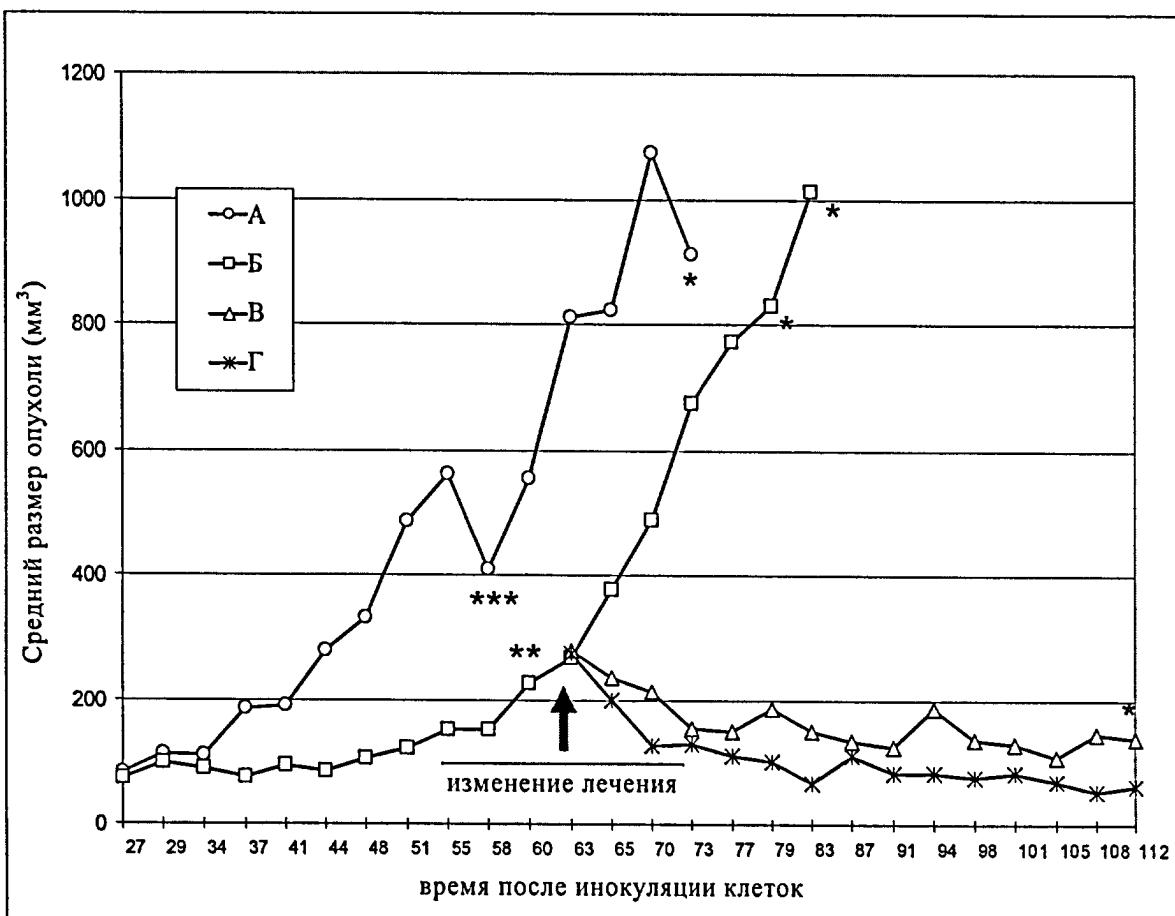
25

30

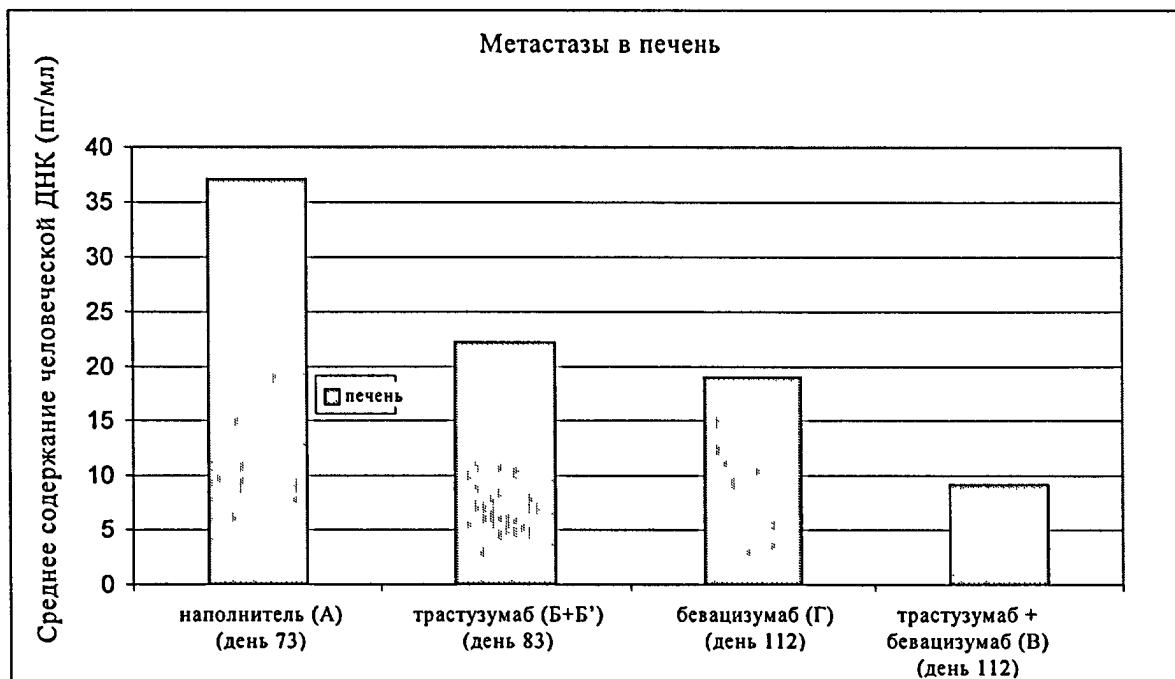
35

40

45



Фиг. 1



Фиг. 2