



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК
A61K 31/201 (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01)
A61K 31/555 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61K 33/24 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/201 (2023.05); A61K 31/337 (2023.05); A61K 31/555 (2023.05); A61K 31/7068 (2023.05); A61K 33/24 (2023.05); A61P 35/00 (2023.05)

(21)(22) Заявка: 2019135507, 15.05.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.05.2018Дата регистрации:
14.08.2023

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
16.05.2017 EP 17382282.6

(43) Дата публикации заявки: 16.06.2021 Бюл. № 17

(45) Опубликовано: 14.08.2023 Бюл. № 23

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 16.12.2019(86) Заявка РСТ:
EP 2018/062554 (15.05.2018)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2018/210830 (22.11.2018)Адрес для переписки:
190000, Санкт-Петербург, БОКС-1125

(72) Автор(ы):

ДОМЕНЕК ГАРСИЯ, Карлес (ES),
АЛЬБЕРТО АЛЬФОН КОРИАТ, Хоце (ES),
ПЕРЕС МОНТОЙО, Эктор (ES),
ФРАНЦИСКО СЕГУРА ЖИНАР, Мигель
(ES),
МИГЕЛЬ ЛИСКАНО ДЕ ВЕГА, Хоце (ES)

(73) Патентообладатель(и):

АБИЛИТИ ФАРМАСЬЮТИКАЛС С.Л.
(ES)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: "Ability Pharmaceuticals Announces
FDA-Orphan Drug Designation for ABTL0812
in Pancreatic Cancer", 14 December 2016 (2016-
12-14), URL: <http://www.abilitypharma.com/EN/132/media-center/news/ability-pharmaceuticals-announces-fda-orphan-drug-designation-for-abtl0812-in-pancreatic-cancer.html>. EP 2409963
A1, 25.01.2012. RU 2521394 C2, 27.06.2014. RU
(см. прод.)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМБИНАЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической комбинации для лечения рака у пациента, представляющего собой человека, содержащей (А): соединение, которое представляет собой полиненасыщенную жирную кислоту формулы $\text{COOH-CHON}-(\text{CH}_2)_6-(\text{CH}=\text{CH-CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$ (ABTL0812), его фармацевтически приемлемую соль или их комбинацию и (В): соединение, представляющее собой химиотерапевтический агент, где соединение (В) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак легкого, предпочтительно немелкоклеточную аденокарциному легкого; соединение (В)

представляет собой карбоплатин, а рак представляет собой рак эндометрия; соединение (В) представляет собой ретиноевую кислоту, а рак представляет собой нейробластому; соединение (В) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак молочной железы, предпочтительно трижды негативный рак молочной железы; соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой рак легкого; соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой плоскоклеточный рак, предпочтительно немелкоклеточный

плоскоклеточный рак легкого; соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого; соединение (B) представляет собой цисплатин и пеметрексед, рак представляет собой рак легкого; соединение (B) представляет собой цисплатин и пеметрексед, а рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого; соединение (B) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак эндометрия; соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой рак эндометрия; соединение (B) представляет собой паклитаксел и гемцитабин, а рак представляет собой рак поджелудочной железы; соединение

(B) представляет собой наб-паклитаксел и гемцитабин, а рак представляет собой рак поджелудочной железы; соединение (B) представляет собой доксорубицин, а рак представляет собой рак молочной железы, предпочтительно трижды негативный рак молочной железы; соединение (B) представляет собой цисплатин, а рак представляет собой нейробластому; или соединение (B) представляет собой цисплатин и гемцитабин, а рак представляет собой холангиокарциному. Изобретение обеспечивает значительный синергетический эффект при лечении указанных выше видов рака такой фармацевтической комбинацией. 9 з.п. ф-лы, 17 ил., 7 табл., 4 пр.

(56) (продолжение):

2429838 C2, 27.09.2011. RU 2284818 C2, 10.10.2006.

RU 2801665 C2

RU 2801665 C2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 31/201 (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01)
A61K 31/555 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61K 33/24 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 31/201 (2023.05); A61K 31/337 (2023.05); A61K 31/555 (2023.05); A61K 31/7068 (2023.05); A61K 33/24 (2023.05); A61P 35/00 (2023.05)

(21)(22) Application: **2019135507, 15.05.2018**(24) Effective date for property rights:
15.05.2018Registration date:
14.08.2023

Priority:

(30) Convention priority:
16.05.2017 EP 17382282.6(43) Application published: **16.06.2021 Bull. № 17**(45) Date of publication: **14.08.2023 Bull. № 23**(85) Commencement of national phase: **16.12.2019**(86) PCT application:
EP 2018/062554 (15.05.2018)(87) PCT publication:
WO 2018/210830 (22.11.2018)Mail address:
190000, Sankt-Peterburg, BOKS-1125

(72) Inventor(s):

**DOMENEK GARSIYA, Karles (ES),
ALBERTO ALFON KORIAT, Khose (ES),
PERES MONTOJO, Ektor (ES),
FRANTSISKO SEGURA ZHINAR, Migel (ES),
MIGEL LISKANO DE VEGA, Khose (ES)**

(73) Proprietor(s):

ABILITI FARMASYUTIKALS S.L. (ES)

(54) **PHARMACEUTICAL COMBINATION FOR CANCER TREATMENT**

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceutical industry.

SUBSTANCE: invention relates to a pharmaceutical combination for the treatment of cancer in a human patient, comprising (A): a compound which is a polyunsaturated fatty acid of the formula $\text{COOH-CHOH-(CH}_2)_6\text{-(CH=CH-CH}_2)_2\text{-(CH}_2)_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812), its pharmaceutically acceptable salt, or a combination thereof, and (B): a compound which is a chemotherapeutic agent, where compound (B) is paclitaxel and the cancer is lung cancer, preferably non-small cell lung adenocarcinoma; compound (B) is carboplatin and the cancer is endometrial cancer; compound (B) is retinoic acid and the cancer is neuroblastoma; compound (B) is paclitaxel and the

cancer is breast cancer, preferably triple negative breast cancer; compound (B) is paclitaxel and carboplatin, and the cancer is lung cancer; compound (B) is paclitaxel and carboplatin and the cancer is squamous cell carcinoma, preferably non-small cell squamous cell lung cancer; compound (B) is paclitaxel and carboplatin, and the cancer is non-small cell lung adenocarcinoma; compound (B) is cisplatin and pemetrexed, the cancer is lung cancer; compound (B) is cisplatin and pemetrexed and the cancer is non-small cell lung adenocarcinoma; compound (B) is paclitaxel and the cancer is endometrial cancer; compound (B) is paclitaxel and carboplatin, and the cancer is endometrial cancer; compound (B) is paclitaxel and gemcitabine,

and the cancer is pancreatic cancer; compound (B) is nab-paclitaxel and gemcitabine, and the cancer is pancreatic cancer; compound (B) is doxorubicin and the cancer is breast cancer, preferably triple negative breast cancer; compound (B) is cisplatin and the cancer is neuroblastoma; or Compound (B) is cisplatin and

gemcitabine and the cancer is cholangiocarcinoma.

EFFECT: invention provides a significant synergistic effect in the treatment of the above types of cancer with such a pharmaceutical combination.

10 cl, 17 dwg, 7 tbl, 4 ex

R U 2 8 0 1 6 6 5 C 2

R U 2 8 0 1 6 6 5 C 2

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к фармацевтической комбинации, содержащей (А): полиненасыщенную жирную кислоту и (В): соединение, представляющее собой химиотерапевтический агент, для одновременного, раздельного или последовательного применения для лечения рака у пациента, представляющего собой человека.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

В Европейском патенте EP 2409963 B1 (заявка подана Lipopharma в 2010 году) описано применение 1,2-замещенных производных полиненасыщенных жирных кислот (называемых П-ПНЖК) для лечения рака.

Описанные соединения, представляющие собой производные жирных кислот, имеют следующую формулу:



Примером предпочтительного соединения является:



В статье "Erazo, et al.; Clinical Cancer Research; 22(10) May 15, 2016" указанное выше соединение (182A1) описано более подробно - в данной статье указанное соединение называют "ABTL0812", и этот термин используют в настоящем документе.

Согласно описанию статьи ABTL0812 индуцирует опосредованную аутофагией гибель раковых клеток без активации клеточного апоптоза. В статье говорится: [стр. 2515]:

«Большинство существующих способов лечения рака активируют апоптоз, а устойчивость к химиотерапии является основной проблемой при раке (24).

Опосредованная аутофагией гибель клеток была предложена в качестве альтернативы уничтожению раковых клеток, не вызывающей устойчивость к лекарственным средствам, вызывающим апоптоз (25)».

[стр. 2517]:

«С другой стороны, активация mTORC1 часто связана с устойчивостью к противоопухолевым лекарственным средствам (6). Так как ABTL0812 является высокоактивным ингибитором оси Akt/mTORC1, его введение в комбинации со стандартными химиотерапевтическими лекарственными средствами может быть эффективным при устойчивой к терапии или не восприимчивой к апоптозу опухоли».

На момент подачи настоящей заявки - на веб - странице заявителя настоящей заявки (AbilityPharma - www.abilitypharma.com) имелся раздел Новости (все авторы настоящей заявки передали все относящиеся к настоящему документу права заявителю настоящей заявки и приоритетной заявки EP 17382282.6, поданной 16 мая 2017 года, - иными словами, обсуждаемая ниже публикация с веб-страницы настоящего заявителя может рассматриваться в качестве так называемого «раскрытия автором изобретения» - (т.е. публичное раскрытие сущности изобретения должно быть сделано автором изобретения, одним или более соавторами или другой стороной, которая получила информацию о сущности изобретения напрямую или косвенно от автора изобретения или соавтора).

В новостной заметке от 22 ноября 2016 года говорится:

«Каталонская биофармацевтическая компания Ability Pharmaceuticals, SL, объявила сегодня о начале первого клинического испытания 2 фазы нового противоракового агента ABTL0812 направленного действия для оценки его эффективности и безопасности в комбинации с паклитакселом и карбоплатином у 80 пациентов с распространенным или рецидивирующим раком эндометрия или плоскоклеточным раком легкого в качестве терапии первой линии (...)

В доклинических моделях рака АВТL0812 эффективен в качестве единственного агента и имеет превосходный профиль безопасности в отношении широкого спектра типов рака: рака легкого, эндометрия, поджелудочной железы и нейробластомы. В указанных моделях это соединение также обладает синергетическим эффектом с химиотерапией (таксаны, соединения платины и гемцитабин), не повышая ее токсичность».

В новостной заметке от 14 декабря 2016 года говорится:

«В доклинических исследованиях были показаны эффективность АВТL0812 в отношении рака поджелудочной железы в качестве единственного агента и синергетический эффект (в 8-90 раз) в комбинации с таксанами, соединениями платины и гемцитабином, причем регрессия опухоли происходила без повышения токсичности, связанной с химиотерапией (...)

АВТL0812 в настоящее время изучают на фазе 2 в качестве терапии первой линии в комбинации с химиотерапией у пациентов с раком эндометрия или плоскоклеточным раком легкого».

Что касается применения соединения АВТL0812 в комбинации с другими химиотерапевтическими агентами - в упомянутой выше статье Erazo и опубликованной заявителем новости (AbilityPharma) не описаны какие-либо существенные экспериментальные данные - т.е. утверждения, относящиеся к комбинации, могут рассматриваться как простые утверждения, которые не подтверждены какими-либо значимыми поддающимися проверке экспериментальными данными.

Опубликованные новостные заметки относятся к исследованиям фазы II - как известно в данной области техники, факт проведения исследований фазы II означает, что исследования фазы I завершены, и на основании этой информации специалист может сделать вывод только о том, что результаты безопасности и переносимости у человека, а также исследований фармакокинетики были положительными, т.е. это не дает никакой информации о возможном терапевтическом эффекте у пациента, представляющего собой человека, в частности, о возможном синергетическом эффекте комбинации. После завершения испытаний фазы II и оценки результатов специалист узнает только лишь о том, является ли лекарственное средство терапевтически эффективным, - на момент подачи настоящей заявки не было опубликовано никаких относящихся к настоящему изобретению экспериментальных данных, полученных в испытаниях фазы II.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Задачей, которая должна быть решена настоящим изобретением, является обеспечение усовершенствованного способа лечения рака.

Как обсуждалось выше, соединение $\text{COOH-CHON-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ называют в настоящем документе АВТL0812.

В рабочих примерах в настоящем документе приведены многочисленные подробные экспериментальные данные, демонстрирующие значительный синергетический эффект, связанный с применением обсуждаемого выше соединения АВТL0812 в комбинации с другими химиотерапевтическими агентами.

Как более подробно обсуждается в настоящем документе - экспериментальные данные, приведенные в настоящем документе, получены в общепринятых экспериментальных испытаниях *in vitro* и *in vivo* (например, на мышцах) - соответственно, на основании экспериментальных данных, приведенных в настоящем документе, представляется вероятным/достоверным, что связанные с настоящим изобретением синергетические эффекты могут быть получены у имеющего рак пациента, представляющего собой человека.

В Примере 4 в настоящем документе обсуждаются полученные ранее предварительные результаты клинических испытаний с участием людей - результаты проведенных ранее клинических испытаний с участием людей являются положительными в том смысле, что эти результаты также указывают на то, что у человека также
5 наблюдается синергетический эффект от применения соединения АВТL0812 в комбинации с паклитакселом и карбоплатином у пациентов с распространенным раком эндометрия или плоскоклеточным раком.

Основываясь на информации, известной из предшествующего уровня техники, специалист не смог бы предсказать и при этом иметь достаточные основания ожидать
10 достижение описанных в настоящем документе полученных в экспериментах значительных синергетических эффектов.

Согласно приведенному выше обсуждению раскрытия, сделанного настоящим заявителем (AbilityPharma) и приведенного на веб-странице, - утверждения, относящиеся к комбинации, в информации, приведенной на веб-странице, могут рассматриваться
15 как простые утверждения, которые не подтверждены какими-либо значимыми поддающимися проверке экспериментальными данными - очевидно, что на основе данной информации, представленной на веб-странице, невозможно с достаточной вероятностью/достоверностью утверждать, что связанные с настоящим изобретением синергетические эффекты могут быть получены у имеющего рак пациента,
20 представляющего собой человека.

Вкратце, в рабочих примерах в настоящем документе продемонстрировано, помимо прочего, следующее:

Пример 1: - Эксперименты *in vitro*:

1.1: АВТL0812 и доцетаксел имеют синергетический эффект *in vitro* в отношении
25 типовой клеточной линии немелкоклеточной аденокарциномы легкого, где АВТL0812 понижало IC₅₀ доцетаксела более чем в 80 раз - т.е. значительно повышало цитотоксичность доцетаксела;

1.2: АВТL0812 и паклитаксел имеют синергетический эффект *in vitro* в отношении 4
30 различных клеточных линий карциномы легкого, где АВТL0812 понижало IC₅₀ паклитаксела в диапазоне от 2 до 7 раз в зависимости от клеточной линии, т.е. повышало цитотоксичность паклитаксела;

1.3: АВТL0812 и гемцитабин имеют синергетический эффект *in vitro* в отношении
35 типовой клеточной линии рака поджелудочной железы, где АВТL0812 понижало IC₅₀ гемцитабина в 7 раз - т.е. значительно повышало цитотоксичность гемцитабина;

1.4: АВТL0812 и карбоплатин имеют синергетический эффект *in vitro* в отношении
40 типовой клеточной линии рака эндометрия, где АВТL0812 понижало IC₅₀ карбоплатина в 3 раза - т.е. повышало цитотоксичность карбоплатина;

1.5: АВТL0812 и ретиноевая кислота имеют синергетический эффект *in vitro* в
отношении типовой раковой клеточной линии нейробластомы;

1.6: АВТL0812 и паклитаксел имеют синергетический эффект *in vitro* в отношении
45 типовой клеточной линии рака молочной железы, где АВТL0812 понижало IC₅₀ паклитаксела в 3 раза, т.е. повышало цитотоксичность паклитаксела.

Пример 2: - Эксперименты *in vivo*:

2.1: В типовой мышинной модели *in vivo* низкие дозы АВТL0812 усиливали
противоопухолевую активность доцетаксела в отношении рака легкого в отсутствие отрицательного токсического эффекта.

2.2: В типовой мышинной модели *in vivo* при лечении комбинацией АВТL0812+

паклитаксел и карбоплатин (P/C) было показано значительное увеличение выживаемости в модели плоскоклеточного рака (ПКР), где выживаемость составляла 75% через 20 дней после лечения по сравнению с выживаемостью 0% в группах, в которых вводили АВТL0812 и носитель, и выживаемостью 25% в группе P/C.

5 2.3: В типовой мышинной модели *in vivo* для комбинации АВТL0812 + P/C был показан синергетический эффект по сравнению с действием каждого лекарственного средства по отдельности в отношении аденокарциномы легкого, так как у животных, которым вводили комбинацию, наблюдали значительное уменьшение объема опухоли по сравнению с контрольными животными и животными, которым проводили
10 химиотерапию;

2.4: В типовой мышинной модели *in vivo* для комбинации АВТL0812 + пеметрексед и цисплатин был показан синергетический эффект по сравнению с действием каждого способа химиотерапии по отдельности в отношении аденокарциномы легкого, так как у животных, которым вводили комбинацию, наблюдали значительное уменьшение
15 объема опухоли по сравнению с контрольными животными и животными, которым проводили химиотерапию;

2.5: В типовой мышинной модели *in vivo* для комбинации АВТL0812 + паклитаксел был показан синергетический эффект по сравнению с действием каждого лекарственного средства по отдельности в отношении рака эндометрия, так как у животных, которым
20 вводили комбинацию, наблюдали значительное уменьшение объема опухоли по сравнению с контрольными животными;

2.6: В типовой мышинной модели *in vivo* ксенотрансплантатов, полученных у пациентов, для комбинации АВТL0812 + P/C был показан синергетический эффект в отношении рака эндометрия, выраженный в значительно более высоком уменьшении
25 объема опухоли по сравнению с P/C, а также значительное уменьшение объема опухоли по сравнению с группой, в которой вводили носитель, в течение первых 47 дней;

2.7: В типовой мышинной модели *in vivo* для комбинации АВТL0812 + паклитаксел/гемцитабин был показан синергетический эффект в отношении рака поджелудочной железы, выраженный в значительно более высоком уменьшении объема опухоли по
30 сравнению с введением только P/Gm. Для P/Gm также показано более сильное уменьшение объема опухоли по сравнению с носителем;

2.8: В типовой мышинной модели *in vivo*, для комбинации АВТL0812 + наб-паклитаксел/гемцитабин был показан синергетический эффект в отношении рака поджелудочной железы, выраженный в значительно более сильном уменьшении объема опухоли по
35 сравнению с введением только Nab-P/Gm. Для Nab-P/Gm также показано более сильное уменьшение объема опухоли по сравнению с носителем;

2.9: В типовой мышинной модели *in vivo* для комбинации АВТL0812 + цисплатин был показан синергетический эффект в отношении нейробластомы, где комбинация АВТL0812 с цисплатином приводила к стабилизации прогрессирования опухоли в
40 течение продолжительного периода времени;

2.10: В типовой мышинной модели *in vivo* для комбинации АВТL0812 + доксорубицин был показан синергетический эффект в отношении рака молочной железы, где для комбинации АВТL0812 с паклитакселом было показано более сильное уменьшение объема опухоли по сравнению с носителем.

45 Экспериментальные данные, приведенные в настоящем документе, получены в общепринятых экспериментальных испытаниях *in vitro* и *in vivo* (например, на мышцах) - соответственно, на основании экспериментальных данных, приведенных в настоящем документе, представляется вероятным/достоверным, что связанные с настоящим

изобретением синергетические эффекты могут быть получены у имеющего рак пациента, представляющего собой человека.

Примеры химиотерапевтических агентов, исследуемых в рабочих примерах в настоящем документе, включают:

5 Таксаны: паклитаксел (таксол), наб-паклитаксел (паклитаксел, связанный с альбумином) и доцетаксел;

Агенты на основе платины: карбоплатин и цисплатин;

Аналоги нуклеотидов и аналоги-предшественники: гемцитабин;

Фолатные антиметаболиты: пеметрексед;

10 Антрациклины: доксорубин;

Соответственно, были изучены различные группы/классы химиотерапевтических агентов, и для всех был продемонстрирован значительный синергетический эффект при использовании в комбинации с соединением АВТL0812.

15 На основании экспериментальных данных, приведенных в настоящем документе, представляется вероятным, что описанный в настоящем документе положительный синергетический эффект может быть получен для большинства значимых химиотерапевтических агентов.

20 Как обсуждалось выше, большинство существующих способов лечения рака активируют апоптоз, и все вышеупомянутые исследуемые другие химиотерапевтические агенты активируют апоптоз.

АВТL0812 вызывает опосредованную аутофагией гибель раковых клеток, не активируя клеточный апоптоз.

25 Экспериментальные данные, приведенные в настоящем документе, демонстрируют, что АВТL0812 в комбинации с химиотерапевтическими средствами неожиданно может повышать уровень апоптоза, хотя он и не является основным механизмом действия АВТL0812.

На основании экспериментальных данных, приведенных в настоящем документе, для химиотерапевтического агента (например, доцетаксела) было продемонстрировано по существу следующее:

30 Доцетаксел в количестве, обеспечивающем 100% терапевтический эффект => приводит к токсичности Y.

Доцетаксел в количестве, обеспечивающем 50% терапевтический эффект => приводит к снижению токсичности.

35 Доцетаксел в количестве, обеспечивающем 50% терапевтический эффект, + АВТL0812 в количестве, обеспечивающем 50% терапевтический эффект => приводят к 100% эффекту, а токсичность сохраняется на том же пониженном уровне.

40 Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что благодаря комбинированию с АВТL0812 удалось значительно повысить эффект химиотерапевтического агента (например, доцетаксела) в отсутствие значительного повышения токсичности.

Соединение АВТL0812 структурно и функционально схоже с другими соединениями, представляющими собой 1,2-замещенные производные полиненасыщенных жирных кислот (П-ПНЖК), как описано в обсуждаемом выше патенте EP 2409963 B1.

45 Соответственно, судя по имеющимся данным, вполне вероятно, что по существу все соединения, представляющие собой производные жирных кислот, согласно EP 2409963 B1 могут оказывать связанный с настоящим изобретением синергетический эффект в комбинации с химиотерапевтическим агентом.

Соответственно, первый аспект изобретения относится к фармацевтической

комбинации, содержащей:

(А): соединение, которое представляет собой полиненасыщенную жирную кислоту формулы $\text{COOR}_1\text{-CHR}_2\text{-(CH}_2\text{)}_a\text{-(CH=CHCH}_2\text{)}_b\text{-(CH}_2\text{)}_c\text{-CH}_3$, его фармацевтически приемлемую соль или их комбинацию, где

- (i) a может представлять собой любое целое число от 0 до 7,
- (ii) b может представлять собой любое целое число от 2 до 7,
- (iii) c может представлять собой любое целое число от 0 до 7,
- (iv) R_1 представляет собой H, Na, K, CH_3 , $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ или $\text{PO(O-CH}_2\text{-CH}_3\text{)}_2$, и
- (v) R_2 представляет собой OH, OCH_3 , $\text{O-CH}_2\text{COOH}$, CH_3 , Cl, CH_2OH , $\text{ORO(O-CH}_2\text{-CH}_3\text{)}_2$, NOH, F, HCOO или $\text{N(OCH}_2\text{CH}_3\text{)}_2$;

и

(В): соединение, представляющее собой химиотерапевтический агент, для одновременного, отдельного или последовательного применения для лечения рака у пациента, представляющего собой человека.

В данном контексте специалисту должно быть понятно, что соединение (В), представляющее собой химиотерапевтический агент, согласно первому аспекту, безусловно, не является соединением, включенным в объем Соединения (А), согласно первому аспекту.

В данном контексте специалисту должно быть понятно, что для обсуждаемого в настоящем документе комбинированного лечения несущественно, вводят ли два соединения (А) и (В), например, одновременно в виде одной композиции, или, например, последовательно в виде двух отдельных композиций. Важно, что эффективное количество вводимого первым соединением/агента находится в организме пациента во время введения второго соединения/агента.

Соответственно, термин «комбинация» согласно первому аспекту относится в настоящем документе к различным комбинациям соединений (А) и (В), например, в одной фармацевтической композиции, в комбинированной смеси, состоящей из отдельных фармацевтических составов/композиций активных соединений по отдельности, такой как «смесь в сосуде», и к комбинированному применению активных ингредиентов по отдельности, вводимых последовательно, то есть друг за другом в течение достаточно короткого периода времени, такого как несколько часов или дней, или одновременно. Порядок применения соединений (А) и (В) не важен.

Комбинация соединений (А) и (В) может быть приготовлена с возможностью одновременного, отдельного или последовательного введения. В частности, если введение не является одновременным, то соединения вводят с относительно небольшим временным интервалом друг от друга. Кроме того, соединения вводят в одной или разных лекарственных формах или одним или различными способами введения, например, одно соединение можно вводить местно, а другое соединение можно вводить перорально. Комбинацию двух соединений можно вводить, например:

- в виде комбинации, включенной в один лекарственный состав, в этом случае два соединения вводят всегда одновременно;
- в виде комбинации двух лекарственных форм/композиций, каждая из которых содержит одно из веществ, что делает возможным одновременное, последовательное или отдельное введение;

Например, соединение (А) вводят независимо от соединения (В) (т.е. в двух лекарственных формах), но в одно время.

В другом подходящем примере сначала вводят соединение (А), а затем отдельно или

последовательно вводят соединение (В) - в качестве альтернативы, сначала вводят соединение (В), а затем отдельно или последовательно вводят соединение (А).

Термин «фармацевтический», например, в отношении «фармацевтической композиции», следует понимать в соответствии с уровнем техники, т.е. он относится к препарату/композиции, который(-ая) имеет такую форму, которая эффективно обеспечивает биологическую активность и физиологическую переносимость активных ингредиентов, то есть, не содержит дополнительные компоненты, которые вызывают неприемлемую токсичность у субъекта, которому вводят композицию. В частности, термин «фармацевтически приемлемый» обозначает одобрение регулирующим органом штата или федерального правительства или включение в Фармакопею США или другую общепризнанную фармакопею для применения у животных и, в частности, у человека.

Вариант реализации настоящего изобретения описан ниже исключительно в качестве примеров.

Комбинация описанного в настоящем документе предпочтительного варианта реализации с другим описанным в настоящем документе предпочтительным вариантом реализации является еще более предпочтительным вариантом реализации.

ЧЕРТЕЖИ

Фигура 1: Показана синергия АВТL0812 с доцетакселом *in vitro* в отношении клеточной линии аденокарциномы легкого человека А549. Цитотоксичность АВТL0812, доцетаксела и комбинации обоих лекарственных средств. Можно наблюдать повышение цитотоксичности доцетаксела, так как его IC_{50} снижалась в 86 раз при добавлении АВТL0812 в низкой концентрации (примерно половина от IC_{50}). Результаты показаны как среднее для двух независимых экспериментов. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

Фигура 2: Показана синергия АВТL0812 с паклитакселом *in vitro* в отношении клеточных линий аденокарциномы легкого человека А549 и Н1975 и в отношении клеточных линий плоскоклеточного рака легкого человека Н157 и НТВ182. Цитотоксичность АВТL0812, паклитаксела и комбинации обоих лекарственных средств для всех четырех различных клеточных линий рака легкого. Можно наблюдать повышение цитотоксичности паклитаксела для всех четырех клеточных линий, так как его IC_{50} снижалась в диапазоне от 2 до 7 раз в зависимости от клеточной линии при добавлении АВТL0812 в низкой концентрации (примерно половина от IC_{50}). Результаты показаны как среднее для двух независимых экспериментов для каждой клеточной линии. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

Фигура 3: Показана синергия АВТL0812 с гемцитабином *in vitro* в отношении клеточной линии рака поджелудочной железы человека MiaPaca2. Цитотоксичность АВТL0812, гемцитабина и комбинации обоих лекарственных средств. Можно наблюдать повышение цитотоксичности гемцитабина в присутствии АВТL0812, так как его IC_{50} снижалась в 7 раз при добавлении АВТL0812 в низкой концентрации (примерно половина от IC_{50}). Результаты показаны как среднее для двух независимых экспериментов. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

Фигура 4: Показана синергия АВТL0812 с карбоплатином *in vitro* в отношении клеточной линии рака эндометрия человека Ishikawa. Цитотоксичность АВТL0812, карбоплатина и комбинации обоих лекарственных средств. Можно наблюдать повышение цитотоксичности доцетаксела, так как его IC_{50} снижалась в 3 раза при добавлении АВТL0812 в низкой концентрации (примерно половина от IC_{50}). Результаты показаны как среднее для двух независимых экспериментов. Дополнительную

информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

Фигура 5: Показана синергия АВТL0812 с ретиноевой кислотой *in vitro* в отношении клеточных линий нейробластомы человека LAI-5S и SK-N-BE(2). Цитотоксичность АВТL0812, ретиноевой кислоты и комбинации обоих лекарственных средств. Можно наблюдать повышение цитотоксичности ретиноевой кислоты (РК) для обеих клеточных линий, так как жизнеспособность клеток в присутствии РК снижалась с 82,8% до 23,8% для клеток LAI-5S и с 70,4% до 34,7% для клеток SK-N-BE(2) при инкубации РК совместно с АВТL0812 в низкой концентрации (примерно половина от IC₃₀). Результаты показаны как среднее для двух независимых экспериментов. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

Фигура 6: Показана синергия АВТL0812 с паклитакселом *in vitro* в отношении клеточной линии трижды негативного рака молочной железы человека MDA-DB-231. Цитотоксичность АВТL0812, паклитаксела и комбинации обоих лекарственных средств. Можно наблюдать повышение цитотоксичности паклитаксела, так как его IC₅₀ снижалась в 2,7 раза при добавлении АВТL0812 в низкой концентрации (ниже IC₅₀). Результаты показаны как среднее для двух независимых экспериментов. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

Фигура 7: АВТL0812 усиливает терапевтический эффект доцетаксела без повышения токсичности в модели ксенотрансплантата аденокарциномы легкого человека A549 *in vivo*. Левый график: противоопухолевый эффект комбинации АВТL0812 с доцетакселом в модели ксенотрансплантата аденокарциномы легкого человека A549, показано значительное снижение роста опухоли по сравнению с группами, в которых вводили АВТL0812, доцетаксел и носитель. Значения *p* вычисляли для сравнения группы АВТL0812+доцетаксел с группой, в которой вводили доцетаксел, и группой, в которой вводили носитель. Правый график: общая масса тела в различных группах лечения в течение всего периода проведения эксперимента. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

Фигура 8: АВТL0812 усиливает терапевтический эффект паклитаксела/карбоплатина (P/C) без повышения токсичности в модели ксенотрансплантата плоскоклеточного рака легкого человека H157 *in vivo*. График Каплана-Мейера для ксенотрансплантата H157 после введения АВТL0812, P/C, АВТL0812 + P/C и носителя, где для АВТL0812 + P/C показан самый высокий уровень выживаемости. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

Фигура 9: АВТL0812 усиливает терапевтический эффект P/C без повышения токсичности в модели ксенотрансплантата аденокарциномы легкого человека H1975 *in vivo*. Левый график: противоопухолевый эффект комбинации АВТL0812 с P/C в модели ксенотрансплантата аденокарциномы легкого человека A549, показано самое большое снижение объема опухоли по сравнению с группами, в которых вводили P/C, АВТL0812 или носитель. Значения *p* вычисляли для сравнения группы АВТL0812 + P/C с группой P/C и группой, в которой вводили носитель. Правый график: общая масса тела в различных группах лечения в течение всего периода проведения эксперимента. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

Фигура 10: АВТL0812 усиливает терапевтический эффект пеметрекседа и цисплатина без повышения токсичности в модели ксенотрансплантата аденокарциномы легкого человека A549 *in vivo*. Левый график: противоопухолевый эффект комбинации АВТL0812 с пеметрекседом и цисплатином, показано значительное снижение роста опухоли по сравнению с группами, в которых вводили пеметрексед и цисплатин и носитель. Значения *p* вычисляли для сравнения группы АВТL0812 + пеметрексед и цисплатин с группой, в

которой вводили носитель. Правый график: общая масса тела в различных группах лечения в течение всего периода проведения эксперимента. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

5 Фигура 11: АВТL0812 усиливает терапевтический эффект паклитаксела без повышения токсичности в модели ортотопически имплантируемого ксенотрансплантата рака эндометрия человека Ishikawa *in vivo*. Левый график: умерщвляли животных после трех недель лечения, удаляли опухоли и определяли объем опухоли. Наблюдали статистически значимое снижение у животных, которым вводили комбинацию АВТL0812 + паклитаксел, по сравнению с контрольными животными, которым вводили только носитель. Значения p вычисляли для сравнения группы АВТL0812 + паклитаксел с группой, в которой вводили носитель. Правый график: общая масса тела в различных группах лечения в течение всего периода проведения эксперимента. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

15 Фигура 12: АВТL0812 усиливает терапевтический эффект P/C без повышения токсичности в ксенотрансплантатах рака эндометрия человека, полученных у пациентов, *in vivo*. Левый график на фигуре: Фрагмент опухоли, хирургически удаленный у пациента с серозным типом опухоли, определенным в гистологии, стадия ПС2, 100% инвазия миометрия и инвазия в лимфатические узлы таза и аорты и лимфоваскулярная инвазия, и имевшей мутации генов p53 и PI3KCA, имплантировали бестимусным мышам. АВТL0812 в комбинации с P/C значительно уменьшает размер опухоли по сравнению с P/C, АВТL0812 и носителем. Значения p указаны на фигуре. Правый график: общая масса тела в различных группах лечения в течение всего периода проведения эксперимента показана ниже. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

25 Фигура 13: АВТL0812 усиливает эффект гемцитабина и паклитаксела (Gm/P) без повышения токсичности в модели ксенотрансплантата рака поджелудочной железы человека MiaPaca2 *in vivo*. Левый график: Противоопухолевый эффект комбинации АВТL0812 + Gem/P, показано самое большое уменьшение объема опухоли по сравнению с Gm/P, АВТL0812 или носителем. Значения p вычисляли для сравнения группы АВТL0812 + гемцитабин и паклитаксел с группой, в которой вводили гемцитабин и паклитаксел, гемцитабин и носитель. Правый график: общая масса тела в различных группах лечения в течение всего периода проведения эксперимента. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

35 Фигура 14: АВТL0812 усиливает эффект используемого отдельно гемцитабина (Gm) и эффект гемцитабина и наб-паклитаксела (Gm/Nab-P) без повышения токсичности в двух моделях ксенотрансплантата рака поджелудочной железы человека MiaPaca2 *in vivo*. Левый график: Противоопухолевый эффект комбинации АВТL0812+Gm/Nab-P, показано самое большое уменьшение объема опухоли по сравнению с Gm/Nab-P, АВТL0812 или носителем. Правый график: противоопухолевый эффект комбинации АВТL0812 + Gm, показано самое большое уменьшение объема опухоли по сравнению с Gm, АВТL0812 или носителем. Значения p вычисляли для сравнения АВТL0812 + Gm/Nab-P с АВТL0812 + Gm и группой, в которой вводили носитель. Общая масса тела в различных группах лечения в течение всего периода проведения эксперимента показана ниже. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

45 Фигура 15: АВТL0812 усиливает терапевтический эффект цисплатина без повышения токсичности в модели ксенотрансплантата нейробластомы человека SH-SY5Y *in vivo*. Левый график: противоопухолевый эффект комбинации АВТL0812 + цисплатин, показано самое большое уменьшение объема опухоли по сравнению АВТL0812, цисплатином

или носителем. На 10 день умерщвляли животных из контрольной группы, одновременно с этим умерщвляли половину животных из групп, в которых проводили лечение, а оставшихся исследовали в течение более продолжительного периода времени. Левый график: Масса опухоли после умерщвления через 10 дней лечения ($p < 0,05$ согласно t-тесту). Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

5 Фигура 16: АВТL0812 усиливает терапевтический эффект доксорубина без повышения токсичности в модели ксенотрансплантата трижды негативного рака молочной железы человека MDA-DB-231 *in vivo*. Левый график: противоопухолевый эффект комбинации АВТL0812 + доксорубин, показано самое большое уменьшение объема опухоли по сравнению с доксорубином, АВТL0812 или носителем. Значения p вычисляли для сравнения АВТL0812 + доксорубин с группой, в которой вводили носитель. Правый график: общая масса тела в различных группах лечения в течение всего периода проведения эксперимента. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

15 Фигура 17: АВТL0812 усиливает терапевтический эффект гемцитабина и цисплатина (Gm/Cis) без повышения токсичности в модели ксенотрансплантата холангиокарциномы человека EGI-1 *in vivo*. Левый график: противоопухолевый эффект комбинации АВТL0812 + Gm/Cis, показано самое большое уменьшение объема опухоли по сравнению с Gm/Cis, АВТL0812 или носителем. Значения p вычисляли для сравнения АВТL0812 + Gm/Cis с группой, в которой вводили носитель. Правый график: общая масса тела в различных группах лечения в течение всего периода проведения эксперимента. Дополнительную информацию см. в рабочем примере в настоящем документе.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Соединение (A) согласно первому аспекту

25 В предпочтительном варианте реализации

(i) a может представлять собой любое целое число от 5 до 7,

(ii) b может представлять собой любое целое число от 2 до 4,

(iii) c может представлять собой любое целое число от 1 до 5.

Предпочтительно R_1 может представлять собой H, Na, K, CH_3 , CH_3-CH_2 или $PO(O-CH_2-CH_3)_2$,

Предпочтительно R_2 может представлять собой OH, OCH_3 , $O-CH_3COOH$, CH_3 , Cl, CH_2OH , $OPO(O-CH_2-CH_3)_2$, NOH, F, HCOO или $N(OCH_2CH_3)_2$.

35 В предпочтительном варианте реализации R_1 представляет собой H, а R_2 представляет собой OH.

В другом предпочтительном варианте реализации R_1 представляет собой Na, а R_2 представляет собой OH.

Предпочтительно соединение (A) представляет собой по меньшей мере одно соединение, выбранное из группы, состоящей из:

40 $COOH-CHON-(CH_2)_6-(CH=CH-CH_2)_2-(CH_2)_3-CH_3$ (АВТL0812),

$COOH-CHON-(CH_2)_6-(CH=CH-CH_2)_3-CH_3$ (183A1),

$COOH-CHON-(CH_2)_3-(CH=CH-CH_2)_3-(CH_2)_3-CH_3$ (183A2),

$COOH-CHON-(CH_2)_2-(CH=CH-CH_2)_4-(CH_2)_3-CH_3$ (204A1),

45 $COOH-CHON-(CH_2)_2-(CH=CH-CH_2)_5-CH_3$ (205A1), и

$COOH-CHON-CH_2-(CH=CH-CH_2)_6-CH_3$ (226A1).

Наиболее предпочтительно соединение (A) представляет собой $COOH-CHON-(CH_2)_6-$

$(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$ (ABTL0812).

Фармацевтически приемлемая соль соединения (А) относится к любой фармацевтически приемлемой соли соединения (А). В данной области техники известно множество фармацевтически приемлемых солей. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соли натрия (Na), калия, ацетаты, сульфаты, пиросульфаты, бисульфаты, сульфиты, бисульфиты, фосфаты, моногидрофосфаты, дигидрофосфаты, метафосфаты, пирофосфаты, хлориды, бромиды, йодиды, ацетаты, пропионаты, деканоаты, каприлаты, акрилаты, формиаты, изобутираты, капроаты, гептаноаты, пропиолаты, оксалаты, малонаты, сукцинаты, субераты, себакаты, фумараты, малеаты, бутин-1,4-диоаты, гексин-1,6-диоаты, бензоаты, хлорбензоаты, метилбензоаты, динитробензоаты, гидроксibenзоаты, метоксибензоаты, фталаты, сульфонаты, ксилолсульфонаты, фенилацетаты, фенилпропионаты, фенилбутираты, цитраты, лактаты, гамма-гидроксibuтираты, гликоляты, тартраты, алкансульфонаты (например, метансульфонат или мезилат), пропансульфонаты, нафталин-1-сульфонаты, нафталин-2-сульфонаты и манделаты. В конкретном варианте реализации соль соединения (А) представляет собой натриевую соль.

В данном контексте специалисту должно быть понятно, что в описание предпочтительной формулы соединения (А), такого как, например, ABTL0812, включена его соль, например, если в настоящем документе описано, что указанное соединение (А) представляет собой $\text{COOH}-\text{CHOH}-(\text{CH}_2)_6-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$ (ABTL0812), то это описание также относится к соли ABTL0812.

Предпочтительно соединение (А) представляет собой натриевую соль $\text{COOH}-\text{CHOH}-(\text{CH}_2)_6-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$ (ABTL0812).

Соединение (В) согласно первому аспекту

Предпочтительно соединение (В) представляет собой по меньшей мере одно соединение, представляющее собой химиотерапевтический агент, выбранное из группы, состоящей из:

бифункционального алкилирующего агента (предпочтительно циклофосфамида, мехлорэтамина, хлорамбуцила или мелфалана);

монофункционального алкилирующего агента (предпочтительно дакарбазина (DTIC), нитрозомочевин или темозоломида);

антрациклина (предпочтительно даунорубицина, доксорубицина, эпирубицина, идарубицина, митоксантрона или валрубицина);

таксана (предпочтительно паклитаксела, доцетаксела, наб-паклитаксела или таксотера);

эпотилона (предпочтительно патупилона, сагопилона или иксабепилона);

ингибитора деацетилазы (предпочтительно вориноста или ромидепсина);

ингибитора топоизомеразы I (предпочтительно иринотекана или топотекана);

ингибитора топоизомеразы II (предпочтительно этопозиды, тенипозиды или тафлупозиды);

ингибитора киназы (предпочтительно бортезомиба, эрлотиниба, гефитиниба, иматиниба, вемурафениба или висмодегиба);

аналога нуклеотида и/или аналога-предшественника (предпочтительно азациитидина, азатиоприна, капецитабина, цитарабина, доксифлуридина, фторурацила, гемцитабина, гидроксимочевины, меркаптопурина, метотрексата или тиогуанина);

пептидного антибиотика (предпочтительно блеомицина или актиномицина);

агента на основе платины (предпочтительно карбоплатина, цисплатина или

оксалиплатина);

ретиноида (предпочтительно третиноина, алитретиноина или бексаротена); и алкалоида винка и его производных (предпочтительно винбластина, винкристина, виндезина или винорелбина).

5 В данном контексте должно быть понятно, что для любого из перечисленных предпочтительных примеров соединения (B) наиболее предпочтительным соединением (A) является $\text{COOH-CHON}-(\text{CH}_2)_6-(\text{CH}=\text{CH-CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$ (ABTL0812).

10 Более предпочтительно соединение (B) представляет собой по меньшей мере одно соединение, представляющее собой химиотерапевтический агент, выбранное из группы, состоящей из:

циклофосфамида;

мелфалана;

доцетаксела;

паклитаксела;

15 наб-паклитаксела;

карбоплатина;

цисплатина;

оксалиплатина;

метотрексата;

20 пеметрекседа;

азатиоприна;

капецитабина;

фторурацила;

меркаптопурина;

25 гемцитабина;

блеомицина;

актиномицина;

винкристина;

винбластина;

30 винорелбина;

ретиноевой кислоты;

темозоломида;

даунорубицина;

доксорубицина;

35 иринотекана; и

топотекана.

Еще более предпочтительно соединение (B) представляет собой по меньшей мере одно соединение, представляющее собой химиотерапевтический агент, выбранное из группы, состоящей из:

40 доцетаксела;

паклитаксела;

наб-паклитаксела;

карбоплатина;

цисплатина;

45 оксалиплатина;

метотрексата;

пеметрекседа;

гемцитабина;

блеомицина;
ретиноевой кислоты;
темозоломида;
доксорубицина;
5 иринотекана; и
топотекана.

Соединение (В) согласно первому аспекту предпочтительно может включать два или более различных химиотерапевтических агента (в частности, если соединение (А) представляет собой $\text{COOH-CHON-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3\text{(ABTL0812)}$) -

10 при этом предпочтительно соединение (В) согласно первому аспекту включает:

паклитаксел и карбоплатин;
паклитаксел и гемцитабин;
наб-паклитаксел и гемцитабин;
гемцитабин и цисплатин;
15 пеметрексед и цисплатин.

Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой доцетаксел, в частности, если рак представляет собой рак легкого (предпочтительно немелкоклеточную аденокарциному легкого). (См. примеры 1.1 и 2.1 в настоящем документе в качестве примера указанного
20 предпочтительного варианта реализации).

Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой паклитаксел, в частности, если рак представляет собой рак легкого (немелкоклеточный рак легкого). (См. пример 1.2 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

25 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой гемцитабин, в частности, если рак представляет собой рак поджелудочной железы. (См., например, пример 1.3 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

30 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой карбоплатин, в частности, если рак представляет собой рак из клеток эндометрия. (См. пример 1.4 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

35 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой ретиноевую кислоту, в частности, если рак представляет собой нейробластому. (См. пример 1.5 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

40 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой паклитаксел, в частности, если рак представляет собой рак молочной железы (предпочтительно трижды негативный рак молочной железы). (См. пример 1.6 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

45 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, в частности, если рак представляет собой плоскоклеточный рак (предпочтительно немелкоклеточный плоскоклеточный рак легкого). (См. пример 2.2 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, в частности, если рак

представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого. (См. пример 2.3 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

5 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой пеметрексед и цисплатин, в частности, если рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого. (См. пример 2.4 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

10 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой паклитаксел, в частности, если рак представляет собой рак эндометрия. (См. пример 2.5 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

15 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, в частности, если рак представляет собой рак эндометрия. (См. пример 2.6 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

20 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой паклитаксел и гемцитабин, в частности, если рак представляет собой рак поджелудочной железы. (См. пример 2.7 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

25 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой или гемцитабин, или наб-паклитаксел и гемцитабин, в частности, если рак представляет собой рак поджелудочной железы. (См. пример 2.8 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой цисплатин, в частности, если рак представляет собой нейробластому. (См. пример 2.9 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

30 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой доксорубицин, в частности, если рак представляет собой трижды негативный рак молочной железы. (См. пример 2.10 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

35 Особенно предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой гемцитабин и цисплатин, в частности, если рак представляет собой холангиокарциному. (См. пример 2.11 в настоящем документе в качестве примера указанного предпочтительного варианта реализации).

40 Предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой темозоломид и иринотекан, в частности, если рак представляет собой нейробластому.

Предпочтительно соединение (А) представляет собой АВТL0812, а соединение (В) представляет собой доксорубицин и топотекан, в частности, если рак представляет собой нейробластому.

45 Предпочтительно фармацевтическая комбинация, обсуждаемая в настоящем документе, представляет собой комбинацию, в которой соединение (А) представляет собой АВТL0812, и:

- соединение (В) представляет собой доцетаксел, а рак представляет собой рак легкого, предпочтительно немелкоклеточную аденокарциному легкого;

- соединение (В) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак легкого, предпочтительно немелкоклеточную аденокарциному легкого;
- соединение (В) представляет собой гемцитабин, а рак представляет собой рак поджелудочной железы;
- 5 - соединение (В) представляет собой карбоплатин, а рак представляет собой рак эндометрия;
- соединение (В) представляет собой ретиноевую кислоту, а рак представляет собой нейробластому;
- соединение (В) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак молочной железы, предпочтительно трижды негативный рак молочной железы;
- 10 - соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой плоскоклеточный рак, предпочтительно немелкоклеточный плоскоклеточный рак легкого;
- соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого;
- 15 - соединение (В) представляет собой пеметрексед и цисплатин, а рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого;
- соединение (В) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак эндометрия;
- 20 - соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой рак эндометрия;
- соединение (В) представляет собой паклитаксел и гемцитабин, а рак представляет собой рак поджелудочной железы;
- соединение (В) представляет собой гемцитабин, а рак представляет собой рак поджелудочной железы;
- 25 - соединение (В) представляет собой гемцитабин и наб-паклитаксел, а рак представляет собой рак поджелудочной железы;
- соединение (В) представляет собой цисплатин и гемцитабин, а рак представляет собой нейробластому;
- 30 - соединение (В) представляет собой доксорубицин, а рак представляет собой рак молочной железы, предпочтительно трижды негативный рак молочной железы;
- соединение (В) представляет собой цисплатин и гемцитабин, а рак представляет собой холангиокарциному;
- соединение (В) представляет собой гемцитабин, а рак представляет собой холангиокарциному;
- 35 - соединение (В) представляет собой топотекан, а рак представляет собой нейробластому;
- соединение (В) представляет собой иринотекан, а рак представляет собой нейробластому; или
- 40 - Соединение (В) представляет собой темозоломид, а рак представляет собой нейробластому.

Как обсуждалось выше, в Примере 4 в настоящем документе обсуждаются полученные ранее предварительные результаты клинических испытаний с участием людей - результаты проведенных ранее клинических испытаний с участием людей являются положительными в том смысле, что эти результаты также указывают на то, что у человека также наблюдается синергетический эффект от применения соединения АВТL0812 в комбинации с паклитакселом и карбоплатином у пациентов с распространенным раком эндометрия или плоскоклеточным раком.

Соответственно, предпочтительно фармацевтическая комбинация, обсуждаемая в настоящем документе, представляет собой комбинацию, в которой соединение (А) представляет собой АВТL0812, и:

5 - соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой распространенный рак эндометрия, предпочтительно распространенный рак эндометрия; или

- соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой плоскоклеточный рак.

10 Предпочтительно АВТL0812 вводят перорально, предпочтительно вводимая доза АВТL0812 представляет собой дозу от 1200 мг до 1400 мг.

Более предпочтительно АВТL0812 вводят перорально, начиная с дозы от 1200 мг до 1400 мг, три раза в день в комбинации с химиотерапией.

Рак

15 Предпочтительно рак представляет собой по меньшей мере один вид рака, выбранный из группы, состоящей из:

рака легкого;
немелкоклеточного рака легкого;
мелкоклеточного рака легкого;
плоскоклеточного рака;

20 аденокарциномы;
рака эндометрия;
рака поджелудочной железы;
глиобластомы;
рака молочной железы;

25 рака головы и шеи;
нейробластомы; и
холангиокарциномы.

Более предпочтительно рак представляет собой по меньшей мере один вид рака, выбранный из группы, состоящей из:

30 немелкоклеточного рака легкого;
плоскоклеточного рака;
рака эндометрия;
рака поджелудочной железы;
глиобластомы;

35 рака молочной железы;
нейробластомы; и
холангиокарциномы.

Введение соединения (А) и/или соединения (В):

40 Как обсуждалось выше, для обсуждаемого в настоящем документе комбинированного лечения несущественно, вводят ли два соединения (А) и (В), например, одновременно в виде одной композиции, или, например, последовательно в виде двух отдельных композиций. Важно, что эффективное количество вводимого первым соединением/агента находится в организме пациента во время введения второго соединения/агента.

45 Предпочтительно фармацевтическая комбинация, обсуждаемая в настоящем документе, представляет собой одну композицию, содержащую как соединение (А), так и соединение (В).

Соединение (А) (в частности, АВТL0812) предпочтительно вводят перорально.

Вводимая доза соединения (А) (в частности, АВТL0812) предпочтительно представляет

собой дозу от 200 мг до 6000 мг (предпочтительно 2000 мг), более предпочтительно дозу от 300 мг до 1600 мг и еще более предпочтительно дозу от 450 мг до 1450 мг.

5 Вводимая доза Соединения (А) (в частности, АВТL0812) более предпочтительно представляет собой суммарную дозу от 200 мг до 6000 мг (предпочтительно 2000 мг) в день, более предпочтительно суммарную дозу от 300 мг до 1600 мг в день и еще более предпочтительно суммарную дозу от 450 мг до 1450 мг в день. Предпочтительно суммарную дозу обеспечивают путем введения от 1 до 5 раз в день, более предпочтительно от 2 до 4 раз в день и наиболее предпочтительно от 3 раз в день.

10 Соответственно, если суммарная доза составляет, например, 1200 мг в день, и ее обеспечивают путем введения 3 раза в день, то в каждый из 3 раз можно вводить, например, по 400 мг.

Что касается соединения (В), предпочтительный способ введения в общем случае зависит от рассматриваемого химиотерапевтического агента.

15 Предпочтительный способ введения предпочтительного соединения (В) вкратце описан ниже:

доцетаксел; - предпочтительно вводят внутривенно в виде раствора для инфузии паклитаксел; - предпочтительно вводят внутривенно в виде раствора для инфузии карбоплатин; - предпочтительно вводят внутривенно в виде раствора для инфузии цисплатин; - предпочтительно вводят внутривенно в виде раствора для инфузии
20 гемцитабин; - предпочтительно вводят внутривенно в виде раствора для инфузии наб-паклитаксел (AbraXane®); - предпочтительно вводят внутривенно в виде суспензии для инфузии

пеметрексед; - предпочтительно вводят внутривенно в виде раствора для инфузии доксорубицин; - предпочтительно вводят внутривенно

25 Аспекты/варианты реализации изобретения в так называемом формате формулы изобретения:

1. Фармацевтическая комбинация, содержащая:

(А): соединение, которое представляет собой полиненасыщенную жирную кислоту формулы $\text{COOR}_1\text{-CHR}_2\text{-(CH}_2\text{)}_a\text{-(CH=CHCH}_2\text{)}_b\text{-(CH}_2\text{)}_c\text{-CH}_3$, его фармацевтически
30 приемлемую соль или их комбинацию, где

(i) a может представлять собой любое целое число от 0 до 7,

(ii) b может представлять собой любое целое число от 2 до 7,

(iii) c может представлять собой любое целое число от 0 до 7,

35 (iv) R_1 представляет собой H, Na, K, CH_3 , $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ или $\text{PO(O-CH}_2\text{-CH}_3\text{)}_2$, и

(v) R_2 представляет собой OH, OCH_3 , $\text{O-CH}_3\text{COOH}$, CH_3 , Cl, CH_2OH , $\text{ORO(O-CH}_2\text{-CH}_3\text{)}_2$, NOH, F, HCOO или $\text{N(OCH}_2\text{CH}_3\text{)}_2$;

и

40 (В): соединение, представляющее собой химиотерапевтический агент, для одновременного, отдельного или последовательного применения для лечения рака у пациента, представляющего собой человека.

2. Фармацевтическая комбинация по п. 1, отличающаяся тем, что

(i) a может представлять собой любое целое число от 5 до 7,

(ii) b может представлять собой любое целое число от 2 до 4, и

45 (iii) c может представлять собой любое целое число от 1 до 5.

3. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что R_1 представляет собой H, а R_2 представляет собой OH.

4. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов,

отличающаяся тем, что указанное соединение (А) представляет собой по меньшей мере одно соединение или его фармацевтически приемлемую соль, выбранное из группы, состоящей из:

- 5 $\text{COOH-CHON-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812),
 $\text{COOH-CHON-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (183A1),
 $\text{COOH-CHON-(CH}_2\text{)}_3\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_3\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (183A2),
 $\text{COOH-CHON-(CH}_2\text{)}_2\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_4\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (204A1),
 $\text{COOH-CHON-(CH}_2\text{)}_2\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_5\text{-CH}_3$ (205A1) и
10 $\text{COOH-CHON-CH}_2\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_6\text{-CH}_3$ (226A1).

5. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное соединение (А) представляет собой $\text{COOH-CHON-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812) или его фармацевтически приемлемую соль.

15 6. Фармацевтическая комбинация по п. 5, отличающаяся тем, что указанное соединение (А) представляет собой натриевую соль $\text{COOH-CHON-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812).

7. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный рак представляет собой по меньшей мере один вид рака, выбранный из группы, состоящей из:

- рака легкого;
немелкоклеточного рака легкого;
плоскоклеточного рака;
25 аденокарциномы;
рака эндометрия;
серозного рака;
рака поджелудочной железы;
глиобластомы;
30 устойчивого и рецидивирующего рака молочной железы;
рака головы и шеи;
нейробластомы, и
холангиокарциномы.

8. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное соединение (В) представляет собой по меньшей мере одно соединение, представляющее собой химиотерапевтический агент, выбранное из группы, состоящей из:

- доцетаксела;
паклитаксела;
40 карбоплатина;
цисплатина;
гемцитабина;
наб-паклитаксела;
ретиноевой кислоты;
45 темозоломида;
иринотекана;
доксорубицина; и
топотекана.

9. Фармацевтическая комбинация по п. 8, отличающаяся тем, что указанное соединение (А) представляет собой $\text{COOH-CHON-(CH}_2)_6\text{-(CH=CH-CH}_2)_2\text{-(CH}_2)_3\text{-CH}_3$ (АВТL0812) или его фармацевтически приемлемую соль.

10. Фармацевтическая комбинация по п. 9, отличающаяся тем, что

- 5 - соединение (В) представляет собой доцетаксел, а рак представляет собой рак легкого, предпочтительно немелкоклеточную аденокарциному легкого;
- соединение (В) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак легкого, предпочтительно немелкоклеточную аденокарциному легкого;
- 10 - соединение (В) представляет собой гемцитабин, а рак представляет собой рак поджелудочной железы;
- соединение (В) представляет собой карбоплатин, а рак представляет собой рак из клеток эндометрия;
- соединение (В) представляет собой ретиноевую кислоту, а рак представляет собой нейробластому;
- 15 - соединение (В) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак молочной железы, предпочтительно трижды негативный рак молочной железы;
- соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой плоскоклеточный рак, предпочтительно немелкоклеточный плоскоклеточный рак легкого;
- 20 - соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого;
- соединение (В) представляет собой пеметрексед и цисплатин, а рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого;
- 25 - соединение (В) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак эндометрия;
- соединение (В) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой рак эндометрия;
- соединение (В) представляет собой паклитаксел и гемцитабин, а рак представляет собой рак поджелудочной железы;
- 30 - соединение (В) представляет собой гемцитабин, а рак представляет собой рак поджелудочной железы;
- соединение (В) представляет собой гемцитабин и наб-паклитаксел, а рак представляет собой рак поджелудочной железы;
- 35 - соединение (В) представляет собой цисплатин и гемцитабин, а рак представляет собой нейробластому;
- соединение (В) представляет собой доксорубицин, а рак представляет собой рак молочной железы, предпочтительно трижды негативный рак молочной железы; или
- соединение (В) представляет собой цисплатин и гемцитабин, а рак представляет собой холангиокарциному.

40 11. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная фармацевтическая комбинация представляет собой одну композицию, содержащую как соединение (А), так и соединение (В).

12. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное соединение (А) вводят перорально.

45 13. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная вводимая доза соединения (А) представляет собой суммарную дозу от 200 мг до 2000 мг в день.

14. Фармацевтическая комбинация по любому из п.п. 12-13, отличающаяся тем, что

указанное соединение (А) представляет собой $\text{COOH-CHON}-(\text{CH}_2)_6-(\text{CH}=\text{CH-CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$ (АВТL0812) или его фармацевтически приемлемую соль.

15. Фармацевтическая комбинация по п. 14, отличающаяся тем, что

- 5 - соединение (В) представляет собой доцетаксел, и его вводят внутривенно в виде раствора для инфузии;
- соединение (В) представляет собой паклитаксел, и его вводят внутривенно в виде раствора для инфузии;
- соединение (В) представляет собой карбоплатин, и его вводят внутривенно в виде раствора для инфузии;
- 10 - соединение (В) представляет собой цисплатин, и его вводят внутривенно в виде раствора для инфузии;
- соединение (В) представляет собой гемцитабин, и его вводят внутривенно в виде раствора для инфузии;
- 15 - соединение (В) представляет собой наб-паклитаксел, и его вводят внутривенно в виде суспензии для инфузии;
- соединение (В) представляет собой темозоломид, и его вводят перорально (например, в виде капсул);
- соединение (В) представляет собой иринотекан, и его вводят внутривенно в виде раствора для инфузии;
- 20 - соединение (В) представляет собой доксорубицин, и его вводят внутривенно; или
- соединение (В) представляет собой топотекан, и его вводят внутривенно в виде раствора для инфузии.

ПРИМЕРЫ

25 ПРИМЕР 1: АВТL0812 в комбинации с различными химиотерапевтическими агентами
- Исследования *in vitro*

1.1:

Исследования жизнеспособности клеток рака легкого при использовании АВТL0812 в комбинации с доцетакселом

Ссылка на исследование: АВТ-ЕI-

30 Место проведения исследования: Protein Kinases & Cell Signaling Group, UAB

Соответствие НЛП (англ. GLP): Нет

Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия 006/2010)

Стандартное соединение: доцетаксел (Fluka, 01855-5MG-F, партия 1425738V)

35 Исследуемая система: клеточная линия А549 (рак легкого человека)

Задача: оценка влияния комбинации АВТL0812 и доцетаксела на жизнеспособность клеток. Доцетаксел представляет собой цитотоксическое соединение, применяемое при раке легкого; следовательно, возможная терапевтическая комбинация при раке легкого может включать применение АВТL0812 и доцетаксела.

40 Способы: клетки А549 инкубировали с увеличивающимися концентрациями АВТL0812 (3-300 мкМ), доцетаксела (0,01-100 мкМ) или их комбинации (ниже IC_{50} , т.е.

фиксированная 20 мкМ концентрация АВТL0812 и 0,01-100 мкМ доцетаксела) в течение трех дней (ЭБС (англ. FBS) 0,5%). Оценивали жизнеспособность клеток во всех случаях в исследовании МТТ и вычисляли IC_{50} для АВТL0812, доцетаксела и комбинации.

45 Наконец, вычисляли показатель аддитивности (CI) для оценки синергии согласно способу Чоу и Талалая (Chou 2006; Chou 2010) следующим образом: $\text{CI}=(\text{D})_1/(\text{Dx})_1+(\text{D})_2/(\text{Dx})_2$, где значения $\text{CI}<1$, $=1$ и >1 указывают на синергию, аддитивный эффект и антагонизм, соответственно. В знаменателе (Dx)₁ относится к D1 «отдельно», которое ингибирует

систему на $x\%$, а $(Dx)^2$ относится к $D2$ «отдельно», которое ингибирует систему на $x\%$. В числителях $(D)1$ и $(D)2$ «в комбинации» также ингибируют систему на $x\%$. Результаты показаны как среднее для двух независимых экспериментов.

Результаты: Как и ожидалось, АВТL0812 и доцетаксел были цитотоксичными при применении по отдельности. Добавление АВТL0812 в низкой концентрации (20 мкМ, эквивалент IC_{10}) значительно повышало цитотоксичность доцетаксела. IC_{50} доцетаксела в присутствии АВТL0812 понижалась в >80 раз, т.е. с 1,7 мкМ до 0,02 мкМ (см. таблицу ниже и фигуру 1 в настоящем документе).

Соединение	IC_{50} (мкМ)
АВТL0812	42
Доцетаксел	1,7
Доцетаксел + 20 мкМ АВТL0812	0,02

Затем вычисляли возможную синергию АВТL0812 с доцетакселом согласно способу Чоу и Талалая (Chou 2006; Chou 2010). Комбинация обоих лекарственных средств проявляла синергию во всем диапазоне проявляемой активности, где $CI=0,47$ при 50% жизнеспособности клеток. Такое значение CI является показателем синергии.

Выводы: АВТL0812 и доцетаксел имеют синергетический эффект *in vitro* в отношении клеточной линии аденокарциномы легкого А549. АВТL0812 в субоптимальной концентрации (20 мкМ) понижает IC_{50} доцетаксела более чем в 80 раз. Эти результаты открывают возможность для использования комбинации обоих лекарственных средств *in vivo* при раке легкого. Доцетаксел выбирают в качестве лекарственного средства на нескольких стадиях рака легкого; таким образом, комбинация с АВТL0812 обладает потенциальным благоприятным эффектом, благодаря наличию синергии между обоими лекарственными средствами, которая усиливает их цитотоксические эффекты в отношении клеток рака легкого.

1.2:

Исследования жизнеспособности клеток рака легкого при использовании АВТL0812 в комбинации с доцетакселом

Ссылка на исследование: LN3-T30 и АВТ-EI-048

Место проведения исследования: Protein Kinases & Cell Signaling Group, UAB

Соответствие НЛП: Нет

Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия 002/2012)

Стандартное соединение: паклитаксел (SelleckChem, S1150-10MG, партия 09)

Исследуемая система: клеточная линия А549 (рак легкого человека) с мутацией KRAS; H157 (немелкоклеточный плоскоклеточный рак легкого человека) с мутацией PTEN; НТВ182: немелкоклеточный плоскоклеточный рак легкого человека, и Н1975: немелкоклеточная аденокарцинома легкого человека с мутацией PI3KCA

Задача: оценка влияния комбинации АВТL0812 и паклитаксела на жизнеспособность клеток. Паклитаксел представляет собой цитотоксическое соединение, применяемое при раке легкого; следовательно, возможная терапевтическая комбинация при раке легкого может включать применение АВТL0812 и паклитаксела.

Способы: клетки А549 инкубировали с увеличивающимися концентрациями АВТL0812 (3-300 мкМ), паклитаксела (0,003-1 мкМ) или их комбинации с использованием АВТL0812 в фиксированной концентрации ниже IC_{50} и 0,003-1 мкМ паклитаксела в течение 72 часов в DMEM, содержащей 0,1% ЭБС. Клетки H157, H1957 и НТВ-812 инкубировали

с увеличивающимися концентрациями паклитаксела (0,001-10 мкМ) по отдельности и в комбинации с АВТL0812 в фиксированной концентрации ниже IC_{50} в течение 48 часов в DMEM, содержащей 0,1% ЭБС. Оценивали жизнеспособность клеток во всех случаях в исследовании МТТ и вычисляли IC_{50} для паклитаксела и комбинации. Концентрации комбинаций для различных клеточных линий составляли:

Клетки А549: IC_{50} АВТL0812 = 49 мкМ. Паклитаксел комбинировали с 10 (IC_{10}), 20 (IC_{25}) и 30 мкМ (IC_{35}) АВТL0812

Клетки Н157: IC_{50} АВТL0812 = 23 мкМ. Паклитаксел комбинировали с 10 (IC_{20}) и 15 (IC_{35}) мкМ АВТL0812

Клетки Н1957: IC_{50} АВТL0812 = 43 мкМ. Паклитаксел комбинировали с 10 (IC_{10}) и 20 (IC_{20}) мкМ АВТL0812

Клетки НТВ-812: IC_{50} АВТL0812 = 29 мкМ. Паклитаксел комбинировали с 10 (IC_{20}) и 15 (IC_{35}) мкМ АВТL0812.

Наконец, вычисляли показатель аддитивности (СI), как описано в предыдущем разделе, для значений IC_{50} паклитаксела.

Результаты: АВТL0812 и паклитаксел были цитотоксичными в отношении всех четырех клеточных линий рака легкого. В отношении клеточной линии рака легкого А549 при применении отдельно добавление 15, 20 или 30 мкМ АВТL0812 повышало цитотоксичность паклитаксела. IC_{50} комбинации была ниже, чем для каждого лекарственного средства по отдельности, и наблюдалось 2- (15 мкМ и 20 мкМ) или 7-кратное (30 мкМ) снижение IC_{50} паклитаксела. Указанное снижение IC_{50} паклитаксела было синергетическим, и СI составляли 0,34, 0,28 и 0,22 для 15, 20 и 30 мкМ АВТL0812, соответственно. В отношении клеток Н157 наблюдаемая синергия была не так выражена, как для клеток А549, и цитотоксичность паклитаксела увеличивалась только в комбинации с 15 мкМ АВТL0812 (IC_{35}), где снижение IC_{50} паклитаксела составляло с 4,19 до 2,39 мкМ, или в 1,75 раза, что соответствует синергии с СI 0,7. В случае клеток Н1957 при добавлении 10 мкМ (IC_{10}) АВТL0812 синергия отсутствовала, и значения IC_{50} не изменялись (3,68 и 3,47 мкМ), но при добавлении 20 мкМ (IC_{20}) АВТL0812 наблюдали снижение значения IC_{50} в 6,5 раза, или с 3,68 до 0,56 мкМ. Такое снижение IC_{50} паклитаксела в отношении клеток Н1957 было синергетическим, СI составлял 0,3. Наконец, в отношении клеток НТВ-812 была показана хорошая синергия в обеих исследуемых концентрациях, и при добавлении 10 мкМ (IC_{20}) АВТL0812 наблюдали снижение в 3 раза или с 2,71 до 0,81 мкМ, а при добавлении 20 мкМ (IC_{35}) АВТL0812 наблюдали снижение в 3,6 раза или с 2,71 до 0,75 мкМ. Такое снижение IC_{50} паклитаксела в отношении клеток НТВ-812 было синергетическим, СI составляли 0,4 и 0,5, соответственно. Дополнительную информацию см. на фигуре 2.

Выводы: АВТL0812 и паклитаксел имеют синергетический эффект *in vitro* в отношении всех четырех исследуемых клеточных линий рака легкого независимо от их мутационного статуса. Субоптимальные концентрации АВТL0812 понижали IC_{50} паклитаксела. Эти результаты открывают возможность для использования комбинации обоих лекарственных средств *in vivo* при раке легкого.

1.3:

Исследование жизнеспособности клеток рака поджелудочной железы при использовании АВТL0812 отдельно или в комбинации с гемцитабином

Ссылка на исследование: LN1-T56-T58

Место проведения исследования: Protein Kinases & Cell Signaling Group, UAB

Соответствие НЛП: Нет

Исследуемые соединения: АВТL0812 (партия 006/2010)

Стандартное соединение: гемцитабин (Sigma, G6423, партия 041M4727V)

5 Исследуемая система: MiaPaca2 (рак поджелудочной железы человека)

Задачи: исследование возможной синергии при добавлении АВТL0812 к гемцитабину в отношении клеточной линии рака поджелудочной железы MiaPaca2. Гемцитабин считается стандартным средством для лечения большинства типов рака поджелудочной железы. Во многих случаях, главным образом, при распространенном раке поджелудочной железы его вводят в комбинации с другими лекарственными средствами (Ghaneh and Neoptolemos 2007); таким образом, интересно узнать, существует ли какой-либо аддитивный эффект для обоих лекарственных средств.

Способы: Клетки MiaPaca2 высевали в 24-луночные планшеты и добавляли гемцитабин (0,01-100 мкМ), АВТL0812 (3-300 мкМ) или их комбинацию (фиксированная концентрация АВТL0812 ниже IC_{50} , т.е. 25 мкМ и 0,01-100 мкМ гемцитабина) и оставляли в инкубаторе на 72 часа (0,5% ЭБС). Изучали жизнеспособность клеток в исследовании МТТ и определяли несколько параметров для оценки возможной синергии. Сначала вычисляли IC_{50} для каждого лекарственного средства по отдельности или для комбинации. Затем вычисляли синергию (CI), как описано выше.

20 Результаты: IC_{50} комбинации была ниже, чем для каждого лекарственного средства по отдельности, и наблюдалось 7-кратное снижение IC_{50} гемцитабина. Следует отметить, что АВТL0812 в концентрации, выбранной для эксперимента с использованием комбинации, имело очень низкую активность при использовании отдельно (цитотоксичность <10%), тем не менее, оно усиливало цитотоксичность гемцитабина - см. таблицу ниже и фигуру 3 в настоящем документе.

Соединение	IC_{50} (мкМ)
АВТL0812	49
Гемцитабин	10,2
Гемцитабин + 25 мкМ АВТL0812	1,4

35 Затем вычисляли возможную синергию АВТL0812 с гемцитабином согласно способу Чоу и Талалая (Chou 2006; Chou 2010) для комбинаций с непостоянными соотношениями. Комбинация обоих лекарственных средств имела синергию во всем диапазоне проявляемой активности, где $CI=0,65$ при 50% жизнеспособности клеток. Такое значение CI является показателем синергии.

40 Выводы: АВТL0812 и гемцитабин имеют синергетические эффекты *in vitro* в отношении клеточной линии рака поджелудочной железы MiaPaca2. АВТL0812 в субоптимальной концентрации (25 мкМ) понижает IC_{50} гемцитабина в 7 раз. Эти результаты открывают возможность для использования комбинации обоих лекарственных средств *in vivo*.

1.4:

45 Исследование жизнеспособности клеток рака эндометрия при использовании АВТL0812 отдельно или в комбинации с карбоплатином

Ссылка на исследование: АВТ-EI-065

Место проведения исследования: Protein Kinases & Cell Signaling Group, UAB

Соответствие НЛП: Нет

Исследуемые соединения: АВТL0812 (партия 006/2010)

Стандартное соединение: карбоплатин (Sigma, C2538)

Исследуемая система: клетки Ishikawa (рак эндометрия человека)

Задачи: исследование возможной синергии при добавлении АВТL0812 к карбоплатину
 5 в отношении клеточной линии рака эндометрия Ishikawa. Карбоплатин считается стандартным средством для лечения большинства типов рака эндометрия. Таким образом, интересно узнать, существует ли какой-либо аддитивный эффект для обоих лекарственных средств.

Способы: Клетки Ishikawa высевали в 24-луночные планшеты и добавляли
 10 карбоплатин в увеличивающихся концентрациях (1-300 мкМ) в присутствии 4 мкМ АВТL0812 (эквивалент IC10) в течение 48 часов (0,5% ЭБС). Изучали жизнеспособность клеток в исследовании МТТ и определяли несколько параметров для оценки возможной синергии. Сначала вычисляли IC₅₀ для каждого лекарственного средства по отдельности или для комбинации.

15 Результаты: IC₅₀ комбинации была ниже, чем для каждого лекарственного средства по отдельности, и наблюдалось 3-кратное снижение IC₅₀ карбоплатина. Следует отметить, что АВТL0812 в концентрации, выбранной для эксперимента с использованием комбинации, имело очень низкую активность при использовании отдельно
 20 (цитотоксичность <10%), тем не менее, оно усиливало цитотоксичность гемцитабина - см. фигуру 4 в настоящем документе.

Выводы: АВТL0812 и карбоплатин имеют синергетические эффекты *in vitro* в отношении клеточной линии рака эндометрия Ishikawa. АВТL0812 в субоптимальной концентрации (4 мкМ) понижает IC₅₀ карбоплатина в 3 раза. Эти результаты открывают
 25 возможность для использования комбинации обоих лекарственных средств *in vivo*.

1.5:

Исследование жизнеспособности клеток нейробластомы при использовании АВТL0812 отдельно или в комбинации с ретиноевой кислотой

Ссылка на исследование: АВТ-ЕI-055

30 Место исследования: Лаборатория трансляционных исследований детского рака (VHIR)

Соответствие НЛП: Нет

Исследуемые соединения: АВТL0812 (партия 006/2010)

Стандартное соединение: ретиноевая кислота (Sigma, R2625)

35 Исследуемая система: SK-N-BE (2): клеточная линия нейробластомы человека, и LA1-5S: клональная сублиния клеточной линии нейробластомы LA-N-1

Задачи: оценка влияния комбинации АВТL0812 и ретиноевой кислоты (РК) на жизнеспособность клеток в клеточных линиях нейробластомы SK-N-BE(2) и LA1-5S.

Способы: Клетки LA1-5S и SK-N-BE(2) инкубировали с АВТL0812 в фиксированной
 40 концентрации ниже IC₅₀ (30 мкМ), с ретиноевой кислотой с увеличивающимися концентрациями 10 мкМ, 20 мкМ и 30 мкМ или с их комбинацией. 10 мкМ ретиноевой кислоты представляет собой фармакологическую дозу, которую вводили перорально в испытаниях I фазы пациентам с нейробластомой (Villablanca et al. 1995). Клетки обрабатывали в течение 24 часов в IMDM с 0,5% ЭБС. Оценивали жизнеспособность
 45 клеток во всех случаях в исследовании с использованием кристаллического фиолетового. Оценивали различные дозы в шести повторностях, а результаты показаны как среднее для двух независимых экспериментов. Статистический анализ проводили на основе Т-критерия при помощи программного обеспечения GraphPad Prism® 5.0 (* p<0,05; **

$p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Результаты: АВТL0812 имело умеренную цитотоксичность в отношении клеточных линий нейробластомы LA1-5S и SK-N-BE (2) при использовании в качестве единственного агента в низких концентрациях; эффективность ретиноевой кислоты в концентрациях 10 мкМ и 20 мкМ была даже ниже. Комбинация 30 мкМ АВТL0812 и ретиноевой кислоты приводила к высокой цитотоксичности в отношении обеих клеточных линий нейробластомы. Доля погибших/непролиферирующих клеток для любой из комбинаций была выше, чем для каждого лекарственного средства по отдельности, что позволяет предположить наличие синергетического эффекта. Повышение гибели клеток было статистически значимым при всех концентрациях (*** $p < 0,001$). Дополнительную информацию см. на фигуре 5 в настоящем документе.

Выводы: Комбинация АВТL0812 и РК имеет сильный синергетический эффект, который усиливает их цитотоксическую активность *in vitro* в отношении клеточных линий нейробластомы SK-N-BE(2) и LA1-5S. РК обычно используют в клиниках для борьбы с нейробластомой на стадии минимального остаточного заболевания, таким образом, полученные данные являются стимулом к дальнейшему изучению этой комбинации для борьбы с нейробластомой.

1.6:

Исследование жизнеспособности клеток рака молочной железы при использовании АВТL0812 отдельно или в комбинации с паклитакселом

Ссылка на исследование: ожидает рассмотрения

Место исследования: Targets lab, UdG

Соответствие НЛП: Нет

Исследуемые соединения: АВТL0812 (партия 006/2010)

Стандартное соединение: Паклитаксел (SelleckChem, S1150)

Исследуемая система: MDB-DA-231 (трижды негативный рак молочной железы человека)

Задачи: исследование возможной синергии при добавлении АВТL0812 к паклитакселу в отношении клеточной линии трижды негативного рака молочной железы MDB-DA-231.

Способы: Клетки MDB-DA-231 высевали в 24-луночные планшеты и добавляли паклитаксел в увеличивающихся концентрациях (1-100 нМ) в присутствии 5, 10 и 20 мкМ АВТL0812 (все дозы ниже IC₂₅) в течение 48 часов (0,5% ЭБС). Изучали жизнеспособность клеток в исследовании МТТ и определяли несколько параметров для оценки возможной синергии. Сначала вычисляли IC₅₀ для каждого лекарственного средства по отдельности или для комбинации.

Результаты: IC₅₀ комбинации была ниже, чем для каждого лекарственного средства по отдельности, и наблюдалось 2,7-кратное снижение IC₅₀ паклитаксела. Следует отметить, что АВТL0812 в концентрации, выбранной для эксперимента с использованием комбинации, имело очень низкую активность при использовании отдельно (цитотоксичность <10%), тем не менее, оно усиливало цитотоксичность паклитаксела, и была показана сильная синергия со значениями CI 0,3, 0,2 и 0,16 для 5, 10 и 20 мкМ АВТL0812, соответственно, см. таблицу ниже и фигуру 6 в настоящем документе.

Соединение	IC ₅₀
АВТL0812	29 мкМ
Паклитаксел	8,7 нМ
Паклитаксел + 5 мкМ АВТL0812	5,1 нМ

Паклитаксел + 10 мкМ АВТL0812	3,2 нМ
Паклитаксел + 20 мкМ АВТL0812	3,2 нМ

Выводы: АВТL0812 и карбоплатин имеют синергетические эффекты *in vitro* в отношении клеточной линии рака эндометрия Ishikawa. АВТL0812 в субоптимальной концентрации (4 мкМ) понижает IC₅₀ карбоплатина в 3 раза. Эти результаты открывают возможность для использования комбинации обоих лекарственных средств *in vivo*.

ПРИМЕР 2: АВТL0812 в комбинации с различными химиотерапевтическими агентами - Исследования *in vivo*

2.1:

Ксенотрансплантат А549 у мышей, исследование комбинации с доцетакселом
Ссылка на исследование: ALM-IDIBAPS

Место исследования: Исследовательская группа молекулярной и трансляционной онкологии. IDIBAPS, Hospital Clinic Barcelona.

Соответствие НЛП: Нет

Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия 002/2012)

Стандартное соединение: доцетаксел.

Исследуемая система: самцы nu/nu мышей

Задача: Изучение противоопухолевой активности АВТL0812 отдельно и в комбинации с доцетакселом, стандартным лекарственным средством для лечения НМРЛ.

Способы: Мышам вводили инъекцию 5×10^6 клеток А549 в каждый бок для начала формирования опухоли. Через 20 дней, когда объем опухоли составлял примерно 50 мм³, животных случайным образом распределяли по равным группам и начинали различные способы лечения. 30 мг/кг/день АВТL0812 вводили перорально 5 раз в неделю. 5 мг/кг доцетаксела вводили интраперитонеально один раз в неделю (Sohon et al. 2012). Объем опухоли и массу тела отслеживали 3 раза в неделю.

Результаты: АВТL0812 значительно уменьшало объем опухоли по сравнению с контрольными животными (ANOVA с последующим t-тестом). Эффективность АВТL0812 фактически была схожей с эффективностью, наблюдаемой при лечении доцетакселом. Интересно отметить, что АВТL0812 усиливало противоопухолевый эффект доцетаксела. В статистическом анализе было показано, что указанная комбинированная терапия значительно улучшала подавление роста опухоли по сравнению с доцетакселом, используемым отдельно ($p < 0,001$ согласно t-тесту). Кроме того, снижение массы тела или гематологических показателей (не показано) не наблюдалось ни в одной из групп, в которых проводили лечение, включая группы, в которых вводили АВТL0812 совместно с доцетакселом, что позволяет предположить, что указанная комбинация не имела токсических эффектов.

Что касается противоопухолевого эффекта комбинации АВТL0812 и доцетаксела в моделях ксенотрансплантата рака легкого А549, все способы лечения значительно снижали объем опухоли по сравнению с контролем во время умерщвления (*, ANOVA с последующим t-тестом). Кроме того, комбинация 30 мг/кг АВТL0812 + доцетаксел была значительно более эффективной по сравнению с лечением только доцетакселом (**p < 0,01, t-тест). С другой стороны, не наблюдалось никакого воздействия на массу тела при любом из способов лечения, как с использованием лекарственных средств по отдельности, так и их комбинации. Дополнительную информацию см. на фигуре 7 в настоящем документе.

Вывод: АВТL0812 уменьшает рост опухоли в моделях ксенотрансплантата рака

легкого, полученного из клеток A549. В этой модели АВТL0812 имеет эффективность, аналогичную SOC доцетакселу. АВТL0812 и доцетаксел в качестве используемых по отдельности терапевтических средств схожим образом снижали объем опухоли в модели ксенотрансплантата рака легкого, полученного из клеток A549. АВТL0812 усиливает
 5 противоопухолевую активность доцетаксела в отсутствие токсического эффекта. Полученные результаты позволяют предположить, что комбинированная терапия АВТL0812 совместно с доцетакселом может представлять клинический интерес при лечении рака легкого.

2.2:

10 Эффективность АВТL0812 в комбинации с паклитакселом и карбоплатином в отношении ксенотрансплантата плоскоклеточного НМРЛ (H157) человека у мышей
 Ссылка на исследование: ALM-IDIBAPS

Место исследования: Исследовательская группа молекулярной и трансляционной онкологии. IDIBAPS, Hospital Clinic Barcelona.

15 Соответствие НЛП: Нет

Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия K102E)

Исследуемая система: самцы nu/nu мышей

20 Задача: Изучение уровня выживаемости при использовании АВТL0812 отдельно и в комбинации с паклитакселом и карбоплатином (P/C) и анализ Каплана-Мейера в модели ксенотрансплантата плоскоклеточного НМРЛ человека

Способы: Мышам вводили инъекцию 5×10^6 клеток H157 в один бок для начала формирования опухоли. Когда объем опухоли составлял примерно 100 мм^3 , животных случайным образом распределяли по равным группам ($n=8$ в группе) и начинали
 25 различные способы лечения. Исследовали различные условия, включая носитель, перорально 120 мг/кг АВТL0812 ежедневно, 15 мг/кг карбоплатина + 50 мг/кг паклитаксела и.п., и дополнительную группу, в которой использовали комбинацию двух указанных режимов. АВТL0812 всегда вводили за два дня до первого введения P/C и через два дня после введения, выдерживая режим 4 дозы АВТL0812 и одна доза P/C в неделю. Объем опухоли отслеживали 3 раза в неделю. При построении графика
 30 Каплана-Мейера конечными критериями для исключения животных из исследования являлся объем опухоли более $>1000 \text{ мм}^3$ или другие показатели благополучия животных, подтвержденные этическим комитетом. Лечение в различных группах продолжали до тех пор, пока у всех животных из каждой группы объем опухоли не достигал 1000 мм^3
 35 или до достижения конечных критериев оценки, связанных с благополучием, за исключением группы АВТL0812 + P/C, где мышам нужно было умерщвлять до достижения объема опухоли 1000 мм^3 для завершения процедуры эксперимента.

40 Результаты: Показано, что лечение АВТL0812 в комбинации с P/C является наиболее эффективным способом терапии в анализе Каплана-Мейера. Как видно на фигуре 8, комбинация АВТL0812 + P/C является наиболее эффективным способом лечения с точки зрения уровня выживаемости и имеет значительное преимущество по сравнению с другими группами. На 20-й день после начала лечения для лечения АВТL0812 + P/C показана 75% выживаемость по сравнению с 0% для групп АВТL0812 и P/C и 20% для группы, в которой вводили носитель, в отсутствие каких-либо значимых признаков
 45 токсичности.

Вывод: Конечные критерии оценки были установлены на основе различных показателей благополучия животных и являлись определяющими для конечной оценки. Когда состояние здоровья животных было стабильным, в качестве конечного критерия

оценки выбирали достижение объема опухоли 1000 мм³. В этих условиях для комбинационного лечения АВТL0812 + P/C показано значительное повышение уровня выживаемости, измеренного в анализе Каплана-Мейера в модели ксенотрансплантата плоскоклеточного НМРЛ Н157, где выживаемость составляла 75% через 20 дней после лечения по сравнению с 0% выживаемости в группах, в которых вводили АВТL0812 и носитель, и 25% выживаемости в группе P/C.

2.3. Эффективность АВТL0812 в комбинации с паклитакселом и карбоплатином в отношении ксенотрансплантата аденокарциномы НМРЛ (Н1975) человека у мышей

Ссылка на исследование: АВТ-ЕI-049

Место исследования: Исследовательская группа молекулярной и трансляционной онкологии. IDIBAPS, Hospital Clinic Barcelona.

Соответствие НЛП: Нет

Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия 002/2012)

Стандартные соединения: паклитаксел (Selleckchem, кат.№S1150), карбоплатин (Sigma Aldrich, кат. № C2538)

Исследуемая система: самцы nu/nu мышей

Задача: Изучение противоопухолевой активности АВТL0812 отдельно и в комбинации с паклитакселом и карбоплатином в ксенотрансплантате аденокарциномы легкого человека. Комбинация паклитаксела и карбоплатина является одним из стандартных способов терапии при лечении НМРЛ.

Способы. Клеточную линию Н1975 выращивали традиционным способом в DMEM с 10% ЭБС и собирали клетки в экспоненциальной фазе роста и подсчитывали для инокуляции опухоли. Мышам вводили инъекцию в один бок $2,5 \times 10^6$ клеток Н1957, суспендированных в 50 мкл питательной среды без ЭБС и 50 мкл Matrigel (Corning кат.№354234). Объем опухоли отслеживали 3 дня в неделю, и когда опухоли достигали 100 мм³ (от 50 до 150 мм³), животных распределяли на четыре равные группы лечения, имеющие схожий средний объем опухоли по группе, исключая опухоли меньше 50 мм³ или крупнее 150 мм³, чтобы минимизировать погрешность.

Использовали следующие группы лечения:

- Группа, в которой вводили носитель (n=7): вводили перорально 200 мкл воды + 5% глицерина четыре дня в неделю и две и.п. инъекции 100 мкл солевого раствора один раз в неделю

- АВТL0812 (n=9): вводили перорально 200 мкл 120 мг/кг АВТL0812, повторно суспендированного в воде +5% глицерина 5 раз в неделю

- Паклитаксел/карбоплатин (n=9): вводили и.п. 100 мкл 15 мг/кг паклитаксела и и.п. 100 мкл 5 мг/кг карбоплатина один раз в неделю

- АВТL0812 + паклитаксел/карбоплатин (n=9): вводили перорально 200 мкл 120 мг/кг АВТL0812 четыре дня в неделю и и.п. 100 мкл 15 мг/кг паклитаксела и и.п. 100 мкл 5 мг/кг карбоплатина один раз в неделю

Результаты: Для АВТL0812 при введении в комбинации с паклитакселом и карбоплатином показан наилучший противоопухолевый эффект in vivo в ксенотрансплантатах, полученных из клеток Н1957. Введение паклитаксела и карбоплатина уменьшало объем опухоли по сравнению с группой, в которой вводили носитель, для введения только АВТL0812 было показано аналогичное уменьшение объема опухоли с улучшенной тенденцией, и при этом для тройной комбинации АВТL0812 + паклитаксел и карбоплатин было показано самое большое уменьшение объема опухоли со значимыми различиями. Кроме того, в течение первой недели в

группе, в которой проводили лечение тройной комбинацией, наблюдалось небольшое снижение массы тела, которая затем стабилизировалась до конца эксперимента, (снижение массы тела или гематологических показателей (не показано) не наблюдалось ни в одной из групп, в которых проводили лечение, включая группы, в которых вводили
 5 АВТL0812 совместно с доцетакселом, это позволяет предположить, что указанная комбинация не имела токсических эффектов. Дополнительную информацию см. на фигуре 9 в настоящем документе.

Вывод: АВТL0812 при пероральном введении уменьшает рост опухоли в моделях ксенотрансплантата рака легкого, полученного из клеток H1975. В этой модели
 10 АВТL0812 имеет эффективность, аналогичную SOC паклитакселу + карбоплатину. Кроме того, АВТL0812 усиливает противоопухолевую активность паклитаксела/ карбоплатина в отсутствие токсического эффекта. Полученные результаты позволяют предположить, что комбинированная терапия АВТL0812 совместно с паклитакселом/ карбоплатином может представлять клинический интерес при лечении рака легкого.

15 2.4. Эффективность АВТL0812 в комбинации с пеметрекседом и цисплатином в отношении ксенотрансплантата аденокарциномы HMPJ (A549) человека у мышей
 Ссылка на исследование: АВТ-ЕI-052

Место проведения исследования: Protein Kinases & Cell Signaling Group, UAB

Соответствие НЛП: Нет

20 Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия K102E)

Стандартное соединение: пеметрексед (Sigma Aldrich, кат. № PHR1596) и цисплатин (Sigma Aldrich, кат. № P4394)

Исследуемая система: самцы nu/nu мышей

25 Задача: Задачей данного исследования являлась оценка противоопухолевой эффективности АВТL0812 отдельно или в комбинации со стандартной химиотерапией с использованием пеметрекседа и цисплатина при лечении в модели подкожного ксенотрансплантата рака легкого у бестимусных мышей с подавленным иммунитетом, которым имплантировали клетки аденокарциномы легкого человека A549.

30 Способы: Клеточную линию A549 выращивали традиционным способом в DMEM с 10% ЭБС и собирали клетки в экспоненциальной фазе роста и подсчитывали для инокуляции опухоли. 50 самкам бестимусных мышей возрастом 8 недель вводили инъекцию в один бок 5×10^6 клеток MiaPaca2, суспендированных в 50 мкл питательной среды без ЭБС и 50 мкл Matrigel (Corning кат. №354234). Объем опухоли отслеживали
 35 3 дня в неделю, и когда опухоли достигали 100 мм^3 (от 50 до 150 мм^3), животных распределяли на три равные группы, имеющие схожий средний объем опухоли по группе, исключая опухоли меньше 50 мм^3 или крупнее 150 мм^3 , чтобы минимизировать погрешность.

Использовали следующие группы лечения:

40 - Группа, в которой вводили носитель (n=7): вводили перорально 200 мкл воды + 5% глицерина 4 раза в неделю и и.п. два раза в неделю 200 мкл солевого буфера (носитель для химиотерапии)

- Пеметрексед/цисплатин (n=20): вводили и.п. два раза в неделю 100 мкл 100 мг/кг пеметрекседа и и.п. один раз в неделю 100 мкл 2 мг/кг цисплатина

45 - АВТL0812 + пеметрексед/цисплатин (n=20): вводили перорально 200 мкл 120 мг/кг АВТL0812, повторно суспендированного в воде + 5% глицерина, 4 раза в неделю и и.п. 100 мкл 100 мг/кг пеметрекседа и и.п. один раз в неделю 100 мкл 2 мг/кг цисплатина

Результаты: Как видно на фигуре 1, для АВТL0812 при введении в комбинации с

пеметрекседом и цисплатином показан сильный противоопухолевый эффект и усиление терапевтического эффекта пеметрекседа/цисплатина, что, таким образом, позволяет значительно снижать объем опухоли по сравнению с группой, в которой вводили пеметрексед/цисплатин. Для АВТL0812 + пеметрексед/цисплатин было показано значительное уменьшение опухоли по сравнению с пеметрекседом/цисплатином, начиная с 33-го дня лечения, различия были более значимыми в последующие дни вплоть до последнего дня лечения на 41-й день. Для обеих групп, пеметрексед/цисплатин и АВТL0812 + пеметрексед/цисплатин, было показано значительное снижение объема опухоли по сравнению с группой, в которой вводили носитель, начиная с 22-го дня лечения вплоть до последнего дня лечения на 41-й день.

С точки зрения токсичности, вызванной лечением, на фигуре 2 показано изменение общей массы тела со временем для всех четырех групп, которую отслеживали в течение 41 дня лечения. Хотя никаких признаков токсичности или клинико-патологических симптомов не наблюдалось, было отмечено небольшое снижение в течение первой недели лечения в группе АВТL0812 + пеметрексед/цисплатин по сравнению с остальными вследствие снижения потребления корма в дни проведения химиотерапии. Никаких дополнительных клинических патологических признаков не наблюдалось ни в одной из групп. Дополнительную информацию см. на фигуре 10 в настоящем документе.

Вывод: Как было описано выше, АВТL0812 уменьшает рост опухоли в моделях ксенотрансплантата рака легкого, полученного из клеток А549. В этой модели АВТL0812 усиливает противоопухолевую активность пеметрекседа и цисплатина в отсутствие токсического эффекта. Терапия с использованием пеметрекседа и цисплатина является самым часто используемым способом терапии первой линии для лечения пациентов с аденокарциномой легкого, таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что комбинированная терапия АВТL0812 с пеметрекседом и цисплатином может представлять клинический интерес при лечении пациентов с раком легкого.

2.5:

Исследование эффективности АВТL0812 в комбинации с паклитакселом в ортотопической модели рака эндометрия у мышей

Место исследования: Хенорат (Barcelona, Spain)

Исследование НЛП: Нет

Исследуемые соединения: АВТL0812 (партия 001R/2014), паклитаксел (Teva)

Исследуемая система: самки бестимусных мышей Nude-Foxn1nu

Задача: оценка противоопухолевой эффективности перорально вводимого АВТL0812 в комбинации с и. п. паклитакселом в ортотопической модели рака эндометрия Ishikawa.

Способы: Самкам мышей ортотопически имплантировали в матку 3 мм³ фрагмент опухоли, полученной из клеточной линии Ishikawa. Перед началом лекарственного лечения взвешивали всех животных и оценивали объем опухоли пальпацией. Мышей распределяли по группам с использованием дизайна рандомизированных блоков на основании значений объема опухоли. Паклитаксел вводили и.п. каждые 7 дней (15 мг/кг). АВТL0812 вводили перорально через зонд согласно схеме введения 5 дней при 2 днях перерыва (120 мг/кг/день). В целом, животные были разделены на четыре группы, как показано в таблице ниже.

45

Таблица. Группы в ортотопической модели рака эндометрия.

Способ лечения	Доза (мг/кг)	n	Способ введения	Запланированная схема
Носитель	-	7	п.о. зонд	QD 5 дней введения/2 дня перерыва
Паклитаксел	15	9	и.п.	Каждые 7 дней

Способ лечения	Доза (мг/кг)	n	Способ введения	Запланированная схема
ABTL	120	10	п.о. зонд	QD 5 дней введения/2 дня перерыва
Паклитаксел/ ABTL0812	15 / 120	10	и.п./п.о. зонд	Каждые 7 дней QD 5 дней введения/2 дня перерыва

Объем опухоли оценивали по формуле $V=\pi/6 \times L \times W^2$, где L представляет собой длинную ось, а W представляет собой короткую ось опухоли, соответственно. Во время традиционного мониторинга у животных проверяли влияние роста опухоли и лечения на обычное поведение, такое как подвижность, визуальная оценка корма, прирост/снижение массы тела (массу тела измеряли два раза в неделю во время введения лекарственного средства), потускнение глаз/шерсти, и любые другие отклонения. Смерть и наблюдаемые клинические признаки отмечали при помощи количества животных из каждой подгруппы.

С учетом того, что размер ортотопических опухолей может быть измерен только после умерщвления, подгруппу животных (n=2-3 в группе) умерщвляли через одну неделю лечения для определения раннего влияния на рост опухоли. Большинство животных умерщвляли через 3 недели лечения (n=5-7 в группе).

Результаты: Группе мышей (n=36) ортотопически имплантировали 3 мм³ фрагмент опухоли, полученной из клеточной линии Ishikawa. В течение всего периода экспериментального лечения влияние на поведение животных отмечено не было. Для животных, которым вводили комбинацию паклитаксела, был показан пониженный прирост массы опухоли и некоторое снижение массы тела, которое было отчасти компенсировано по завершении периода лечения. С учетом того, что это снижение массы тела по сравнению с контрольной группой не достигало 10%, его не рассматривали как связанное с токсичностью.

Животных умерщвляли после введения лекарственного средства в течение одной или трех недель и определяли объем опухоли, как указано в способах. У животных, которых лечили в течение одной недели, различия не наблюдались. Тем не менее, у животных, которых лечили в течение трех недель комбинацией паклитаксел + ABTL0812, наблюдался аддитивный эффект - см. фигуру 11 в настоящем документе.

Выводы: Для комбинации ABTL0812 + паклитаксел был показан синергетический эффект по сравнению с действием каждого лекарственного средства по отдельности, так как у животных, которым вводили комбинацию, наблюдали значительное уменьшение объема опухоли по сравнению с контрольными животными. В то же время у животных, которым вводили комбинацию, наблюдалось некоторое снижение массы тела. Тем не менее, этот эффект не считался токсичным.

2.6:

Исследование эффективности ABTL0812 в комбинации с паклитакселом и карбоплатином в модели ксенотрансплантата рака эндометрия, полученного у человека (PDX), у мышей

Ссылка на исследование: АВТ-ЕІ-043

Место исследования: VHIR

Соответствие НЛП: Нет

Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия K102E=MEI-014-15)

5 Стандартные соединения: паклитаксел (Selleckchem, кат. № S1150), карбоплатин (Sigma Aldrich, кат. № C2538)

Исследуемая система: самки бестимусных мышей Nude-Foxn1nu

10 Задача: Изучение противоопухолевой активности АВТL0812 отдельно и в комбинации с паклитакселом и карбоплатином (P/C) в модели PDX, подкожно имплантируемого бестимусным мышам.

Способы: Опухоль, хирургически удаленную у пациента с серозным типом опухоли, определенным в гистологии, стадия ПС2, 100% инвазия миометрия и инвазия в лимфатические узлы таза и аорты и лимфоваскулярная инвазия, имевшей мутации генов p53 и P13KCA, имплантировали в один бок нескольким бестимусным мышам. После 15 того, как опухоли выросли до 100 мм³, удаляли опухоли у мышей, нарезали на фрагменты длиной 2 мм и повторно имплантировали в один бок 40 мышам. Когда средний объем опухоли достигал 100 мм³, мышей случайным образом распределяли по группам, в которых вводили следующие дозы: носитель (n=11); АВТL0812: 120 мг/кг перорально 5 раз в неделю (n=10); паклитаксел/карбоплатин (P/C): P: 50 мг/кг/C: 15 20 мг/кг интраперитонеально (n=12); и АВТL0812 + P/C: АВТL0812 (n=10) всегда вводили за два дня до первого введения P/C и через два дня после введения, выдерживая режим 4 дозы АВТL0812 и одна доза P/C в неделю; дозы были такими же, как и в случае введения по отдельности.

25 Эффективность терапии определяли по влиянию лечения на рост опухоли, который измеряли по ее объему. Состояние здоровья животных и токсичность, вызванную лекарственными средствами, определяли по массе тела животного во время исследования. Изменение размера опухоли и массу опухоли оценивали в двухфакторном анализе ANOVA (ежедневный анализ).

30 Для имитации дизайна клинического испытания фазы II, где предполагается долгосрочное введение АВТL0812 после циклов P/C, введение P/C прекращали в группах P/C и АВТL0812 + P/C и сохраняли долгосрочное введение АВТL0812. Объем опухоли измеряли после прекращения введения P/C еще 17 дней.

35 Результаты: Популяцию из 40 мышей случайным образом распределяли в четыре группы лечения, когда размер опухоли достигал примерно 100 мм³. Как показано на фигуре 12 в настоящем документе, через 47 дней после начала лечения для АВТL0812 + P/C была показана наивысшая эффективность и статистически значимое снижение роста опухоли по сравнению с носителем, введением только АВТL0812 и только P/C. Улучшение терапевтического эффекта не было связано с усилением признаков 40 токсичности, о чем свидетельствует отсутствие значительного снижения общей массы тела. Для АВТL0812 при введении отдельно показана такая же эффективность, что и для P/C, в отсутствие каких-либо признаков значительной токсичности.

45 На 47 день введение P/C было прекращено, при этом продолжали долгосрочное введение АВТL0812 5 дней в неделю для определения того, может ли продолжительное введение АВТL0812 не допустить или отсрочить рецидив опухоли. В то время как в группе P/C, в которой лечение мышей прекращали, опухоль продолжала расти с аналогичной или слегка более высокой скоростью, в группе АВТL0812 + P/C, в которой продолжали введение АВТL0812, относительная скорость роста не только не повышалась, но также наблюдались признаки ремиссии. В группе АВТL0812, в которой

продолжали введение АВТL0812 в течение всего эксперимента, было показано подавление роста опухоли, крайне похожее на P/C, при сохранении постоянного уровня роста, что указывает на отсутствие признаков процесса устойчивости, который увеличил бы относительную скорость роста.

5 Вывод: Для комбинации АВТL0812 + P/C был показан синергетический эффект, выраженный в значительно более высоком уменьшении объема опухоли по сравнению с введением только P/C, а также значительное уменьшение объема опухоли по сравнению с группой, в которой вводили носитель, в течение первых 47 дней. Для АВТL0812, вводимого в качестве монотерапии, показана такая же эффективность снижения роста
10 опухоли, что и при введении P/C. Снижение массы тела отчасти наблюдалось только в группе АВТL0812 на 15-й день, и это снижение массы тела было компенсировано в течение следующих четырех дней, и масса оставалась стабильной до конца эксперимента. Ни в одной из других групп не были отмечены никакие эффекты, которые могли быть отнесены к токсичным.

15 Для имитации клинического испытания фазы II с участием людей, где планируется вводить АВТL0812 в комбинации с P/C в качестве терапии первой линии, а затем долгосрочно вводить АВТL0812 после циклов химиотерапии, на 47-й день прекращали вводить P/C и продолжали вводить АВТL0812. В то время как рост опухоли в группе P/C и АВТL0812 не снижался, долгосрочное введение АВТL0812 было эффективным и
20 не допускало появления рецидива опухоли после лечения P/C в данной модели PDX эндометрия человека, наблюдались признаки ремиссии через 10 дней после прекращения химиотерапии.

2.7:

Исследование эффективности АВТL0812, вводимого в комбинации с паклитакселом/
25 гемцитабином (P/Gm), в модели ксенотрансплантата клеток рака поджелудочной железы человека MiaPaca-2, имплантируемого мышам

Ссылка на исследование: АВТ_EI_001XP

Место исследования: Ability Virtual Lab - UAB

Соответствие НЛП: Нет

30 Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия K102E = MEI-014-15)

Стандартное соединение: паклитаксел/гемцитабин (P/Gm)

Исследуемая система: самки бестимусных мышей Nude-Foxn1nu

Задача: Оценка противоопухолевой эффективности АВТL0812, вводимого перорально
35 в комбинации с P/Gm в модели ксенотрансплантата рака поджелудочной железы MiaPaCa2 у мышей.

P/Gm, вводимые и.п., использовали в качестве положительного контроля, также исследовали носитель, АВТL0812 и комбинацию АВТL0812 + P/Gm. Оценивали эффективность по росту опухоли, а переносимость и токсичность соединения по изменению массы тела животных.

40 Способы: Самкам бестимусных мышей (n=9 в группе) путем подкожной инъекции вводили 0,1 мл клеток MiaPaca2 (5×10^6 клеток/мл в бессывороточной среде DMEM в отношении 1:1 с матригелем) в один бок. Объем опухоли (TV) измеряли по формуле
длина \times ширина² \times $1/2$ три раза в неделю. Когда средний объем опухоли достигал 100
45 мм³, мышей случайным образом распределяли по группам и вводили следующие дозы: носитель; АВТL0812, 120 мг/кг 5 раз в неделю; P/Gm 15 мг/кг и 60 мг/кг два раза в неделю, и комбинацию АВТL0812 + P/Gm, где АВТL0812 вводили четыре раза в неделю (дни 1, 2, 4 и 5), всегда за два дня до введения P/Gm (дни 3 и 6) всего в течение 4 недель.

Эффективность терапии определяли по влиянию лечения на рост опухоли, который измеряли по ее объему. Состояние здоровья животных и токсичность, вызванную лекарственными средствами, определяли по массе тела животного во время исследования. Изменение размера опухоли оценивали в двухфакторном анализе ANOVA (ежедневный анализ) и при помощи t-критерия Стьюдента в те дни, когда наблюдались значительные различия.

Результаты: На графиках, приведенных на фигуре 13 в настоящем документе, показано влияние АВТL0812, вводимого перорально в комбинации с P/Gm, на относительный объем опухоли и общую массу тела в качестве меры токсичности. Для АВТL0812 в комбинации с P/Gm показана наивысшая эффективность, значительное снижение объема опухоли по сравнению с введением только P/Gm для указанных периодов времени. Кроме того, для комбинированного лечения АВТL0812 + P/Gm показана регрессия опухоли у всех животных, начиная с 10-го дня лечения, в отличие от того, что наблюдается в остальных группах. Введение только АВТL0812, вероятно, оказывает положительный эффект в течение первых 15 дней лечения, где объем опухоли схож с объемом в группе, в которой вводили носитель, в последующие дни. Введение P/Gm в указанных дозах снижает объем опухоли по сравнению с группами, в которых вводили носитель и АВТL0812, но различия не были статистически значимыми ни для одного из анализируемых периодов времени. На графике изменения общей массы тела можно увидеть влияние комбинации АВТL0812 + P/Gm на общую массу тела по сравнению с остальными группами. Несмотря на то, что после введения первых доз АВТL0812 + P/Gm наблюдалось небольшое снижение массы тела, токсичность, вызванная комбинацией, была минимальной, и острые токсические эффекты не наблюдались ни у одного из животных во время эксперимента.

Вывод: Для комбинации АВТL0812 + P/Gm был показан синергетический эффект, выраженный в значительно более высоком уменьшении объема опухоли по сравнению с введением только P/Gm. Для P/Gm также показано более высокое уменьшение объема опухоли по сравнению с группами, в которых вводили носитель и АВТL0812, хотя оно и не было статистически значимым. Для АВТL0812, вводимого в качестве монотерапии, показана такая же кривая изменения роста опухоли, что и в группе, в которой вводили носитель. Следует отметить, что введение АВТL0812 + P/Gm может вызывать регрессию опухоли у всех животных, которым вводили комбинацию, где объем опухоли сохранялся на уровне примерно 100 мм^3 вплоть до 10 дня лечения и снижался менее 100 мм^3 после 10 дня лечения, что является показателем регрессии опухоли. Снижение массы тела отчасти наблюдалось в группе АВТL0812 + P/Gm, хотя ни у одной из мышей ни в одной из групп не были отмечены никакие эффекты, которые могли быть отнесены к токсичным.

2.8:

Исследование эффективности АВТL0812, вводимого в комбинации с наб-паклитакселом/гемцитабином (Nab-Pac/Gm), в модели ксенотрансплантата клеток рака поджелудочной железы человека MicPaca-2, имплантируемого мышам

Ссылка на исследование: АВТ-EI-053

Место исследования: Ability Virtual Lab - UAB

Соответствие НЛП: Нет

Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия K102E = MEI-014-15)

Стандартное соединение: гемцитабина гидрохлорид (Sigma Aldrich G6423). Наб-паклитаксел (Abraxane; ID: 3369272 Celgene)

Исследуемая система: самки бестимусных мышей Nude-Foxn1nu

Задача: Задачей данного исследования являлась оценка эффективности и безопасности АВТL0812, вводимого перорально для усиления противоопухолевого эффекта стандарта лечения (SOC), химиотерапии с использованием гемцитабина и комбинации гемцитабина/ наб-паклитаксела, которую проводили интраперитонеально (и.п), в модели ксенотрансплантата клеток рака поджелудочной железы человека MiaPaca2 in vivo, имплантируемого бестимусным мышам с подавленным иммунитетом. Оба варианта химиотерапии являются наиболее распространенными способами терапии первой линии при лечении распространенного рака поджелудочной железы у человека.

Способы: Клеточную линию MiaPaca2 выращивали традиционным способом и собирали клетки в экспоненциальной фазе роста и подсчитывали для инокуляции опухоли. 55 самкам бестимусных мышей с иммунодефицитом вводили подкожную инъекцию 5×10^6 клеток MiaPaca2, суспендированных в 50 мкл питательной среды без ЭБС и 50 мкл Matrigel (Corning кат. №354234) в один бок. Объем опухоли отслеживали 3 дня в неделю, и когда опухоли достигали 100 мм^3 (от 50 до 150 мм^3), животных распределяли на шесть равных групп, имеющих схожий средний объем опухоли по группе, исключая опухоли меньше 50 мм^3 или крупнее 150 мм^3 , чтобы минимизировать погрешность.

Использовали следующие группы лечения:

- Группа, в которой вводили носитель (n=9): вводили перорально 200 мкл воды + 5% глицерина 5 раз в неделю (носитель АВТL0812) и и.п. два раза в неделю 200 мкл солевого буфера (носитель для химиотерапии).

- АВТL0812 (n=9): вводили перорально 120 мг/кг в 200 мкл дистиллированной воды + 5% глицерина 5 раз в неделю.

- Гемцитабин (n=9): вводили и.п. 60 мг/кг в 100 мкл стерильной воды 2 раза в неделю.

- Гемцитабин + наб-паклитаксел (n=8): Свежий препарат наб-паклитаксела получали из исходного порошка (10% (моль/моль) в 0,9% растворе NaCl) и вводили и.п. в количестве 5 мг/кг в 230 мкл 2 раза в неделю. Гемцитабин вводили и.п. в количестве 60 мг/кг в 100 мкл стерильной воды 2 раза в неделю. Важно изменять место инъекции, чтобы избежать некроза кишечника, и вводить инъекции наб-паклитаксела и гемцитабина в брюшную полость мышей как можно дальше друг от друга.

- Гемцитабин + АВТL0812 (n=10): вводили перорально 120 мг/кг АВТL0812 в 200 мкл дистиллированной воды + 5% глицерина 5 раз в неделю и 60 мг/кг гемцитабина и.п. в 100 мкл стерильной воды 2 раза в неделю. АВТL0812 всегда вводили перед химиотерапией для снижения стресса, вызванного и.п. инъекцией, которую обычно проводят в качестве заключительной операции введения.

- Гемцитабин + наб-паклитаксел + АВТL0812 (n=8): вводили перорально 120 мг/кг АВТL0812 в 200 мкл дистиллированной воды + 5% глицерина 5 раз в неделю, 60 мг/кг гемцитабина и.п. в 100 мкл стерильной воды 2 раза в неделю и 5 мг/кг наб-паклитаксела и.п. в 230 мкл 0,9% раствора NaCl 2 раза в неделю. Как и в группе гемцитабин + наб-паклитаксел, инъекции вводили в различные участки брюшной полости. АВТL0812 всегда вводили перед химиотерапией для снижения стресса, вызванного и.п. инъекцией.

Оценивали эффективность лечения путем измерения объема опухоли три дня в неделю. Кроме того, отслеживали общую массу тела три дня в неделю для изучения токсичности, связанной со способом лечения, а также проводили визуальную оценку признаков клиничко-патологических симптомов. В конце исследования мышей умерщвляли путем ингаляции углекислого газа и для дополнительного подтверждения проводили цервикальную дислокацию.

Результаты: Была выбрана субоптимальная доза химиотерапевтических агентов (согласно литературным данным) для того, чтобы не допустить сильный противоопухолевый ответ, который не мог бы быть усилен АВТL0812, таким образом, получилось снизить дозу химиотерапевтических агентов и, следовательно, понизить
5 нежелательные явления.

На фигуре 14 показано изменение объема опухоли в ксенотрансплантате, полученном из MiaPaca2, после проведения различных режимов химиотерапии, введения АВТL0812 или комбинации обоих указанных способов. На фигуре 14А показано изменение объема опухоли в ксенотрансплантатах после введения гемцитабина + Nab-Рас по сравнению
10 с введением гемцитабина + Nab-Рас + АВТL0812, а также с введением АВТL0812 и носителя. По сравнению с группой, в которой вводили носитель, только для тройной комбинации Gem+Nab-Рас+АВТL0812 было показано значительное снижение объема опухоли, начиная с 22 дня, и сохранение указанных статистически значимых различий до завершения исследования, где для заключительных пяти дней лечения были показаны
15 самые большие различия объема опухоли в отличие от группы Gem+Nab-Рас, в которой отсутствовали значительные различия объема опухоли по сравнению с группой, в которой вводили носитель. Если сравнивать Gem+Nab-Рас+АВТL0812 и Gem+Nab-Рас, то тройная комбинация значительно уменьшает объем опухоли в заключительный день лечения. Также можно увидеть, что для АВТL0812 при введении по отдельности показан
20 лучший ответ, выраженный в изменении объема опухоли, чем в группе Gem+Nab-Рас, в течение первых 20 дней лечения, при этом в оставшийся период исследования объем опухоли изменяется схожим образом, хотя для любого изучаемого момента времени статистически значимые различия отсутствовали.

На фигуре 14 В показано изменение объема опухоли в ксенотрансплантатах после
25 введения гемцитабина по сравнению с введением гемцитабина + АВТL0812, а также с введением АВТL0812 и носителя. По сравнению с группой, в которой вводили носитель, только для двойной комбинации Gem+АВТL0812 было показано значительное снижение объема опухоли, начиная с 17 дня, и сохранение указанных статистически значимых различий до завершения исследования в отличие от группы, в которой вводили
30 гемцитабин, в которой отсутствовали значительные различия объема опухоли по сравнению с группой, в которой вводили носитель. Если сравнивать Gem и Gem + АВТL0812, то двойная комбинация значительно уменьшает объем опухоли в заключительный день лечения. Также можно увидеть, что для АВТL0812 при введении отдельно показан лучший ответ, выраженный в изменении объема опухоли, чем в группе
35 Gem на протяжении всего исследования, хотя для любого изучаемого момента времени статистически значимые различия отсутствовали.

Общую массу тела мышей отслеживали три раза в неделю на протяжении всего исследования. На фигуре 14С показано изменение общей массы тела для групп Gem+Nab-Рас и Gem+Nab-Рас+АВТL0812, а также групп, в которых вводили носитель и
40 АВТL0812, а на фигуре 14D показано изменение общей массы тела в группах Gem и Gem+АВТL0812, а также в группах, в которых вводили носитель и АВТL0812. Ни в одной из групп не наблюдались никакие признаки токсичности с точки зрения снижения массы тела, во всех группах наблюдался прирост массы тела на протяжении всего исследования, что является показателем отсутствия токсичности, связанной с лечением.
45 Никаких дополнительных клинических патологических признаков не наблюдалось ни в одной из групп. Дополнительную информацию см. на фигуре 14.

Вывод: Данное исследование было разработано для определения эффективности АВТL0812 отдельно или в комбинации с SOC химиотерапией при лечении

распространенного рака поджелудочной железы. Гемцитабин в комбинации с набо-
 паклитакселом или вводимый отдельно гемцитабин являются способами лечения,
 выбираемыми для большинства пациентов с распространенным раком поджелудочной
 железы, таким образом, оценивали усиление обоих способов лечения при их
 5 использовании в комбинации с АВТL0812 и использование субоптимальных доз
 химиотерапевтических агентов, которое позволяло снижать нежелательные вторичные
 эффекты. АВТL0812 усиливает оба химиотерапевтических способа лечения, понижая
 при этом их токсичность, что отражается в наивысшем снижении объема опухоли по
 сравнению с носителем и способом лечения с использованием только химиотерапии.
 10 Кроме того, для АВТL0812, вводимого отдельно, показана схожая эффективность по
 сравнению с химиотерапией, и во всех группах, в которых проводили лечение,
 отсутствовали клинико-патологические признаки или признаки токсичности,
 определяемые по общей массе тела.

2.9:

15 Исследование эффективности АВТL0812 в модели ксенотрансплантата нейробластомы
 (восприимчивой к цисплатину) отдельно или в комбинации с цисплатином

Ссылка на исследование: журнал АВТL0812, стр. 20-36

Место исследования: Лаборатория трансляционных исследований детского рака в
 научно-исследовательском институте Валь-д'Эброн

20 Соответствие НЛП: Нет

Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия 002/2013)

Стандартное соединение: цисплатин (Sigma, кат. № C2210000)

Исследуемая система: самки nu/nu мышей, клеточная линия SH-SY5Y

25 Задача: Определение эффективности АВТL0812 в отношении клеточной линии
 нейробластомы SH-SY5Y отдельно или в комбинации с цисплатином.

Способы: Бестимусным мышам NMRI-Foxn1^{nu}/Foxn1^{nu} с иммунодефицитом вводили
 подкожную инъекцию клеток SH-SY5Y. Эта клеточная линия была генетически
 модифицирована для экспрессии люциферазы, что позволило бы исследовать *in vivo*
 не только размер опухоли, но также образование метастазов. Когда средний объем
 30 опухоли достигал 80 мм³, мышам случайным образом распределяли по различным
 группам. АВТL0812 вводили перорально в дозе 120 мг/кг в день. Одновременно с этим
 использовали цисплатин, лекарственное средство, включенное в индукционную фазу
 химиотерапии при лечении нейробластомы. 2 мг/кг цисплатина вводили и.п. два раза
 в неделю (Wang et al. 2010). Кроме того, исследовали эффект от комбинирования
 35 АВТL0812 с цисплатином в указанных дозах.

Результаты: А. Размер опухоли. В данном эксперименте было показано, что АВТL0812
 подавляет прогрессирование опухоли с эффективностью, схожей с цисплатином. После
 десяти дней лечения животных в контрольной группе необходимо было умерщвлять
 40 вследствие этических проблем, связанных с размером опухолей. В этот момент половину
 животных в группах, в которых проводили лечение, умерщвляли для измерения массы
 опухоли, гематологических параметров и образования метастазов (см. ниже). Выбор
 животных для умерщвления в этих группах проводили в соответствии со статистическим
 распределением размеров опухоли. Измерение массы опухоли у умерщвленных мышей
 45 подтверждало то наблюдение, что эффективность АВТL0812 схожа со стандартом
 лечения цисплатином. Анализ объема опухоли у остальных животных в группах, в
 которых проводили лечение (примерно 5 мышей в группе), показал, что комбинация
 АВТL0812 с цисплатином приводит к долгосрочной стабилизации роста опухоли. При
 отслеживании массы тела было показано, что лечение АВТL0812 временно вызывает

незначительное снижение массы тела (<10%). Этот эффект, тем не менее, компенсируется через несколько дней. Дополнительную информацию см. на фигуре 15 в настоящем документе.

В. Профиль безопасности. В гематологическом анализе для оценки безопасности способов лечения было показано, что АВТL0812 не влияло на гематокрит в крови, тем не менее, цисплатин вызывал анемию и снижал количество белых кровяных телец (см. таблицу ниже). Анемия, вызванная цисплатином, является частым побочным эффектом, который наблюдается у пациентов, которым вводили это химиотерапевтическое лекарственное средство (Wood and Hrushesky 1995).

Таблица. Гематологический анализ животных в модели ксенотрансплантата SH-SY5Y. Отбирали кровь у животных во время умерщвления и определяли состав крови на автоматическом анализаторе. * $p < 0,05$ согласно ANOVA с последующей поправкой Бонферрони.

Параметр	Носитель	АВТL0812	Цисплатин	АВТL0812+цисплатин
RBC ($\times 10^6$/мкл)	7,9 \pm 1,0	7,9 \pm 0,4	6,8 \pm 0,9*	8,4 \pm 1,1
WBC ($\times 10^3$/мкл)	3,8 \pm 1,4	3,9 \pm 1,3	3,0 \pm 0,6	2,9 \pm 1,5
Гематокрит (%)	41,5 \pm 4,3	40,2 \pm 1,4	37,3 \pm 2,7	43,4 \pm 5,3

С. Образование метастазов. Для изучения влияния АВТL0812 на образование метастазов использовали клеточную линию SH-SY5Y, трансдуцированную репортерным вектором люциферазы. Как описано выше, мышам с ксенотрансплантатами опухолей, полученных из этой клеточной линии, вводили АВТL0812, цисплатин или комбинацию обоих лекарственных средств. После десяти дней лечения умерщвляли животных и оценивали метастазы *ex vivo*, отслеживая клетки, экспрессирующие люциферазу, в легких и печени. В этих анализах было показано, что АВТL0812 как в качестве вводимого отдельно агента, так и в комбинации с цисплатином, подавляло образование метастазов в этих органах. В отличие от этого, цисплатин при введении отдельно не оказывал значительного действия на подавление образования метастазов по сравнению с животными, которым вводили носитель.

Вывод: АВТL0812 в качестве вводимого отдельно агента имеет эффективность, сравнимую с цисплатином, но при этом имеет лучший профиль безопасности, если рассматривать гематологические параметры. Интересно отметить, что комбинация АВТL0812 с цисплатином приводит к стабилизации прогрессирования опухоли в течение более продолжительного периода. Кроме того, АВТL0812 подавлял спонтанное образование метастазов в мышинной модели нейробластомы в отличие от цисплатина. Полученные данные дополнительно подтверждают, что АВТL0812 может иметь улучшенные терапевтические эффекты по сравнению с существующими способами химиотерапии на основе платины.

2.10:

Эффективность АВТL0812 в комбинации с доксорубицином в отношении ксенотрансплантата трижды негативного рака молочной железы человека (MDA-MB-231) у мышей

Ссылка на исследование: ожидает рассмотрения

Место исследования: Ability laboratory в UAB.

Соответствие НЛП: Нет

Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия 002/2012)

Стандартное соединение: доксорубицин (Sigma, кат. № D1515)

Исследуемая система: самцы nu/nu мышей

Задача: Изучение противоопухолевой активности АВТL0812 отдельно и в комбинации

с доксорубицином в отношении ксенотрансплантата трижды негативного рака молочной железы человека.

Способы: Клеточную линию MDA-DB-231 выращивали традиционным способом в DMEM с 10% ЭБС и собирали клетки в экспоненциальной фазе роста и подсчитывали

5 для инокуляции опухоли. Мышам вводили инъекцию в один бок $2,5 \times 10^6$ клеток MDA-DB-231, суспендированных в 50 мкл питательной среды без ЭБС и 50 мкл Matrigel (Corning кат. №354234). Объем опухоли отслеживали 3 дня в неделю, и когда опухоли достигали 100 мм^3 (от 50 до 150 мм^3), животных распределяли на четыре равные группы, 10 имеющие схожий средний объем опухоли по группе, исключая опухоли меньше 50 мм^3 или крупнее 150 мм^3 , чтобы минимизировать погрешность.

Использовали следующие группы лечения:

- Группа, в которой вводили носитель (n=7): вводили перорально 200 мкл воды + 5% глицерина четыре дня в неделю и две и.п.инъекции 100 мкл солевого раствора один раз 15 в неделю

- АВТL0812 (n=9): вводили перорально 200 мкл 120 мг/кг АВТL0812, повторно суспендированного в воде+5% глицерина 5 раз в неделю

- Доксорубицин (n=9): вводили 100 мкл 2 мг/кг доксорубицина и.п. один раз в неделю

20 - АВТL0812 + доксорубицин (n=9): вводили перорально 200 мкл 120 мг/кг АВТL0812 четыре дня в неделю и 100 мкл 2 мг/кг доксорубицина и.п. один раз в неделю

Результаты: Для АВТL0812 при введении в комбинации с доксорубицином показан наилучший противоопухолевый эффект in vivo в ксенотрансплантатах, полученных из клеток MDA-DB-231. Для введения только АВТL0812 было показано уменьшение 25 объема опухоли, схожее с введением только доксорубицина, но для двойной комбинации АВТL0812 + доксорубицин было показано самое большое уменьшение объема опухоли со значимыми различиями по завершении исследования. Во всех группах, в которых проводили лечение, наблюдалось схожее изменение общей массы тела, что является 30 показателем отсутствия токсичности, связанной с лечением. Дополнительную информацию см. на фигуре 16 в настоящем документе.

30 Выводы: Как было описано выше, АВТL0812 уменьшает рост опухоли в моделях ксенотрансплантата рака молочной железы, полученного из клеток MDA-DB-231. В этой модели АВТL0812 усиливает противоопухолевую активность доксорубицина. 35 Терапия с использованием доксорубицина является традиционным вариантом для лечения для пациентов с раком молочной железы, таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что комбинированная терапия АВТL0812 с доксорубицином может представлять клинический интерес при лечении пациентов с раком молочной железы.

2.11:

2.4: Эффективность АВТL0812 в комбинации с гемцитабином и цисплатином в 40 отношении ксенотрансплантата холангиокарциномы (EGI-1) человека у мышей

Ссылка на исследование: АВТ-Е1

Место исследования: Группа по изучению болезней печени в исследовательском институте здравоохранения Biodonostia

Соответствие НЛП: Нет

45 Исследуемое соединение: АВТL0812 (партия 002/2012)

Стандартные соединения: гемцитабина гидрохлорид (Sigma Aldrich G6423) и цисплатин (Sigma, кат. № C2210000)

Исследуемая система: самцы nu/nu мышей

Задача: Изучение противоопухолевой активности АВТL0812 отдельно и в комбинации с гемцитабином и цисплатином в отношении ксенотрансплантата холангиокарциномы человека. Комбинация гемцитабина и цисплатина является одним из стандартных способов терапии при лечении холангиокарциномы.

5 Способы: Клеточную линию EGI-1 выращивали традиционным способом в DMEM с 10% ЭБС и собирали клетки в экспоненциальной фазе роста и подсчитывали для инокуляции опухоли. Мышам вводили инъекцию в один бок 1×10^6 клеток H1957, суспендированных в 50 мкл питательной среды без ЭБС и 50 мкл Matrigel (Corning кат. №354234). Объем опухоли отслеживали 3 дня в неделю, и когда опухоли достигали 100
10 мм^3 (от 50 до 150 мм^3), животных распределяли на четыре равные группы, имеющие схожий средний объем опухоли по группе, исключая опухоли меньше 50 мм^3 или крупнее 150 мм^3 , чтобы минимизировать погрешность.

Использовали следующие группы лечения:

15 - Группа, в которой вводили носитель (n=8): вводили перорально 200 мкл воды + 5% глицерина четыре дня в неделю и две и.п. инъекции 100 мкл солевого раствора один раз в неделю

- АВТL0812 (n=8): вводили перорально 200 мкл 120 мг/кг АВТL0812, повторно суспендированного в воде + 5% глицерина 5 раз в неделю

20 - Гемцитабин/цисплатин (n=8): вводили и.п. 100 мкл 50 мг/кг гемцитабина и и.п. 100 мкл 2 мг/кг цисплатина один раз в неделю

- АВТL0812 + гемцитабин/цисплатин (n=8): вводили перорально 200 мкл 120 мг/кг АВТL0812 четыре дня в неделю и и.п. 100 мкл 50 мг/кг гемцитабина и и.п. 100 мкл 2 мг/кг цисплатина один раз в неделю

25 Результаты: Для АВТL0812 при введении в комбинации с гемцитабином и цисплатином показан наилучший противоопухолевый эффект *in vivo* в ксенотрансплантатах, полученных из клеток EGI-1. Введение гемцитабина и цисплатина уменьшало объем опухоли по сравнению с группой, в которой вводили носитель, хотя без каких-либо статистически значимых различий, в отличие от введения АВТL0812 + гемцитабин и
30 цисплатин, для которого было показано статистически значимое уменьшение объема опухоли по сравнению с носителем, при этом для введения только АВТL0812 не было показано уменьшение объема опухоли по сравнению с носителем до последнего дня лечения, когда объем опухоли был схожим с группой, в которой проводили химиотерапию. Дополнительную информацию см. на фигуре 17.

35 Выводы: Как было описано выше, АВТL0812 уменьшает рост опухоли в моделях ксенотрансплантата холангиокарциномы, полученного из клеток EGI-1. В этой модели АВТL0812 усиливает противоопухолевую активность после введения гемцитабина и цисплатина. Терапия с использованием гемцитабина и цисплатина является традиционным вариантом для лечения пациентов с холангиокарциномой, таким образом,
40 полученные результаты позволяют предположить, что комбинированная терапия АВТL0812 с гемцитабином и цисплатином может представлять клинический интерес при лечении пациентов с холангиокарциномой.

ПРИМЕР 3: Токсичность комбинации с химиотерапией

45 Информация о токсичности АВТL0812 в комбинации с химиотерапевтическими агентами была получена во время исследований эффективности у мышей с подавленным иммунитетом. Проводили специальное токсикологическое исследование комбинации АВТL0812 +/- паклитаксел +/- карбоплатин.

Ссылка на исследование: N-02220

Место исследования: Vivotecnia (Madrid, Spain)

Исследование НЛП: Нет

Исследуемые соединения: АВТL0812 (партия 001R/2014), паклитаксел (Aurovitas, партия 68J5041), карбоплатин (Sigma-Aldrich, партия LSBL7058v)

5 Исследуемая система: самки мышей CD-1 возрастом 12 недель.

Задача: Определение токсикологического профиля АВТL0812 в комбинации с карбоплатином и паклитакселом после двухнедельного введения.

10 Способы: Сорок пять самок мышей CD-1 распределяли способом стратификации по массе тела в девять экспериментальных групп (А-І) (по 5 животных в группе), в которых использовали различные способы лечения или вводили стандартные агенты (паклитаксел и карбоплатин) в различные дни.

Ниже в таблице сведены группы, в которых проводили лечение. Следует отметить, что используемые схемы введения и вводимые дозы были такими же, что и в проводившихся ранее исследованиях эффективности.

15 **Таблица.** Группы для оценки токсичности АВТL0812, паклитаксела, карбоплатина и их комбинации у мышей.

Группа	Способ лечения	Доза (мг/кг)	Схема (день исследования)	
			1 ^й период	2 ^й период
А	Носитель	-	2-6	9-13
В	АВТL0812 (п.о.)	120	2-6	9-13
С	Паклитаксел (и.п.)	15	2	9
Д	Карбоплатин (и.п.)	50	2	9
Е	Паклитаксел (и.п.)	15	2	9
	Карбоплатин (и.п.)	50	2	9
F	АВТL0812 (п.о.)	120	2-6	9-13
	Паклитаксел (и.п.)	15	2	9
	Карбоплатин (и.п.)	50	2	9
G	АВТL0812 (п.о.)	120	2-6	9-13
	Паклитаксел (и.п.)	15	1	8
	Карбоплатин (и.п.)	50	1	8
H	АВТL0812 (п.о.)	120	2-6	9-13
	Паклитаксел (и.п.)	15	2	9
I	АВТL0812 (п.о.)	120	2-6	9-13
	Карбоплатин (и.п.)	50	2	9

35 Оценка безопасности была основана на данных наблюдаемой смертности, местных и системных клинических признаков, массы тела и потребления корма, полученных в течение всего исследования. Кроме того, определяли показатели клинической патологии (биохимия и гематология) у всех животных перед умерщвлением. В конце периода наблюдения (один день после заключительного введения) всех выживших животных

40 умерщвляли и проводили макроскопическую оценку после вскрытия. Кроме того, оценка безопасности также была основана на массе отдельных органов-мишеней, собранных во время умерщвления.

Результаты: Повторяющееся пероральное введение исследуемого агента и интраперитонеальное введение стандартных агентов не вызывали смертность. Местные или системные клинические признаки, связанные с лечением, отмечены не были.

Во время исследования у животных наблюдали незначительные различия среднего прироста массы тела. У большинства животных наблюдалась тенденция к снижению массы тела в первые четыре дня исследования, за исключением животных из группы

А (контрольная группа) и группы С (введение дозы паклитаксела один раз в неделю). Тем не менее, в течение всего периода исследования у большинства животных статистически значимые различия абсолютного прироста массы тела не наблюдались. Только у животных из группы F, которым вводили пероральную дозу АВТL0812 один раз в день в течение двух 5-дневных периодов и интраперитонеальную дозу паклитаксела и карбоплатина один раз в неделю (в тот же день, что и первую пероральную дозу в каждый период), заметно снижался прирост массы тела в течение всего периода исследования по сравнению с несколькими группами животных (группа А, в которой вводили носитель, группа С, в которой вводили паклитаксел, и группа Е, в которой вводили комбинацию паклитаксела и карбоплатина).

Хотя провести статистический анализ было невозможно из-за небольшого размера выборки, по оценкам животные из группы А потребляли больше корма, чем остальные животные.

Что касается параметров клинической биохимии, то были отмечены более низкие уровни креатинина и триглицеридов в большинстве групп по сравнению с контрольной группой. С другой стороны, наблюдалось статистически значимое снижение уровня гематокрита (у животных из группы F) и уровня тромбоцитов в группах, в которых вводили комбинацию пероральной дозы АВТL0812 и интраперитонеальной дозы паклитаксела и карбоплатина (животные из групп F и G) по сравнению с контрольной группой. Хотя эти значения были в пределах нормы, нельзя исключать влияние лечения на параметры клинической патологии.

Во время макроскопической оценки при вскрытии всех животных, умерщвленных в конце периода лечения, не были выявлены какие-либо значимые изменения, которые могли бы быть связаны с действием исследуемых агентов. Наблюдала белые участки в печени животного ID32 и пигментацию в поджелудочной железе животного ID33. Кроме того, абсолютные и относительные массы органов были схожими в группах, в которых проводили лечение.

Ниже в таблице приведены наиболее значимые данные, связанные с безопасностью.

30

35

40

45

Таблица. Наиболее значимые биохимические и гематологические данные в токсикологическом исследовании АВТL0812 и его комбинации с паклитакселом и карбоплатином

Группа	Способ лечения (День введения РТХ/СР)	Прирост массы тела (г)		Биохимия			Гематология		
		Д 1-4	Д 8-11	Мочевина ммоль/л	Креатинин мкмоль/л	Триглицериды ммоль/л	WBC $\times 10^9$ /мкл	RBC $\times 10^6$ /мкл	PLT $\times 10^9$ /мкл
А	Контроль	0,784	0,630	8,10	14,35	2,31	6,96	9,24	1055
В	АВТL	-0,804	0,138	3,66	9,18	0,94	5,94	9,57	1293
С	РТХ, D2/9	0,354	0,442	9,50	9,74	1,31	6,28	9,59	1378
Д	СР, D2/9	-0,626	-0,450	9,50	8,83	1,35	7,09	8,40	790
Е	РТХ + СР, D2/9	-0,612	0,232	8,26	8,86	1,26	6,37	8,49	740
Ф	АВТL + РТХ + СР, D2/9	-1,322	-0,540	6,82	9,07	1,00	4,53	8,41	470
Г	АВТL + РТС + СР, D1/8	-0,468	-0,116	6,05	9,24	1,20	6,25	8,82	443
Н	АВТL + РТХ, D2/9	-1,342	0,020	6,86	7,96	1,52	6,77	9,71	1249
І	АВТL + СР, D2/9	-0,562	-1,284	6,26	8,58	1,68	6,11	8,32	670

Вывод: С учетом полученных результатов, можно сделать вывод, что в исследуемых экспериментальных условиях:

- Повторяющееся пероральное введение исследуемого агента АВТL0812 отдельно и в комбинации с еженедельной интраперитонеальной дозой паклитаксела и карбоплатина не вызывало смертность и хорошо переносилось, так как ни у одного из животных не наблюдались ни местные, ни системные клинические признаки, указывающие на токсичность во время исследования.

- У большинства животных масса тела оставалась неизменной в течение периода исследования. Статистически значимое снижение наблюдали только у животных, которым вводили комбинацию исследуемого агента и обоих стандартных агентов (в первый день в каждый период).

- Потребление корма у животных из группы А было выше, чем практически у всех животных в период исследования.

- Клиническая патология (биохимические и гематологические показатели) выявила статистически значимые различия в группах, в которых проводили лечение, по сравнению с контрольной группой. Несмотря на то, что большая часть полученных значений была в пределах нормы у животных этой линии и пола, нельзя исключать влияние лечения. Влияние на количество тромбоцитов связано с использованием карбоплатина, но дополнительным небольшим снижением количества тромбоцитов при комбинировании трех экспериментальных лекарственных средств нельзя пренебречь.

- Никакие значимые эффекты способов лечения согласно результатам макроскопической оценки во время вскрытия и абсолютной/относительной массы органов не наблюдались.

ПРИМЕР 4: АВТL0812 в комбинации с различными химиотерапевтическими агентами - данные для человека

4.1: Открытое исследование фазы I/II для оценки эффективности и безопасности

ABTL0812 в комбинации с паклитакселом и карбоплатином у пациентов с распространенным раком эндометрия или плоскоклеточным НМРЛ.

Клиническое испытание фазы I/II проводится для пациентов с распространенным раком эндометрия или плоскоклеточным немелкоклеточным раком легкого. Оно представляет собой многоцентровое открытое испытание, в котором ABTL0812 вводят перорально, начиная с дозы 1300 мг, три раза в день в комбинации с химиотерапией.

А. Задачи испытания

- Первичный конечный критерий оценки фазы I: Оценка безопасности и переносимости ABTL0812 и паклитаксела + карбоплатина у пациентов с распространенным или метастатическим раком эндометрия или плоскоклеточным НМРЛ в качестве терапии первой линии

- Первичный конечный критерий оценки фазы II: Оценка эффективности ABTL0812 и паклитаксела + карбоплатина у пациентов с распространенным или метастатическим раком эндометрия или плоскоклеточным НМРЛ в качестве терапии первой линии

В. Дизайн исследования

Данное исследование не является рандомизированным, и всем включенным в исследование пациентам вводят ABTL0812 в комбинации с паклитакселом + карбоплатином. Данная фаза разделена на 2 периода:

- Период 1: ABTL0812 вводят в комбинации с химиотерапией.

- Период 2: После завершения циклов введения SOC ABTL0812 вводят в качестве монотерапии, вплоть до 12 месяцев от начала периода 1.

Вывод:

Полученные ранее предварительные результаты клинических испытаний с участием людей являются положительными в том смысле, что эти результаты также указывают на то, что у человека также наблюдается синергетический эффект от применения соединения ABTL0812 в комбинации с паклитакселом и карбоплатином у пациентов с распространенным раком эндометрия или плоскоклеточным раком.

ССЫЛКИ

1: Европейский патент EP 2409963 B1 (Lipopharma - заявка подана в 2010 г.)

2: Erazo, et al.; Clinical Cancer Research; 22(10) May 15, 2016

3: Новостная заметка от 22 ноября 2016 г. - опубликована на веб-странице настоящего заявителя (AbilityPharma)

4: Новостная заметка от 14 декабря 2016 г. - опубликована на веб-странице настоящего заявителя (AbilityPharma).

(57) Формула изобретения

1. Фармацевтическая комбинация для лечения рака у пациента, представляющего собой человека, содержащая:

(А): соединение, которое представляет собой полиненасыщенную жирную кислоту формулы

$\text{COOH-CHON-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812), его фармацевтически приемлемую соль или их комбинацию

и

(В): соединение, представляющее собой химиотерапевтический агент, где

- соединение (В) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак легкого, предпочтительно немелкоклеточную аденокарциному легкого;

- соединение (В) представляет собой карбоплатин, а рак представляет собой рак эндометрия;

- соединение (B) представляет собой ретиноевую кислоту, а рак представляет собой нейробластому;

- соединение (B) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак молочной железы, предпочтительно трижды негативный рак молочной железы;

5 - соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой рак легкого;

- соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой плоскоклеточный рак, предпочтительно немелкоклеточный плоскоклеточный рак легкого;

10 - соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого;

- соединение (B) представляет собой цисплатин и пеметрексед, рак представляет собой рак легкого;

15 - соединение (B) представляет собой цисплатин и пеметрексед, а рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого;

- соединение (B) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак эндометрия;

- соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой рак эндометрия;

20 - соединение (B) представляет собой паклитаксел и гемцитабин, а рак представляет собой рак поджелудочной железы;

- соединение (B) представляет собой наб-паклитаксел и гемцитабин, а рак представляет собой рак поджелудочной железы;

25 - соединение (B) представляет собой доксорубицин, а рак представляет собой рак молочной железы, предпочтительно трижды негативный рак молочной железы;

- соединение (B) представляет собой цисплатин, а рак представляет собой нейробластому; или

- соединение (B) представляет собой цисплатин и гемцитабин, а рак представляет собой холангиокарциному.

30 2. Фармацевтическая комбинация по п. 1, отличающаяся тем, что соединение (A) представляет собой натриевую соль $\text{COOH-CHON}-(\text{CH}_2)_6-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$ (ABTL0812).

3. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что

35 - соединение (B) представляет собой карбоплатин, а рак представляет собой рак эндометрия;

- соединение (B) представляет собой паклитаксел, а рак представляет собой рак молочной железы, предпочтительно трижды негативный рак молочной железы;

40 - соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой плоскоклеточный рак, предпочтительно немелкоклеточный плоскоклеточный рак легкого;

- соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого;

45 - соединение (B) представляет собой пеметрексед и цисплатин, а рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого;

- соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой рак эндометрия;

- соединение (B) представляет собой паклитаксел и гемцитабин, а рак представляет

собой рак поджелудочной железы; или

- соединение (B) представляет собой цисплатин и гемцитабин, а рак представляет собой холангиокарциному.

5 4. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что

- соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой распространенный рак эндометрия; или

- соединение (B) представляет собой паклитаксел и карбоплатин, а рак представляет собой плоскоклеточный рак.

10 5. Фармацевтическая комбинация по п. 4, отличающаяся тем, что указанное соединение (A) вводят перорально.

6. Фармацевтическая комбинация по п. 5, отличающаяся тем, что вводимая доза соединения (A) представляет собой дозу от 1200 мг до 1400 мг.

15 7. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная фармацевтическая комбинация представляет собой одну композицию, содержащую как соединение (A), так и соединение (B).

8. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное соединение (A) предназначено для введения перорально.

20 9. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что вводимая доза соединения (A) представляет собой суммарную дозу от 200 мг до 6000 мг в день.

10. Фармацевтическая комбинация по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что

25 - соединение (B) представляет собой паклитаксел, и предназначено для введения внутривенно в виде раствора для инфузии;

- соединение (B) представляет собой карбоплатин, и предназначено для введения внутривенно в виде раствора для инфузии;

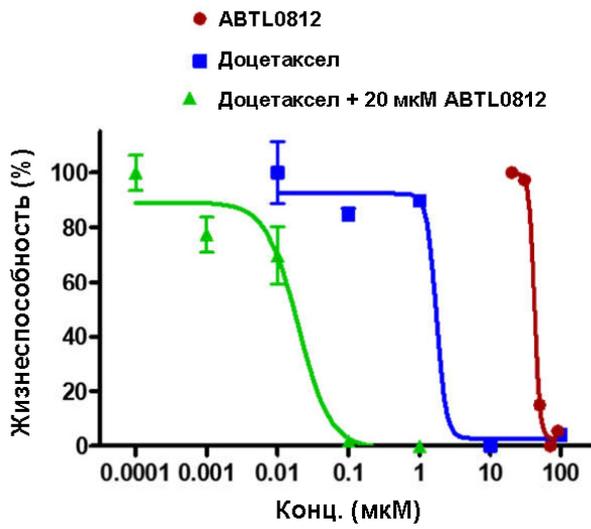
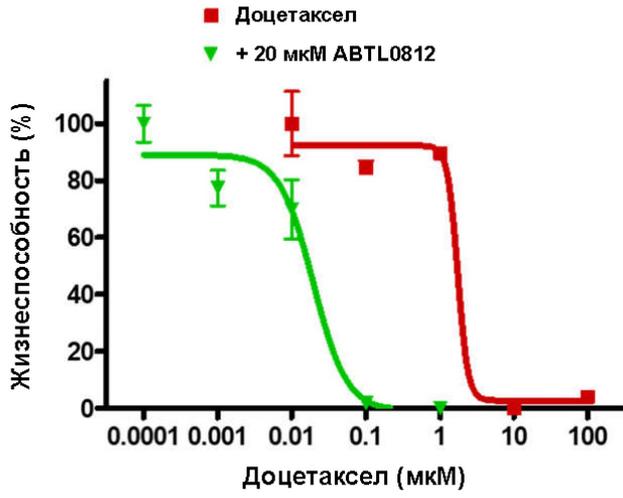
30 - соединение (B) представляет собой цисплатин, и предназначено для введения внутривенно в виде раствора для инфузии.

35

40

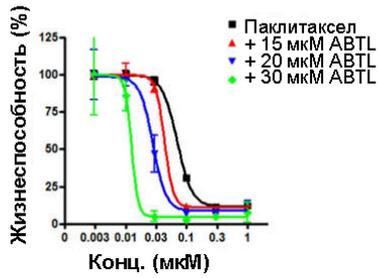
45

Фигура 1

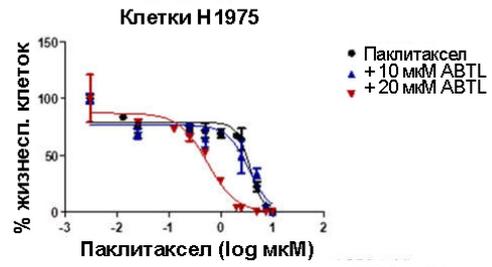


2/17

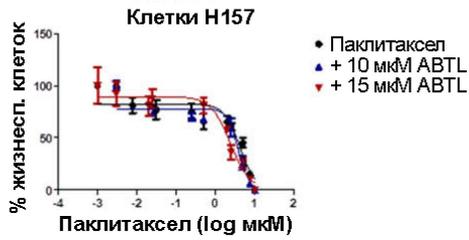
Фигура 2



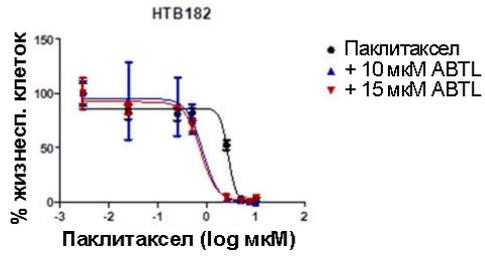
	IC50 (мкМ)
АВТЛ0812	49
Паклитаксел	0,07
Паклитаксел + 15 мкМ АВТЛ0812	0,04
Паклитаксел + 20 мкМ АВТЛ0812	0,03
Паклитаксел + 30 мкМ АВТЛ0812	0,01



	IC50 (мкМ)
АВТЛ0812	43
Паклитаксел	3,68
Паклитаксел + 10 мкМ АВТЛ0812	3,47
Паклитаксел + 20 мкМ АВТЛ0812	0,56



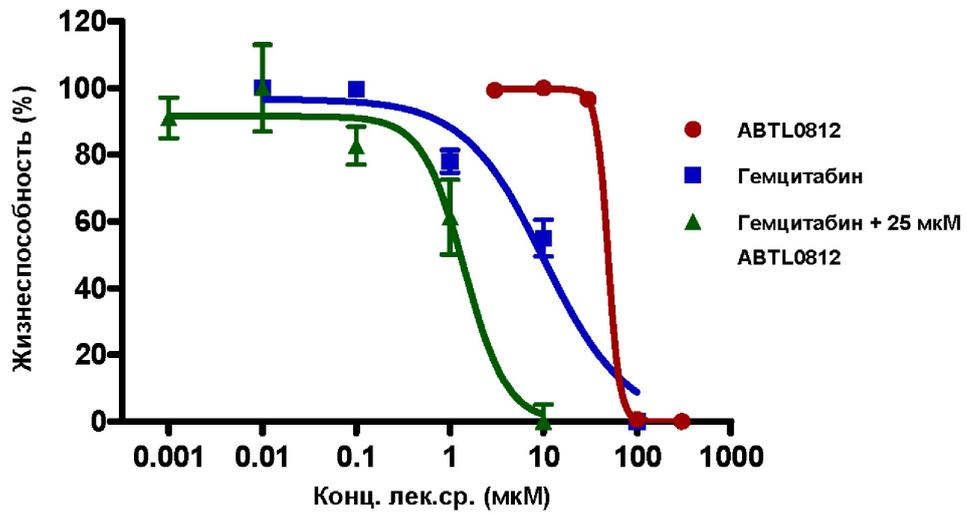
	IC50 (мкМ)
АВТЛ0812	23
Паклитаксел	4,19
Паклитаксел + 10 мкМ АВТЛ0812	3,74
Паклитаксел + 15 мкМ АВТЛ0812	2,39



	IC50 (мкМ)
АВТЛ0812	29
Паклитаксел	2,71
Паклитаксел + 10 мкМ АВТЛ0812	0,81
Паклитаксел + 15 мкМ АВТЛ0812	0,75

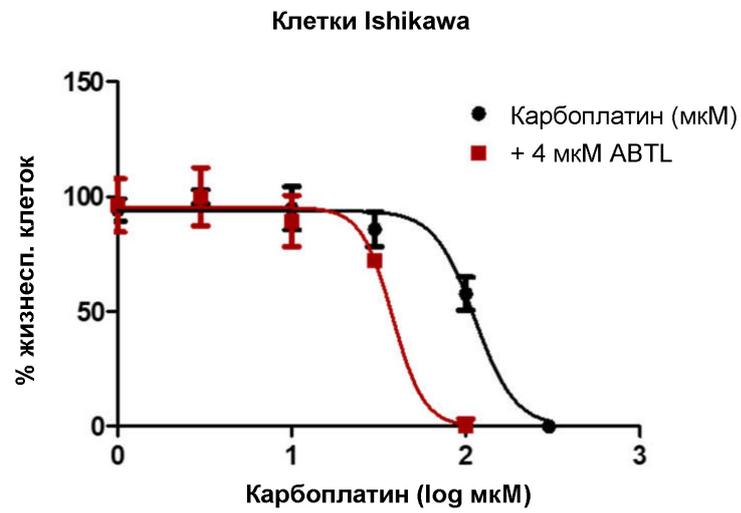
3/17

Фигура 3



4/17

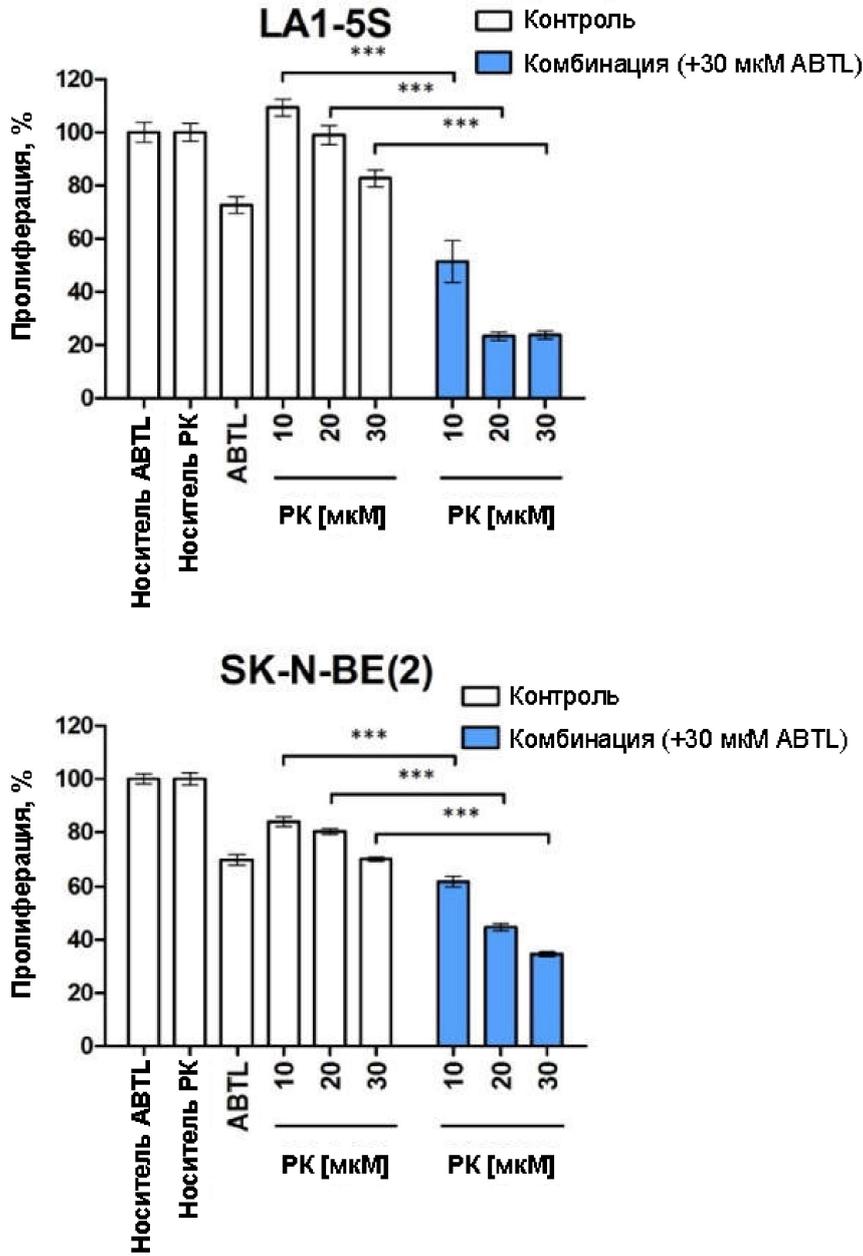
Фигура 4



	IC50 (мкМ)
ABTL0812	33,0
Карбоплатин	112,6
Карбоплатин + 4 мкМ ABTL0812	38,0

5/17

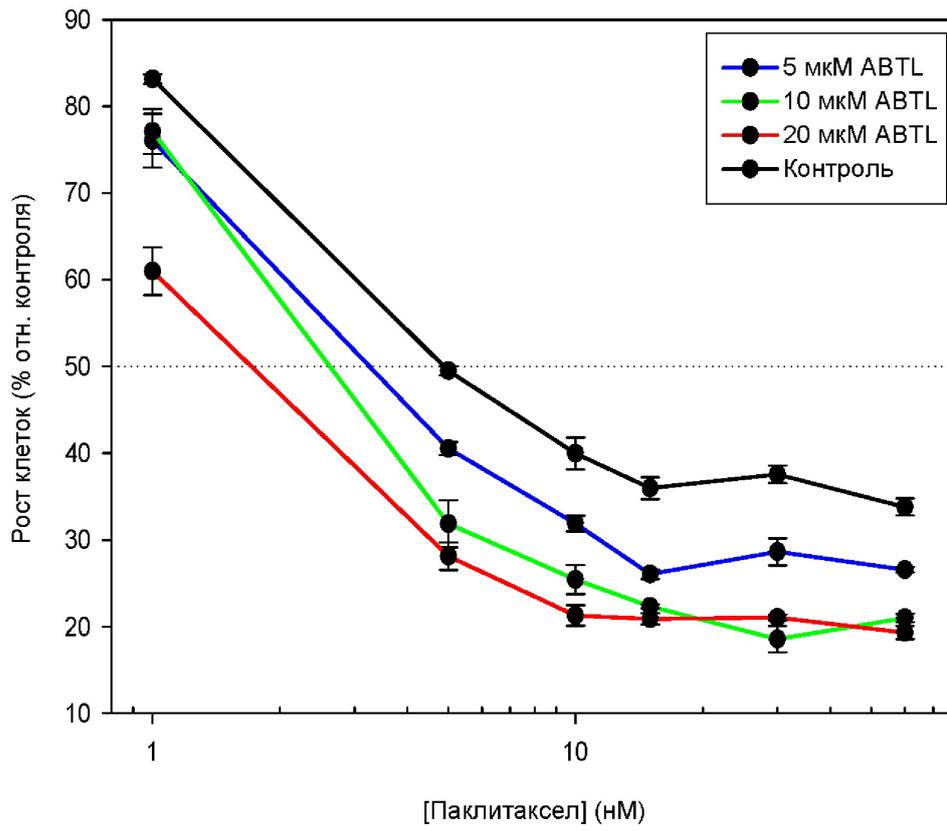
Фигура 5



6/17

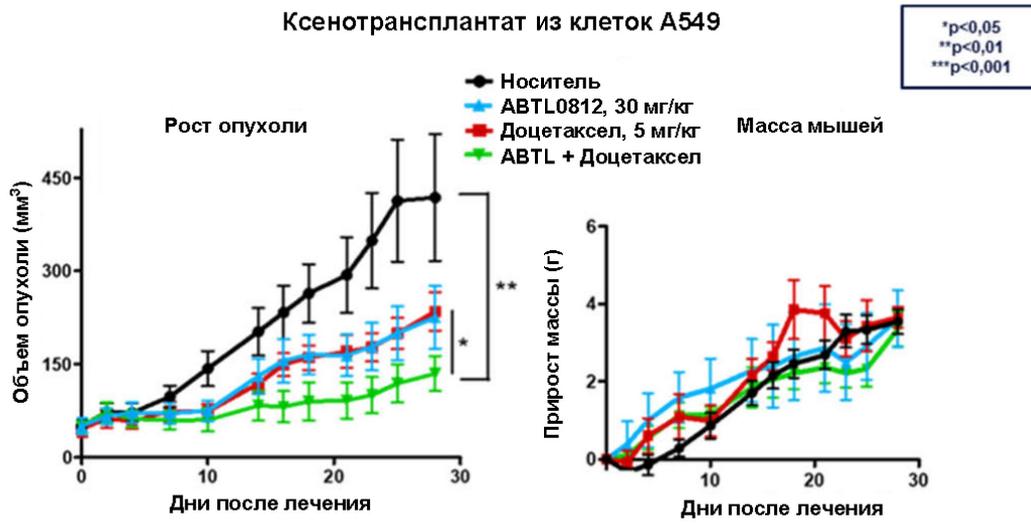
Фигура 6

MDA-MB-231



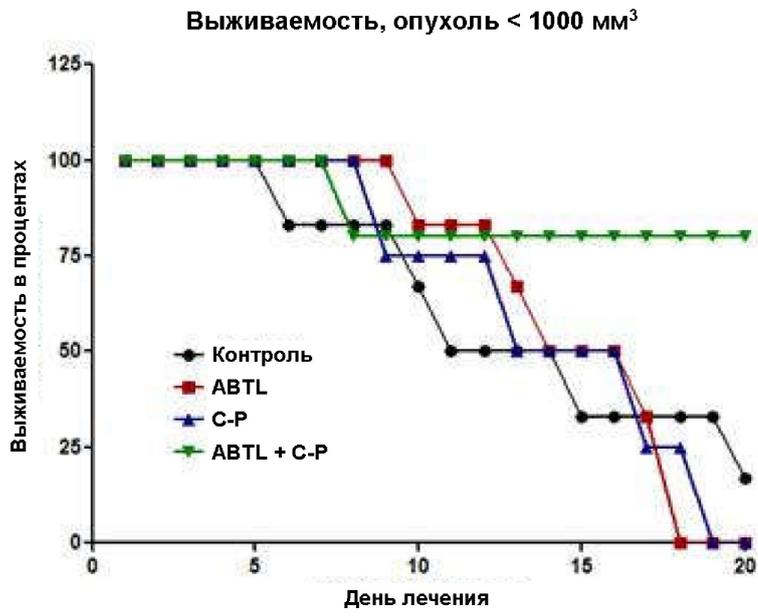
7/17

Фигура 7



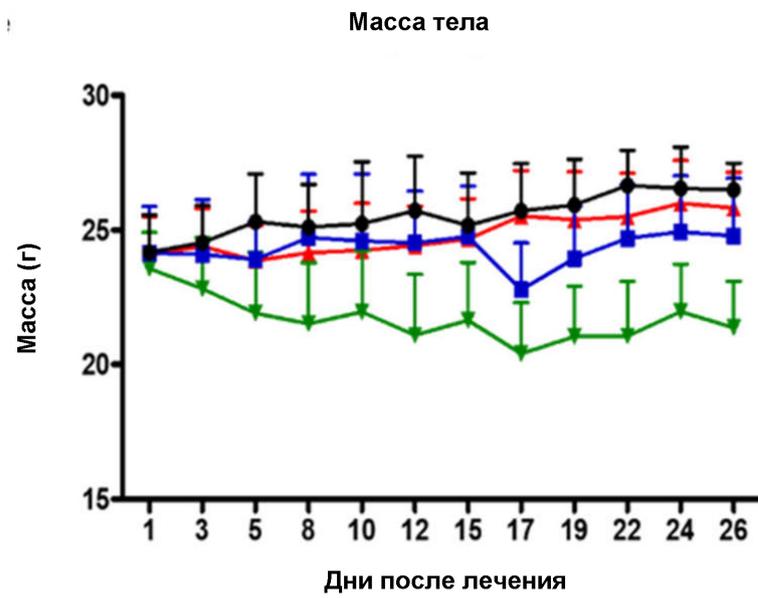
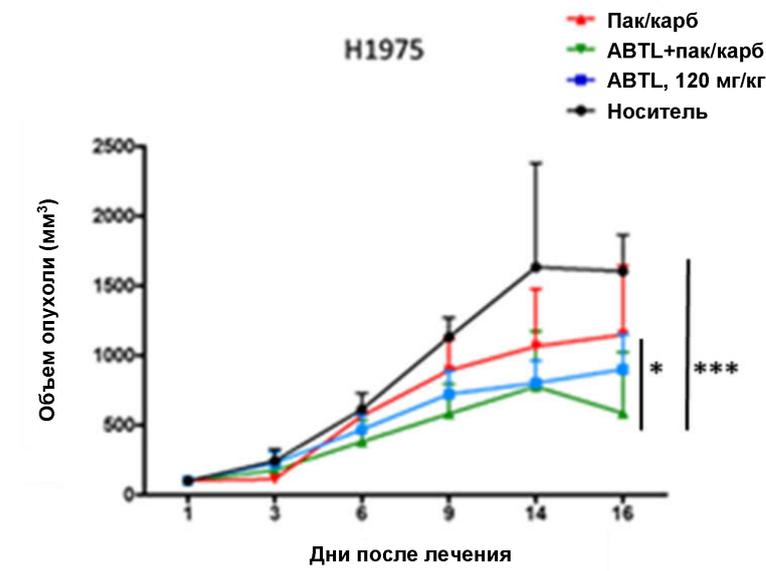
8/17

Фигура 8



9/17

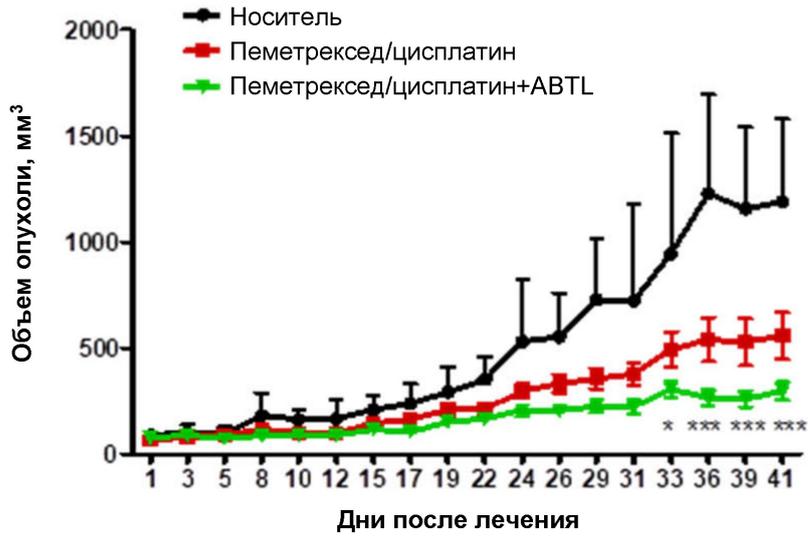
Фигура 9



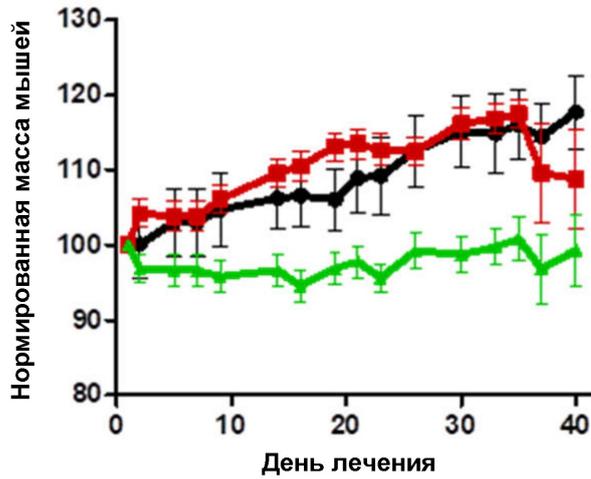
10/17

Фигура 10

Ксенотрансплантат A549

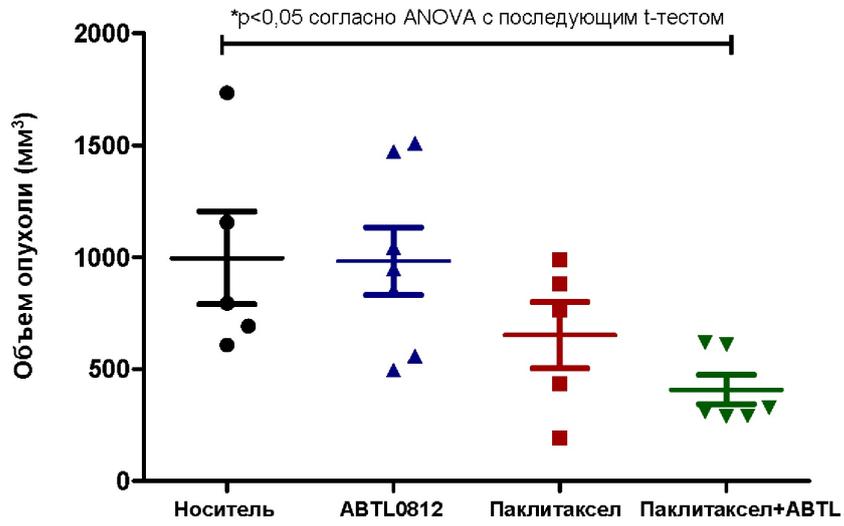


Масса мышей



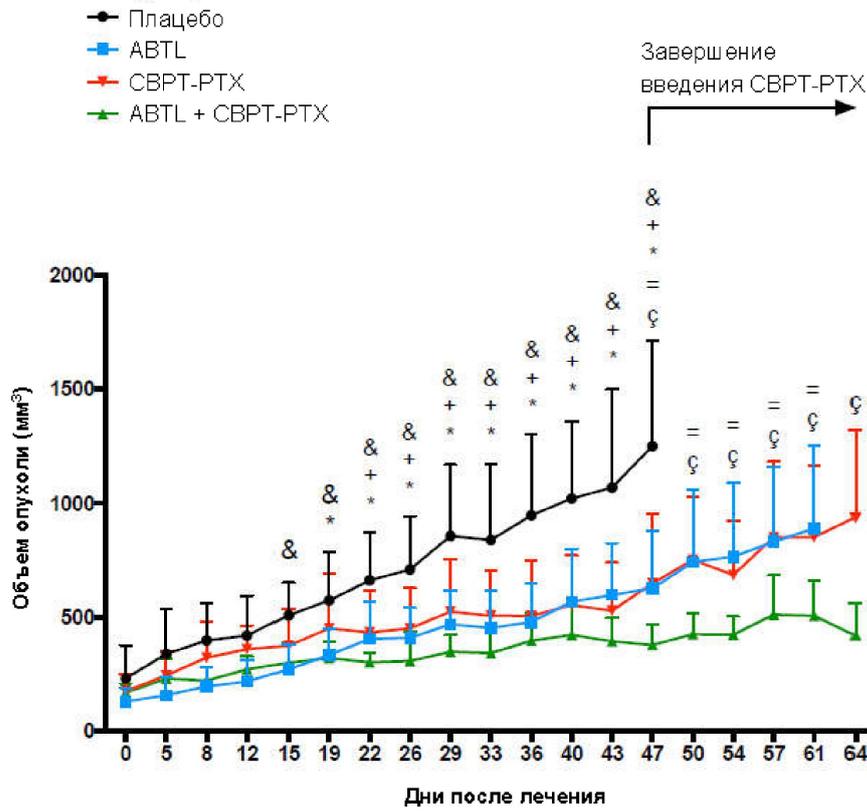
11/17

Фигура 11



12/17

Фигура 12

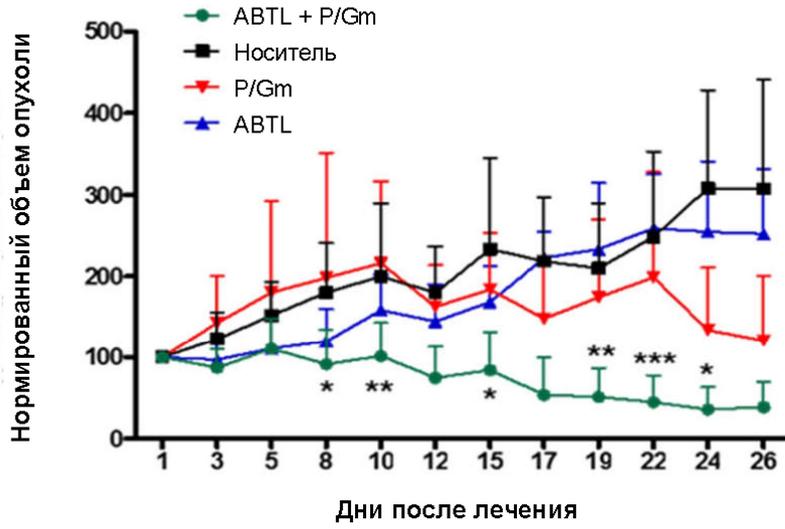


- * значительные различия между плацебо и АВТЛ+СВРТ-РТХ
- + значительные различия между плацебо и СВРТ-РТХ
- & значительные различия между плацебо и АВТЛ
- = значительные различия между АВТЛ и АВТЛ+СВРТ-РТХ
- ♡ значительные различия между СВРТ-РТХ и АВТЛ+СВРТ-РТХ

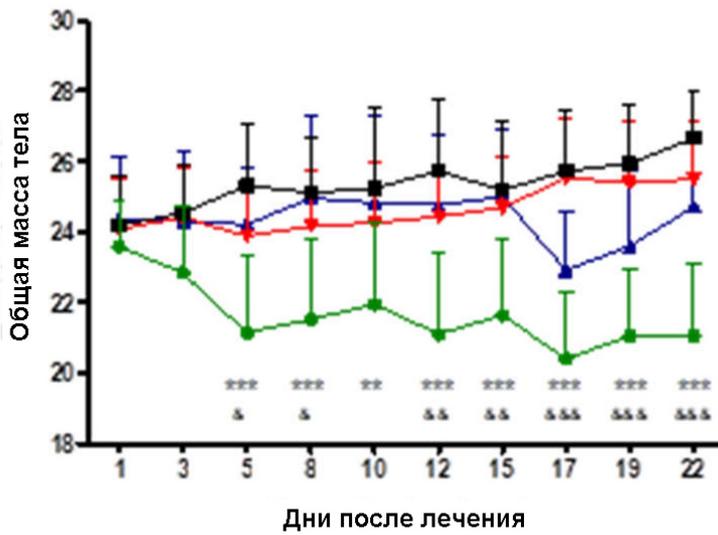
13/17

Фигура 13

Рост опухоли

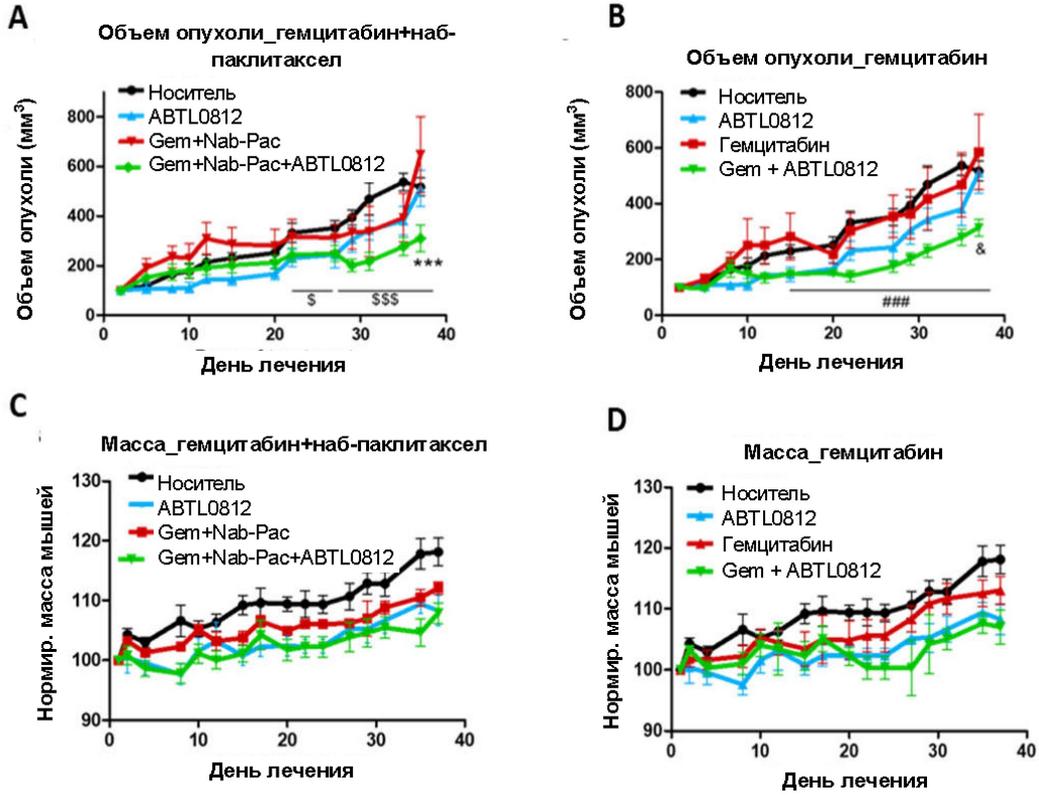


Масса мышей



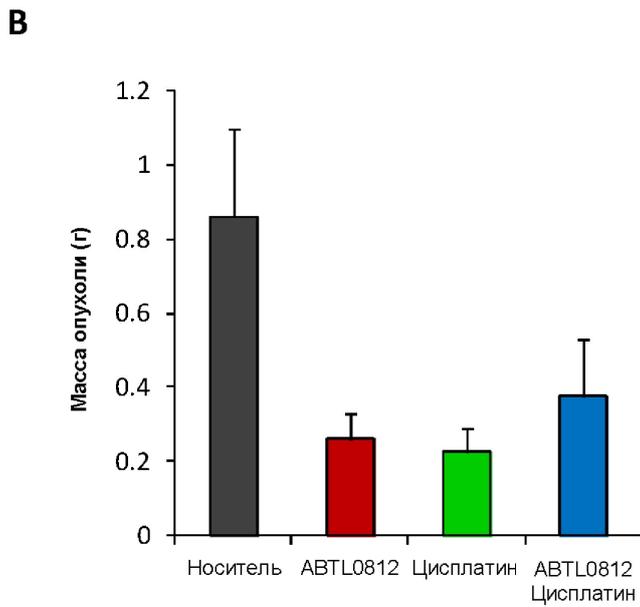
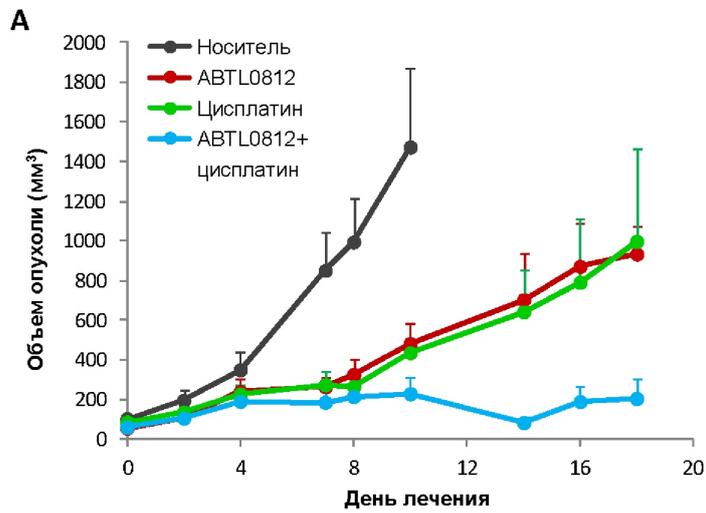
14/17

Фигура 14



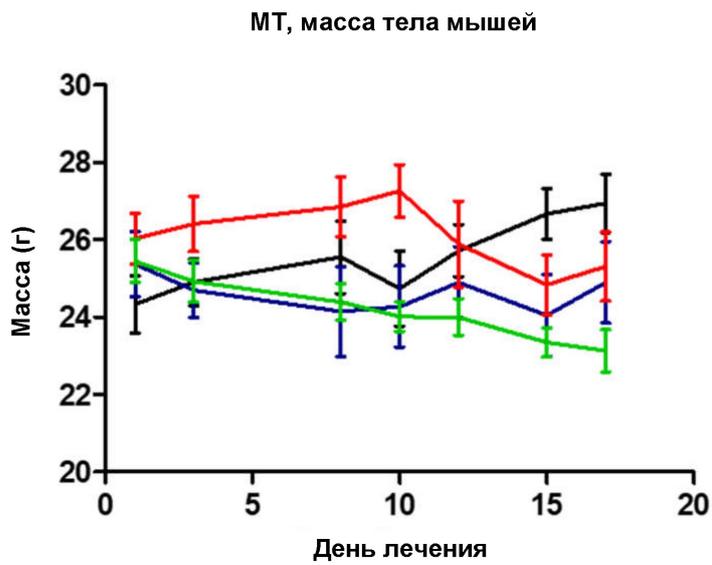
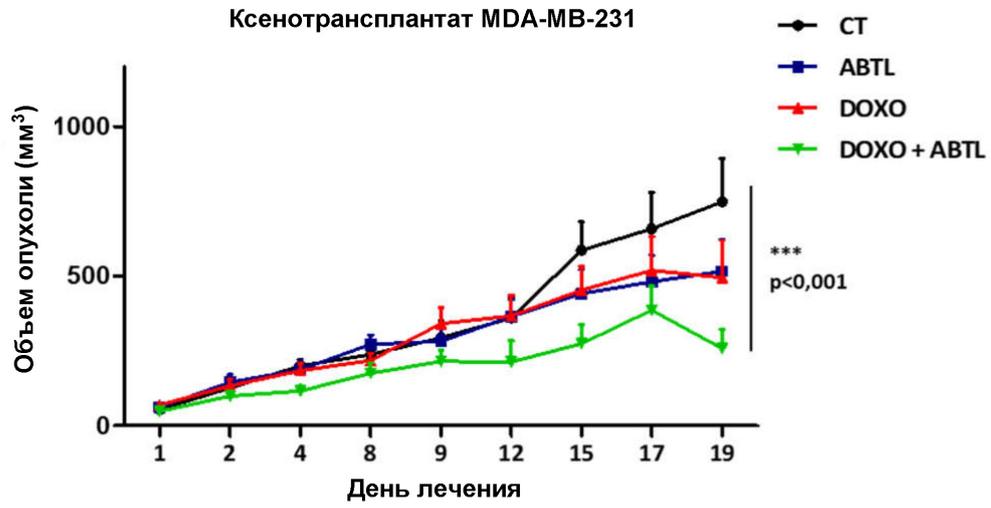
15/17

Фигура 15



16/17

Фигура 16



17/17

Фигура 17

