



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
A61K 39/395 (2018.08); A61P 35/00 (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2017112088, 23.08.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
23.08.2011

Дата регистрации:  
06.02.2019

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
23.08.2010 US 61/376,097;  
26.10.2010 US 61/406,759;  
08.11.2010 US 61/411,183;  
29.04.2011 US 61/480,635

Номер и дата приоритета первоначальной заявки,  
из которой данная заявка выделена:  
2013110030 23.08.2010

(43) Дата публикации заявки: 24.01.2019 Бюл. №  
3

(45) Опубликовано: 06.02.2019 Бюл. № 4

Адрес для переписки:  
191036, г. Санкт-Петербург а/я 24  
'НЕВИНПАТ'

(72) Автор(ы):  
СИМАРД Джон (US)

(73) Патентообладатель(и):  
ИКСБИОТЕЧ, ИНК. (CA)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: WO 2010087972 A2, 05.08.2010. US  
2009298096 A1, 03.12.2009. RU 2263118 C2,  
27.10.2005. ROBERTSON F.M. et al. "Inhibition  
of pro-inflammatory cytokine gene expression  
and papillomagrowth during murine multistage  
carcinogenesis by pentoxifylline".  
Carcinogenesis 1996Aug;17(8):1719-28,  
реферат, найдено 31.07.2015, найдено из  
PubMed PMID:8761432.

(54) Лечение неопластических заболеваний

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно  
к онкологии, и касается лечения неопластического  
заболевания. Для этого вводят фармацевтическую  
композицию, включающую антитело к IL-1α. Это

обеспечивает стабилизацию прогрессирующего  
онкологического заболевания, резистентного к  
другим видам противораковой терапии. б з.п. ф-  
лы, 6 пр.

RU 2 679 119 C 2

RU 2 679 119 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

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

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*A61K 39/395* (2018.08); *A61P 35/00* (2018.08)

(21)(22) Application: **2017112088, 23.08.2011**

(24) Effective date for property rights:  
**23.08.2011**

Registration date:  
**06.02.2019**

Priority:

(30) Convention priority:  
**23.08.2010 US 61/376,097;**  
**26.10.2010 US 61/406,759;**  
**08.11.2010 US 61/411,183;**  
**29.04.2011 US 61/480,635**

Number and date of priority of the initial application,  
from which the given application is allocated:  
**2013110030 23.08.2010**

(43) Application published: **24.01.2019 Bull. № 3**

(45) Date of publication: **06.02.2019 Bull. № 4**

Mail address:  
**191036, g. Sankt-Peterburg a/ya 24 'NEVINPAT'**

(72) Inventor(s):  
**SIMARD John (US)**

(73) Proprietor(s):  
**XBIOTECH, INC. (CA)**

(54) **TREATMENT OF NEOPLASTIC DISEASES**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine,  
namely to oncology, and concerns the treatment of  
neoplastic disease. To do this, enter the pharmaceutical  
composition comprising the antibody to IL-1 $\alpha$ .

EFFECT: this ensures the stabilization of  
progressive cancer resistant to other types of anticancer  
therapy.

7 cl, 6 ex

**C 2**  
**6 1 1 6 7 9 2**  
**R U**

**R U**  
**2 6 7 9 1 1 9**  
**C 2**

**ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

[0001] Настоящая заявка претендует на приоритет предварительной заявки на патент США №№ 61/376097, поданной 23 августа 2010 года, 61/406759, поданной 26 октября 2010 года, 61/411183, поданной 8 ноября 2010 года и 61/480635, поданной 29 апреля 2011 года, все из которых включены в настоящий документ с помощью ссылки во всей их полноте.

**ЗАЯВЛЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНО ФЕДЕРАЛЬНО финансируемого ИССЛЕДОВАНИЯ**

[0002] Не имеет отношения.

**ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0003] Изобретение в целом относится к областям медицины, онкологии и иммунологии. Более подробно, изобретение относится к применению антител (Ат), которые специфически связываются с интерлейкином-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), для лечения опухолевого заболевания и других опухолевых патологий.

**ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0004] Несмотря на многочисленные успехи, опухолевые заболевания, такие как рак, остаются одной из основных причин смерти и заболеваемости в развитых странах. Хотя многие из молекулярных механизмов онкогенеза теперь обнаружены, стандартным лечением наиболее агрессивных опухолей продолжает оставаться хирургическая резекция, химиотерапия и лучевая терапия. Несмотря на растущий успех каждый из этих методов лечения все еще вызывает многочисленные нежелательные побочные эффекты. Например, хирургическая операция приводит к боли, травматическому повреждению здоровой ткани и рубцеванию. Лучевая терапия и химиотерапия вызывают тошноту, подавление иммунитета, язву желудка и вторичный онкогенез.

[0005] В течение последних нескольких лет большой прогресс в лечении раковых опухолей достигнут с использованием биологических средств, таких как Ат. Ат могут быть непосредственно направлены на специфические типы опухолевых клеток, чтобы использовать иммунный ответ пациента для уничтожения опухоли. Альтернативно, они могут быть направлены на факторы роста клеток с целью вмешательства в рост опухолевых клеток. Как и общепринятые химиотерапевтические средства, не все противоопухолевые Ат полезны для лечения всех типов неоплазм, и многие изначально эффективные антитела позднее теряют действенность. Таким образом, необходимы новые противоопухолевые Ат.

**КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0006] Изобретение основано на открытии того, что мАт, которое специфически связывается с IL-1 $\alpha$ , полезно для лечения различных опухолевых заболеваний.

[0007] Таким образом, изобретение уделяет особое место лекарственному средству и способу лечения неопластических заболеваний (например, колоректального рака, такого, как имеющий мутацию KRAS, связанного с EVB (вирус Эпштейна-Барр) рака, такого как назофарингеальная карцинома или лимфома Беркитта, немелкоклеточного рака легких (NSCLC) или незлокачественных состояний, связанных с опухолями, таких как болезнь Кастельмана) у субъекта-человека. Способ может быть выполнен путем введения субъекту фармацевтической композиции, включая фармацевтически приемлемый носитель и количество Ат к IL-1 $\alpha$ , эффективное для облегчения симптома опухолевой патологии и/или для уменьшения размера опухоли у субъекта на, по меньшей мере, 10% (например, по меньшей мере 8, 9, 10, 15, 17, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100%). Лекарственное средство может включать Ат к IL-1 $\alpha$ . Ат к IL-1 $\alpha$  может быть мАт, таким как IgG1. Ат к IL-1 $\alpha$  может быть мАт, обозначенным МАВр1, или мАт,

которое включает один или несколько гипервариабельных участков (CDR) МАВp1.

[0008] Фармацевтическая композиция может быть введена субъекту путем инъекции, подкожно, внутривенно, внутримышечно или непосредственно в опухоль. В данном способе доза может составлять по меньшей мере 0,25 (например, по меньшей мере, 0,2, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 4, или 5) мг/мл.

[0009] Если не определено иначе, все технические термины, использованные в настоящем документе, имеют то же значение, как обычно понимается специалистом в данной области техники, к которой принадлежит данное изобретение. Обычно понимаемые определения биологических терминов могут быть найдены в Rieger et al., Glossary of Genetics: Classical and Molecular, 5<sup>th</sup> edition, Springer-Verlag: New York, 1991; и Lewin, Genes V, Oxford University Press: New York, 1994. Обычно понимаемые определения медицинских терминов могут быть найдены в Stedman's Medical Dictionary, 27th edition, Lippincott, Williams & Wilkins, 2000.

[00010] Как использовано в настоящем документе, некое «Ат» или «Ат» является иммуноглобулином (Ig), раствором идентичных или гетерогенных Ig, или смесью Ig. «Ат» может также относиться к фрагментам или сконструированным вариантам Ig, таким как Fab, Fab' и F(ab')<sub>2</sub> фрагменты; и scFv, гетероконъюгированные Ат и аналогичные искусственные молекулы, которые используют CDR, полученные из Ig, для придания антигенной специфичности. Некое «мАт» или «мАт» является Ат, экспрессированным одной клональной линией В-клеток, или популяцией молекул Ат, которая содержит только один вид антиген-связывающего центра, способного иммунно реагировать со специфическим эпитопом специфического антигена. Некое «поликлональное Ат» или «поликлональное Ат» является смесью гетерогенных Ат. Как правило, поликлональное Ат будет включать несметное число молекул различных Ат, которые связываются со специфическим антигеном, с по меньшей мере некоторыми из различных Ат, иммунно реагирующими с разными эпитопами антигена. Как использовано в настоящем документе, поликлональное Ат может быть смесью из двух или более мАт.

[00011] «Антиген-связывающий участок» Ат содержится в пределах вариабельной области Fab-участка Ат и является участком Ат, который предоставляет антиген-специфичность Ат (т. е., как правило, трехмерный карман, образованный из CDR тяжелой и легкой цепей Ат). «Fab-участок» или «Fab-область» является протеолитическим фрагментом расщепленного папаином Ig, который содержит антиген-связывающий участок этого Ig. «Не Fab-участок» является участком Ат вне пределов Fab-участка, например, «Fc-участок» или «Fc-область». «Константная область» Ат является участком Ат за пределами вариабельной области. В целом охваченным в пределах константной области является «эффекторный участок» Ат, который является участком Ат, отвечающим за связывание с другими компонентами иммунной системы, способствующими иммунному ответу. Так, например, сайт Ат, который связывается с компонентами комплемента или Fc-рецепторами (не через его антиген-связывающий участок), является эффекторным участком этого Ат.

[00012] При ссылке на белковую молекулу, такую как Ат, «очищенный» означает отделенный от компонентов, которые естественно сопровождают такие молекулы. Как правило, Ат или белок очищен, когда он по меньшей мере на около 10% (например, 9%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99,9% и 100%) по весу свободен от не-Ат белков или других природных органических молекул, с которыми он естественно связан. Чистота может быть измерена любым подходящим способом, например, колоночной хроматографией, электрофорезом в полиакриламидном геле

или ВЭЖХ анализом. Химически синтезированный белок или другой рекомбинантный белок, произведенный в другом типе клеток, чем тип клеток, в котором он природный, является «очищенным».

5 [00013] «Связывание», «связываться» или «реагировать с» означает, что одна молекула распознает и прилипает к специфической второй молекуле в образце, но существенно не распознает или не прилипает к другим молекулам в этом образце. В целом, Ат, которое «специфически связывается» с другой молекулой, имеет  $K_d$  большую, чем около  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$ ,  $10^{10}$ ,  $10^{11}$  или  $10^{12}$  л/моль для этой другой молекулы.

10 [00014] «Терапевтически эффективное количество» это количество, которое способно производить с медицинской точки зрения желаемый эффект у обработанного животного или человека (например, облегчение или предупреждение заболевания или симптома заболевания).

15 [00015] Хотя способы и материалы аналогичные или эквивалентные описанным в настоящем документе могут быть использованы на практике или испытании настоящего изобретения, подходящие способы и материалы описаны ниже. Все публикации упомянутые в настоящем документе включены с помощью ссылки во всей полноте. В случае конфликта настоящая спецификация, включая определения, будет руководством. Кроме того, специфические варианты осуществления обсуждаемые ниже являются

20 только иллюстративными и не предназначены для ограничения.

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00016] Изобретение охватывает композиции и способы для облегчения одного или нескольких симптомов опухолевой патологии у субъекта. Описанные ниже предпочтительные варианты осуществления иллюстрируют адаптацию этих композиций

25 и способов. Тем не менее, из описания этих вариантов осуществления другие аспекты данного изобретения могут быть сделаны и/или применены на практике на основе описания, предоставленного ниже.

#### Общая методология

30 [00017] Способы, включая общепринятые иммунологические и молекулярно-биологические методы, описаны в настоящем документе. Иммунологические способы (например, анализы для регистрации и локализации комплексов антиген-Ат, иммунопреципитации, иммуноблоттинга и тому подобное) в целом известны в данной области техники и описаны в методологических научных трудах, таких как Current Protocols in Immunology, Coligan et al., éd., John Wiley & Sons, New York. Методы

35 молекулярной биологии описаны подробно в научных трудах, таких как Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd éd., vol. 1-3, Sambrook et al., éd., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001; и Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., éd., Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York. Способы относительно Ат описаны в Handbook of Therapeutic Abs, Dubel, S., éd., Wiley-VCH, 2007. Общие способы консервативного лечения описаны в McPhee and Papadakis, Current Medical Diagnosis and

40 Treatment 2010, 49th Edition, McGraw-Hill Medical, 2010; и Fauci et al, Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th Edition, McGraw-Hill Professional, 2008.

#### Лечение опухолевого заболевания

45 [00018] Композиции и способы, описанные в настоящем документе, полезны для лечения опухолевого заболевания у субъекта-млекопитающего путем введения субъекту фармацевтической композиции, включая количество Ат к IL-1 $\alpha$ , эффективное для улучшения по меньшей мере одного признака опухолевого заболевания у субъекта. Субъект-млекопитающее может быть любым страдающим от опухолевого заболевания, включая людей, собак, кошек, лошадей, крупный рогатый скот, овец, коз и свиней.

Субъекты-люди могут быть лицами мужского пола, женского пола, взрослыми, детьми, пожилыми (65 и старше) и с другими заболеваниями. Особенно предпочтительными субъектами являются те, чье заболевание прогрессировало после лечения с химиотерапией, лучевой терапией, хирургической операцией и/или биологическими средствами. Любой тип опухолевого заболевания, восприимчивого к лечению АТ к IL-1 $\alpha$ , может быть сделан мишенью. Введение АТ к IL-1 $\alpha$  считается особенно эффективным для лечения колоректальных опухолей (например, колоректальных раков с мутацией KRAS), связанных с EVB неоплазм, таких как назофарингеальная карцинома или лимфома Беркитта, NSCLC или неоплазм клеток крови, таких как при болезни Кастельмана. Заболевание с опухолями, экспрессирующими IL-1 $\alpha$ , или опухолями, инфильтрованными IL-1 $\alpha$  воспалительными клетками, также может быть сделано мишенью. Специфическим улучшаемым признаком опухолевого заболевания может быть размер опухоли (например, T0, Tis, или T1-4), состояние метастазов (например, M0, M1), количество наблюдаемых опухолей, поражение узлов (например, N0, N1-4, Nx), класс (например, классы 1, 2, 3 или 4), стадия (например, 0, I, II, III или IV), наличие или концентрация определенных маркеров на клетках или в жидкостях организма (например, AFP, B2M, beta-HCG, BTA, CA 15-3, CA 27.29, CA 125, CA 72.4, CA 19-9, кальцитонин, СЕА, хромогранин А, EGFR, рецепторы гормонов, HER2, HCG, иммуноглобулины, NSE, NMP22, PSA, PAP, PSMA, S-100, TA-90, и тиреоглобулин) и/или связанные патологии (например, асцит и отеки) или симптомы (например, кахексия, лихорадка, анорексия или боли). Улучшение измеряемое в процентах может быть по меньшей мере 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, или 90% (например, объемные или линейные размеры опухоли).

Антитела и другие средства, направленные на IL-1 $\alpha$

[00019] Любой подходящий тип Ат или другого биологического средства (например, гибридный белок, включая IL-1 $\alpha$ -связывающий компонент, такой как рецептор к IL-1 $\alpha$ ), который специфически связывается с IL-1 $\alpha$  и снижает признак опухолевого заболевания у субъекта, может быть использован в данном изобретении. Например, использованное АТ к IL-1 $\alpha$  может быть мАт, поликлональным Ат, смесью мАт или фрагментом Ат или сконструированной Ат-подобной молекулой, такой как scFv. К<sub>а</sub> Ат составляет, предпочтительно, по меньшей мере  $1 \times 10^9$  М<sup>-1</sup> или более (например, более чем  $9 \times 10^{10}$  М<sup>-1</sup>,  $8 \times 10^{10}$  М<sup>-1</sup>,  $7 \times 10^{10}$  М<sup>-1</sup>,  $6 \times 10^{10}$  М<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^{10}$  М<sup>-1</sup>,  $4 \times 10^{10}$  М<sup>-1</sup>,  $3 \times 10^{10}$  М<sup>-1</sup>,  $2 \times 10^{10}$  М<sup>-1</sup> или  $1 \times 10^{10}$  М<sup>-1</sup>). В предпочтительном варианте осуществления данное изобретение использует полное человеческое мАт, которое включает (i) антиген-связывающую переменную область, которая проявляет очень высокое связывающее сродство (например, по меньшей мере, нано или пиколярное) к человеческому IL-1 $\alpha$ , и (ii) константную область. Человеческое Ат предпочтительно является IgG1, хотя оно может быть другого изотипа, такое как IgM, IgA, или IgE, или подкласса, такое как IgG2, IgG3, или IgG4. Одним из примеров особенно полезного мАт является МАВр1, IL-1 $\alpha$ -специфическое IgG1 мАт, описанное в патентной заявке США № 12/455458, поданной 1 июня 2009 года. Другими полезными мАт являются такие, которые включают по меньшей мере один, но предпочтительно, все CDR из МАВр1.

[00020] Поскольку В-лимфоциты, которые экспрессируют Ig, специфический для человеческого IL-1 $\alpha$ , встречаются в природе у людей, предпочтительным в настоящее время способом выращивания мАт является сначала выделение такого В-лимфоцита у субъекта и затем его иммортализация, так что он может продолжительно реплицироваться в культуре. Субъекты, не имеющие большого количества естественных

В-лимфоцитов, которые экспрессируют Ig, специфический для человеческого IL-1 $\alpha$ , могут быть иммунизированы одним или несколькими антигенами человеческого IL-1 $\alpha$  для повышения числа таких В-лимфоцитов. Человеческие мАТ подготавливают путем иммортализации человеческой клетки, секретирующей Ат (например, человеческой

5

клетки плазмы). См. патент США № 4634664.

[00021] В примерном способе одного или нескольких (например, 5, 10, 25, 50, 100, 1000 или более) человеческих субъектов отбирают на присутствие такого человеческого IL-1 $\alpha$ -специфического Ат в их крови. Субъекты, которые экспрессируют желаемое Ат, могут затем быть использованы в качестве доноров В-лимфоцитов. В одном возможном

10 способе периферическую кровь получают от человеческого донора, обладающего В-лимфоцитами, которые экспрессируют человеческое IL-1 $\alpha$ -специфическое Ат. Такие В-лимфоциты затем выделяют из образца крови, например, путем сортировки клеток (например, клеточная сортировка с активацией флуоресценции, "FACS"; или клеточная сортировка с магнитными шариками) для отбора В-лимфоцитов, экспрессирующих

15 человеческий IL-1 $\alpha$ -специфический Ig. Эти клетки затем могут быть иммортализованы путем вирусной трансформации (например, используя EBV) или путем гибридизации с другой иммортализованной клеткой, такой как человеческая миелома, согласно известным методам. В-лимфоциты в этой популяции, которые экспрессируют Ig, специфический для человеческого IL-1 $\alpha$ , могут затем быть выделены способами серийных

20 разведений (например, клетки в ячейках микротитровального планшета, которые являются положительными на Ig, специфический для человеческого IL-1 $\alpha$ , отбирают и субкультивируют и процесс повторяют до тех пор, пока желаемая клональная линия не сможет быть выделена). См., например, Goding, MAbs: Principles and Practice, pp. 59-103, Academic Press, 1986. Те клонированные клеточные линии, которые экспрессируют

25 Ig, имеющий по меньшей мере наномолярное или пикомолярное связывающее сродство к человеческому IL-1 $\alpha$ , являются предпочтительными. мАТ, секретируемые этими клональными клеточными линиями, могут быть очищены от среды культивирования или жидкости тела (например, асцита) общепринятыми процедурами очистки Ig, такими как солевое фракционирование, гель-фильтрация, ионообменное разделение и аффинная

30 хроматография.

[00022] Хотя иммортализованные В-лимфоциты могут быть использованы в культурах *in vitro* для непосредственного производства мАТ, в некоторых случаях может быть желательно применить гетерологичные системы экспрессии для производства мАТ. См., например, способы, описанные в патентной заявке США № 11/754899.

35

Например, гены, кодирующие мАТ, специфическое для человеческого IL-1 $\alpha$ , могут быть клонированы и введены в вектор экспрессии (например, вектор экспрессии на основе плазмиды) для экспрессии в гетерологичной клетке-хозяине (например, клетках CHO, клетках COS, клетках миеломы и клетках *E. coli*). Поскольку Ig включают тяжелую (H) и легкую (L) цепи в конфигурации H2L2, гены, кодирующие каждую из них, могут быть

40 отдельно выделены и экспрессированы в разных векторах.

[00023] Хотя в целом менее предпочтительны из-за большей вероятности того, что у субъекта разовьется ответ на Ат, химерные мАТ (например, «гуманизированные» мАТ), которые являются антиген-связывающими молекулами, имеющими различные участки, полученные из различных видов животных (например, варибельная область

45 мышинового Ig гибридизированная с константной областью человеческого Ig), могут быть использованы в данном изобретении. Такие химерные Ат могут быть получены способами, известными в данной области техники. См., например, Morrison et al, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 81:6851, 1984; Neuberger et al., Nature, 312:604, 1984; Takeda et al,

Nature, 314:452, 1984. Аналогично, Ат могут быть гуманизированы способами, известными в данной области техники. Например, мАт с желаемой связывающей специфичностью могут быть гуманизированы различными поставщиками или как описано в патентах США №№ 5693762, 5530101 или 5585089.

5 [00024] мАт, описанные в настоящем документе, могут быть с созревшей аффинностью для усиления или иного изменения их связывающей специфичности известными способами, такими как перестановка VH и VL доменов (Marks et al. Bio/ Technology 10:779-783, 1992), случайный мутагенез гипервариабельных областей (HVR) и/или структурных остатков (Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813, 1994; Schier et al. Gene 169:147-155, 1995; Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004, 1995; Jackson et al, J. Immunol. 154(7):3310-9, 1995; и Hawkins et al, J. Mol. Biol. 226:889-896, 1992).  
 10 Варианты аминокислотной последовательности Ат могут быть получены путем внесения соответствующих изменений в нуклеотидную последовательность, кодирующую Ат. Кроме того, модификации в последовательностях нуклеиновых кислот, кодирующих  
 15 мАт, могут быть изменены (например, без изменения аминокислотной последовательности мАт) для усиления производства мАт в определенных системах экспрессии (например, удаление интрона и/или оптимизация кодона для данной системы экспрессии). мАт, описанные в настоящем документе, также могут быть  
 20 модифицированы путем конъюгации с другим белком (например, другим мАт) или небелковой молекулой. Например, мАт может быть конъюгировано с водорастворимым полимером, таким как полиэтиленгликоль или углеродная нанотрубка (См., например, Kam et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605, 2005). См. заявку на патент США № 11/754899.

[00025] Предпочтительно, для обеспечения того, чтобы высокие титры человеческого  
 25 IL-1 $\alpha$ -специфического мАт можно было вводить субъекту с минимальными побочными эффектами, композиции мАт данного изобретения являются, по меньшей мере, на 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 99,9 и более процентов по весу чистыми (без учета вспомогательных веществ).  
 30 Композиции мАт данного изобретения могут включать только один тип мАт (т. е. производиться из одной клональной линии В-лимфоцитов) или могут включать смесь двух или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более) различных типов мАт.

[00026] Для модификации или усиления их функции человеческие IL-1 $\alpha$  мАт могут  
 35 быть конъюгированы с другой молекулой, такой как цитотоксин. Человеческое IL-1 $\alpha$ -специфическое мАт может быть конъюгировано с одним или несколькими цитотоксинами для более эффективного уничтожения клеток, экспрессирующих IL-1 $\alpha$ .  
 Цитотоксины для применения в данном изобретении могут быть любым цитотоксическим средством (например, молекулой, которая может уничтожать клетку  
 40 после контакта с клеткой), которое может быть конъюгировано с человеческим IL-1 $\alpha$ -специфическим мАт. Примеры цитотоксинов включают, без ограничения, радионуклиды (например, <sup>35</sup>S, <sup>14</sup>C, <sup>32</sup>P, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>90</sup>Y, <sup>89</sup>Zr, <sup>201</sup>Tl, <sup>186</sup>Re, <sup>188</sup>Re, <sup>57</sup>Cu, <sup>213</sup>Bi и <sup>211</sup>At), конъюгированные радионуклиды и химиотерапевтические средства. Дополнительные  
 45 примеры цитотоксинов включают, но не ограничиваясь, антиметаболиты (например, 5-фторурацил (5-FU), метотрексат (MTX), флударабин и т.д.), антимикротубулиновые средства (например, винкристин, винбластин, колхицин, таксаны (такие как паклитаксел и доцетаксел) и т.д.), алкилирующие средства (например, циклофосфамид, мелфалан, бисхлорэтилнитрозомочевина (BCNU) и др.), платиновые средства (например, цисплатин (также называемый сDDP), карбоплатин, оксалиплатин, JM-216, CI-973 и др.), антрациклины (например, доксорубин, даунорубин и др.), антибиотические средства

(например, митомицин-С), ингибиторы топоизомеразы (например, этопозид, тенопозид и камптотецины) или другие цитотоксические средства, такие как ризин, дифтерийный токсин (DT), экзотоксин *Pseudomonas* (PE) А, PE40, абрин, сапорин, вирусный белок лаконоса, бромид этидия, глюкокортикоиды, токсин сибирской язвы и другие. См.,  
5 например, патент США № 5932188.

[00027] Хотя IL-1 $\alpha$ -специфические Ат, описанные выше, являются предпочтительными для применения в данном изобретении, в некоторых случаях другие средства, которые специфически направлены на IL-1 $\alpha$ , могут быть использованы, пока их введение приводит к улучшению признаков опухолевого заболевания. Эти другие средства могут  
10 включать в себя небольшие органические молекулы, аптамеры, пептиды и белки, которые специфически связываются с IL-1 $\alpha$  (например, анакинра или рилонацепт).

#### Фармацевтические композиции и способы

[00028] Композиции Ат к IL-1 $\alpha$  могут вводиться животным или людям в фармацевтически приемлемых носителях (например, стерильный физиологический  
15 раствор), которые выбраны на основе режима и пути введения и стандартной фармацевтической практики. Список фармацевтически приемлемых носителей, а также фармацевтические составы, можно найти в Remington Pharmaceutical Sciences, в стандартном тексте в этой области, и в USP/NF. Другие вещества могут быть добавлены к композиции, и другие шаги могут быть предприняты для стабилизации и/или  
20 сохранения композиций и/или для содействия их введению субъекту.

[00029] Например, композиции Ат можно лиофилизировать (см. Draber et al, J. Immunol. Methods. 181:37, 1995; и PCT/US90/01383); растворять в растворе, включающем ионы натрия и хлора; растворять в растворе, включающем одно или несколько стабилизирующих средств, таких как альбумин, глюкоза, мальтоза, сахароза, сорбитол,  
25 полиэтиленгликоль и глицин; фильтровать (например, с использованием фильтра 0,45 и/или 0,2 микрона); связывать с бета-пропиолактоном; и/или растворять в растворе, включающем микробицид (например, детергент, органический растворитель и смесь детергентов и органических растворителей).

[00030] Композиции Ат можно вводить животным или людям любым подходящим  
30 методом. Как правило, такое введение будет парентеральным (например, внутривенное, подкожное, внутримышечное или внутрибрюшинное введение). Композиции могут также вводиться непосредственно в целевой сайт (например, внутрь опухоли), например, путем инъекции. Другие способы доставки, например, липосомальная доставка или диффузия из устройства, пропитанного композицией, известны в данной области техники.  
35 Композиция может вводиться одним болюсом, многократными инъекциями или непрерывной инфузией (например, внутривенно, или посредством перитонеального диализа).

[00031] Терапевтически эффективное количество является количеством, которое способно производить с медицинской точки зрения желаемый результат у обработанного  
40 животного или человека. Эффективное количество композиций Ат к IL-1 $\alpha$  является количеством, которое показывает клиническую эффективность у пациентов, как измерено по улучшению одного или нескольких признаков опухолевого заболевания, описанных выше. Как хорошо известно в области медицины, дозировка для любого животного или человека зависит от множества факторов, включая размер субъекта,  
45 площадь поверхности тела, возраст, специфическую вводимую композицию, пол, время и путь введения, общее состояние здоровья и другие лекарственные препараты, вводимые одновременно. Предпочтительны дозы в диапазоне от около 0,2 до 20 (например, 0,15, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 50 или 100) мг/кг массы тела. Доза

может даваться повторно, например, ежечасно, ежедневно, два раза в неделю, еженедельно, раз в две недели, раз в три недели или ежемесячно.

#### ПРИМЕРЫ

Пример 1 - Xilonix™

5 [00032] Xilonix™ является стерильным инъекционным жидким составом из 15 мг/мл МАВp1 в стабилизирующем изотоническом буфере (рН 6,4). Каждый сывороточный флакон объемом 10 мл из боросиликатного стекла Типа 1 содержит 5 мл состава и герметизирован бутилкаучуковой пробкой Daikyo Flurotec толщиной 20 мм и алюминевым колпачком. Продукт хранится при 5±3°C с допускаемыми отклонениями  
10 до комнатной температуры. Точная композиция лекарственного продукта показана ниже:

Компоненты	Качество	Изготовитель	Концентрация
15 МАВp1 Ат	GMP	XBiotech	15 мг/мл
натрия фосфат двузамещенный	фармакопейное	JT Baker	12 мг/мл
моногидрат лимонной кислоты	фармакопейное	JT Baker	2 мг/мл
20 Трегалоза.2Н <sub>2</sub> О (высоко очищенная, с низкой эндотоксичностью)	фармакопейное	Ferro-Pfanstiehl	60 мг/мл
полисорбат 80	фармакопейное	JT Baker	0,2 мг/мл
Фосфорная кислота, для регулирования рН	фармакопейное	JT Baker	0,04 мг/мл
25 вода для инъекции	фармакопейное	Microbix	q.s.

Способ введения:

[00033] Рассчитанный объем изымают из содержащего лекарственный препарат (мАт) флакона(ов) с помощью подходящего шприца. Затем лекарственный препарат  
30 впрыскивают в пакет для внутривенного вливания малого размера, содержащий 100 мл физиологического раствора (0,9% NaCl) и смешивают перемешиванием. Растворенный лекарственный продукт может храниться при комнатной температуре в течение 3 часов до введения и вводится инфузией в течение 1-часового периода с контролем субъекта на наличие признаков реакции на инфузию. Инфузия прогоняется  
35 с минимум 30 мл физиологического раствора для доставки любого продукта, который может задержаться в инфузионном наборе.

Пример 2 – Лечение колоректального рака с помощью IL-1α-специфического мАТ (Xilonix™).

[00034] Человеческий субъект был 63-летней женщиной с диагнозом метастатического колоректального рака (положительного на мутацию KRAS). До лечения с Xilonix™  
40 субъект подвергся правосторонней гемиколектомии и, как сообщается, была стадия Т3N1MХ. После этого она получала адъювантную химиотерапию с FOLFOX в общей сложности 12 циклов в течение около шести месяцев. ПЭТ-КТ сканирование, выполненное около двух месяцев после завершения FOLFOX, обнаружило массу в ее тазу. Субъект был госпитализирован в тот момент для размещения мочеточникового  
45 стента в связи с обструктивным гидронефрозом, видимо из-за опухоли. Она начала FOLFIRI и Авастин вскоре после этого и получила 8 циклов лечения. Затем субъект подвергся повторной постановке ПЭТ-КТ сканирования, которое подтвердило заболевание в тазу и также обнаружило небольшие легочные узелки в соответствии с

метастатическим заболеванием. КТ грудной клетки, живота и таза обнаружило 12 см тазовую массу, 2 см сальниковую массу и гидронефроз на правой стороне со связанным мочеточниковым стентом. Она получила 2 дополнительных цикла FOLFIRI и Авастина. Последующая ПЭТ-КТ показала прогрессирование двусторонних легочных узелков. Затем субъект начал терапию иринотеканом и Erbitux® (цетуксимаб). Сопутствующее ПЭТ-КТ сканирование показало прогрессирование заболевания в легких.

[00035] Субъект был принят на фазу 1 испытания Doxil® (липосомальный доксорубин), Velcade® (бортезомиб) и Gemzar® (гемцитабин), но, к сожалению, первое повторное определение стадии свидетельствовало о прогрессировании заболевания.

Она также завершила другую фазу 1 испытания оксалиплатина в комбинации с азациитидинеоном и завершила 2 цикла до прогрессирования заболевания. По окончании ее участия в этой последней фазе 1 клинического испытания, субъект был зачислен в текущее клиническое испытание.

[00036] Она была зачислена в первую когорту дозирования (0,25 мг/мл) и завершила 5 циклов по 21 дню по протоколу, таким образом, получая в общей сложности пять инфузий МАВр1 (0,25 мг/кг), каждые 21 день. Доза субъекта была увеличена до 0,75 мг/кг в день 1 цикла 6. Начальное ПЭТ КТ сканирование обнаружило около 17% сокращения суммы диаметров опухолей пациента, которые отслеживались. После дополнительных доз МАВр1 наблюдалось более чем 30%-ное сокращение суммы диаметров отслеженных опухолей пациента. КТ грудной клетки показала, что паратрахеальный лимфатический узел, который ранее измерялся как 3,5 см, был сокращен до 2,9 см в конце цикла 6. Метастаза левого легкого уменьшилась с 2,2 см до 1,9 см, а имплантат из левой прямой мышцы уменьшился с 3,2 см до 2,7 см. Опухолевый маркер СЕА, исходно составлявший 81, уменьшился до 69,2 в конце цикла 3, и составил 27,9 на день 1 цикла 7. Этот пациент продолжал лечение более 71 недели, и заболевание оставалось стабильным.

Пример 3 – Лечение назофарингеальной карциномы с помощью ПЛ-1α-специфического мАТ (Xilonix™).

[00037] Субъект был 47-летним китайским мужчиной с EBV+ (вирус Эпштейна-Барр) назофарингеальной карциномой гистологического подтипа лимфоэпителиома (старая терминология) или некератинизирующая карцинома. Данный субъект ранее получал лечение цисплатином, 5-FU, лучевую терапию, Taxotere® (доцетаксел), Gemzar® (гемцитабин), Xeloda® (капецитабин), адоптивный EBV-направленный перенос Т-клеток и Сумеვენе® (генцикловир) в комбинации с Gemzar® (гемцитабин). До начала терапии пациент имел слабость, лихорадку и потливость и получал частый терапевтический парацентез против асцита.

[00038] Субъект начал лечение с МАВр1 в день 0 с 1,25 мг/кг внутривенно каждые две недели. В дни 3 и 4 было отмечено заметное уменьшение у субъекта слабости, лихорадки и потливости. Асцит также рассосался. Сканы абдоминальной КТ брюшной полости показали сокращение размера метастатической опухоли печени от 50,4 мм в день 1 до 35,8 мм в день 36 (почти 30%) из одной из масс. Несколько других поражений печени уменьшились в размерах, и костные поражения оказались стабильными.

Пример 4 – Лечение синдрома Кастельмана с помощью ПЛ-1α-специфического мАТ (Xilonix™).

[00039] Субъект был 55-летней женщиной, страдающей от болезни Кастельмана (вариант, известный как синдром ROEMS). Ее симптомы включали усталость, отеки и невралгию. Предшествующее лечение с Rituxan® (ритуксимаб) и исследовательская терапия к ПЛ-6 не удалась. Субъекту вводили в общей сложности четыре инфузии МАВр1

(0,75 мг/кг) каждые 21 день. Доза субъекта была увеличена до 1,25 мг/кг в следующем цикле.

[00040] Этот субъект имел стабильное заболевание в продолжение 2 повторных определений стадии и лечился в течение 4 месяцев. В течение примерно 2 недель после каждой инъекции ее симптомы усталости, отеков и невралгии значительно улучшались, а затем постепенно возвращались до следующей инъекции. Ее RECIST критерии определения стадии показали 2% увеличения размера лимфатических узлов от исходного при первом повторном определении стадии, и 4% увеличения размера лимфатических узлов от исходного при втором повторном определении стадии.

[00041] После завершения 7 циклов субъект отозвал согласие на терапию для того, чтобы попробовать другое экспериментальное лечение. После нахождения вне исследования в течение 8 недель врач субъекта попросил, чтобы ей разрешили возобновить терапию с МАВр1 в связи с "быстрым прогрессированием болезни". С момента возобновления лечения болезнь субъекта является стабильной, и она оставалась на исследовании более 58 недель.

Пример 5 – Лечение NSCLC с помощью IL-1 $\alpha$ -специфического мАТ (Xilonix™).

[00042] Субъект был 84-летней женщиной с историей метастатического мелкоклеточного рака легких, диагностированного путем тонкоигольной аспирации. Через три месяца после постановки диагноза субъект начал лечение Tarceva® (эрлотиниб) в течение 8 месяцев, на момент которых было отмечено прогрессирование заболевания. Этот субъект был затем обработан 11 циклами Alimta® (перметрексед) более 8 месяцев, после чего лечение было прекращено в связи с развитием почечной недостаточности неопределенной этиологии. Шесть месяцев спустя было отмечено прогрессирующее заболевание и пациент был вновь обработан Tarceva® (эрлотиниб) в течение 3 месяцев. В этот момент ее КТ сканирование показало дополнительно прогрессирующее заболевание в легких с увеличением размера массы в правой верхней доле, легочными узелками в соответствии с метастазами и увеличением внутригрудных лимфатических узлов.

[00043] Затем субъект был зачислен в испытание с использованием Xilonix™. МАВр1 (3,75 мг/кг) вводили внутривенно каждые 21 день в течение 9 циклов. После лечения была отмечена стабилизация заболевания в течение примерно 30 недель и в самое последнее определение стадии поражение правого легкого выглядело кавитирующим.

[00044] Пример 6 – Лечение мелкоклеточного рака легких с помощью IL-1 $\alpha$ -специфического мАТ (Xilonix™).

[00045] Субъект был 52-летней женщиной с диагнозом KRAS-положительного мелкоклеточного (аденокарциномы) рака легких в день 0. ПЭТ/КТ сканирование с 14-го дня обнаружило 4 x 3,5 см массу в левой верхней доле, с поражением метастазами в легких, внутригрудных лимфатических узлах, правых паховых узлах, правом надпочечнике, 4-м правом ребре и крестцово-подвздошном сочленении. Субъект начал лечение с карбоплатином, паклитакселом и бевацизумабом через несколько недель после сканирования. Субъект имел хороший первоначальный ответ и завершил пять циклов до прогрессирования на около 5 месяце с момента первого лечения. В течение следующих шести месяцев субъект был обработан 3 циклами доцетаксела и одним циклом карбоплатина плюс пеметрексед. Несмотря на эту терапию, она продолжала прогрессировать.

[00046] Субъект впоследствии начал лечение с МАВр1. Всего через 4 дня субъект начал испытывать ухудшение ее головных болей. Они были первоначально приписаны синуситу, но МРТ обнаружило метастазы мозга. Исследователь считает, что они,

вероятно, были представлены до начала терапии, однако, субъект сошел с исследования после всего одной дозы МАВр1 для получения гамма-нож лучевой терапии. Субъект наблюдался в последующие двадцать дней после первой дозы МАВр1, и сообщил о субъективном улучшении симптомов с уменьшением боли в груди. В связи с этим  
5 исследователь проверил рентген грудной клетки, который показал "очевидное уменьшение размера поражения ее легких" после всего лишь одной дозы. Отказ был выдан, и субъект возобновил терапию. Через сорок шесть дней после начальной дозы МАВр1 субъект прошел повторное определение стадии и имел 6% уменьшение суммарного диаметра поражений, как было градуировано по критериям RECIST.

10 Другие варианты осуществления.

[00047] Следует понимать, что хотя данное изобретение было описано в связи с его подробным описанием, приведенное выше описание предназначено для иллюстрации и не ограничивает объем данного изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации  
15 находятся в пределах объема следующей формулы изобретения.

#### (57) Формула изобретения

1. Способ стабилизации прогрессирующего неопластического заболевания у пациента-человека, имеющего неопластическое заболевание на стадии,  
20 прогрессирующей после лечения посредством химиотерапии, лучевой терапии или биологическими средствами, где указанный способ включает стадию повторяемого введения субъекту фармацевтической композиции, включающей фармацевтически приемлемый носитель и антитело к IL-1 $\alpha$ , по меньшей мере до тех пор, пока прогрессирующее заболевание не стабилизируется.
- 25 2. Способ по п. 1, где прогрессирующее неопластическое заболевание у пациента-человека является метастатическим раком, и стадия повторяемого введения указанной фармацевтической композиции приводит к снижению опухолевой нагрузки у пациента.
3. Способ по п. 2, где рак представляет собой метастатический колоректальный рак.
4. Способ по п. 2, где рак представляет собой метастатический немелкоклеточный  
30 рак легких.
5. Способ по п. 2, где прогрессирующее неопластическое заболевание представляет собой метастатическую назофарингеальную карциному.
6. Способ по п. 5, где пациент имеет по меньшей мере один симптом, выбранный из группы, состоящей из слабости, лихорадки, потливости и асцита, и стадия повторяемого  
35 введения указанной фармацевтической композиции приводит к уменьшению указанного по меньшей мере одного симптома.
7. Способ по п. 1, где прогрессирующее неопластическое заболевание представляет собой болезнь Кастельмана.

40

45