

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202091514** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2020.09.15**

(22) Дата подачи заявки  
**2018.12.18**

(51) Int. Cl. *A61K 31/282* (2006.01)  
*A61K 31/519* (2006.01)  
*A61K 31/513* (2006.01)  
*A61K 39/395* (2006.01)  
*A61K 31/436* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

---

(54) **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ  
КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ НАНОЧАСТИЦАМИ С ИНГИБИТОРОМ mTOR**

---

(31) **62/607,798**

(32) **2017.12.19**

(33) **US**

(86) **PCT/US2018/066309**

(87) **WO 2019/126223 2019.06.27**

(71) Заявитель:

**АБРАКСИС БАЙОСАЙЕНС, ЭлЭлСи  
(US)**

(72) Изобретатель:

**Десай Нил П. (US)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) В настоящей заявке предложены способы лечения рака толстой кишки (такого как распространенный и/или метастатический рак толстой кишки) у индивидуума, включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например сиролимус или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба) и с) терапевтически эффективного режима FOLFOX (например, FOLFOX4 или модифицированный FOLFOX6).

**A1**

**202091514**

**202091514**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420- 563388EA/022

### СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ НАНОЧАСТИЦАМИ С ИНГИБИТОРОМ MTOR

#### ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается преимущество приоритета по предварительной заявке на патент США № 62/607798, поданной 19 декабря 2017 года, описание которой включено в настоящий документ посредством ссылки во всей ее полноте.

#### ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Данное изобретение относится к способам и композициям для лечения рака толстой кишки путем введения композиций, содержащих наночастицы, содержащих ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин, в комбинации с анти-VEGF антителом и режимом FOLFOX.

#### ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Рак толстой кишки (колоректальный рак, CRC) является серьезной проблемой здравоохранения во всем мире из-за его высокой распространенности и смертности. В развитых странах он является третьей по распространенности злокачественной опухолью и второй по распространенности причиной смерти от рака. Хотя успехи в лечении CRC оказали значительное влияние на его ведение, многие пациенты с запущенным заболеванием в конечном итоге умрут в результате рака.

[0004] Мишень рапамицина в клетках млекопитающих (mTOR) представляет собой консервативную серин/треонинкиназу, которая служит центральным центром передачи сигналов в клетке для интеграции внутриклеточных и внеклеточных сигналов и для регуляции клеточного роста и гомеостаза. Активация пути mTOR связана с пролиферацией и выживанием клеток, в то время как ингибирование передачи сигналов mTOR приводит к воспалению и гибели клеток. Нарушение регуляции сигнального пути mTOR вовлечено во все большее число заболеваний человека, включая рак и аутоиммунные нарушения. Вследствие этого ингибиторы mTOR нашли широкое применение при лечении различных патологических состояний, таких как рак, трансплантация органов, респираторный дистресс-синдром и ревматоидный артрит.

[0005] Сиролимус, известный также как рапамицин, представляет собой иммунодепрессант, используемый для предотвращения отторжения при трансплантации органов; он является особенно используемым при пересадке почек. Сиролимус-элюирующие стенты были одобрены в США для лечения коронарного респираторного дистресс-синдром. Кроме того, сиролимус был продемонстрирован как эффективный ингибитор роста опухоли на различных клеточных линиях и на животных моделях. Другие лекарственные препараты, такие как аналоги сиролимуса, были разработаны для улучшения фармакокинетических и фармакодинамических свойств сиролимуса. Например, темсиролимус был одобрен в

США и Европе для лечения почечно-клеточного рака. Эверолимус был одобрен в США для лечения распространенного рака молочной железы, нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы, прогрессирующего почечно-клеточного рака и субэпендимальной гигантоклеточной астроцитомы (SEGA), ассоциированной с туберозным склерозом. Способ действия сиролимуса заключается в связывании цитозольного белка FK-связывающего белка 12 (FKBP12), а комплекс сиролимус-FKBP12, в свою очередь, ингибирует путь mTOR, напрямую связываясь с комплексом mTOR 1 (mTORC1).

**[0006]** Композиции наночастиц на основе альбумина были разработаны в качестве системы доставки лекарственных средств для доставки практически нерастворимых в воде лекарственных средств. См., например, патенты США №№ 5916596; 6506405; 6749868 и 6537579, 7820788 и 7923536. Abraxane®, стабилизированный альбумином препарат наночастиц паклитаксела, был одобрен в Соединенных Штатах в 2005 году, а затем в различных других странах для лечения метастатического рака молочной железы, немелкоклеточного рака легкого и рака поджелудочной железы.

**[0007]** Описание всех публикаций, патентов, патентных заявок и опубликованных патентных заявок, упомянутых в настоящем документе, включены в настоящий документ посредством ссылки во всей их полноте.

### **СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

**[0008]** В настоящей заявке предложены способы лечения рака толстой кишки (такого как распространенный и/или метастатический рак толстой кишки) у индивидуума, включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба) и с) терапевтически эффективного режима FOLFOX (например, FOLFOX4 или модифицированного FOLFOX6).

**[0009]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела, с) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки включает aberrацию активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает aberrацию PTEN. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR, кроме того, включает aberrацию KRAS. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR, кроме того, включает вторую aberrацию, где вторая aberrация не является aberrацией PTEN или KRAS. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR представляет собой препарат лимус. В некоторых вариантах осуществления изобретения препарат лимус представляет собой рапамицин.

**[0010]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, анти-VEGF антитело представляет собой бевацизумаб.

**[0011]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 75 мг/м<sup>2</sup> до около 100 мг/м<sup>2</sup>.

**[0012]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, один раз каждые 2 недели или один раз каждые 3 недели.

**[0013]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится 2 раза каждые 3 недели.

**[0014]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится 3 раза каждые 4 недели.

**[0015]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, средний диаметр наночастиц в композиции составляет не более чем около 200 нм.

**[0016]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, массовое отношение альбумина к ингибитору mTOR в композиции наночастиц составляет не более чем около 9:1.

**[0017]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, наночастицы содержат ингибитор mTOR, связанный с альбумином. В некоторых вариантах осуществления изобретения наночастицы содержат ингибитор mTOR, покрытый альбумином.

**[0018]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно, внутривезикулярно, подкожно, интратекально, внутриплевральным, внутримышечно, интратрахеально, интраокулярно, трансдермально, перорально или путем ингаляции. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно.

**[0019]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, количество анти-VEGF антитела составляет от около 1 мг/кг до около 20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 1 мг/кг до около 5 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 10 мг/кг до около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 15 мг/кг до около 20 мг/кг.

**[0020]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, анти-VEGF антитело вводится внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно, внутривезикулярно, подкожно, интратекально, внутрипульмонально, внутримышечно, интратрахеально, интраокулярно, трансдермально, перорально или путем ингаляции. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет около 10 мг/кг, и где анти-VEGF антитело вводится один раз каждые две недели.

**[0021]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели.

**[0022]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4, FOLFOX6, модифицированный FOLFOX4 или модифицированный режим FOLFOX6. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4, и анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой модифицированный FOLFOX6, и анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг.

**[0023]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно.

**[0024]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно.

**[0025]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.

**[0026]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.

**[0027]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.

**[0028]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.

**[0029]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, индивидуумом является человек.

**[0030]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения на основании присутствия по меньшей мере одной аберрации активации mTOR или статуса MSI. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в гене, связанным с mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR имеется по меньшей мере в одном mTOR-ассоциированном гене, выбранном из группы, состоящей из AKT1, FLT-3, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, TP53, FGFR4, VAP1, KRAS, NRAS и PTEN. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR имеется в PTEN.

**[0031]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, способ дополнительно включает оценку аберрации активации mTOR у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR оценивается секвенированием генов или иммуногистохимией.

**[0032]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения на основе по меньшей мере одного биомаркера, указывающего на благоприятный ответ на лечение анти-VEGF антителом.

**[0033]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения на основе по меньшей мере одного биомаркера, указывающего на благоприятный ответ на лечение FOLFOX.

**[0034]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, рак толстой кишки является прогрессирующим, злокачественным и/или метастатическим раком.

**[0035]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, рак толстой кишки является раком I, II, III или IV стадии.

**[0036]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, рак толстой кишки характеризуется геномной нестабильностью. В некоторых вариантах осуществления изобретения геномная нестабильность включает микросателлитную нестабильность (MSI), нестабильность генома (CIN) и/или фенотип CpG-островного метилатора (CIMP).

**[0037]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, рак толстой кишки характеризуется альтерацией пути, где альтерация пути включает инактивацию генов PTEN, TP53, BRAF, PI3CA или APC, активацию KRAS, TGF- $\beta$ , CTNNB, эпителиально-мезенхимального перехода (EMT) или передачи сигналов WNT, и/или амплификацию MYC.

**[0038]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, рак толстой кишки классифицируется в системе подтипов рака толстой кишки (CCS) как CCS1, CCS2 или CCS3.

**[0039]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, рак толстой кишки классифицируется по определению колоректального рака (система CRCA) как стволоподобный, бокаловидный, воспалительный, транзитный амплифицирующий или энтероцитарный подтип.

**[0040]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, индивидуум ранее проходил лечение химиотерапией, лучевой терапией или хирургией.

**[0041]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, индивидуум ранее не получал лечения.

**[0042]** В некоторых вариантах осуществления изобретения согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, способ используется в качестве адьювантной терапии.

## **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

**[0043]** В настоящей заявке предложены способы комбинированной терапии для лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (например, препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин, в сочетании с эффективным количеством анти-VEGF антитела и терапевтически эффективным режимом FOLFOX.

### **Определения**

**[0044]** Как используется в настоящем документе, «nab»® обозначает наночастицы, связанные с альбумином, и «nab-сиролимус» представляет собой стабилизированный альбумином препарат наночастиц сиролимуса. Nab-сиролимус также известен как nab-рапамицин, который был описан ранее. См., например, WO2008109163A1, WO2014151853, WO2008137148A2 и WO2012149451A1, каждый из которых полностью включен в настоящее описание посредством ссылки.

**[0045]** Как используется в настоящем документе, термин «лечение» или «излечение» представляет собой подход для получения полезных или желаемых результатов, включая клинические результаты. Для целей данного изобретения полезные или желательные клинические результаты включают, но не ограничиваются ими, один или несколько из следующих: ослабление одного или нескольких симптомов, возникающих в результате заболевания, уменьшение степени заболевания, стабилизация заболевания (например, предотвращение или задержка ухудшения заболевания), предотвращение или задержка распространения (например, метастазирования) заболевания, предотвращение или отсрочка рецидива заболевания, уменьшение частоты рецидивов заболевания, задержка или замедление прогрессирования заболевания, улучшение болезненного состояния, обеспечивающее ремиссию (частичную или полную) заболевания, уменьшение дозы одного или нескольких других лекарственных средств, необходимых для лечения заболевания, задержку прогрессирования заболевания, повышение качества жизни и/или продление выживаемости. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает тяжесть одного или нескольких симптомов, связанных с раком, по меньшей мере, примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 100% по сравнению с соответствующим симптомом у того же субъекта до лечения или по сравнению с соответствующим симптомом у других субъектов, не получавших лечение. Под «лечением» также понимается уменьшение патологических последствий рака. Способы по изобретению предусматривают любой один или несколько из этих аспектов лечения.

**[0046]** Термины «повторное проявление», «рецидив» или «рецидивирующий» относятся к возвращению рака или заболевания после клинической оценки исчезновения заболевания. Диагноз отдаленного метастазирования или местного рецидива можно считать рецидивом.

**[0047]** Термин «трудно поддающийся лечению» или «резистентный» относится к раку или заболеванию, которое не восприимчиво к лечению.

**[0048]** Как используется в настоящем документе, индивидуумом «группы риска» является индивидуум, который подвержен риску развития рака. Индивидуум «в группе риска» может иметь или не иметь обнаруживаемое заболевание, и может иметь или не иметь обнаруживаемое заболевание до описанных в настоящем документе способов лечения. «В группе риска» означает, что индивидуум имеет один или несколько так называемых факторов риска, которые являются измеримыми параметрами, коррелирующие с развитием рака, описанного в настоящем документе. Индивидуум, имеющий один или несколько из этих факторов риска, имеет более высокую вероятность развития рака, чем индивидуум без этих факторов риска.

**[0049]** «Адьювантная обстановка» относится к клинической обстановке, когда у индивидуума был рак, и, как правило (но не обязательно), он реагировал на терапию, которая включает, но не ограничивается, хирургическое вмешательство (например, хирургическая резекция), лучевую терапию и химиотерапию. Тем не менее, ввиду

наличия рака в анамнезе, эти люди считаются подверженными риску развития заболевания. Лечение или наблюдение в «адьювантной обстановке» относится к последующему режиму лечения. Степень риска (например, когда индивидуум в адьювантной обстановке рассматривается как «с высоким риском», так и «с низким риском») зависит от нескольких факторов, чаще всего от степени заболевания при первом лечении.

**[0050]** «Неоадьювантная обстановка» относится к условиям клиники, в которых способ проводится перед первичной/окончательной терапией.

**[0051]** Как используется в настоящем документе, «задержка» развития рака означает отсрочку, препятствование, замедление, сдерживание, стабилизацию и/или отдаление развития заболевания. Эта задержка может иметь различную продолжительность, в зависимости от анамнеза болезни и/или от индивидуума, которого лечат. Как очевидно для специалиста в данной области, достаточная или значительная задержка может, по сути, включать профилактику, поскольку у индивидуума не развивается заболевание. Способом, который «задерживает» развитие рака, является способ, который уменьшает вероятность развития заболевания в заданный период времени и/или уменьшает степень заболевания в данный период времени по сравнению с неиспользованием способа. Такие сравнения обычно основаны на клинических исследованиях с использованием статистически значимого числа субъектов. Развитие рака можно обнаружить с помощью стандартных методов, включая, но не ограничиваясь этим, компьютерную аксиальную томографию (САТ-сканирование), магнитно-резонансную томографию (МРТ), ультразвук, тесты на свертываемость, ангиографию, биопсию, цитологию мочи и цистоскопию. Развитие может также относиться к прогрессированию рака, которое может быть первоначально не обнаруживаемым и включает возникновение, рецидив и начало.

**[0052]** Термин «эффективное количество», используемый в настоящем документе, относится к количеству соединения или композиции, достаточному для лечения определенного расстройства, состояния или заболевания, например, для улучшения, смягчения, уменьшения и/или задержки одного или нескольких из его симптомов. Что касается злокачественного новообразования, то эффективное количество включает количество, достаточное для того, чтобы заставить опухоль сокращаться и/или уменьшить скорость роста (например, для подавления роста опухоли) или для предотвращения или задержки пролиферации других нежелательных клеток при раке. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективное количество представляет собой количество, достаточное для задержки развития рака. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективное количество представляет собой количество, достаточное для задержки развития рака. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективное количество представляет собой количество, достаточное для снижения частоты рецидивов у индивидуума. Эффективное количество может быть введено одним или несколькими введениями. Эффективное количество лекарства или композиции может: (i) уменьшить

количество раковых клеток; (ii) уменьшить размер опухоли; (iii) ингибировать, задерживать, замедлять до некоторой степени и, предпочтительно, останавливать инфильтрацию раковых клеток в периферические органы; (iv) ингибировать (то есть замедлять до некоторой степени и, предпочтительно, останавливать) метастазирование опухоли; (v) ингибировать рост опухоли; (vi) предотвращать или задерживать возникновение и/или рецидив опухоли; (vii) уменьшить частоту рецидивов опухоли и/или (viii) ослабить до некоторой степени один или несколько симптомов, связанных с раком.

**[0053]** Как ясно из уровня техники, «эффективное количество» может быть представлено одной или несколькими дозами, то есть для достижения желаемой конечной точки лечения может потребоваться однократное или многократное дозирование. Эффективное количество может рассматриваться в контексте введения одного или нескольких терапевтических агентов, и композиция наночастиц (например, композиция, содержащая сиролimus и альбумин) может считаться введенной в эффективном количестве, если в сочетании с одним или несколькими другими агентами может проявиться или может быть достигнут желаемый или полезный результат. Компоненты (например, первая линия и вторая линия терапии) в комбинированной терапии по изобретению могут вводиться последовательно, одновременно или параллельно с использованием одного и того же или разных путей введения для каждого компонента. Таким образом, эффективное количество в комбинированной терапии включает в себя количество первой линии терапии и количество второй линии терапии, которые при последовательном, одновременном или параллельном введении дают желаемый результат.

**[0054]** «В сочетании с» или «в комбинации с» относится к проведению одного способа лечения в дополнение к другому способу лечения, такого как введение композиции наночастиц, описанной в настоящем документе, в дополнение к введению другого агента тому же индивидууму по тому же плану лечения. Таким образом, «в сочетании с» или «в комбинации с» относится к проведению одного способа лечения до, во время или после предоставления индивидууму другого способа лечения.

**[0055]** Термин «одновременное введение», как используется в настоящем документе означает, что первую линию терапии и вторую линию терапии в комбинированной терапии проводят с временным интервалом не более около 15 минут, например, не более около 10 минут, 5 или 1 минуты. Когда первую линию терапии и вторую линию терапии проводят одновременно, первая и вторая линии терапии могут быть включены в одну и ту же композицию (например, композиции, включающей как первую, так и вторую линии терапии), либо в отдельных композициях (например, первая линия терапии включена в одну композицию, а вторая линия терапии включена в другую композицию).

**[0056]** Как используется в настоящем документе, термин «последовательное введение» означает, что первую линию терапии и вторую линию терапии в комбинированной терапии проводят с временным интервалом более чем около 15 минут, например, более чем около 20, 30, 40, 50, 60 или более минут. Первыми могут быть

введены либо первая линия терапии, либо вторая линия терапии. Первая и вторая линии терапии включены в отдельные композиции, которые могут содержаться в одной или разных упаковках или наборах.

**[0057]** Как используется в настоящем документе, термин «параллельное введение» означает, что проведение первой линии терапии и второй линии терапии в комбинированной терапии накладываются друг на друга.

**[0058]** Как используется в настоящем документе, термин «специфический», «специфичность» или «селективный» или «селективность», используемый при описании соединения в качестве ингибитора, означает, что соединение предпочтительно взаимодействует (например, связывается, модулирует и ингибирует) с конкретной мишенью (например, с белком и ферментом), а не с мишенью. Например, соединение имеет более высокую аффинность, более высокую avidность, более высокий коэффициент связывания или более низкий коэффициент диссоциации для конкретной мишени. Специфичность или селективность соединения для конкретной мишени можно быть измерена, определена или оценена с использованием различных методов, хорошо известных в данной области. Например, специфичность или селективность можно измерить, определить или оценить путем определения  $IC_{50}$  соединения для мишени. Соединение является специфичным или селективным для мишени, когда  $IC_{50}$  соединения для мишени является 2-кратным, 4-кратным, 6-кратным, 8-кратным, 10-кратным, 20-кратным, 50-кратным, 100-кратным, 500-кратным, 1000-кратным или больше по сравнению с  $IC_{50}$  того же соединения для не мишени.  $IC_{50}$  можно определить общеизвестными в данной области способами.

**[0059]** Как используется в настоящем документе, термин «фармацевтически приемлемый» или «фармакологически совместимый» означает вещество, которое не является биологически или иным образом нежелательным, например, вещество может быть включено в фармацевтическую композицию, вводимую пациенту, не вызывая каких-либо значительных нежелательных биологических эффектов или не взаимодействуя с вредными последствиями с любым другим компонентом композиции, в которой оно содержится. Фармацевтически приемлемые носители или эксципиенты, предпочтительно, соответствуют требуемым стандартам токсикологических и производственных испытаний и/или включены в Руководство по неактивным ингредиентам, подготовленное Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США.

**[0060]** Понятно, что варианты осуществления изобретения, описанные в данном документе, включают варианты «состоящий» и/или «состоящий по существу из».

**[0061]** Указание в настоящем документе значения или параметра как «около» включает (и описывает) варианты, которые относятся к этому значению или параметру как таковым. Например, описание, относящееся к «около X», включает в себя описание «X».

**[0062]** Как используется в настоящем документе, указание значения или параметра как «не» обычно означает и описывает значение или параметр «отличные от». Например,

способ не используется для лечения рака типа X означает, что способ используется для лечения рака иного, чем типа X.

**[0063]** Как используется в настоящем документе и в прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа включают формы множественного числа, если контекст явно не предписывает иное.

**[0064]** Как используется в настоящем документе, термины «колоректальный рак» и «рак толстой кишки» используются в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения любого злокачественного новообразования толстой кишки (включая прямую кишку).

**[0065]** Как используется в настоящем документе, термин «геномная нестабильность» определяется как включающий широкий класс нарушений в геномных нуклеотидных последовательностях. Такие нарушения включают в себя потерю гетерозиготности (обычно характеризующуюся массивной потерей хромосомной ДНК), нестабильность микросателлитов (обычно указывающая на дефекты в механизмах репарации ДНК) и мутации (которые включают вставки, делеции, замены, дубликации, перегруппировки или модификации).

#### **Способы лечения рака толстой кишки**

**[0066]** В настоящей заявке предложен ряд способов применения композиций наночастиц с ингибитором mTOR (например, рапамицином) и белком-носителем (например, альбумином) в комбинации с анти-VEGF антителом и режимом FOLFOX для лечения рака толстой кишки, такого как прогрессирующий рак толстой кишки, злокачественный рак толстой кишки, метастатический рак толстой кишки, рак толстой кишки I, II, III или IV стадии, рак толстой кишки, характеризующийся нестабильностью генома, рак толстой кишки, характеризующийся изменением пути, рак толстой кишки, классифицируемый по системе подтипов рака толстой кишки (CCS) как CCS1, CCS2 или CCS3, рак толстой кишки, классифицируемый по определению колоректального рака (система CRCA) как стволоподобный, бокаловидный, воспалительный, транзитный амплифицирующий или энтероцитарный подтип, рак толстой кишки, классифицируемый по системе молекулярного подтипа рака толстой кишки (CCMS) как подтип C1, C2, C3, C4, C5 или C6, рак толстой кишки, классифицируемый по системе внутреннего подтипа CRC (CRCIS) как подтип типа A, типа B или типа C, или рак толстой кишки, классифицируемый в соответствии с классификационной системой консорциума подтипов колоректального рака (CRCSC) как CMS1, CMS2, CMS3 или CMS4. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки имеет статус микросателлитной нестабильности (MSI) как MSI-высокий или MSI-низкий. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется мутацией в KRAS, NRAS и/или BRAF. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум ранее проходил лечение (например, химиотерапию, лучевую терапию, хирургию или иммуномодулирующую терапию). В некоторых вариантах осуществления изобретения

индивидуум не реагировал на предыдущее лечение (например, на химиотерапию, лучевую терапию, хирургию или иммуномодулирующую терапию).

**[0067]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0068]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой

кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX включает введение индивидууму оксалиплатина, лейковорина и 5-фторурацила (5-FU). В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0069]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с)

терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX включает i) введение оксалиплатина в количестве от около 50 мг/м<sup>2</sup> до около 200 мг/м<sup>2</sup>; ii) введение лейковорина в количестве от около 200 мг/м<sup>2</sup> до около 600 мг/м<sup>2</sup>; iii) введение 5-фторурацила (5-FU) в количестве от около 1200 мг/м<sup>2</sup> до около 3600 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0070]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX представляет собой

FOLFOX4. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0071]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX представляет собой FOLFOX6 или модифицированный FOLFOX6. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах

осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0072]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат препарат лимус (такой как рапамицин или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся

индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0073]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат препарат лимус (такой как рапамицин или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX включает введение индивидууму оксалиплатина, лейковорина и 5-фторурацила (5-FU). В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму

одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0074]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат препарат лимус (такой как рапамицин или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX включает i) введение оксалиплатина в количестве от около 50 мг/м<sup>2</sup> до около 200 мг/м<sup>2</sup>; ii) введение лейковорина в количестве от около 200 мг/м<sup>2</sup> до около 600 мг/м<sup>2</sup>; iii) введение 5-фторурацила (5-FU) в количестве от около 1200 мг/м<sup>2</sup> до около 3600 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму

одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0075]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат препарат лимус (такой как рапамицин или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах

осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0076]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат препарат лимус (такой как рапамицин или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX представляет собой FOLFOX6 или модифицированный FOLFOX6. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц

ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0077]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат сиролimus (то есть рапамицин) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3

недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0078]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат сиролimus (то есть рапамицин) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX включает введение индивидууму оксалиплатина, лейковорина и 5-фторурацила (5-FU). В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела

составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0079]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, где ингибитор mTOR представляет собой сиролимус (то есть рапамицин) или его производное, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX включает i) введение оксалиплатина в количестве от около 50 мг/м<sup>2</sup> до около 200 мг/м<sup>2</sup>; ii) введение лейковорина в количестве от около 200 мг/м<sup>2</sup> до около 600 мг/м<sup>2</sup>; iii) введение 5-фторурацила (5-FU) в количестве от около 1200 мг/м<sup>2</sup> до около 3600 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела

составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0080]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, где ингибитор mTOR представляет собой сиролимус (то есть рапамицин) или его производное, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело

вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0081]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, где ингибитор mTOR представляет собой сиролимус (то есть рапамицин) или его производное, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где режим FOLFOX представляет собой FOLFOX6 или модифицированный FOLFOX6. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом

является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0082]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (например, препарат лимус, например, сиролimus или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где у индивидуума имеется аберрация активации mTOR в PTEN. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации

активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0083]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (например, препарат лимус, например, сиролimus или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где индивидуум имеет первую aberrацию активации mTOR в PTEN и вторую aberrацию активации mTOR в KRAS. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной aberrации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0084]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой

кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (например, препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где индивидуум имеет первую аберрацию активации mTOR в PTEN и вторую аберрацию активации mTOR, где вторая аберрация не является аберрацией PTEN или KRAS. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0085]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат сиролимус и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где количество анти-VEGF антитела составляет около 10

мг/кг, и где режим FOLFOX представляет собой модифицированный режим FOLFOX6. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR выбрано из группы, состоящей из от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup> и от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0086]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат сиролimus и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где количество of сиролimus в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от 10 мг/м<sup>2</sup> до около 60 мг/м<sup>2</sup>, где количество анти-VEGF антитела составляет около 10 мг/кг, и где режим FOLFOX представляет собой модифицированный режим FOLFOX6. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть

режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0087]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат сиролimus и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где количество анти-VEGF антитела составляет около 10 мг/кг, и где режим FOLFOX представляет собой модифицированный режим FOLFOX6 comprising i) введение оксалиплатина в количестве около 85 мг/м<sup>2</sup>; ii) введение лейковорина в количестве от около 400 мг/м<sup>2</sup>; iii) введение 5-фторурацила (5-FU) в количестве от около 2800 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения



изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0089]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат сиролimus и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где композиция наночастиц, содержащая сиролimus, анти-VEGF антитело и режим FOLFOX вводятся в соответствии со схемой, приведенной в таблице 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0090]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки (например, метастатический рак толстой кишки) без потери веса у индивидуума, включающий введение индивидууму: а) эффективного количества

композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX включает введение индивидууму оксалиплатина, лейковорина и 5-фторурацила (5-FU). В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки) без потери веса у индивидуума, включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат сиролimus и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где композиция наночастиц, содержащая сиролimus, анти-VEGF антитело и режим FOLFOX вводятся в соответствии со схемой, приведенной в таблице 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки метастазировал в другие один, два, три или более органа (например, поджелудочную железу, печень, легкое, почку, кость, мозг). В некоторых вариантах осуществления рак в других органах, метастазированных из-за рака толстой кишки, уменьшился после лечения (например, по меньшей мере на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% или более). В некоторых вариантах осуществления изобретения вскоре после лечения индивидуум имеет вес в пределах 95%, 96%, или 97% от веса непосредственно перед лечением (например, в течение примерно шести месяцев, пяти месяцев, четырех месяцев, трех с половиной месяцев, трех месяцев, двух с половиной месяцев или двух месяцев после лечения). В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах

осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0091]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где индивидуум набирает вес после лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения у индивидуума рака толстой кишки (например, метастатического рака толстой кишки), включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат сиролimus и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба), с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где композиция наночастиц, содержащая сиролimus, анти-VEGF антитело и режим FOLFOX вводятся в соответствии со схемой, приведенной в таблице 2, где индивидуум набирает вес после лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки метастазировал в другие один, два, три или более органа (например, поджелудочную железу, печень, легкое, почку, кость, мозг). В некоторых вариантах осуществления рак в других органах, метастазированных из-за рака толстой кишки, уменьшился (например, по меньшей мере на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% или более) после лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум набирает вес по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12% или более в течение примерно шести месяцев, пяти месяцев, четырех месяцев, трех с половиной месяцев, трех месяцев, двух с половиной месяцев или двух месяцев после лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, каждую вторую неделю, 2 раза каждые 3 недели или 3 раза каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно. В некоторых вариантах

осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится еженедельно, один раз каждые две недели, или один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет по меньшей мере одну аберрацию активации mTOR (например, мутацию в PTEN). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на наличии по меньшей мере одной аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR включает мутацию в PTEN.

**[0092]** В некоторых вариантах осуществления изобретения биомаркер опухоли уменьшается после лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения биомаркер опухоли представляет собой карциноэмбриональный антиген (CEA). В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень CEA уменьшается по меньшей мере примерно в 1, 2 или 3 раза.

**[0093]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки метастазировал в другие один, два, три или более органа (например, поджелудочную железу, печень, легкое, почку, кость, мозг). В некоторых вариантах осуществления изобретения после лечения рак в другом органе, который был метастазирован от рака толстой кишки, уменьшался (например, по меньшей мере на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% или более). В некоторых вариантах осуществления изобретения сокращение имело место по меньшей мере через примерно одну неделю, две недели, три недели или четыре недели после лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения сокращение имело место по меньшей мере через один месяц, полтора месяца, два месяца, два с половиной месяца или три месяца после лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки или рак в другом органе, который был метастазирован от рака толстой кишки, имеет значительный некроз после лечения. В некоторых вариантах осуществления значительный некроз присутствует через по меньшей мере примерно одну неделю, две недели, три недели или четыре недели после лечения. В некоторых вариантах осуществления значительный некроз присутствует через по меньшей мере примерно один месяц, полтора месяца, два месяца, два с половиной месяца или три месяца после лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения прилегающий лимфатический узел, близкий к раку толстой кишки или раку в другом органе, который был метастазирован от рака толстой кишки, имеет уменьшение в размере после лечения. В некоторых вариантах осуществления уменьшение размера имело место по меньшей мере примерно через одну неделю, две недели, три недели или четыре недели после лечения. В некоторых вариантах осуществления уменьшение размера имело место по меньшей мере примерно через один месяц, полтора месяца, два месяца, два с половиной месяца или три месяца после лечения.

**[0094]** В некоторых вариантах у индивидуума не проявлялась сильная токсичности после лечения. В некоторых вариантах осуществления тяжелой токсичностью является

синдром тяжелого высвобождения цитокинов (CRS), необязательно степени 3 или выше, пролонгированной степени 3 или выше или степени 4 или 5 CRS. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивидуума после лечения не имелось существенного увеличения (например, менее чем на 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или 30%) цитокина (такого как IFN-гамма, TNF-альфа).

#### **Фармацевтические композиции**

**[0095]** Композиции наночастиц (такие как композиции наночастиц ингибитора mTOR) и/или анти-VEGF антитела и/или части (или компонента) режима FOLFOX, описанные в настоящем документе, могут быть использованы при изготовлении композиции, такой как фармацевтическая композиция, путем объединения композиции(ий) наночастиц и анти-VEGF антитела и/или части (или компонента) режима FOLFOX, описанных в настоящем документе, с фармацевтически приемлемым носителем, эксципиентом, стабилизирующим агентом и/или другим агентом, известным в уровне техники для использования в способах лечения, способах введения и режимах дозирования, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения один или несколько компонентов, описанных в настоящем документе (например, композиция(и) наночастиц, анти-VEGF антитело или часть (или компонент) режима FOLFOX), могут быть предоставлены в одной композиции.

#### **Рак толстой кишки, подлежащий лечению**

**[0096]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума (например, человека), включающий введение индивидууму а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус (то есть рапамицин) или его производное) и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела (например, авастина) и с) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ используется для лечения первичной опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ, используемый для лечения метастатического рака (то есть рака, который метастазировал из первичной опухоли). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ используется для лечения опухоли с низким злокачественным потенциалом (например, пограничная опухоль), такой как опухоль на ранней или поздней стадии с низким злокачественным потенциалом. В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки на поздней стадии. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения ранней стадии рака толстой кишки.

**[0097]** Способы могут практиковаться в адьювантной терапии. Способы, предложенные в настоящем документе, также могут практиковаться в неоадьювантной терапии, то есть способ может быть осуществлен до первичной/окончательной терапии. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум ранее лечился. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум ранее не получал лечения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение представляет собой терапию первой линии. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение представляет собой терапию второй линии. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение представляет собой терапию третьей линии. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидум подвержен риску развития рака толстой кишки, но у него не диагностирован рак толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки вновь возник после ремиссии.

**[0098]** В различных вариантах осуществления изобретения описанный в настоящем документе способ используется для лечения рака толстой кишки на разных стадиях. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ используется для лечения рака толстой кишки I стадии. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ используется для лечения рака толстой кишки II стадии (например, стадии IIA, IIB или IIC). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ используется для лечения рака толстой кишки III стадии (например, IIIA, IIIB или IIIC стадии). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ используется для лечения рака толстой кишки IV стадии (например, стadiи IVA, IVB или IVC). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ используется для лечения рака толстой кишки 0 стадии (то есть карциномы *in situ*).

**[0099]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется геномной нестабильностью. В некоторых вариантах осуществления изобретения геномная нестабильность включает по меньшей мере одну модификацию геномной ДНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения модификацией является нестабильность генома (CIN). В некоторых вариантах осуществления изобретения модификацией является потеря гетерозиготности (например, массивная потеря хромосомной ДНК). В некоторых вариантах осуществления изобретения модификацией является микросателлитная нестабильность (MSI). В некоторых вариантах осуществления изобретения модификацией является мутация (например, вставка, удаление, замена, дублирование, перестановка) в нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения модификация геномной ДНК включает модификацию метилирования ДНК или модификацию гистона. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется по меньшей мере на 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17% или 18% более низким общим уровнем метилирования ДНК, чем в нормальной ткани. В некоторых вариантах осуществления изобретения модификация геномной ДНК включает фенотип CpG-островного метилатора (CIMP). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется модифицированным метилированием CpG-островков. В некоторых вариантах осуществления изобретения модифицированное метилирование CpG-островков включает гиперметилирование CpG-богатого промотора.

**[0100]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией пути. В некоторых вариантах осуществления изобретения

альтерация пути включает инактивацию генов TP53, BRAF, PI3CA или APC, активацию KRAS, TGF- $\beta$ , CTNNB, эпителиально-мезенхимального перехода (EMT) или передачи сигналов WNT, и/или амплификацию MYC или CDK8. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией мутации KRAS или мутации BRAF. В некоторых вариантах осуществления изобретения альтерацию пути оценивают/обнаруживают с помощью секвенирования генома. В некоторых вариантах осуществления изобретения альтерацию пути обнаруживают путем оценки экспрессии (например, экспрессии мРНК или белка) гена в раковой ткани. В некоторых вариантах осуществления изобретения путь выбран из группы, состоящей из путей WNT, MAPK, PI3K, TGF- $\beta$  и p53. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерациями по меньшей мере двух, трех, четырех или пяти путей, как обсуждалось выше.

**[0101]** В различных вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки может быть классифицирован по другой системе как другой подтип. Некоторые примеры систем классификации описаны, например, Rodriguez-Salas et al., Crit Rev Oncol Hematol. 2017 Jan;109:9-19; De Sousa E Melo et al., Nat Med. 2013 May;19(5):614-8; Sadanandam et al., Nat Med. 2013 May;19(5):619-25; Marisa et al., PloS Med. 2013;10(5); Roepman et al., Int J Cancer. 2014 Feb 1;134(3):552-62; Salazar et al., J Clin Oncol. 2011 Jan 1;29(1):17-24.

#### **I. Система подтипов рака толстой кишки (CCS)**

**[0102]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в системе подтипов рака толстой кишки (CCS) как CCS1. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки включает, кроме того, мутацию в KRAS или TP53. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки дополнительно характеризуется CIN (например, потерей гетерозиготности). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки дополнительно характеризуется более высокой активностью сигнального каскада WNT по сравнению с нормальной тканью. В некоторых вариантах осуществления рак толстой кишки является резистентным к терапии, включающей анти-EGFR антитело (например, цетуксимаб).

**[0103]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в системе подтипов рака толстой кишки (CCS) как CCS2. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется опухолями с MSI или фенотипа метилатора островков CpG (CIMP). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется инфильтрацией воспалительных клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения инфильтрация воспалительных клеток находится в восходящей ободочной кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки является резистентным к терапии, включающей анти-EGFR антитело (например, цетуксимаб).

**[0104]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в системе подтипов рака толстой кишки (CCS) как CCS3. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется геномной

нестабильностью, включающей MSI или CIN. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется высокой экспрессией генов, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом (EMT), ремоделированием матрикса и клеточной миграцией. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется активированным путем TGF- $\beta$ . В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки включает мутацию в BRAF или PI3CA. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки является резистентным к терапии, включающей анти-EGFR антитело (например, цетуксимаб).

## **II. Система определения колоректального рака (CRCA)**

**[0105]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется по определению колоректального рака (система CRCA) как стволоподобный подтип. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется сверхэкспрессией сигнального пути WNT по сравнению с нормальной тканью. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется более низкой экспрессией маркера дифференцировки по сравнению с нормальной тканью. В некоторых вариантах осуществления изобретения маркер дифференцировки выбран из группы, включающей экспрессию MUC2 и экспрессию KRT20. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется высокой экспрессией миоэпителиального и/или мезенхимального гена по сравнению с нормальной тканью.

**[0106]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется по определению колоректального рака (система CRCA) как бокаловидный подтип. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется более высокой экспрессией мРНК специфичных к клеткам бокалов MUC2 и/или TFF3.

**[0107]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется по определению колоректального рака (система CRCA) как воспалительный подтип. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется высокой экспрессией интерферона и/или цитокина по сравнению с нормальной тканью. В некоторых вариантах осуществления изобретения интерферон выбран из группы, включающей интерферон типа I, интерферон типа II и интерферон типа III. В некоторых вариантах осуществления изобретения интерферон выбран из группы, включающей IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\epsilon$ , IFN- $\kappa$ , IFN- $\omega$ , IFN- $\gamma$ , IFN- $\lambda$ 1, IFN- $\lambda$ 2 и IFN- $\lambda$ 3. В некоторых вариантах осуществления изобретения цитокин выбран из группы, включающей IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21, IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 (Mda-7), IL-26, эритропоэтин (EPO), тромбопоэтин (TPO), IL-1, IL-33, IL-18, IL-17, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 и TGF- $\beta$ 3.

**[0108]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется по определению колоректального рака (система CRCA) как транзитный амплифицирующий подтип. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак

толстой кишки чувствителен к терапии, включающей ингибитор EGFR (например, цетуксимаб). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки не чувствителен к терапии, включающей ингибитор EGFR (например, цетуксимаб). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки является резистентным к терапии, включающей ингибитор анти-EGFR (например, цетуксимаб). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки не является резистентным к терапии, включающей ингибитор анти-EGFR (например, цетуксимаб). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки дополнительно характеризуется более высокой экспрессией филамина А (FNLA).

**[0109]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется по определению колоректального рака (система CRCA) как энтероцитарный подтип.

### **III. Система молекулярных подтипов рака толстой кишки (CCMS)**

**[0110]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой молекулярных подтипов рака толстой кишки (CCMS) как подтип C1. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется CIN. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется мутацией в KRAS и/или TP53. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется подавлением путей, связанных с активацией иммунной системы и/или эпителиально-мезенхимальным переходом (EMT) по сравнению с нормальной тканью.

**[0111]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой молекулярных подтипов рака толстой кишки (CCMS) как подтип C2. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется MSI и/или CIMP. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется мутацией в BRAF. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией пролиферативного пути. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется подавлением пути WNT по сравнению с нормальной тканью.

**[0112]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой молекулярных подтипов рака толстой кишки (CCMS) как подтип C3. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется как не имеющий значительного уровня MSI. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется мутацией в KRAS. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией пути, связанного с активацией иммунной системы. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией пути, связанного с эпителиально-мезенхимальным переходом.

**[0113]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой молекулярных подтипов рака толстой кишки

(CCMS) как подтип C4. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется как CIN, так и CIMP. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется либо CIN, либо CIMP. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется по меньшей мере одной мутацией в KRAS, BRAF и/или TP53. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией (например, высокой экспрессией) пути, связанного с процессом эпителиально-мезенхимального перехода (EMT). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией (например, высокой экспрессией) пути, связанного с активацией пути зубчатой неоплазии, или пути, связанного с экспрессией гена стволовых клеток.

**[0114]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой молекулярных подтипов рака толстой кишки (CCMS) как подтип C5. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется CIN. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется мутацией в KRAS и/или TP53. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется высокой экспрессией генов пути Wnt по сравнению с нормальной тканью.

**[0115]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой молекулярных подтипов рака толстой кишки (CCMS) как подтип C6. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется CIN. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется мутацией в KRAS и/или TP53. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией (например, высокой экспрессией) пути, связанного с процессом эпителиально-мезенхимального перехода (EMT). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией (например, высокой экспрессией) пути, связанного с активацией пути зубчатой неоплазии.

**[0116]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой молекулярных подтипов рака толстой кишки (CCMS) как оба подтипа C1 и C5.

#### **IV. Система внутренних подтипов CRC (CRCIS)**

**[0117]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется по системе внутренних подтипов CRC (CRCIS) как подтип типа A (то есть MMR-дефицитный эпителиальный подтип). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется MSI. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки включает по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мутаций. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки включает по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мутаций в BRAF.

**[0118]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется по системе внутренних подтипов CRC (CRCIS) как подтип типа В (то есть эпителиальный пролиферативный подтип). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется эпителиальный фенотип. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется более высокой пролиферацией раковых клеток по сравнению с раковыми клетками типа А или типа С. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется отсутствием мутации в BRAF. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется как микросателлитная нестабильность-высокая (MSI-H) или как микросателлитная нестабильность-низкая (MSI-L).

**[0119]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется по системе внутренних подтипов CRC (CRCIS) как подтип типа С. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется более высокой экспрессией EMT мезенхимального фенотипа по сравнению с подтипом типа А или типа В.

**[0120]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой классификации консорциума подтипов колоректального рака (CRCSC) как CMS1. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется поражением восходящей ободочной кишки и/или прямой кишки.

**[0121]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой классификации консорциума подтипов колоректального рака (CRCSC) как CMS2. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется поражением нисходящей ободочной кишки и/или прямой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется как не имеющий значительного уровня MSI. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется значительным уровнем CIN. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией пути. В некоторых вариантах осуществления изобретения альтерация пути включает активацию WNT-сигнала и/или активацию пути MYC. В некоторых вариантах осуществления изобретения альтерация пути включает амплификацию EGFR. В некоторых вариантах осуществления изобретения альтерация пути включает сверхэкспрессию или мутант TP53.

**[0122]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой классификации консорциума подтипов колоректального рака (CRCSC) как CMS3. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется отсутствием значительного уровня CIN. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется значительным уровнем SIMP. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией пути. В некоторых вариантах осуществления

изобретения альтерация пути включает активацию WNT-сигнала и/или активацию пути MYC. В некоторых вариантах осуществления изобретения альтерация пути включает мутант KRAS и/или PI3K. В некоторых вариантах осуществления изобретения альтерация пути включает сверхэкспрессию IGBP2. В некоторых вариантах осуществления изобретения альтерация пути включает обогащенную метаболическую сигнатуру (например, митохондриальный окислительный метаболизм).

**[0123]** В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки классифицируется в соответствии с системой классификации консорциума подтипов колоректального рака (CRCSC) как CMS4. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется отсутствием значительного уровня CIN. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки характеризуется альтерацией пути. В некоторых вариантах осуществления изобретения альтерация пути включает активацию TGF- $\beta$ . В некоторых вариантах осуществления изобретения альтерация пути включает активацию ангиогенеза, ремоделирование матрикса и/или комплемент-опосредованное воспаления. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки является раком III стадии. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак толстой кишки является раком IV стадии.

#### **Способы лечения, основанные на наличии биомаркера**

**[0124]** Настоящее изобретение в одном аспекте относится к способам лечения рака толстой кишки у индивидуума на основе статус<sup>c</sup> одной или более mTOR-активирующих aberrаций в одном или нескольких mTOR-ассоциированных генах. В некоторых вариантах осуществления изобретения один или несколько биомаркеров выбраны из группы, состоящей из биомаркеров, указывающих на благоприятный ответ на лечение ингибитором mTOR, и биомаркеров, указывающих на благоприятный ответ на лечение анти-VEGF антителом, биомаркеров, указывающих на благоприятный ответ на лечение режимом FOLFOX.

#### **А. на основе наличия aberrации активации mTOR**

**[0125]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий введение индивидууму а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; б) эффективного количества анти-VEGF антитела и с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где индивидуум выбран для лечения на основе наличия у индивидуума aberrации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает мутацию mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает изменение числа копий mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrантной экспрессии mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации активности mTOR-

ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один mTOR-ассоциированный биомаркер включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации mTORC1 (включая, например, активацию mTORC1, но не mTORC2). В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации mTORC2 (включая, например, активацию mTORC2, но не mTORC1). В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации как mTORC1, так и mTORC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR имеется по меньшей мере в одном mTOR-ассоциированном гене, выбранном из группы, состоящей из AKT1, FLT-3, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, TP53, FGFR4, BAP1, KRAS, NRAS и PTEN. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR оценивается секвенированием генов или иммунохимией. В некоторых вариантах осуществления изобретения секвенирование генов основано на секвенировании ДНК в образце опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения секвенирование генов основано на секвенировании циркулирующей или бесклеточной ДНК в образце крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения в качестве основы для выбора индивидуума дополнительно используется мутационный статус TFE3. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутационный статус TFE3 включает транслокацию TFE3. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения mTOR-ассоциированный ген выбран из группы, включающей AKT, S6K, S6 и 4EBP1. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень aberrантного фосфорилирования определяется иммуногистохимией. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX и композиция наночастиц вводятся последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX и композиция наночастиц вводятся одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX и композиция наночастиц вводятся одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся одновременно.

**[0126]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий: (a) оценку aberrации активации mTOR у индивидуума; и (b) введение индивидууму i) эффективного количества

композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где индивидуум выбран для лечения на основе наличия aberrации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает мутацию mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает изменение числа копий mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrантной экспрессии mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации активности mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации активности mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один mTOR-ассоциированный биомаркер включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации mTORC1 (включая, например, активацию mTORC1, но не mTORC2). В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации mTORC2 (включая, например, активацию mTORC2, но не mTORC1). В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации как mTORC1, так и mTORC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR имеется по меньшей мере в одном mTOR-ассоциированном гене, выбранном из группы, состоящей из AKT1, FLT-3, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, TP53, FGFR4, VAP1, KRAS, NRAS и PTEN. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR оценивается секвенированием генов или иммуногистохимией. В некоторых вариантах осуществления изобретения секвенирование генов основано на секвенировании ДНК в образце опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения секвенирование генов основано на секвенировании циркулирующей или бесклеточной ДНК в образце крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутационный статус TFE3 дополнительно используется в качестве основы для выбора индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутационный статус TFE3 включает транслокацию TFE3. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения mTOR-ассоциированный ген выбран из группы, включающей AKT, S6K, S6 и 4EBP1. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень aberrантного фосфорилирования определяется иммуногистохимией.

**[0127]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий: (a) оценку aberrации активации mTOR у индивидуума; (b) выбор (например, идентификацию или рекомендацию) индивидуума для лечения на основе наличия у индивидуума aberrации

активации mTOR и (с) введение индивидууму i) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает мутацию mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает изменение числа копий mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrантной экспрессии mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации активности mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации активности mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один mTOR-ассоциированный биомаркер включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации mTORC1 (включая, например, активацию mTORC1, но не mTORC2). В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации mTORC2 (включая, например, активацию mTORC2, но не mTORC1). В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации как mTORC1, так и mTORC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR имеется по меньшей мере в одном mTOR-ассоциированном гене, выбранном из группы, состоящей из AKT1, FLT-3, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, TP53, FGFR4, VAP1, KRAS, NRAS и PTEN. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR оценивается секвенированием генов или иммунохимией. В некоторых вариантах осуществления изобретения секвенирование генов основано на секвенировании ДНК в образце опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения секвенирование генов основано на секвенировании циркулирующей или бесклеточной ДНК в образце крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутационный статус TFE3 дополнительно используется в качестве основы для выбора индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутационный статус TFE3 включает транслокацию TFE3. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения mTOR-ассоциированный ген выбран из группы, включающей AKT, S6K, S6 и 4EBP1. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень aberrантного фосфорилирования определяется иммуногистохимией.

**[0128]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ выбора (включая идентификацию или рекомендацию) индивидуума, имеющего рак толстой кишки для лечения с помощью i) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат

лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где способ включает (а) оценку aberrации активации mTOR у индивидуума и (б) выбор или рекомендацию индивидуума для лечения на основе наличия у индивидуума aberrации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает мутацию mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает изменение числа копий mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrантной экспрессии mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации активности mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один mTOR-ассоциированный биомаркер включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации mTORC1 (включая, например, активацию mTORC1, но не mTORC2). В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации mTORC2 (включая, например, активацию mTORC2, но не mTORC1). В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации как mTORC1, так и mTORC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR имеется по меньшей мере в одном mTOR-ассоциированном гене, выбранном из группы, состоящей из AKT1, FLT-3, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, TP53, FGFR4, BAP1, KRAS, NRAS и PTEN. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR оценивается секвенированием генов или иммунохимией. В некоторых вариантах осуществления изобретения секвенирование генов основано на секвенировании ДНК в образце опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения секвенирование генов основано на секвенировании циркулирующей или бесклеточной ДНК в образце крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутационный статус TFE3 дополнительно используется в качестве основы для выбора индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутационный статус TFE3 включает транслокацию TFE3. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения mTOR-ассоциированный ген выбран из группы, включающей AKT, S6K, S6 и 4EBP1. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень aberrантного фосфорилирования определяется иммуногистохимией.

**[0129]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ выбора (включая идентификацию или рекомендацию) и лечения индивидуума, имеющего рак толстой кишки, где способ включает (а) оценку aberrации активации mTOR у

индивидуума; (b) выбор или рекомендацию индивидуума для лечения на основе наличия у индивидуума aberrации активации mTOR и (c) введение индивидууму i) эффективного количества композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает мутацию mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает изменение числа копий mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrантной экспрессии mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации активности mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один mTOR-ассоциированный биомаркер включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации mTORC1 (включая, например, активацию mTORC1, но не mTORC2). В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации mTORC2 (включая, например, активацию mTORC2, но не mTORC1). В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR приводит к активации как mTORC1, так и mTORC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR имеется по меньшей мере в одном mTOR-ассоциированном гене, выбранном из группы, состоящей из AKT1, FLT-3, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, TP53, FGFR4, VAP1, KRAS, NRAS и PTEN. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR оценивается секвенированием генов или иммунохимией. В некоторых вариантах осуществления изобретения секвенирование генов основано на секвенировании ДНК в образце опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения секвенирование генов основано на секвенировании циркулирующей или бесклеточной ДНК в образце крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутационный статус TFE3 дополнительно используется в качестве основы для выбора индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутационный статус TFE3 включает транслокацию TFE3. В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения mTOR-ассоциированный ген выбран из группы, включающей AKT, S6K, S6 и 4EBP1. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень aberrантного фосфорилирования определяется иммуногистохимией.

**[0130]** В настоящем документе также представлены способы оценки того, будет ли у индивидуума с раком толстой кишки более вероятна или менее вероятна реакция на лечение, на основе наличия у индивидуума aberrации активации mTOR, где лечение

включает i) эффективное количество композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективное количество анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективный режим FOLFOX; где способ включает оценку aberrации активации mTOR у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает введение индивидууму, который с вероятностью может отреагировать на лечение i) эффективного количества композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие aberrации активации mTOR указывает на то, что индивидуум с большей вероятностью отреагирует на лечение, и отсутствие aberrации активации mTOR указывает на то, что индивидуум с меньшей вероятностью отреагирует на лечение. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) определяется на основе статуса aberrации активации mTOR.

**[0131]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложены также способы, помогающие оценить, будет ли индивидуум с раком толстой кишки отвечать на лечение или подходить для лечения, на основе наличия у индивидуума aberrации активации mTOR, где лечение включает i) эффективное количество композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективное количество анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективный режим FOLFOX; где способ включает оценку aberrации активации mTOR у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие aberrации активации mTOR указывает на то, что индивидуум вероятно отреагирует на лечение, и отсутствие aberrации активации mTOR указывает на то, что индивидуум с меньшей вероятностью отреагирует на лечение. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает введение индивидууму i) эффективного количества композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX,.

**[0132]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ выявления индивидуума с раком толстой кишки, который может отреагировать на лечение, включающее i) эффективное количество композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективное количество анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективный режим FOLFOX; где способ включает: а) оценку aberrации активации mTOR у индивидуума и б) выявление индивидуума на основе наличия у индивидуума aberrации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает введение i) эффективного количества композиции, содержащей

ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) определяется на основе статуса aberrации активации mTOR.

**[0133]** Также в настоящем документе предложены способы лечения корректирующей терапией индивидуума с раком толстой кишки, получающего i) эффективное количество композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективное количество анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективный режим FOLFOX; где способ включает оценку aberrации активации mTOR в образце, полученном от индивидуума, и корректировку терапевтического лечения на основании статуса aberrации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения корректируют количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное).

**[0134]** Также в настоящем документе предложены способы маркетинга терапии, включающей i) эффективное количество композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективное количество анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективный режим FOLFOX, для применения при лечении рака толстой кишки у отдельной субпопуляции, где способы включают информирование целевой аудитории о применении терапии для лечения отдельной субпопуляции, характеризующейся наличием у индивидуумов такой субпопуляции образца, который имеет mTOR-активирующую aberrацию.

**[0135]** Термин «aberrация активации mTOR» относится к генетической aberrации, aberrантному уровню экспрессии и/или aberrантному уровню активности одного или нескольких mTOR-ассоциированных генов, которые могут приводить к гиперактивации сигнального пути mTOR. «Гиперактивация» относится к повышению уровня активности молекулы (такой как белок или белковый комплекс) или сигнального пути (такого как mTOR сигнальный путь) до уровня, который выше контрольного уровня или диапазона активности, такого как по меньшей мере на около 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 500% или более выше эталонного уровня активности или медианного значения диапазона эталонной активности. В некоторых вариантах осуществления изобретения эталонный уровень активности представляет собой клинически приемлемый нормальный уровень активности в стандартизированном тесте или уровень активности у здорового индивидуума (или в ткани или клетке, взятой у индивидуума) без наличия aberrации активации mTOR.

**[0136]** Aberrация активации mTOR, рассматриваемая в настоящем документе, может включать один тип aberrации в одном mTOR-ассоциированном гене, более одного типа (например, по меньшей мере около 2, 3, 4, 5, 6 или более) aberrаций в одном mTOR-ассоциированном гене, один тип aberrации в более чем одном (например, по меньшей

мере примерно в около 2, 3, 4, 5, 6 или более) mTOR-ассоциированных генах, или более одного типа (например, по меньшей мере около 2, 3, 4, 5, 6 или более) aberrаций в более чем одном (например, по меньшей мере в около 2, 3, 4, 5, 6 или более) mTOR-ассоциированных генах. Различные типы aberrации активации mTOR могут включать, но этим не ограничиваются, генетические aberrации, aberrантные уровни экспрессии (например, сверхэкспрессию или недостаточную экспрессию), aberrантные уровни активности (например, высокие или низкие уровни активности) и aberrантные уровни фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления генетическая aberrация включает изменение в последовательности нуклеиновых кислот (таких как ДНК или РНК) или белка (то есть мутацию) или aberrантную эпигенетическую характеристику, связанную с mTOR-ассоциированным геном, включая, но не ограничиваясь этим, кодирующие, некодирующие, регуляторные, энхансерные, сайленсерные, промоторные, интронные, экзонные и нетранслируемые области mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере одной молекулы (такой как белок или белковый комплекс) или сигнального пути (такого как mTOR сигнальный путь) до уровня, который выше эталонного уровня активности или диапазона, например, по меньшей мере на около 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 500% или более выше эталонного уровня активности или медианного значения диапазона эталонной активности. В некоторых вариантах осуществления изобретения эталонный уровень активности представляет собой клинически приемлемый нормальный уровень активности в стандартизированном тесте, или уровень активности у здорового индивидуума (или в ткани или клетке, взятой у индивидуума) без наличия aberrации активации mTOR.

**[0137]** Aberrация активации mTOR, рассматриваемая в настоящем документе, может включать один тип aberrации в одном mTOR-ассоциированном гене, более одного типа (например, по меньшей мере около 2, 3, 4, 5, 6 или более) aberrаций в одном mTOR-ассоциированном гене, один тип aberrации в более чем одном (например, по меньшей мере примерно в около 2, 3, 4, 5, 6 или более) mTOR-ассоциированных генах, или более одного типа (например, по меньшей мере около 2, 3, 4, 5, 6 или более) aberrаций в более чем одном (например, по меньшей мере в около 2, 3, 4, 5, 6 или более) mTOR-ассоциированных генах. Различные типы aberrации активации mTOR могут включать, но этим не ограничиваются, генетические aberrации, aberrантные уровни экспрессии (например, сверхэкспрессию или недостаточную экспрессию), aberrантные уровни активности (например, высокие или низкие уровни активности) и aberrантные уровни фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация включает изменение в последовательности нуклеиновых кислот (таких как ДНК или РНК) или белка (то есть мутацию) или aberrантную эпигенетическую характеристику, связанную с mTOR-ассоциированным геном, включая, но не ограничиваясь этим, кодирующие, некодирующие, регуляторные, энхансерные, сайленсерные, промоторные, интронные, экзонные и нетранслируемые области mTOR-

ассоциированного биомаркера, включает уровень аберрации фосфорилирования белка, кодируемого молекулой (такой как белок или белковый комплекс), или сигнальный путь (такой как mTOR сигнальный путь) до уровня, который выше эталонного уровня активности или диапазона, например, по меньшей мере на около 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 500% или более выше эталонного уровня активности или медианного значения диапазона эталонной активности. В некоторых вариантах осуществления изобретения эталонный уровень активности представляет собой клинически приемлемый нормальный уровень активности в стандартизированном тесте, или уровень активности у здорового индивидуума (или в ткани или клетке, взятой у индивидуума) без наличия аберрации активации mTOR.

**[0138]** Абберрация активации mTOR, рассматриваемая в настоящем документе, может включать один тип аберрации в одном mTOR-ассоциированном гене, более одного типа (например, по меньшей мере около 2, 3, 4, 5, 6 или более) абберраций в одном mTOR-ассоциированном гене, один тип аберрации в более чем одном (например, по меньшей мере примерно в около 2, 3, 4, 5, 6 или более) mTOR-ассоциированных генах, или более одного типа (например, по меньшей мере около 2, 3, 4, 5, 6 или более) абберраций в более чем одном (например, по меньшей мере в около 2, 3, 4, 5, 6 или более) mTOR-ассоциированных генах. Различные типы аберрации активации mTOR могут включать, но этим не ограничиваются, генетические аберрации, абберрантные уровни экспрессии (например, сверхэкспрессию или недостаточную экспрессию), абберрантные уровни активности (например, высокие или низкие уровни активности) и абберрантные уровни фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает изменение в последовательности нуклеиновых кислот (таких как ДНК или РНК) или белка (то есть мутацию) или абберрантную эпигенетическую характеристику, связанную с mTOR-ассоциированным геном, включая, но не ограничиваясь этим, кодирующие, некодирующие, регуляторные, энхансерные, сайленсерные, промоторные, интронные, экзонные и нетранслируемые области mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения абберрация активации mTOR включает мутацию mTOR-ассоциированного гена, включая, но этим не ограничиваясь, делецию, сдвиг рамки считывания, включение, миссенс-мутацию, нонсенс-мутацию, точечную мутацию, молчащую мутацию, мутацию сайта сплайсинга, и транслокацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутация может представлять собой мутацию потери функции для сигнального пути негативного регулятора mTOR или мутацию усиления функции сигнального пути позитивного регулятора mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает изменение числа копий mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения изменение числа копий гена, связанного с mTOR, вызвано структурной перестройкой генома, включая делеции, дупликации, инверсию и транслокации. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает абберрантную эпигенетическую характеристику mTOR-

ассоциированного гена, включая, но этим не ограничиваясь, ДНК метилирование, гидроксиметилирование, повышенное или пониженное связывание гистонов, ремоделирование хроматина и тому подобное.

**[0139]** Аберрация активации mTOR определяется по сравнению с контролем или эталоном, таким как эталонная последовательность (такая как последовательность нуклеиновой кислоты или последовательность белка), уровень контрольной экспрессии (такой как экспрессия РНК или белка), уровень контрольной активности (такой как активация или ингибирование нижестоящих мишеней) или уровень фосфорилирования контрольного белка. Уровень аберрантной экспрессии или уровень аберрантной активности в mTOR-ассоциированном гене может быть выше контрольного уровня (например, на 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90% 100%, 200%, 500% или более выше контрольного уровня), если mTOR-ассоциированный ген является положительным регулятором (то есть активатором) сигнального пути mTOR, или ниже контрольного уровня (например, на 10%, На 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90% или более ниже уровня контроля), если mTOR-ассоциированный ген является негативным регулятором (то есть ингибитором) сигнального пути mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения контрольный уровень (например, уровень экспрессии или уровень активности) является медианным уровнем (например, уровнем экспрессии или уровнем активности) контрольной популяции. В некоторых вариантах осуществления изобретения контрольная популяция представляет собой популяцию, имеющую тот же рак (такой как рак мочевого пузыря, почечно-клеточный рак или меланому), что и индивидуум, которого лечат. В некоторых вариантах осуществления изобретения контрольная популяция представляет собой здоровую популяцию, которая не имеет колоректального рака (такого как рак мочевого пузыря, почечно-клеточный рак или меланомы) и, необязательно, с сопоставимыми демографическими характеристиками (например, пол, возраст, этническая принадлежность и т. д.) как и индивидуума, которого лечат. В некоторых вариантах осуществления изобретения контрольный уровень (например, уровень экспрессии или уровень активности) представляет собой уровень (например, уровень экспрессии или уровень активности) здоровой ткани от того же индивидуума. Генетическая аберрация может быть определена путем сравнения с эталонной последовательностью, включая эпигенетические паттерны эталонной последовательности в контрольном образце. В некоторых вариантах осуществления изобретения эталонная последовательность представляет собой последовательность (последовательность ДНК, РНК или белка), соответствующую полностью функциональному аллелю mTOR-ассоциированного гена, такого как аллель (например, распространенный аллель) mTOR-ассоциированного гена, присутствующего в здоровой популяции индивидуумов, у которых нет колоректального рака (такого как рак мочевого пузыря, почечно-клеточная карцинома или меланомы), но при желании они могут иметь сходные демографические характеристики (такие как пол, возраст, этническая принадлежность и т. д.) как у индивидуума, которого лечат.

**[0140]** «Статус» aberrации активации mTOR может относиться к наличию или отсутствию aberrации активации mTOR в одном или нескольких mTOR-ассоциированных генах или к уровню aberrации (уровню экспрессии или активности, включая уровень фосфорилирования белка). В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие генетической aberrации (такой как мутация или изменение числа копий) в одном или нескольких mTOR-ассоциированных генах по сравнению с контролем указывает на то, что (a) индивидуум с большей вероятностью будет отвечать на лечение или (b) индивидуум выбран для лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения отсутствие генетической aberrации в mTOR-ассоциированном гене или в mTOR-ассоциированном гене дикого типа по сравнению с контролем, указывает на то, что (a) индивидуум менее склонен отвечать на лечение или (b) индивидуум не выбран для лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень aberrации (такой как уровень экспрессии или уровень активности, включая уровень фосфорилирования белка) одного или нескольких mTOR-ассоциированных генов коррелирует с вероятностью ответа индивидуума на лечение. Например, большее отклонение уровня (такого как уровень экспрессии или уровень активности, включая уровень фосфорилирования белка) одного или нескольких mTOR-ассоциированных генов в направлении гиперактивации сигнального пути mTOR указывает на то, что индивидуум с большей вероятностью ответить на лечение. В некоторых вариантах осуществления изобретения модель прогнозирования, основанная на уровне(ях) (таком как уровень экспрессии или уровень активности, включая уровень фосфорилирования белка) одного или нескольких mTOR-ассоциированных генов используется для прогнозирования (a) вероятности индивидуума ответить на лечение и (b) выбора индивидуума для лечения. С использованием данных клинических испытаний путем статистического анализа, такого как регрессионный анализ, может быть получена модель прогнозирования, включающая, например, коэффициент для каждого уровня.

**[0141]** Уровень экспрессии и/или уровень активности одного или нескольких mTOR-ассоциированных генов, и/или уровень фосфорилирования одного или нескольких белков, кодируемых одним или несколькими mTOR-ассоциированными генами, и/или наличие или отсутствие одного или нескольких генетических aberrаций одного или нескольких mTOR-ассоциированных генов могут быть использованы для определения любого из следующего: (a) возможная или вероятная пригодность индивидуума для первоначального получения лечения; (b) возможная или вероятная неспособность индивидуума первоначально получать лечение; (c) восприимчивость к лечению; (d) возможная или вероятная способность индивидуума продолжать получать лечение; (e) возможная или вероятная неспособность индивидуума продолжать получать лечение; (f) корректировка дозирования; (g) прогнозирование вероятности клинического успеха.

**[0142]** Как используется в настоящем документе, «на основе» включает в себя оценку, определение или измерение характеристик индивидуума, как описано в настоящем документе (и, предпочтительно, выбор индивидуума, подходящего для

получения лечения). Когда статус аберрации активации mTOR «используется в качестве основы» для выбора, оценки, измерения или определения метода лечения, описанного в настоящем документе, аберрация активации mTOR в одном или нескольких mTOR-ассоциированных генов определяется до и/или во время лечения, и полученный статус (включая наличие, отсутствие, уровень экспрессии и/или уровень активности аберрации активации mTOR) используется клиницистом при оценке любого из следующего: (a) возможная или вероятная способность индивидуума первоначально получать лечение; (b) возможная или вероятная неспособность индивидуума первоначально получать лечение; (c) восприимчивость к лечению; (d) возможная или вероятная способность индивидуума продолжать получать лечение; (e) возможная или вероятная неспособность индивидуума продолжать получать лечение; (f) корректировка дозирования или (g) прогнозирование вероятности клинического успеха.

**[0143]** Аберрация активации mTOR у индивидуума может быть оценена или определена путем анализа образца от индивидуума. Оценка может быть основана на свежих образцах ткани или заархивированных образцах ткани. Подходящие образцы включают, но не ограничиваются ими, ткань рака толстой кишки, нормальную ткань, прилегающую к ткани рака толстой кишки, нормальную ткань, дистальную от ткани рака толстой кишки или лимфоциты периферической крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой ткань рака толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой биопсию, содержащую клетки рака толстой кишки, такие как тонкая игольная аспирация клеток рака толстой кишки или лапароскопия, полученная клетками рака толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные клетки центрифугируют в осадок, фиксируют и помещают в парафин перед анализом. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные клетки мгновенно замораживают перед анализом. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой образец плазмы.

**[0144]** В некоторых вариантах осуществления изобретения образец содержит циркулирующую метастатическую раковую клетку. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец получают путем сортировки циркулирующих опухолевых клеток (СТС) из крови. В некоторых других вариантах осуществления изобретения СТС отсоединились от первичной опухоли и циркулируют в жидкости организма. В некоторых других вариантах осуществления изобретения СТС отсоединились от первичной опухоли и циркулируют в кровотоке. СТС являются признаком метастазирования.

**[0145]** В некоторых вариантах осуществления изобретения образец смешивают с антителом, которое распознает молекулу, кодируемую mTOR-ассоциированным геном (например, белок) или его фрагментом. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец смешивают с нуклеиновой кислотой, которая распознает нуклеиновые кислоты, связанные с mTOR-ассоциированным геном (например, ДНК или

РНК) или его фрагментом. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец используют для анализа секвенирования, такого как анализ секвенирования ДНК, РНК и/или экзома следующего поколения.

**[0146]** Аберрация активации mTOR может быть оценена до начала лечения, в любое время во время лечения и/или в конце лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR оценивается в период от примерно 3 дней до введения композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) до примерно 3 дней после введения композиции наночастиц ингибитора mTOR в каждом цикле введения. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR оценивается в день 1 каждого цикла введения. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR оценивается в цикле 1, цикле 2 и цикле 3. В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR дополнительно оценивается каждые 2 цикла после цикла 3.

### ***I. Аберрации активации mTOR***

**[0147]** В настоящей заявке рассматриваются аберрации активации mTOR в одном или нескольких mTOR-ассоциированных генах, описанных выше, включая отклонения от эталонных последовательностей (то есть генетических аберраций), аномальные уровни экспрессии и/или аномальные уровни активности одного или нескольких mTOR-ассоциированных генов. В настоящей заявке охватывает способы лечения и способы, основанные на состоянии одной или нескольких из аберраций активации mTOR, описанных в настоящем документе.

**[0148]** Аберрации активации mTOR, описанные в настоящем документе, связаны с повышенным (то есть гиперактивированным) уровнем передачи сигналов mTOR или уровнем активности. Уровень сигнализации mTOR или уровень активности mTOR, описанный в настоящей заявке, может включать в себя сигнализацию mTOR в ответ на любой один или любую комбинацию восходящих сигналов, описанных выше, и может включать в себя сигнализацию mTOR через mTORC1 и/или mTORC2, что может привести к измеримым изменениям в любом одном или комбинации нижестоящих молекулярных, клеточных или физиологических процессов (таких как синтез белка, аутофагия, метаболизм, остановка клеточного цикла, апоптоз и т. д.). В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR гиперактивирует активность mTOR по меньшей мере на около 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 500% или более выше уровня активности mTOR без аберрации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения гиперактивированная активность mTOR опосредуется только mTORC1. В некоторых вариантах осуществления изобретения гиперактивированная активность mTOR опосредуется только mTORC2. В некоторых вариантах осуществления гиперактивированная активность mTOR опосредуется как mTORC1, так и mTORC2.

**[0149]** Способы определения активности mTOR известны в данной области. См., например, Brian CG et al., *Cancer Discovery*, 2014, 4:554-563. Активность mTOR может быть измерена путем количественного определения любого из выходных сигналов (например, на молекулярном, клеточном и/или физиологическом уровне) сигнального пути mTOR, как описано выше. Например, активность mTOR через mTORC1 может быть измерена путем определения уровня фосфорилированного 4EBP1 (например, P-S65-4EBP1), и/или уровня фосфорилированного S6K1 (например, P-T389-S6K1), и/или уровня фосфорилированный АКТ1 (например, P-S473-АКТ1). Активность mTOR через mTORC2 может быть измерена путем определения уровня фосфорилированных FoxO1 и/или FoxO3a. Уровень фосфорилированного белка может быть определен с использованием любого метода, известного в данной области, такого как вестерн-блот-анализы с использованием антител, которые специфически распознают фосфорилированный белок, представляющий интерес.

**[0150]** Возможные aberrации активации mTOR могут быть идентифицированы с помощью различных методов, например, путем поиска в литературе или экспериментальными методами, известными в данной области, включая, но этим не ограничиваясь, эксперименты по профилированию экспрессии генов (например, РНК-секвенирование или эксперименты с микрочипами), эксперименты по количественной протеомике и эксперименты по секвенированию генов. Например, эксперименты по профилированию экспрессии генов и эксперименты по количественной протеомике, проведенные на образце, взятом у индивидуума с раком толстой кишки, по сравнению с контрольным образцом, могут предоставить список генов и генных продуктов (таких как РНК, белок и фосфорилированный белок), которые присутствуют на aberrантных уровнях. В некоторых случаях эксперименты по секвенированию генов (такие как секвенирование экзона), проводимые на образце, взятом у индивидуума, имеющего рак толстой кишки, по сравнению с контрольным образцом, могут предоставить список генетических aberrаций. Статистические исследования ассоциации (такие как исследования ассоциации всего генома) могут быть выполнены на экспериментальных данных, собранных у популяции индивидуумов, имеющих рак толстой кишки, чтобы связать aberrации (такие как aberrантные уровни или генетические aberrации), идентифицированные в экспериментах с раком толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения для получения списка генетических aberrаций у индивидуума, имеющего рак толстой кишки, проводят эксперименты по мишеневому секвенированию (такие как тест ONCOPANEL™).

**[0151]** Тест ONCOPANEL™ можно использовать для исследования экзонных последовательностей ДНК генов, связанных с раком, и интронных областей для обнаружения генетических aberrаций, включая соматические мутации, вариации числа копий и структурные перестройки в ДНК образцов из различных источников (таких как биопсия опухоли или образец крови), таким образом предоставляя список возможных генетических aberrаций, которые могут являться aberrациями активации mTOR. В

некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация mTOR-ассоциированного гена представляет собой генетическую aberrацию или уровень aberrации (такой как уровень экспрессии или уровень активности) в гене, выбранном из теста ONCOPANEL™ (сертифицированного CLIA). См., например, Wagle N. et al. *Cancer discovery* 2,1 (2012): 82-93.

**[0152]** Пример версии теста ONCOPANEL™ включает 300 генов рака и 113 интронов в 35 генах. 300 генов, включенных в пример теста ONCOPANEL™ представляют собой: ABL1, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, ALOX12B, APC, AR, ARAF, ARID1A, ARID1B, ARID2, ASXL1, ATM, ATRX, AURKA, AURKB, AXL, B2M, BAP1, BCL2, BCL2L1, BCL2L12, BCL6, BCOR, BCORL1, BLM, BMPR1A, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD4, BRIP1, BUB1B, CADM2, CARD11, CBL, CBLB, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CD274, CD58, CD79B, CDC73, CDH1, CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK9, CDKN1A, CDKN1B, CDKN1C, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CEBPA, CHEK2, CIITA, CREBBP, CRKL, CRLF2, CRTC1, CRTC2, CSF1R, CSF3R, CTNNB1, CUX1, CYLD, DDB2, DDR2, DEPDC5, DICER1, DIS3, DMD, DNMT3A, EED, EGFR, EP300, EPHA3, EPHA5, EPHA7, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ESR1, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, EXT1, EXT2, EZH2, FAM46C, FANCA, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FAS, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FKBP9, FLCN, FLT1, FLT3, FLT4, FUS, GATA3, GATA4, GATA6, GLI1, GLI2, GLI3, GNA11, GNAQ, GNAS, GNB2L1, GPC3, GSTM5, H3F3A, HNF1A, HRAS, ID3, IDH1, IDH2, IGF1R, IKZF1, IKZF3, INSIG1, JAK2, JAK3, KCNIP1, KDM5C, KDM6A, KDM6B, KDR, KEAP1, KIT, KRAS, LINC00894, LMO1, LMO2, LMO3, MAP2K1, MAP2K4, MAP3K1, MAPK1, MCL1, MDM2, MDM4, MECOM, MEF2B, MEN1, MET, MITF, MLH1, MLL (KMT2A), MLL2 (KTM2D), MPL, MSH2, MSH6, MTOR, MUTYH, MYB, MYBL1, MYC, MYCL1 (MYCL), MYCN, MYD88, NBN, NEGR1, NF1, NF2, NFE2L2, NFKBIA, NFKBIZ, NKX2-1, NOTCH1, NOTCH2, NPM1, NPRL2, NPRL3, NRAS, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PALB2, PARK2, PAX5, PBRM1, PDCD1LG2, PDGFRA, PDGFRB, PHF6, PHOX2B, PIK3C2B, PIK3CA, PIK3R1, PIM1, PMS1, PMS2, PNRC1, PRAME, PRDM1, PRF1, PRKAR1A, PRKCI, PRKCZ, PRKDC, PRPF40B, PRPF8, PSMD13, PTCH1, PTEN, PTK2, PTPN11, PTPRD, QKI, RAD21, RAF1, RARA, RB1, RBL2, RECQL4, REL, RET, RFWD2, RHEB, RHPN2, ROS1, RPL26, RUNX1, SBDS, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SETBP1, SETD2, SF1, SF3B1, SH2B3, SLITRK6, SMAD2, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMC1A, SMC3, SMO, SOCS1, SOX2, SOX9, SQSTM1, SRC, SRSF2, STAG1, STAG2, STAT3, STAT6, STK11, SUFU, SUZ12, SYK, TCF3, TCF7L1, TCF7L2, TERC, TERT, TET2, TLR4, TNFAIP3, TP53, TSC1, TSC2, U2AF1, VHL, WRN, WT1, XPA, XPC, XPO1, ZNF217, ZNF708, ZRSR2. Интронные области, исследованные в типичном тесте ONCOPANEL™, распределены по конкретным интронам ABL1, AKT3, ALK, BCL2, BCL6, BRAF, CIITA, EGFR, ERG, ETV1, EWSR1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FUS, IGH, IGL, JAK2, MLL, MYC, NPM1, NTRK1, PAX5, PDGFRA, PDGFRB, PPARG, RAF1, RARA, RET, ROS1, SS18, TRA, TRB, TRG, TMPRSS2. Aberrации активации mTOR (такие как генетическая aberrация и aberrантные уровни)

любого из генов, включенных в любой вариант осуществления или версию теста ONCOPANEL™, включая, но этим не ограничиваясь, гены и интронные области, перечисленные выше, рассматриваются в настоящей заявке в качестве основы для выбора индивидуума для лечения с помощью композиции наночастиц ингибитора mTOR.

**[0153]** Является ли возможная генетическая aberrация или уровень aberrации aberrацией активации mTOR, можно определить способами, известными в данной области. Могут быть проведены генетические эксперименты на клетках (таких как клеточные линии) или на животных моделях, чтобы установить, что связанные с раком толстой кишки aberrации, выявленные по всем aberrациям, наблюдаемым в экспериментах, являются aberrациями активации mTOR. Например, генетическая aberrация может быть клонирована и сконструирована на клеточной линии или модели на животных, а активность mTOR сконструированной клеточной линии или на модели на животных может быть измерена и сравнена с соответствующей клеточной линией или моделью на животных, которые не имеют генетической aberrации. Повышение активности mTOR в таком эксперименте может указывать на то, что генетическая aberrация является возможной aberrацией активации mTOR которая может быть проверена в клиническом исследовании.

## ***II. Генетические aberrации***

**[0154]** Генетические aberrации одного или нескольких mTOR-ассоциированных генов могут включать изменение нуклеиновой кислоты (например, ДНК и РНК) или последовательности белка (то есть мутацию) или эпигенетический признак, связанный с mTOR-ассоциированным геном, включая, но не ограничиваясь этим, кодирующие, некодирующие, регуляторные, энхансерные, сайленсерные, промоторные, интронные, экзонные и нетранслируемые области mTOR-ассоциированного гена.

**[0155]** Генетическая aberrация может быть мутацией зародышевой линии (включая хромосомную перестройку) или соматической мутацией (включая хромосомную перестройку). В некоторых вариантах осуществления генетическая aberrация присутствует во всех тканях, включая нормальную ткань и ткань рака толстой кишки, индивидуума. В некоторых вариантах осуществления генетическая aberrация присутствует только в ткани рака толстой кишки индивидуума. В некоторых вариантах осуществления генетическая aberrация присутствует только во фракции ткани рака толстой кишки.

**[0156]** В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает мутацию mTOR-ассоциированного гена, включая, но этим не ограничиваясь, делецию, сдвиг рамки считывания, включение, вставку, миссенс-мутацию, нонсенс-мутацию, точечную мутацию, однонуклеотидную вариацию (SNV), молчащую мутацию, мутацию сайта сплайсинга, сплайсинговый вариант, и транслокацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутация может представлять собой мутацию потери функции для сигнального пути негативного регулятора mTOR или мутацию усиления функции сигнального пути позитивного регулятора mTOR.

**[0157]** В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает изменение числа копий mTOR-ассоциированного гена. Обычно на геном приходится две копии каждого mTOR-ассоциированный гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения число копий mTOR-ассоциированного гена амплифицируется генетической абберрацией, что приводит, по меньшей мере, к 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более копиям mTOR-ассоциированного гена в геноме. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация mTOR-ассоциированного гена приводит к потере одной или обеих копий mTOR-ассоциированного гена в геноме. В некоторых вариантах осуществления изобретения изменение числа копий mTOR-ассоциированного гена представляет собой потерю гетерозиготности mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения изменение числа копий mTOR-ассоциированного гена представляет собой делецию mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения изменение числа копий mTOR-ассоциированного гена вызвано структурной перестройкой генома, включая делеции, дупликации, инверсию и транслокацию хромосомы или ее фрагмента.

**[0158]** В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает абберрантную эпигенетическую характеристику, связанную с mTOR-ассоциированным геном, включая, но не ограничиваясь этим, ДНК метилирование, гидроксиметилирование, абберрантное связывание гистонов, ремоделирование хроматина и тому подобное. В некоторых вариантах осуществления изобретения промотор mTOR-ассоциированного гена является гиперметилированным у индивидуума, например, по меньшей мере на около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более по сравнению с контрольным уровнем (таким как клинически приемлемый нормальный уровень в стандартизированном тесте).

**[0159]** В некоторых вариантах осуществления изобретения абберрация активации mTOR представляет собой генетическую абберрацию (например, мутацию или изменение числа копий) в каком-либо из mTOR-ассоциированных генов, описанных выше. В некоторых вариантах осуществления изобретения абберрация активации mTOR представляет собой мутацию или изменение числа копий в одном или более генов, выбранных из AKT1, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, PTEN, TP53, FGFR4 и VAP1.

**[0160]** Генетические абберрации в mTOR-ассоциированных генах были выявлены при различных раковых заболеваниях человека, включая наследственные раковые заболевания и спорадические раковые заболевания. Например, мутации, инактивирующие зародышевую линию в TSC1/2, вызывают туберозный склероз, и у пациентов с этим заболеванием присутствуют поражения, которые включают гамматомы кожи и головного мозга, почечные ангиомиолипомы и почечно-клеточный рак (RCC) (Krymskaya VP et al. 2011 FASEB Journal 25(6): 1922-1933). Синдром опухоли гамартомы PTEN (PHTS) связан с инактивацией мутаций PTEN зародышевой линии и связан с целым рядом клинических проявлений, включая рак молочной железы, рак эндометрия, фолликулярный рак

щитовидной железы, гамартомы и RCC (Legendre C. et al. 2003 Transplantation proceedings 35(3 Suppl): 151S-153S). Кроме того, было показано, что спорадический рак почки содержит соматические мутации в нескольких генах в пути PI3K-Akt-mTOR (например, AKT1, MTOR, PIK3CA, PTEN, RHEB, TSC1, TSC2) (Power LA, 1990 Am. J. Hosp. Pharm. 475,5: 1033-1049; Badesch DB et al. 2010 Chest 137(2): 376-387l; Kim JC & Steinberg GD, 2001, The Journal of urology, 165(3): 745-756; McKiernan J. et al. 2010, J. Urol. 183 (Suppl 4)). Из 50 наиболее значительных мутаций генов, идентифицированных в Атласе ракового генома в почечно-клеточном раке прозрачных клеток, частота мутаций составляет около 17% для мутаций генов, которые сходятся при активации mTORC1 (Cancer Genome Atlas Research Network. «Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma». 2013 Nature 499: 43-49). Обнаружено, что генетические aberrации в генах, связанных с mTOR, придают индивидуумам, страдающим раком, восприимчивость к лечению препаратом лимуса. Смотри, например, Wagle et al., N. Eng. J. Med. 2014, 371:1426-33; Iyer et al., Science 2012, 338: 221; Wagle et al. Cancer Discovery 2014, 4:546-553; Grabiner et al., Cancer Discovery 2014, 4:554-563; Dickson et al. Int J. Cancer 2013, 132(7): 1711-1717, и Lim et al, J Clin. Oncol. 33, 2015 suppl; abstr 11010). Генетические aberrации mTOR-ассоциированных генов, описанные в приведенных выше ссылках, включены в настоящий документ. Примеры генетических aberrаций в некоторых mTOR-ассоциированных генах описаны ниже, и понятно, что настоящая заявка не ограничивается примерами генетических aberrаций, описанных в настоящем документе.

**[0161]** В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает генетическую aberrацию в MTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация включает активирующую мутацию MTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения активирующая мутация MTOR находится в одном или нескольких положениях (например, в любом из 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более положениях) в последовательности белка MTOR, выбранная из группы, состоящей из N269, L1357, N1421, L1433, A1459, L1460, C1483, E1519, K1771, E1799, F1888, I1973, T1977, V2006, E2014, I2017, N2206, L2209, A2210, S2215, L2216, R2217, L2220, Q2223, A2226, E2419, L2431, I2500, R2505 и D2512. В некоторых вариантах осуществления изобретения активирующая мутация MTOR представляет собой одну или более миссенс-мутаций (например, около 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более мутаций), выбранных из группы, состоящей из N269S, L1357F, N1421D, L1433S, A1459P, L1460P, C1483F, C1483R, C1483W, C1483Y, E1519T, K1771R, E1799K, F1888I, F1888I L, I1973F, T1977R, T1977K, V2006I, E2014K, I2017T, N2206S, L2209V, A2210P, S2215Y, S2215F, S2215P, L2216P, R2217W, L2220F, Q2223K, A2226S, E2419K, L2431P, I2500M, R2505P и D2512H. В некоторых вариантах осуществления изобретения активирующая мутация MTOR нарушает связывание MTOR с RHEB. В некоторых вариантах осуществления изобретения активирующая мутация MTOR нарушает связывание MTOR с DEPTOR.

**[0162]** В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает генетическую aberrацию в TSC1 или TSC2. В некоторых вариантах

осуществления изобретения генетическая абберрация включает потерю гетерозиготности TSC1 или TSC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает потерю функциональной мутации в TSC1 или TSC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функциональной мутации представляет собой мутацию со сдвигом рамки считывания или нонсенс-мутация в TSC1 или TSC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функциональной мутации представляет собой мутацию со сдвигом рамки считывания с.1907\_1908del в TSC1. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функциональной мутации представляет собой сплайсинговый вариант TSC1: с.1019+1G>A. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функциональной мутации представляет собой нонсенс-мутацию с.1073G>A в TSC2 и/или р.Trp103\* в TSC1. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функциональной мутации включает миссенс-мутацию в TSC1 или в TSC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения миссенс-мутация находится в положении A256 TSC1 и/или Y719 TSC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения миссенс-мутация включает A256V в TSC1 или Y719H в TSC2.

**[0163]** В некоторых вариантах осуществления изобретения абберрация активации mTOR включает генетическую абберрацию в RHEB. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает потерю функциональной мутации в RHEB. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функциональной мутации находится в одном или нескольких положениях в последовательности белка RHEB, выбранной из Y35 и E139. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функции мутации в RHEB выбрана из Y35N, Y35C, Y35H и E139K.

**[0164]** В некоторых вариантах осуществления изобретения абберрация активации mTOR включает генетическую абберрацию в NF1. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает потерю функции мутации в NF1. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функции мутации в NF1 представляет собой миссенс-мутацию в положении D1644 в NF1. В некоторых вариантах осуществления изобретения миссенс-мутация представляет собой D1644A в NF1.

**[0165]** В некоторых вариантах осуществления изобретения абберрация активации mTOR включает генетическую абберрацию в NF2. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает потерю функции мутации в NF2. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функции мутации в NF2 представляет собой нонсенс-мутацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения нонсенс-мутация в NF2 представляет собой с.863C>G.

**[0166]** В некоторых вариантах осуществления изобретения абберрация активации mTOR включает генетическую абберрацию в PTEN. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает делецию PTEN в геноме. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая абберрация включает потерю

функциональной мутации в PTEN. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функциональной мутации включает миссенс-мутацию, нонсенс-мутацию или мутацию со сдвигом рамки считывания. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутация включает в положении в PTEN, выбранную из группы, включающей K125E, K125X, E150Q, D153Y D153N K62R, Y65C, V217A и N323K. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация включает потерю гетерозиготности (LOH) в локусе PTEN.

**[0167]** В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает генетическую aberrацию в PI3K. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация включает потерю функциональной мутации в PIK3CA или PIK3CG. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функциональной мутации включает миссенс-мутацию в положении в PIK3CA, выбранную из группы, включающей E542, I844 и H1047. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функциональной мутации включает миссенс в PIK3CA, выбранную из группы, включающей E542K, I844V и H1047R.

**[0168]** В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает генетическую aberrацию в AKT1. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация включает активирующую мутацию в AKT1. В некоторых вариантах осуществления изобретения активирующая мутация представляет собой миссенс-мутацию в положении H238 в AKT1. В некоторых вариантах осуществления изобретения миссенс-мутация представляет собой H238Y в AKT1.

**[0169]** В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR включает генетическую aberrацию в TP53. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация включает потерю функциональной мутации в TP53. В некоторых вариантах осуществления изобретения потеря функциональной мутации представляет собой мутацию со сдвигом рамки считывания в TP53, такую как A39fs\*5.

**[0170]** Генетические aberrации mTOR-ассоциированных генов могут быть оценены на основе образца, например, образца от индивидуума и/или контрольного образца. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой образец ткани или нуклеиновые кислоты, выделенные из образца ткани. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой образец клеток (например, образец CTC) или нуклеиновые кислоты, выделенные из образца клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой биопсию опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой образец опухоли или нуклеиновые кислоты, выделенные из образца опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой образец биопсии или нуклеиновые кислоты, выделенные из образца биопсии. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой фиксированный в формалине парафинизированный (FFPE) образец или нуклеиновые кислоты, выделенные из образца FFPE. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой

образец крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения бесклеточная ДНК выделена из образца крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения биологический образец представляет собой образец плазмы или нуклеиновые кислоты, выделенные из образца плазмы.

**[0171]** Генетические aberrации mTOR-ассоциированного гена могут быть определены любым способом, известным в данной области. Смотри, например, Dickson et al. *Int. J. Cancer*, 2013, 132(7): 1711-1717; Wagle N. *Cancer Discovery*, 2014, 4:546-553; и Cancer Genome Atlas Research Network. *Nature* 2013, 499: 43-49). Типичные способы включают, но не ограничиваются ими, секвенирование геномной ДНК, бисульфитное секвенирование или другие методы, основанные на секвенировании ДНК, с использованием секвенирования по Сэнгеру или секвенирования следующего поколения; анализы полимеразной цепной реакции; анализы гибридизации *in situ* и ДНК-микрочипы. Эпигенетические особенности (такие как метилирование ДНК, связывание гистонов или модификации хроматина) одного или нескольких mTOR-ассоциированных генов из образца, выделенного от индивидуума, можно сравнить с эпигенетическими особенностями одного или нескольких mTOR-ассоциированных генов из контрольного образца. Молекулы нуклеиновой кислоты, выделенные из образца, могут быть секвенированы или проанализированы на наличие генетических aberrаций активации mTOR относительно эталонной последовательности, такой как последовательности дикого типа AKT1, FLT-3, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, TP53, FGFR4, VAP1, KRAS, NRAS и PTEN.

**[0172]** В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация mTOR-ассоциированного гена оценивается с помощью методов секвенирования бесклеточной ДНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация mTOR-ассоциированного гена оценивается с помощью секвенирования следующего поколения. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация mTOR-ассоциированного гена, выделенного из образца крови, оценивается с помощью секвенирования следующего поколения. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация mTOR-ассоциированного гена оценивается с помощью секвенирования экзона. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация mTOR-ассоциированного гена оценивается с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ*. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация mTOR-ассоциированного гена оценивается до начала осуществления способов лечения, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация mTOR-ассоциированного гена оценивается после начала осуществления способов лечения, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения генетическая aberrация mTOR-ассоциированного гена оценивается до и после начала осуществления способов лечения, описанных в настоящем документе.

### **III. Аберрантные уровни**

**[0173]** Уровень аберрации mTOR-ассоциированного гена может относиться к уровню аберрации экспрессии или аберрантному уровню активности.

**[0174]** Уровень аберрантной экспрессии mTOR-ассоциированного гена включает увеличение или уменьшение уровня молекулы, кодируемой mTOR-ассоциированным геном по сравнению с контрольным уровнем. Молекула, кодируемая mTOR-ассоциированным геном, может включать РНК-транскрипт(ы) (такой как мРНК), изоформу(ы) белка, фосфорилированные и/или дефосфорилированные состояния изоформы белка, убиквитинированные и/или деубиквитинированные состояния изоформы белка, мембранно локализованные (например, миристоилированные, пальмитоилированные и тому подобное) состояния изоформы белка, другие посттрансляционно модифицированные состояния изоформы белка или любую их комбинацию.

**[0175]** Уровень аберрантной активности mTOR-ассоциированного гена включает усиление или репрессию молекулы, кодируемой любым нижестоящим геном-мишенью mTOR-ассоциированного гена, включая эпигенетическую регуляцию, транскрипционную регуляцию, трансляционную регуляцию, посттрансляционную регуляцию или любую их комбинацию нижестоящего гена-мишени. Кроме того, активность mTOR-ассоциированного гена включает нижестоящие клеточные и/или физиологические эффекты в ответ на аберрацию активации mTOR, включая, но этим не ограничиваясь, синтез белка, рост клеток, пролиферацию, передачу сигнала, метаболизм митохондрий, биогенез митохондрий, реакцию на стресс, остановку клеточного цикла, аутофагию, организацию микротрубочек и метаболизм липидов.

**[0176]** В некоторых вариантах осуществления изобретения аберрация активации mTOR (например, уровень аберрантной экспрессии) включает уровень аберрантного фосфорилирования белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень аберрантного фосфорилирования находится в белке, кодируемом mTOR-ассоциированным геном, выбранным из группы, состоящей из АКТ, TSC2, mTOR, PRAS40, S6K, S6 и 4EBP1. Примеры фосфорилированных видов mTOR-ассоциированных генов, которые могут служить в качестве релевантных биомаркеров, включают, но этим не ограничиваются, фосфорилирование АКТ S473, фосфорилирование PRAS40 T246, фосфорилирование mTOR S2448, фосфорилирование 4EBP1 T36, фосфорилирование S6K T389, фосфорилирование 4EBP1 T70 и фосфорилирование S6 S235. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум выбирается для лечения, если белок у индивидуума фосфорилируется. В некоторых вариантах осуществления индивидуум выбирают для лечения, если белок у индивидуума не фосфорилируется. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования белка определяется иммуногистохимией.

**[0177]** Уровни (такие как уровни экспрессии и/или уровни активности) mTOR-ассоциированного гена у индивидуума могут быть определены на основе образца (например, образца от индивидуума или эталонного образца). В некоторых вариантах

осуществления изобретения образец взят из ткани, органа, клетки или опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой биологический образец. В некоторых вариантах осуществления изобретения биологический образец представляет собой образец биологической жидкости или образец биологической ткани. В других вариантах осуществления образец биологической жидкости представляет собой жидкость организма. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой ткань рака толстой кишки, нормальную ткань, смежную с указанной тканью рака толстой кишки, нормальную ткань, дистальную от указанной ткани рака толстой кишки, образец крови или другой биологический образец. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой фиксированный образец. Фиксированные образцы включают, но этим не ограничиваются, фиксированный в формалине образец, погруженный в парафин образец или замороженный образец. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой биопсию, содержащую клетки рака толстой кишки. В следующем варианте осуществления биопсия представляет собой аспирацию тонкой иглой клеток рака толстой кишки. В дополнительном варианте осуществления биопсия представляет собой лапароскопически полученные клетки рака толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные клетки центрифугируют в осадок, фиксируют и помещают в парафин. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные клетки быстро замораживают. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные клетки смешивают с антителом, которое распознает молекулу, кодируемую mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один mTOR-ассоциированный ген включает усиление или репрессию молекулы, кодируемой любым нижестоящим геном-мишенью mTOR-ассоциированного гена, включая эпигенетическую регуляцию, транскрипционную регуляцию, трансляционную регуляцию, посттрансляционную регуляцию или любую их комбинацию нижестоящего гена-мишени. Кроме того, активность mTOR-ассоциированного гена включает нижестоящие клеточные и/или физиологические эффекты в ответ на aberrацию активации mTOR, включая, но этим не ограничиваясь, синтез белка, рост клеток, пролиферацию, передачу сигнала, метаболизм митохондрий, биогенез митохондрий, реакцию на стресс, остановку клеточного цикла, аутофагию, организацию микротрубочек и метаболизм липидов.

**[0178]** В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR (например, уровень aberrантной экспрессии) включает уровень aberrантного фосфорилирования белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень aberrантного фосфорилирования имеется в белке, кодируемом mTOR-ассоциированным геном, выбранным из группы, состоящей из AKT, TSC2, mTOR, PRAS40, S6K, S6 и 4EBP1. Примеры фосфорилированных видов mTOR-ассоциированных генов, которые могут служить в качестве релевантных биомаркеров, включают, но этим не ограничиваются, фосфорилирование AKT S473, фосфорилирование PRAS40 T246,

фосфорилирование mTOR S2448, фосфорилирование 4EBP1 T36, фосфорилирование S6K T389, фосфорилирование 4EBP1 T70 и фосфорилирование S6 S235. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум выбирается для лечения, если белок у индивидуума фосфорилируется. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум выбирают для лечения, если белок у индивидуума не фосфорилируется. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования белка определяется иммуногистохимией.

**[0179]** Аберрантные уровни mTOR-ассоциированных генов были связаны с раком. Например, высокие уровни (74%) экспрессии фосфорилированного mTOR были обнаружены в массиве тканей рака мочевого пузыря человека, а интенсивность фосфорилированного mTOR была связана со снижением выживаемости (Hansel DE et al, (2010) *Am. J. Pathol.* 176: 3062-3072). Показано, что экспрессия mTOR увеличивается в зависимости от стадии заболевания при переходе от поверхностного заболевания к инвазивному раку мочевого пузыря, о чем свидетельствует активация pS6-киназы, которая была активирована в 54 из 70 случаев (77%) мышечно-инвазивной опухоли T2 мочевого пузыря (Seager CM et al, (2009) *Cancer Prev. Res. (Phila)* 2, 1008-1014). Также известно, что сигнальный путь mTOR является гиперактивированным при легочной артериальной гипертензии.

**[0180]** Уровни (такие как уровни экспрессии и/или уровни активности) mTOR-ассоциированного гена у индивидуума могут быть определены на основе образца (например, образца от индивидуума или эталонного образца). В некоторых вариантах осуществления изобретения образец взят из ткани, органа, клетки или опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой биологический образец. В некоторых вариантах осуществления изобретения биологический образец представляет собой образец биологической жидкости или образец биологической ткани. В других вариантах осуществления образец биологической жидкости представляет собой жидкость организма. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой ткань рака толстой кишки, нормальную ткань, смежную с указанной тканью рака толстой кишки, нормальную ткань, дистальную от указанной ткани рака толстой кишки, образец крови или другой биологический образец. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой фиксированный образец. Фиксированные образцы включают, но этим не ограничиваются, фиксированный в формалине образец, погруженный в парафин образец или замороженный образец. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой биопсию, содержащую клетки рака толстой кишки. В следующем варианте осуществления биопсия представляет собой аспирацию тонкой иглой клеток рака толстой кишки. В дополнительном варианте осуществления биопсия представляет собой лапароскопически полученные клетки рака толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные клетки центрифугируют в осадок, фиксируют и помещают в парафин. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные

клетки быстро замораживают. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные клетки смешивают с антителом, которое распознает молекулу, кодируемую mTOR-ассоциированным биомаркером, содержит уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном, включает усиление или репрессию молекулы, кодируемой любым нижестоящим мишеневым геном mTOR-ассоциированного гена, включая эпигенетическую регуляцию, транскрипционную регуляцию, трансляционную регуляцию, посттрансляционную регуляцию или любую их комбинацию нижестоящего гена-мишени. Кроме того, активность mTOR-ассоциированного гена включает нижестоящие клеточные и/или физиологические эффекты в ответ на aberrацию активации mTOR, включая, но этим не ограничиваясь, синтез белка, рост клеток, пролиферацию, передачу сигнала, метаболизм митохондрий, биогенез митохондрий, реакцию на стресс, остановку клеточного цикла, аутофагию, организацию микротрубочек и метаболизм липидов.

**[0181]** В некоторых вариантах осуществления изобретения aberrация активации mTOR (например, уровень aberrантной экспрессии) включает уровень aberrантного фосфорилирования белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень aberrантного фосфорилирования находится в белке, кодируемом mTOR-ассоциированным геном, выбранным из группы, состоящей из PTEN, AKT, TSC2, mTOR, PRAS40, S6K, S6 и 4EBP1. Примеры фосфорилированных видов mTOR-ассоциированных генов, которые могут служить в качестве релевантных биомаркеров, включают, но этим не ограничиваются, PTEN Thr366, Ser370, Ser380, Thr382, Thr383 и/или Ser385 фосфорилирование, фосфорилирование AKT S473, фосфорилирование PRAS40 T246, фосфорилирование mTOR S2448, фосфорилирование 4EBP1 T36, фосфорилирование S6K T389, фосфорилирование 4EBP1 T70 и фосфорилирование S6 S235. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум выбирается для лечения, если белок у индивидуума фосфорилируется. В некоторых вариантах осуществления индивидуум выбирают для лечения, если белок у индивидуума не фосфорилируется. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования белка определяется иммуногистохимией.

**[0182]** Aberrантные уровни mTOR-ассоциированных генов были связаны с раком. Например, высокие уровни (74%) экспрессии фосфорилированного mTOR были обнаружены в массиве тканей рака мочевого пузыря человека, а интенсивность фосфорилированного mTOR была связана со снижением выживаемости (Hansel DE et al, (2010) *Am. J. Pathol.* 176: 3062-3072). Показано, что экспрессия mTOR увеличивается в зависимости от стадии заболевания при переходе от поверхностного заболевания к инвазивному раку мочевого пузыря, о чем свидетельствует активация pS6-киназы, которая была активирована в 54 из 70 случаев (77%) мышечно-инвазивной опухоли T2 мочевого пузыря (Seager CM et al, (2009) *Cancer Prev. Res. (Phila)* 2, 1008-1014). Также известно, что сигнальный путь mTOR является гиперактивированным при легочной артериальной гипертензии.

**[0183]** Уровни (такие как уровни экспрессии и/или уровни активности) mTOR-ассоциированного гена у индивидуума могут быть определены на основе образца (например, образца от индивидуума или эталонного образца). В некоторых вариантах осуществления изобретения образец взят из ткани, органа, клетки или опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой биологический образец. В некоторых вариантах осуществления изобретения биологический образец представляет собой образец биологической жидкости или образец биологической ткани. В других вариантах осуществления образец биологической жидкости представляет собой жидкость организма. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой ткань рака толстой кишки, нормальную ткань, смежную с указанной тканью рака толстой кишки, нормальную ткань, дистальную от указанной ткани рака толстой кишки, образец крови или другой биологический образец. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой фиксированный образец. Фиксированные образцы включают, но этим не ограничиваются, фиксированный в формалине образец, погруженный в парафин образец или замороженный образец. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой биопсию, содержащую клетки рака толстой кишки. В следующем варианте осуществления биопсия представляет собой аспирацию тонкой иглой клеток рака толстой кишки. В дополнительном варианте осуществления биопсия представляет собой лапароскопически полученные клетки рака толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные клетки центрифугируют в осадок, фиксируют и помещают в парафин. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные клетки быстро замораживают. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсийные клетки смешивают с антителом, которое распознает молекулу, кодируемую mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения биопсия проводится, чтобы определить, есть ли у индивидуума рак толстой кишки и затем используется в качестве образца. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец содержит хирургически полученные клетки рака толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления образцы могут быть получены в другое время, чем когда происходит определение уровней экспрессии mTOR-ассоциированного гена.

**[0184]** В некоторых вариантах осуществления изобретения образец содержит циркулирующую метастатическую раковую клетку. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец получают путем сортировки циркулирующих опухолевых клеток (СТС) из крови. В некоторых других вариантах осуществления изобретения СТС отсоединились от первичной опухоли и циркулируют в жидкости организма. В некоторых других вариантах осуществления изобретения СТС отсоединились от первичной опухоли и циркулируют в кровотоке. СТС являются признаком метастазирования.

**[0185]** В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень белка, кодируемого mTOR-ассоциированным геном, определяют для оценки уровня аберрантной

экспрессии mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень белка, кодируемого нижестоящим геном-мишенью mTOR-ассоциированного гена определяют для оценки уровня aberrантной активности mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень белка определяют с использованием одного или нескольких антител, специфичных для одного или нескольких эпитопов отдельного белка или его протеолитических фрагментов. Методики обнаружения, подходящие для использования в практике изобретения, включают, но не ограничиваются ими, иммуногистохимию, фермент-связанные иммуносорбентные анализы (ELISA), вестерн-блоттинг, масс-спектроскопию и иммуно-ПЦР. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни белка (белков), кодируемых mTOR-ассоциированным геном и/или его нижестоящим мишеневым геном(ами) в образце нормализуются (например, делятся) по уровню белка «домашнего хозяйства» (такого как глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа или GAPDH) в том же образце.

**[0186]** В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень мРНК, кодируемой mTOR-ассоциированным геном, определяют для оценки уровня aberrантной экспрессии mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень мРНК, кодируемой нижестоящим геном-мишенью mTOR-ассоциированного гена определяют для оценки уровня aberrантной активности mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения для определения уровней мРНК используется анализ полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией (ОТ) (включая количественный анализ ОТ-ПЦР). В некоторых вариантах осуществления изобретения для определения уровней РНК (такой как мРНК), кодируемой mTOR-ассоциированным геном и/или его нижестоящими генами-мишенями используются генный чип или методы секвенирования следующего поколения (такие как секвенирование РНК (кДНК) или секвенирование экзона). В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень мРНК mTOR-ассоциированного гена и/или его нижестоящих генов-мишеней в образце нормализуют (например, делят) по уровню мРНК гена «домашнего хозяйства» (такого как GAPDH) в том же образце.

**[0187]** Уровни mTOR-ассоциированного гена могут быть высокими или низкими по сравнению с контролем или эталоном. В некоторых вариантах осуществления изобретения где mTOR-ассоциированный ген является положительным регулятором активности mTOR (такой как активность mTORC1 и/или mTORC2), уровень aberrации mTOR ассоциированного гена является высоким уровнем по сравнению с контролем. В некоторых вариантах осуществления изобретения, в которых mTOR-ассоциированный ген является негативным регулятором активности mTOR (такой как активность mTORC1 и/или mTORC2), уровень aberrации mTOR ассоциированного гена является низким уровнем по сравнению с контролем.

**[0188]** В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень mTOR-ассоциированного гена у индивидуума сравнивают с уровнем mTOR-ассоциированного

гена в контрольном образце. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень mTOR-ассоциированного гена у индивидуума сравнивают с уровнем mTOR-ассоциированного гена в нескольких контрольных образцах. В некоторых вариантах осуществления изобретения для генерации статистики, которая используется для классификации уровня mTOR-ассоциированного гена у индивидуума с раком толстой кишки, используются несколько контрольных образцов.

**[0189]** Классификация или ранжирование уровня (то есть высокого или низкого) mTOR-ассоциированного гена могут быть определены относительно статистического распределения контрольных уровней. В некоторых вариантах осуществления изобретения классификация или ранжирование относятся к контрольному образцу, такому как нормальная ткань (например, мононуклеарные клетки периферической крови), или образец нормальных эпителиальных клеток (например, буккальный мазок или пункция кожи), полученный от индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень mTOR-ассоциированного гена классифицируется или ранжируется относительно статистического распределения контрольных уровней. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень mTOR-ассоциированного гена классифицируется или ранжируется относительно уровня контрольного образца, полученного от индивидуума.

**[0190]** Контрольные образцы могут быть получены с использованием тех же источников и способов, что и неконтрольные образцы. В некоторых вариантах осуществления изобретения контрольный образец получают от другого индивидуума (например, индивидуума, не страдающего раком толстой кишки; индивидуума, имеющего доброкачественную или менее распространенную форму заболевания, соответствующего раку толстой кишки, и/или индивидуума, имеющего сходную этническую принадлежность, возраст и пол). В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда образец представляет собой образец опухолевой ткани, контрольный образец может представлять собой незлокачественный образец того же индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения для определения диапазона уровней mTOR-ассоциированных генов в конкретной ткани, органе или клеточной популяции используются несколько контрольных образцов (например, от разных людей).

**[0191]** В некоторых вариантах осуществления изобретения контрольный образец представляет собой культивируемую ткань или клетку, для которой определено, что она является надлежащим контролем. В некоторых вариантах осуществления изобретения контролем является клетка, у которой нет aberrации активации mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения в качестве контрольного уровня для определения aberrантного уровня mTOR-ассоциированного гена используется клинически приемлемый нормальный уровень в стандартизированном тесте. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень mTOR-ассоциированного гена или его нижестоящих генов-мишеней классифицируется у индивидуума как высокий, средний или низкий в соответствии с системой оценки, такой как система оценки на основе иммуногистохимии.

**[0192]** В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень mTOR-ассоциированного гена определяют путем определения уровня mTOR-ассоциированного гена у индивидуума и сравнения с контролем или эталоном (например, медианным уровнем для данной категории пациентов или уровнем второго индивидуума). Например, если определено, что уровень mTOR-ассоциированного гена для отдельного индивидуума выше среднего уровня для популяции пациентов, то у этого индивидуума определяется высокий уровень экспрессии mTOR-ассоциированного гена. Альтернативно, если уровень mTOR-ассоциированного гена для отдельного индивидуума определяется как ниже среднего уровня популяции пациентов, то у этого индивидуума определяется низкий уровень экспрессии mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум сравнивают со вторым индивидуумом и/или популяцией пациентов, которые восприимчивы к лечению. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум сравнивают со вторым индивидуумом и/или популяцией пациентов, которые не восприимчивы к лечению. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни определяют путем измерения уровня нуклеиновой кислоты, кодируемой mTOR-ассоциированным геном и/или его нижестоящим геном-мишенью. Например, если определено, что уровень молекулы (такой как мРНК или белок), кодируемой mTOR-ассоциированным геном, для отдельного индивидуума выше среднего уровня в популяции пациентов, то этот индивидуум имеет высокий уровень молекулы (такой как мРНК или белок), кодируемой mTOR-ассоциированным геном. Альтернативно, если определено, что уровень молекулы (такой как мРНК или белок), кодируемой mTOR-ассоциированным геном, у отдельного индивидуума ниже среднего уровня популяции пациентов, то этот индивидуум имеет низкий уровень молекулы (такой как мРНК или белок), кодируемой mTOR-ассоциированным геном.

**[0193]** В некоторых вариантах осуществления изобретения контрольный уровень mTOR-ассоциированного гена определяют путем получения статистического распределения уровней mTOR-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень mTOR-ассоциированного гена классифицируется или ранжируется относительно контрольных уровней или статистического распределения контрольных уровней.

**[0194]** В некоторых вариантах осуществления изобретения для определения и классификации уровней mTOR-ассоциированного гена, включая уровни нижестоящих генов-мишеней mTOR-ассоциированного гена в качестве меры уровня активности mTOR-ассоциированного гена, используются способы биоинформатики. Для оценки профилей экспрессии набора генов с использованием данных профилирования экспрессии генов были разработаны многочисленные биоинформатические подходы. Способы включают, но этим не ограничиваются такие, которые описаны в работах Segal, E. et al. *Nat. Genet.* 34:66-176 (2003); Segal, E. et al. *Nat. Genet.* 36:1090-1098 (2004); Barry, W. T. et al. *Bioinformatics* 21:1943-1949 (2005); Tian, L. et al. *Proc Nat'l Acad Sci USA* 102:13544-13549

(2005); Novak B A and Jain A N. *Bioinformatics* 22:233-41 (2006); Maglietta R et al. *Bioinformatics* 23:2063-72 (2007); Bussemaker H J, *BMC Bioinformatics* 8 Suppl 6:S6 (2007).

**[0195]** В некоторых вариантах осуществления изобретения контрольным уровнем является заранее определенный пороговый уровень. В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют уровень мРНК, и низким уровнем является уровень мРНК, меньший, чем примерно в 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,01, 0,005, 0,002, 0,001 или менее раз от того, который считается клинически нормальным, или уровня, полученного в контроле. В некоторых вариантах осуществления высокий уровень представляет собой уровень мРНК больший, чем примерно в 1,1, 1,2, 1,3, 1,5, 1,7, 2, 2,2, 2,5, 2,7, 3, 5, 7, 10, 20, 50, 70, 100, 200, 500, 1000 раз, или более чем в 1000 раз, от того, который считается клинически нормальным, или уровня, полученного в контроле.

**[0196]** В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень экспрессии белка определяют, например, с помощью вестерн-блоттинга или твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Например, критерии для низких или высоких уровней могут быть сделаны на основе общей интенсивности полосы на белковом геле, соответствующей белку, кодируемому mTOR-ассоциированным геном, который блотируется антителом, которое специфически распознает белок, кодируемый mTOR-ассоциированным геном, и нормализованной (такой как разделенной) полосы на том же белковом геле того же образца, соответствующего белку «домашнего хозяйства» (например, GAPDH), который блотируется антителом, которое специфически распознает белок «домашнего хозяйства» (такой как GAPDH). В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень белка является низким, если уровень белка меньший, чем примерно в 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,01, 0,005, 0,002, 0,001 или менее раз от того, который считается клинически нормальным, или уровня, полученного в контроле. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень белка является высоким, если уровень белка больший, чем примерно в 1,1, 1,2, 1,3, 1,5, 1,7, 2, 2,2, 2,5, 2,7, 3, 5, 7, 10, 20, 50 или 100 раз, или более чем 100 раз, от того, который считается клинически нормальным, или уровня, полученного в контроле.

**[0197]** В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень экспрессии белка определяется, например, иммуногистохимией. Например, критерии для низких или высоких уровней могут быть сделаны на основе количества положительно окрашенных клеток и/или интенсивности окрашивания, например, с использованием антитела, которое специфически распознает белок, кодируемый mTOR-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень является низким, если менее чем около 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50% клеток имеют положительное окрашивание. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень является низким, если окрашивание составляет 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50% менее интенсивно, чем положительное контрольное окрашивание. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень является высоким, если более

чем около 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% или 90% клеток имеют положительное окрашивание. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень является высоким, если окрашивание является таким же интенсивным, как положительное контрольное окрашивание. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень является высоким, если окрашивание составляет 80%, 85% или 90% такой же интенсивности, как положительное контрольное окрашивание.

**[0198]** В некоторых вариантах осуществления изобретения оценка основана на «H-score», как описано в публикации патента США № 2013/0005678. H-score получают по формуле:  $3 \times \text{процент клеток с сильным окрашиванием} + 2 \times \text{процент клеток с умеренным окрашиванием} + \text{процент клеток со слабым окрашиванием}$ , что дает диапазон от 0 до 300.

**[0199]** В некоторых вариантах осуществления сильное окрашивание, умеренное окрашивание и слабое окрашивание представляют собой откалиброванные уровни окрашивания, при этом устанавливается диапазон, и интенсивность окрашивания ограничивается в пределах диапазона. В некоторых вариантах осуществления изобретения сильное окрашивание окрашивает выше 75-го перцентиля диапазона интенсивности, умеренное окрашивание окрашивает от 25-го до 75-го перцентиля диапазона интенсивности, а слабое окрашивание окрашивает окрашивание ниже 25-го перцентиля диапазона интенсивности. В некоторых аспектах специалист в данной области техники, знакомый с конкретной техникой окрашивания, регулирует размер ячейки и определяет категории окрашивания.

**[0200]** В некоторых вариантах осуществления изобретения метка с высоким окрашиванием определяется там, где более 50% окрашенных клеток проявляют сильную реактивность, метка без окрашивания определяется там, где окрашивание не наблюдается у менее чем 50% окрашенных клеток, и метка с низким окрашиванием определяется для всех других случаев.

**[0201]** В некоторых вариантах осуществления изобретения оценка и/или обсчет генетической аберрации или уровня mTOR-ассоциированного гена в образце, у пациента и т. д. выполняется одним или несколькими опытными клиницистами, то есть теми, кто имеет опыт работы с экспрессией mTOR-ассоциированного гена и паттернами окрашивания mTOR-ассоциированного генного продукта. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения клиницист(ы) не знает клинических характеристик и результатов для образцов, пациентов и т. д., которые оцениваются и обсчитываются.

**[0202]** В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют уровень фосфорилирования белка. Статус фосфорилирования белка может быть оценен в образцах из различных источников. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой биопсию опухоли. Статус фосфорилирования белка может быть оценен различными способами. В некоторых вариантах осуществления изобретения статус фосфорилирования оценивается с помощью иммуногистохимии. Статус фосфорилирования белка может быть сайт-специфическим. Статус фосфорилирования белка может сравниваться с контрольным образцом. В некоторых вариантах

осуществления изобретения статус фосфорилирования оценивается до начала осуществления способов лечения, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения статус фосфорилирования оценивается после начала осуществления способов лечения, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения статус фосфорилирования оценивается до и после начала осуществления способов лечения, описанных в настоящем документе.

**[0203]** Далее в настоящем документе предложены способы направленного лечения рака толстой кишки путем доставки образца в диагностическую лабораторию для определения уровня mTOR-ассоциированного гена; предоставление контрольного образца с известным уровнем mTOR-ассоциированного гена; обеспечение антитела к молекуле, кодируемой mTOR-ассоциированным геном или антителом к молекуле, кодируемой нижестоящим геном-мишенью mTOR-ассоциированного гена; индивидуальное контактирование образца и контрольного образца с антителом и/или обнаружение относительного количества связывания антитела, причем уровень образца используется для получения заключения о том, что пациенту следует пройти лечение каким-либо способом, из описанных в настоящем документе.

**[0204]** Также в настоящем документе предложены способы направленного лечения рака толстой кишки, дополнительно включающие обзор или анализ данных, относящихся к статусу (например, наличию/отсутствию или уровню) аберрации активации mTOR в образце; и предоставление человеку, такому как поставщик медицинских услуг или менеджер по медицинскому обслуживанию, заключения о вероятности или способности индивидуума воспринимать лечение, причем заключение основывается на обзоре или анализе данных. В одном аспекте изобретения выводом является передача данных по сети.

#### ***IV. Биомаркеры резистентности***

**[0205]** Генетические аберрации и аберрантные уровни определенных генов могут быть связаны с устойчивостью к способам лечения, описанным в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум, имеющий аберрацию (такую как генетическая аберрация или уровень аберрации) в биомаркере устойчивости, исключается из способов лечения с использованием наночастиц ингибитора mTOR, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения статус биомаркеров резистентности в сочетании со статусом одной или нескольких mTOR-активирующих аберраций используется в качестве основы для выбора индивидуума для любого из способов лечения с использованием наночастиц ингибитора mTOR, описанных в настоящем документе.

**[0206]** Например, TFE3, известный также как фактор транскрипции, связывающийся с IGDM энхансером 3, TFEA, RCCP2, RCCX1 или bHLHe33, является фактором транскрипции, который специфически распознает и связывает последовательности E-box типа MUE3 в промоторах генов. TFE3 способствует экспрессии генов после передачи сигналов трансформирующего фактора роста бета (TGF-бета). Транслокация TFE3 была связана с почечно-клеточным раком и другими видами рака. В

некоторых вариантах осуществления изобретения последовательность нуклеиновой кислоты гена TFE3 дикого типа идентифицируется по инвентарному номеру Genbank NC\_000023.11 от нуклеотида 49028726 до нуклеотида 49043517 цепи комплемента хромосомы X согласно сборке GRCh38.p2 генома человека. Типичные транслокации TFE3, которые могут быть связаны с устойчивостью к лечению с использованием наночастиц ингибитора mTOR, описанных в настоящем документе, включают, но не ограничиваются этим, транслокацию Xp11, такую как t(X; 1)(p11.2; q21), t(X; 1)(p11.2; p34), (X; 17)(p11.2; q25,3) и inv(X)(p11.2; q12). Транслокация локуса TFE3 может быть оценена с использованием иммуногистохимических методов или флуоресцентной гибридизации in situ (FISH).

**В. Характеризуемый на основе биомаркера благоприятный ответ на лечение анти-VEGF антителом.**

[0207] В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий введение индивидууму а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; б) эффективного количества анти-VEGF антитела и с) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где индивидуум выбран для лечения на основе по меньшей мере одного биомаркера, указывающего на благоприятный ответ на лечение анти-VEGF антителом. В некоторых вариантах осуществления изобретения биомаркер содержит aberrацию в гене, которая влияет на реакцию на лечение у индивидуума рака толстой кишки анти-VEGF антителом (далее также называемым как «VEGF-ассоциированный ген»). В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один VEGF-ассоциированный биомаркер включает мутацию VEGF-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один VEGF-ассоциированный биомаркер включает изменение числа копий VEGF-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один VEGF-ассоциированный биомаркер включает уровень aberrантной экспрессии VEGF-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один VEGF-ассоциированный биомаркер включает уровень aberrации активности VEGF-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один VEGF-ассоциированный биомаркер включает уровень aberrации фосфорилирования белка, кодируемого VEGF-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения VEGF-ассоциированный ген выбран из группы, включающей гены, кодирующие VEGF, VEGFR1, PlGF, лактатдегидрогеназу (LDH) A, Glut1, HIF1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, хемокин, полученный из макрофагов, EGF, белок несоответствия (MMR), CCL18, кадгерин 12 (CDH12), VE-кадгерин, N-кадгерин и богатый лейцином альфа-2-гликопротеин 1 (LRG1). В некоторых вариантах осуществления изобретения биомаркер выбран из группы, включающей кровяное давление, циркулирующий VEGF, экспрессию VEGF в раковой ткани, циркулирующий PlGF, растворимые рецепторы VEGF, уровень мРНК внутри опухоли VEGFR1,

лактатдегидрогеназу (LDH) A, Glut1, или HIF1 $\alpha$ , уровень LDH в сыворотке, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, хемокин, происходящий из макрофагов, или EGF, полиморфизм IL-8A-251T, количество циркулирующих эндотелиальных клеток или происходящих из костного мозга предшественников циркулирующих эндотелиальных клеток, плотность микрососудов или сосудов (например, измеренную с помощью CD31), события передачи сигналов эндотелия (такие как состояние фосфорилирования ERK и состояние фосфорилирования АКТ в эндотелиальных клетках опухоли), микроРНК-107, микроРНК-145, микроРНК-17-92, микроРНК-194, белок несоответствия (MMR), инфильтрацию опухоли, связанную с макрофагами (TAM), CCL18, мобилизацию иммунных клеток (таких как MDSC или TAM), частоту микросателлитов, кадгерин 12 (CDH12), VE-кадгерин, N-кадгерин и богатый лейцином альфа-2-гликопротеин 1 (LRG1).

**[0208]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий: (a) оценку по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера у индивидуума; и (b) введение индивидууму i) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где индивидуум выбран для лечения на основе наличия по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера.

**[0209]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий: (a) оценку по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера у индивидуума; (b) выбор (например, идентификацию или рекомендацию) индивидуума для лечения на основе выбора индивидуума, имеющего по меньшей мере один VEGF-ассоциированный биомаркер; и (c) введение индивидууму i) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX.

**[0210]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ выбора (включая идентификацию или рекомендацию) индивидуума, имеющего рак толстой кишки, для лечения с помощью i) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где способ включает (a) оценку по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера у индивидуума и (b) выбор или рекомендацию индивидуума для лечения на основе наличия у индивидуума по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера.

**[0211]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ выбора (включая идентификацию или рекомендацию) и лечения индивидуума, имеющего рак толстой кишки, где способ включает (a) оценку по меньшей мере одного VEGF-

ассоциированного биомаркера у индивидуума; (b) выбор или рекомендацию индивидуума для лечения на основе наличия у индивидуума по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера и (c) введение индивидууму i) эффективного количества композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX.

**[0212]** Также в настоящем документе предложены способы оценки того, будет ли индивидуум с раком толстой кишки с большей вероятностью отвечать или с меньшей вероятностью отвечать на лечение, на основе наличия у индивидуума по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера, где лечение включает i) эффективное количество композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективное количество анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективный режим FOLFOX; где способ включает оценку по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает введение индивидууму, который определен как вероятно отвечающий на лечение i) эффективного количества композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера указывает на то, что индивидуум с большей вероятностью отреагирует на лечение, и отсутствие по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера указывает на то, что индивидуум с меньшей вероятностью отреагирует на лечение. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество VEGF определяют на основе наличия у индивидуума по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера.

**[0213]** Также в настоящем документе предложены способы лечения корректирующей терапией индивидуума с раком толстой кишки, получающего i) эффективное количество композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективное количество анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективный режим FOLFOX, где способ включает оценку по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера в образце, полученном от индивидуума, и корректировку терапевтического лечения на основе наличия у индивидуума по меньшей мере одного VEGF-ассоциированного биомаркера. В некоторых вариантах осуществления изобретения корректируют количество анти-VEGF антитела.

**С. Характеризуемый на основе биомаркера благоприятный ответ на лечение режимом FOLFOX.**

**[0214]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий введение индивидууму а)

эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; b) эффективного количества анти-VEGF антитела и c) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где индивидуум выбран для лечения на основе по меньшей мере одного биомаркера, указывающего на благоприятный ответ на лечение с помощью FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения биомаркер содержит аберрацию в гене, которая влияет на реакцию на лечение рака у индивидуума толстой кишки с помощью FOLFOX (далее также называемым как «FOLFOX-ассоциированный ген»). В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один FOLFOX-ассоциированный биомаркер включает мутацию FOLFOX-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один FOLFOX-ассоциированный биомаркер включает изменение числа копий FOLFOX-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один FOLFOX-ассоциированный биомаркер включает уровень аберрантной экспрессии FOLFOX-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один FOLFOX-ассоциированный биомаркер включает уровень аберрации активности FOLFOX-ассоциированного гена. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один FOLFOX-ассоциированный биомаркер включает уровень аберрации фосфорилирования белка, кодируемого FOLFOX-ассоциированным геном. В некоторых вариантах осуществления изобретения FOLFOX-ассоциированный ген выбран из группы, включающей гены, кодирующие тимидилатсинтазу (TS), тимидинфосфорилазу (TP), дигидропиримидиндегидрогеназу (DPD), UDP-глюкуронозилтрансферазу 1A1 (UGT1A1) и группу 1 перекрестной комплементации эксцизионной репарации (ERCC1). В некоторых вариантах осуществления изобретения биомаркер выбран из группы, включающей тимидилатсинтазу (TS) в опухоли, полиморфизм в TS (например, полиморфизм в области промоторного энхансера TS (TSER, например, варианты 3R и 2R), потерю гетерозиготности (LOH) в локусе TS), тимидинфосфорилазу (TP), дигидропиримидиндегидрогеназу (DPD), UDP-глюкуронозилтрансферазу 1A1 (UGT1A1), полиморфизм UGT1A1 (такой как полиморфизм \*28 или \*6), экспрессию перекрестной комплементации репарации эксцизионной группы 1 (ERCC1) и полиморфизм ERCC118 (такой как ERCC1-1, такой как ERCC1-1), XPD-751, XPG Arg1104His).

**[0215]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий: (a) оценку по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера у индивидуума и (b) введение индивидууму i) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где индивидуум выбран для лечения на основе наличия по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера.

**[0216]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий: (a) оценку по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера у индивидуума; (b) выбор (например, идентификацию или рекомендацию) индивидуума для лечения на основе индивидуума, имеющего по меньшей мере один FOLFOX-ассоциированный биомаркер; и (c) введение индивидууму i) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX.

**[0217]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ выбора (включая идентификацию или рекомендацию) индивидуума, имеющего рак толстой кишки для лечения с помощью i) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX, где способ включает (a) оценку по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера у индивидуума и (b) выбор или рекомендацию индивидуума для лечения на основе наличия у индивидуума по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера.

**[0218]** В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ выбора (включая идентификацию или рекомендацию) и лечения индивидуума, имеющего рак толстой кишки, где способ включает (a) оценку по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера у индивидуума; (b) выбор или рекомендацию индивидуума для лечения на основе наличия у индивидуума по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера; и (c) введение индивидууму i) эффективного количества композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX.

**[0219]** Также в настоящем документе предложены способы оценки того, будет ли индивидуум с раком толстой кишки с большей вероятностью отвечать или с меньшей вероятностью отвечать на лечение на основе наличия у индивидуума по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера, где лечение включает i) эффективное количество композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективное количество анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективный режим FOLFOX; где способ включает оценку по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ дополнительно включает введение индивидууму, который определен как вероятно отвечающий на лечение i) эффективного количества композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин; ii) эффективного

количества анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективного режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера указывает на то, что индивидуум с большей вероятностью отреагирует на лечение, и отсутствие по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера указывает на то, что индивидуум с меньшей вероятностью отреагирует на лечение. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX определяется на основе наличия у индивидуума по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера.

**[0220]** Также в настоящем документе предложены способы лечения корректирующей терапией индивидуума с раком толстой кишки, получающего i) эффективное количество композиции, содержащей ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) и альбумин; ii) эффективное количество анти-VEGF антитела и iii) терапевтически эффективный режим FOLFOX, где способ включает оценку по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера в образце, полученном от индивидуума, и корректировку терапевтического лечения на основе наличия у индивидуума по меньшей мере одного FOLFOX-ассоциированного биомаркера. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX модифицируют.

**[0221]** Далее рассматриваются комбинации способов, описанных в этом разделе, так что лечение индивидуума может зависеть от наличия aberrации активации mTOR и какого-либо из VEGF и FOLFOX-ассоциированных биомаркеров, описанных в настоящем документе.

#### **Композиции наночастиц**

**[0222]** Композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, содержащие (в различных вариантах осуществления, состоящие по существу или состоящие из) ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) и альбумин (например, человеческий сывороточный альбумин). Наночастицы плохо растворимых в воде лекарственных средств (таких как макролиды) были описаны, например, в патентах США №№ 5916596; 6506405; 6749868, 6537579, 7820788 и 8911786, а также в публикациях патентов США №№ 2006/0263434 и 2007/0082838; в заявке на патент PCT W008/137148, все они полностью включены в настоящее описание посредством ссылки.

**[0223]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция включает наночастицы с усредненным или средним диаметром не более чем около 1000 нанометров (нм), например, не более чем около 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200 и 100 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненные или средние диаметры наночастиц составляют не более чем около 200 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненные или средние диаметры наночастиц составляют не более чем около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненные или средние диаметры наночастиц составляют не более чем около 100 нм. В некоторых

вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 10 до около 400 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 10 до около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 40 до около 120 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет не меньше чем около 50 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения наночастицы стерильно фильтруются.

**[0224]** В некоторых вариантах осуществления изобретения наночастицы в композиции, описанной в настоящем документе, имеют средний диаметр не более чем около 200 нм, включая, например, не более чем около 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 70 или 60 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере около 50% (например, по меньшей мере около 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99%) наночастиц в композиции имеют диаметр не более чем около 200 нм, включая, например, не более чем около 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 70 или 60 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере около 50% (например, по меньшей мере any one of 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, или 99%) наночастиц в композиции попадают в диапазон от около 10 нм до около 400 нм, включая, например, от около 10 нм до около 200 нм, от около 20 нм до около 200 нм, от около 30 нм до около 180 нм, от около 40 нм до около 150 нм, от около 40 нм до около 120 нм и от около 60 нм до около 100 нм.

**[0225]** В некоторых вариантах осуществления изобретения альбумин имеет сульфгидрильные группы, которые могут образовывать дисульфидные связи. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере около 5% (включая, например, по меньшей мере около 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%) альбумина в части из наночастиц композиции являются сшитыми (например, сшиты одной или несколькими дисульфидными связями).

**[0226]** В некоторых вариантах осуществления изобретения наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus или его производное), ассоциированы (например, покрыты) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция включает ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) как в виде наночастиц, так и не в виде наночастиц (например, в виде растворов или в виде растворимых комплексов альбумин/наночастицы), где по меньшей мере около 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% ингибитора mTOR в композиции находятся в виде наночастиц. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) в наночастицах составляет более чем около 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% наночастиц по массе. В некоторых вариантах осуществления изобретения наночастицы имеют неполимерную

матрицу. В некоторых вариантах осуществления изобретения наночастицы содержат ядро ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), которое по существу не содержит полимерных материалов (таких как полимерная матрица).

**[0227]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит альбумин как в части из наночастиц композиции, так и в части не из наночастиц композиции, где по меньшей мере около 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% альбумина в композиции содержатся в части не из наночастиц композиции.

**[0228]** В некоторых вариантах осуществления изобретения массовое соотношение альбумина (например, человеческого альбумина или человеческого сывороточного альбумина) и ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет около 18:1 или менее, например, около 15:1 или менее, например, около 10:1 или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения массовое соотношение альбумина (например, человеческого альбумина или человеческого сывороточного альбумина) и ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции попадает в диапазон от около 1:1 до около 18:1, от около 2:1 до около 15:1, от около 3:1 до около 13:1, от около 4:1 до около 12:1, от около 5:1 до около 10:1. В некоторых вариантах осуществления изобретения массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в части из наночастиц композиции составляет около 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:9, 1:10, 1:15 или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения массовое соотношение альбумина (например, человеческого альбумина или человеческого сывороточного альбумина) и ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции составляет любое из следующих: от около 1:1 до около 18:1, от около 1:1 до около 15:1, от около 1:1 до около 12:1, от около 1:1 до около 10:1, от около 1:1 до около 9:1, от около 1:1 до около 8:1, от около 1:1 до около 7:1, от около 1:1 до около 6:1, от около 1:1 до около 5:1, от около 1:1 до около 4:1, от около 1:1 до около 3:1, от около 1:1 до около 2:1, от около 1:1 до около 1:1.

**[0229]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) включает одну или несколько вышеуказанных характеристик.

**[0230]** Наночастицы, описанные в настоящем документе, могут быть в сухом составе (таком как лиофилизированная композиция) или быть суспендированы в биосовместимой среде. Подходящие биосовместимые среды включают, но не ограничиваются ими, воду, забуференные водные среды, физиологический раствор, забуференный солевой раствор, необязательно забуференные растворы аминокислот, необязательно забуференные растворы белков, необязательно забуференные растворы сахаров, необязательно забуференные растворы витаминов, необязательно забуференные растворы синтетических полимеров, липидсодержащие эмульсии и тому подобное.

**[0231]** В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтически приемлемый носитель включает альбумин (например, человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин). Альбумин может быть как природного происхождения, так и полученный синтетически. В некоторых вариантах осуществления изобретения альбумин представляет собой человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин. В некоторых вариантах осуществления альбумин представляет собой рекомбинантный альбумин.

**[0232]** Человеческий сывороточный альбумин (HSA) является высокорастворимым глобулярным белком с плотностью 65К и состоит из 585 аминокислот. HSA является наиболее распространенным белком в плазме и на 70-80% определяет коллоидно-осмотическое давление плазмы человека. Аминокислотная последовательность HSA содержит в общей сложности 17 дисульфидных мостиков, один свободный тиол (Cys 34) и один триптофан (Trp 214). Внутривенное использование раствора HSA было показано для предупреждения и лечения гиповолемического шока (см., например, Tullis, *JAMA*, 237: 355-360, 460-463, (1977) и Houser et al., *Surgery, Gynecology и Obstetrics*, 150: 811-816 (1980)) и в сочетании с обменным переливанием при лечении гипербилирубинемии новорожденных (см., например, Finlayson, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 6, 85-120, (1980)). Рассматриваются другие альбумины, такие как бычий сывороточный альбумин. Использование таких альбуминов не человека может быть целесообразным, например, в контексте использования этих композиций у млекопитающих, не являющихся человеком, например, в ветеринарии (включая домашних животных и сельскохозяйственных животных). Человеческий сывороточный альбумин (HSA) имеет многочисленные гидрофобные сайты связывания (всего восемь для жирных кислот, эндогенный лиганд HSA) и связывает разнообразный набор фармацевтических агентов, особенно нейтральных и отрицательно заряженных гидрофобных соединений (Goodman et al., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9<sup>th</sup> ed, McGraw-Hill New York (1996)). Были предложены два высокоаффинных сайта связывания в субдоменах ПА и ПИА HSA, которые представляют собой очень вытянутые гидрофобные карманы с заряженными остатками лизина и аргинина около поверхности, которая функционирует как точки связывания полярных элементов лигандов (см., например, Fehske et al., *Biochem. Pharmacol.*, 30, 687-92 (198a), Vorum, *Dan. Med. Bull.*, 46, 379-99 (1999), Kragh-Hansen, *Dan. Med. Bull.*, 1441, 131-40 (1990), Curry et al., *Nat. Struct. Biol.*, 5, 827-35 (1998), Sugio et al., *Protein. Eng.*, 12, 439-46 (1999), He et al., *Nature*, 358, 209-15 (199b), и Carter et al., *Adv. Protein. Chem.*, 45, 153-203 (1994)). Было показано, что рапамицин и пропофол связывают HSA (см., например, Paal et al., *Eur. J. Biochem.*, 268(7), 2187-91 (200a), Purcell et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 1478(a), 61-8 (2000), Altmayer et al., *Arzneimittelforschung*, 45, 1053-6 (1995), и Garrido et al., *Rev. Esp. Anestesiología. Reanim.*, 41, 308-12 (1994)). Кроме того, было показано, что доцетаксел связывается с белками плазмы человека (см., например, Urien et al., *Invest. New Drugs*, 14(b), 147-51 (1996)).

**[0233]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция, описанная в настоящем документе, по существу не содержит (например, не содержит) поверхностно-активные вещества, такие как кремофор (или полиоксиэтилированное касторовое масло, включая Cremophor EL® (BASF)). В некоторых вариантах осуществления композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) по существу не содержит (например, не содержит) поверхностно-активные вещества. Композиция «по существу не содержит кремофор» или «по существу не содержит поверхностно-активное вещество», если количество кремофора или поверхностно-активного вещества в композиции недостаточно для того, чтобы вызвать один или несколько побочных эффектов у индивидуума, когда композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) вводится индивидууму. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) содержит менее чем около 20%, 15%, 10%, 7,5%, 5%, 2,5% или 1% органического растворителя или поверхностно-активного вещества. В некоторых вариантах осуществления изобретения альбумин представляет собой человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин. В некоторых вариантах осуществления альбумин представляет собой рекомбинантный альбумин.

**[0234]** Количество альбумина в композиции, описанной в настоящем документе, будет варьироваться в зависимости от других компонентов в композиции. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция включает альбумин в количестве, достаточном для стабилизации ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в водной суспензии, например, в виде стабильной коллоидной суспензии (например, стабильной суспензии наночастиц). В некоторых вариантах осуществления изобретения альбумин находится в количестве, которое уменьшает скорость седиментации ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в водной среде. Для композиций, содержащих частицы, количество альбумина также зависит от размера и плотности наночастиц ингибитора mTOR.

**[0235]** Ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) «стабилизирован» в водной суспензии, если он остается суспендированным в водной среде (такой как без видимых осадков или седиментации) в течение длительного периода времени, например, по меньшей мере около 0,1, 0,2, 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часов. Суспензия обычно, но не обязательно, подходит для введения индивидууму (такому как человек). Стабильность суспензии обычно (но не обязательно) оценивается при температуре хранения (такой как комнатная температура (например, 20-25°C) или в условиях охлаждения (например, 4°C)). Например, суспензия является стабильной при температуре хранения, если она не проявляет флокуляцию или агрегацию частиц, видимую невооруженным глазом или при просмотре с использованием оптического микроскопа с 1000-кратным увеличением примерно через

пятнадцать минут после приготовления суспензии. Стабильность также может быть оценена в условиях ускоренного тестирования, например, при температуре около 40°C или выше.

**[0236]** В некоторых вариантах осуществления изобретения альбумин присутствует в количестве, которое является достаточным для стабилизации ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) в водной суспензии при определенной концентрации. Например, концентрация ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) в композиции составляет от около 0,1 до около 100 мг/мл, включая, например, от около 0,1 до около 50 мг/мл, от около 0,1 до около 20 мг/мл, от около 1 до около 10 мг/мл, от около 2 мг/мл до около 8 мг/мл, от около 4 до около 6 мг/мл или от около 5 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения концентрация ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) составляет по меньшей мере около 1,3 мг/мл, 1,5 мг/мл, 2 мг/мл, 3 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 15 мг/мл, 20 мг/мл, 25 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл и 50 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления альбумин присутствует в количестве, которое позволяет избежать использования поверхностно-активных веществ (таких как кремофор), так что композиция не содержит или практически не содержит поверхностно-активных веществ (таких как кремофор).

**[0237]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция в жидкой форме содержит от около 0,1% до около 50% (мас./об.) (например, около 0,5% (мас./об.), около 5% (мас./об.), около 10% (мас./об.), около 15% (мас./об.), около 20% (мас./об.), около 30% (мас./об.), около 40% (мас./об.) или около 50% (мас./об.)) альбумина. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция в жидкой форме содержит от около 0,5% до около 5% (мас./об.) альбумина.

**[0238]** В некоторых вариантах осуществления изобретения массовое отношение альбумина к ингибитору mTOR (такому как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR является таким, что достаточное количество ингибитора mTOR связывается или транспортируется клеткой. Хотя массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) должно быть оптимизировано для различных комбинаций альбумина и ингибитора mTOR, обычно массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) (мас./мас.) составляет от около 0,01:1 до около 100:1, от около 0,02:1 до около 50:1, от около 0,05:1 до около 20:1, от около 0,1:1 до около 20:1, от около 1:1 до около 18:1, от около 2:1 до около 15:1, от около 3:1 до около 12:1, от около 4:1 до около 10:1, от около 5:1 до около 9:1 или около 9:1. В некоторых вариантах осуществления изобретения массовое соотношение альбумина к ингибитору mTOR (такому как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) составляет около 18:1 или менее, 15:1 или менее, 14:1 или менее, 13:1 или менее, 12:1 или менее, 11:1 или менее, 10:1 или менее, 9:1 или менее, 8:1 или менее, 7:1 или менее, 6:1 или менее, 5:1 или менее, 4:1 или менее и

3:1 или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения массовое соотношение альбумина (например, человеческого альбумина или человеческого сывороточного альбумина) ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) в композиции является любым из следующих: от около 1:1 до около 18:1, от около 1:1 до около 15:1, от около 1:1 до около 12:1, от около 1:1 до около 10:1, от около 1:1 до около 9:1, от около 1:1 до около 8:1, от около 1:1 до около 7:1, от около 1:1 до около 6:1, от около 1:1 до около 5:1, от около 1:1 до около 4:1, от около 1:1 до около 3:1, от около 1:1 до около 2:1, от около 1:1 до около 1:1.

**[0239]** В некоторых вариантах осуществления изобретения альбумин дает возможность вводить композицию индивидууму (такому как человек) без значительных побочных эффектов. В некоторых вариантах осуществления изобретения альбумин (например, человеческий сывороточный альбумин или человеческий альбумин) находится в количестве, которое является эффективным для уменьшения одного или нескольких побочных эффектов от введения человеку ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus или его производное). Термин «уменьшение одного или нескольких побочных эффектов» от введения ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) относится к уменьшению, облегчению, устранению или предотвращению одного или нескольких нежелательных эффектов, вызванных ингибитором mTOR, а также побочных эффектов, вызванных несущими средами для доставки (такими как растворители, которые делают препараты лимус подходящими для инъекций), используемыми для доставки ингибитора mTOR. Такие побочные эффекты включают, например, миелосупрессию, нейротоксичность, гиперчувствительность, воспаление, раздражение вен, флебит, боль, раздражение кожи, периферическую невропатию, нейтропеническую лихорадку, анафилактическую реакцию, тромбоз вен, экстравазацию и их комбинации. Эти побочные эффекты, тем не менее, являются просто примерами, и могут быть уменьшены другие побочные эффекты или комбинация побочных эффектов, связанных с лекарственными препаратами лимуса (например, сиролимуса или его производного).

**[0240]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) и альбумин (например, человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 200 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus или его производное) и альбумин (например, человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые

содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин (например, человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм (например, около 100 нм). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, включают наночастицы, содержащие сиролимус и человеческий альбумин (например, человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм (например, около 100 нм). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, включают наночастицы, содержащие сиролимус и человеческий альбумин (например, человеческий сывороточный альбумин), где усредненный или средний диаметр наночастиц составляет около 10 до около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, включают наночастицы, содержащие сиролимус и человеческий альбумин (например, человеческий сывороточный альбумин), где усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 40 до около 120 нм.

**[0241]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин (например, человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 200 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин (например, человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин (например, человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр около 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, включают наночастицы, содержащие сиролимус и человеческий альбумин (например, человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм

(например, около 100 нм), где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет около 9:1 или около 8:1. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 10 нм до около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 40 нм до около 120 нм.

**[0242]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), связанный (например, покрытый) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), связанный (например, покрытый) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 200 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), связанный (например, покрытый) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), связанный (например, покрытый) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр от около 10 нм до около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), связанный (например, покрытый) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр от около 40 нм до около 120 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, включают наночастицы, содержащие сиролимус, связанный (например, покрытый) человеческим альбумином (например, человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм (например, около 100 нм). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, включают наночастицы, содержащие сиролимус, связанный (например, покрытый) человеческим альбумином (например, человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы

имеют средний диаметр от около 10 нм до около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, включают наночастицы, содержащие сиролimus, связанный (например, покрытый) человеческим альбумином (например, человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр от около 40 нм до около 120 нм.

**[0243]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus или его производное), связанный (например, покрытый) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus или его производное), связанный (например, покрытый) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 200 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus или его производное), связанный (например, покрытый) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus или его производное), связанный (например, покрытый) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр около 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, включают наночастицы, содержащие сиролimus, связанный (например, покрытый) человеческим альбумином (например, человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм (например, около 100 нм), где массовое соотношение альбумина и сиролимуса в композиции составляет около 9:1 или около 8:1. В некоторых вариантах осуществления

изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 10 нм до около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 40 нм до около 120 нм.

**[0244]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), стабилизированный альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), стабилизированный альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 200 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), стабилизированный альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), стабилизированный альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм (например, около 100 нм). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, включают наночастицы, содержащие сиролимус, стабилизированный человеческим альбумином (например, человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм (например, около 100 нм). В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 10 нм до около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 40 нм до около 120 нм.

**[0245]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), стабилизированный альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат

наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), стабилизированный альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 200 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), стабилизированный альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, содержат наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное), стабилизированный альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр около 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем около 9:1 (например, около 9:1 или около 8:1). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции наночастиц ингибитора mTOR, описанные в настоящем документе, включают наночастицы, содержащие сиролимус, стабилизированный человеческим альбумином (например, человеческим сывороточным альбумином), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем около 150 нм (например, около 100 нм), где массовое соотношение альбумина и сиролимуса в композиции составляет около 9:1 или около 8:1. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 10 нм до около 150 нм. В некоторых вариантах осуществления изобретения усредненный или средний диаметр наночастиц составляет от около 40 нм до около 120 нм.

**[0246]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR включает pab-сиролимус. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR представляет собой pab-сиролимус. Nab-сиролимус представляет собой состав сиролимуса, стабилизированный человеческим альбумином USP, который может быть непосредственно диспергирован в физиологическом растворе для инъекций. Массовое соотношение человеческого альбумина и сиролимуса составляет от около 8:1 до около 9:1. При диспергировании в подходящей водной среде, такой как 0,9% раствор для инъекций хлорида натрия или 5% раствор декстрозы, pab-сиролимус образует стабильную коллоидную суспензию сиролимуса. Средний размер частиц наночастиц в коллоидной суспензии составляет около 100 нанометров. Поскольку HSA свободно растворяется в воде, pab-сиролимус

можно восстанавливать в широком диапазоне концентраций, начиная от разбавленного (0,1 мг/мл сиролимуса или его производного) до концентрированного (20 мг/мл сиролимуса или его производного), включая, например, от около 2 мг/мл до около 8 мг/мл или около 5 мг/мл.

**[0247]** Способы изготовления композиций наночастиц известны в данной области. Например, наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) и альбумин (например, человеческий сывороточный альбумин или человеческий альбумин), могут быть получены в условиях высоких сдвиговых усилий (например, обработки ультразвуком, гомогенизация под высоким давлением или тому подобное). Эти способы описаны, например, в патентах США №№ 5916596; 6506405; 6749868, 6537579, 7820788 и 8911786, а также в публикациях патентов США №№ 2007/0082838, 2006/0263434 и заявке РСТ WO08/137148.

**[0248]** Вкратце, ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) растворяют в органическом растворителе, и раствор можно добавлять к раствору альбумина. Смесь подвергается гомогенизации под высоким давлением. Органический растворитель затем можно удалить выпариванием. Полученную дисперсию можно дополнительно лиофилизировать. Подходящий органический растворитель включает, например, кетоны, сложные эфиры, простые эфиры, хлорированные растворители и другие растворители, известные в данной области. Например, органическим растворителем может быть метилхлорид или хлороформ/этанол (например, при соотношении 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1 или 9:1).

### **Ингибитор mTOR**

**[0249]** Способы, описанные в настоящем документе в некоторых вариантах осуществления изобретения включают введение композиций наночастиц ингибитора mTORs. Термин «ингибитор mTOR», используемый в настоящем документе, относится к ингибитору mTOR. mTOR представляет собой серин-треонин-специфическую протеинкиназу, расположенную ниже пути фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)/Akt (протеинкиназа B), и является ключевым регулятором выживания, пролиферации, стресса и метаболизма клеток. Дисрегуляция пути mTOR была обнаружена во многих карциномах человека, и ингибирование mTOR вызывало существенные ингибирующие эффекты на прогрессирование опухоли.

**[0250]** Мишень рапамицина в клетках млекопитающих (mTOR) (известная также механическая мишень рапамицина или FK506 связывающий белок 12-ассоциированный с рапамицином белок 1 (FRAP1)) представляет собой атипичную серин/треониновую протеинкиназу, которая присутствует в двух различных комплексах, комплекс 1 mTOR (mTORC1) и комплекс 2mTOR (mTORC2). mTORC1 состоит из mTOR, регуляторного ассоциированного белка mTOR (Raptor), млекопитающего, летального с белком SEC13 8 (MLST8), PRAS40 и DEPTOR (Kim et al. (2002). Cell 110: 163-75; Fang et al. (2001). Science 294 (5548): 1942-5). mTORC1 объединяет четыре основных введения сигналов:

питательных веществ (таких как аминокислоты и фосфатидная кислота), факторов роста (инсулин), энергии и стресса (таких как гипоксия и повреждение ДНК). Доступность аминокислот сигнализируется mTORC1 через путь, включающий Rag и Ragulator (LAMTOR1-3). Факторы роста и гормоны (например, инсулин) передают сигнал mTORC1 через Akt, который инактивирует TSC2 для предотвращения ингибирования mTORC1. Альтернативно, низкие уровни АТФ приводят к АМПК-зависимой активации TSC2 и фосфорилированию раптора для уменьшения сигнальных белков mTORC1.

**[0251]** Активный mTORC1 обладает рядом нижестоящих биологических эффектов, включая трансляцию мРНК через фосфорилирование нижестоящих мишеней (4E-BP1 и p70 S6 киназа), подавление аутофагии (Atg13, ULK1), биогенез рибосом и активацию транскрипции, ведущую к митохондриальному метаболизму или адипогенезу. Соответственно, активность mTORC1 способствует либо клеточному росту, когда условия благоприятны, либо катаболическим процессам во время стресса, либо когда условия неблагоприятны.

**[0252]** mTORC2 состоит из mTOR, рапамицин-нечувствительного компаньона mTOR (RICTOR), GβL, и белка 1, взаимодействующего со стресс-активированной протеинкиназой млекопитающих (mSIN1). В отличие от mTORC1, для которого были определены многие восходящие сигналы и клеточные функции (см. выше), относительно мало известно о биологии mTORC2. mTORC2 регулирует организацию цитоскелета посредством стимуляции стрессовых волокон F-актина, паксиллина, RhoA, Rac1, Cdc42 и протеинкиназы Ca (PKCa). Было отмечено, что разрушение компонентов mTORC2 влияет на полимеризацию актина и нарушает морфологию клеток (Jacinto et al. (2004). *Nat. Cell Biol.* 6, 1122-1128; Sarbassov et al. (2004). *Curr. Biol.* 14, 1296-1302). Это говорит о том, что mTORC2 контролирует актиновый цитоскелет, стимулируя фосфорилирование протеинкиназы Ca (PKCa), фосфорилирование паксиллина и его перемещение в очаговые адгезии, а также загрузку GTP RhoA и Rac1. Молекулярный механизм, с помощью которого mTORC2 регулирует эти процессы, не был определен.

**[0253]** В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) представляет собой ингибитор mTORC1. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) представляет собой ингибитор mTORC2. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) представляет собой как ингибитор mTORC1, так и mTORC2.

**[0254]** В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR представляет собой препарат лимус, который включает сиролимус и его аналоги. Примеры препарата лимуса включают, но этим не ограничиваются, темсиролимус (CCI-779), эверолимус (RAD001), ридафоролимус (AP-23573), дефоролимус (МК-8669), зотаролимус (ABT-578), пимекролимус и такролимус (FK-506). В некоторых вариантах осуществления изобретения препарат лимус выбран из группы, включающей

темсиролимус (CCI-779), эверолимус (RAD001), ридафоролимус (AP-23573), дефоролимус (МК-8669), зотаролимус (АВТ-578), пимекролимус и такролимус (FK-506). В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR представляет собой ингибитор киназы mTOR, такой как СС-115 или СС-223.

**[0255]** В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR представляет собой сиролимус. Сиролимус представляет собой макролидный антибиотик, который образует комплекс с FKBP-12 и ингибирует путь mTOR, связывая mTORC1.

**[0256]** В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR выбран из группы, включающей сиролимус (рапамицин), BEZ235 (NVP-BEZ235), эверолимус (известный также как RAD001, Зортресс, Сертикан и Афинитор), AZD8055, темсиролимус (известный также как СС-779 и Торизел), СС-115, СС-223, PI-103, KU-0063794, INK 128, AZD2014, NVP-BGT226, PF-04691502, CH5132799, GDC-0980 (RG7422), Торин 1, WAY-600, WYE-125132, WYE-687, GSK2126458, PF-05212384 (PKI-587), PP-121, OSI-027, Palomid 529, PP242, XL765, GSK1059615, WYE-354 и ридафоролимус (известный также как дефоролимус).

**[0257]** BEZ235 (NVP-BEZ235) представляет собой производное имидазохилона, которое является каталитическим ингибитором mTORC1 (Roper J, et al. PLoS One, 2011, 6(9), e25132). Эверолимус представляет собой 40-О-(2-гидроксиэтил) производное сиролимуса и связывает циклофилин FKBP-12, и этот комплекс также mTORC1. AZD8055 представляет собой небольшую молекулу, которая ингибирует фосфорилирование mTORC1 (p70S6K и 4E-BP1). Темсиролимус представляет собой небольшую молекулу, которая образует комплекс с FK506-связывающим белком и запрещает активацию mTOR, когда находится в комплексе mTORC1. PI-103 представляет собой небольшую молекулу, которая ингибирует активацию чувствительного к рапамицину (mTORC1) комплекса (Knight et al. (2006) Cell. 125: 733-47). KU-0063794 представляет собой небольшую молекулу, которая ингибирует фосфорилирование mTORC1 по Ser2448 в зависимости от дозы и времени. INK 128, AZD2014, NVP-BGT226, CH5132799, WYE-687, каждый, являются низкомолекулярным ингибитором mTORC1. PF-04691502 ингибирует активность mTORC1. GDC-0980 представляет собой биодоступную для перорального приема небольшую молекулу, которая ингибирует киназу PI3 класса I и TORC1. Торин 1 является мощным низкомолекулярным ингибитором mTOR. WAY-600 является мощным АТФ-конкурентным и селективным ингибитором mTOR. WYE-125132 является АТФ-конкурентным низкомолекулярным ингибитором mTORC1. GSK2126458 является ингибитором mTORC1. PKI-587 является сильнодействующим двойным ингибитором PI3K $\alpha$ , PI3K $\gamma$  и mTOR. PP-121 является многоцелевым ингибитором PDGFR, Hck, mTOR, VEGFR2, Src и Abl. OSI-027 является селективным и сильным двойным ингибитором mTORC1 и mTORC2 с IC<sub>50</sub> 22 нМ и 65 нМ, соответственно. Паломид 529 представляет собой низкомолекулярный ингибитор mTORC1, который не обладает сродством к ABCB1/ABCG2 и имеет хорошее проникновение в мозг (Lin et al. (2013) Int J Cancer DOI: 10.1002/ijc. 28126 (опубликован в электронном виде перед публикацией). PP242 является

селективным ингибитором mTOR. XL765 является двойным ингибитором mTOR/PI3k для mTOR, p110 $\alpha$ , p110 $\beta$ , p110 $\gamma$  и p110 $\delta$ . GSK1059615 является новым двойным ингибитором PI3K $\alpha$ , PI3K $\beta$ , PI3K $\delta$ , PI3K $\gamma$  и mTOR. WYE-354 ингибирует mTORC1 в клетках HEK293 (0,2 мкМ-5 мкМ) и в клетках HUVEC (10 нМ-1 мкМ). WYE-354 является мощным специфическим и АТФ-конкурентным ингибитором mTOR. Дефоролимус (Ridaforolimus, AP23573, МК-8669) является селективным ингибитором mTOR.

### **Другие компоненты в композициях наночастиц ингибитора mTOR**

**[0258]** Наночастицы, описанные в настоящем документе могут присутствовать в композиции, которая включает другие агенты, эксципиенты или стабилизаторы. Например, для повышения стабильности за счет увеличения отрицательного дзета-потенциала наночастиц могут быть добавлены определенные отрицательно заряженные компоненты. Такие отрицательно заряженные компоненты включают, но не ограничиваются ими, желчные соли желчных кислот, состоящих из гликохолевой кислоты, холевой кислоты, хенодезоксихолевой кислоты, таурохолевой кислоты, гликохенодезоксихолевой кислоты, таурохенодезоксихолевой кислоты, литохолевой кислоты, урсодезоксихолевой кислоты, дегидрохолевой кислоты и других; фосфолипиды, включая лецитин (яичный желток) на основе фосфолипидов, которые включают в себя следующие фосфатидилхолины: пальмитоилолеоилфосфатидилхолин, пальмитоиллинолеоилфосфатидилхолин, стеариоллинолеоилфосфатидилхолин, стеарилолеоилфосфатидилхолин, стеариоарахидоилфосфатидилхолин и дипальмитоилфосфатидилхолин. Другие фосфолипиды включают L- $\alpha$ -димиристоилфосфатидилхолин (DMPC), диолеоилфосфатидилхолин (DOPC), дистеарилоилфосфатидилхолин (DSPC), фосфатидилхолин гидрогенизованной сои (HSPC) и другие родственные соединения. Отрицательно заряженные поверхностно-активные вещества или эмульгаторы также пригодны в качестве добавок, например, холестерилсульфат натрия и тому подобное.

**[0259]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция является подходящей для введения человеку. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция приемлема для введения млекопитающему, например, в ветеринарии, включая домашний скот и сельскохозяйственных животных. Существует широкий ряд подходящих составов композиций наночастиц ингибитора mTOR (таких как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) (см., например, патенты США №№ 5916596 и 6096331). Следующие композиции и способы являются просто примерами и никоим образом не являются ограничивающими. Составы, подходящие для перорального введения, могут состоять из: (a) жидких растворов, где эффективное количество соединения растворено в разбавителях, таких как вода, физиологический раствор или апельсиновый сок; (b) капсул, саше или таблеток, где каждая содержит заранее определенное количество активного ингредиента в виде твердого вещества или гранул; (c) суспензий в соответствующей жидкости и (d) приемлемых эмульсий. Таблетизированные формы могут включать одно или несколько из следующего: лактозу, маннит, кукурузный

крахмал, картофельный крахмал, микрокристаллическую целлюлозу, камедь, желатин, коллоидную двуокись кремния, кроскармелозу натрия, тальк, стеарат магния, стеариновую кислоту и другие эксципиенты, красители, разбавители, забуферивающие агенты, увлажняющие агенты, консерванты, ароматизирующие агенты и фармакологически совместимые эксципиенты. Формы для рассасывания могут включать активный ингредиент в ароматизаторе, обычно сахарозе и камеди или трагаканте, а также пастилки, содержащие активный ингредиент в инертной основе, такой как желатин и глицерин или сахароза и камедь, эмульсии, гели и подобное, содержащие помимо активного ингредиента эксципиенты, которые известны в данной области.

**[0260]** Примеры подходящих носителей, эксципиентов и разбавителей включают, но не ограничиваются ими, лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, аравийскую камедь, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, физиологический раствор, патоку, метилцеллюлозу, метил- и пропилгидроксibenзоаты, тальк, стеарат магния и минеральное масло. Составы могут дополнительно включать смазывающие агенты, увлажняющие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, консервирующие агенты, подслащивающие агенты или ароматизирующие агенты.

**[0261]** Составы, подходящие для парентерального введения, включают водные и безводные изотонические стерильные инъекционные растворы, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты и растворенные вещества, которые делают композицию совместимой с кровью предполагаемого реципиента, и водные и безводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загущающие агенты, стабилизаторы и консерванты. Составы могут быть представлены в герметичных контейнерах, содержащих лекарственное средство в дозах на один прием или для многократного приема, таких как ампулы и пробирки, и могут храниться в высушенном-замороженном (лиофилизированном) состоянии, требующем только добавления стерильного жидкого эксципиента, например, воды для инъекций, непосредственно перед использованием. Экстемпоральные инъекционные растворы и суспензии могут быть получены из стерильных порошков, гранул и таблеток описанного ранее типа. Инъецируемые композиции являются предпочтительными.

**[0262]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция составлена так, чтобы иметь диапазон pH от около 4,5 до около 9,0, включая, например, диапазоны pH от около 5,0 до около 8,0, от около 6,5 до около 7,5 и от около 6,5 до около 7,0. В некоторых вариантах осуществления изобретения pH композиции составляет не менее чем около 6, включая, например, не менее чем около 6,5, 7, или 8 (например, около 8). Композицию также можно сделать изотонической крови путем добавления подходящего модификатора тоничности, такого как глицерин.

#### **Анти-VEGF антитело**

**[0263]** Ангиогенез является важным клеточным событием, при котором эндотелиальные клетки сосудов пролиферируют, обрезают и реорганизуются с

образованием новых сосудов из ранее существовавшей сосудистой сети. Ангиогенез также вовлечен в патогенез различных заболеваний, включая, но не ограничиваясь этим, опухоли, пролиферативную ретинопатию, возрастную дегенерацию желтого пятна, ревматоидный артрит (РА) и псориаз. Ангиогенез необходим для роста большинства первичных опухолей и их последующего метастазирования. Опухоли могут поглощать достаточное количество питательных веществ и кислорода путем простой диффузии до размера 1-2 мм, после чего их дальнейший рост требует развития сосудистого снабжения. Предполагается, что этот процесс включает рекрутирование зрелой сосудистой системы соседнего хозяина, чтобы начать прорастание новых капилляров кровеносных сосудов, которые растут к опухолевой массе и затем проникают в нее. Кроме того, ангиогенез опухоли включает в себя рекрутирование циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников из костного мозга для стимуляции неоваскуляризации. Kerbel (2000) *Carcinogenesis* 21:505-515; Lynden et al. (2001) *Nat. Med.* 7:1194-1201.

**[0264]** Фактор роста эндотелиальных клеток сосудов (VEGF), который также называют VEGF-A или фактором проницаемости сосудов (VPF), является основным регулятором как нормального, так и аномального ангиогенеза. Ferrara and Davis-Smyth (1997) *Endocrine Rev.* 18:4-25; Ferrara (1999) *J. Mol. Med.* 77:527-543.

**[0265]** Термины «VEGF» и «VEGF-A» используются взаимозаменяемо для обозначения фактора роста сосудистой эндотелиальной клетки из 165 аминокислот и связанных с ними факторов роста эндотелиальной сосудистой среды из 121, 189 и 206 аминокислот, как описано Leung et al. *Science*, 246:1306 (1989), и Houck et al. *Mol. Endocrin.*, 5:1806 (1991), вместе с встречающимися в природе аллельными и обработанными их формами. В некоторых вариантах осуществления изобретения термин «VEGF» также используется для обозначения усеченных форм полипептида, содержащего аминокислоты от 8 до 109 или от 1 до 109 фактора роста эндотелиальных клеток человека из 165 аминокислот. Позиции аминокислот для «усеченного» нативного VEGF пронумерованы, как указано в нативной последовательности VEGF. Например, аминокислотное положение 17 (метионин) в усеченном нативном VEGF также является положением 17 (метионин) в нативном VEGF. Усеченный нативный VEGF обладает аффинностью связывания с рецепторами KDR и Flt-1, сравнимой с нативным VEGF.

**[0266]** Способы, описанные в настоящем документе в некоторых вариантах осуществления изобретения включают введение антитела против VEGF. «Анти-VEGF антитело» представляет собой антитело, которое связывается с VEGF с достаточной аффинностью и специфичностью. В некоторых вариантах осуществления антитело против VEGF используется в качестве терапевтического агента при нацеливании и вмешательстве в заболевания или состояния, в которые вовлечена активность VEGF. Анти-VEGF антитело обычно не связывается с другими гомологами VEGF, такими как VEGF-B или VEGF-C, или с другими факторами роста, такими как PlGF, PDGF или bFGF. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-

VEGF антитело связывается с тем же эпитопом, что и моноклональное антитело против VEGF A4.6.1, продуцируемое гибридомой ATCC HB 10709. В некоторых вариантах осуществления антитело против VEGF представляет собой рекомбинантное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело против VEGF представляет собой гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления анти-VEGF представляет собой рекомбинантное гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления рекомбинантное гуманизированное антитело против VEGF представляет собой антитело, полученное в соответствии с Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599, включая, но не ограничиваясь этим, антитело, известное как бевацизумаб (BV; авастин<sup>TM</sup>).

[0267] В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело является фрагментом анти-VEGF антитела (например, Fab фрагментом). В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело представляет собой ранибизумаб.

### **FOLFOX**

[0268] Термин «FOLFOX», как используется в настоящем документе, относится к комбинированному терапевтическому препарату (например, химиотерапия), содержащему по меньшей мере одно соединение оксалиплатина, выбранное из оксалиплатина, его фармацевтически приемлемых солей и сольватов любого из вышеуказанного; по меньшей мере одно соединение 5-фторурацила (также известное как 5-FU), выбранное из 5-фторурацила, его фармацевтически приемлемых солей и сольватов любого из вышеуказанного, и по меньшей мере одно соединение фолиниевой кислоты, выбранное из фолиниевой кислоты (также известной как лейковорин), левофолината (лево-изоформа фолиниевой кислоты), фармацевтически приемлемых солей любого из вышеуказанного и сольватов любого из вышеперечисленного. Термин «FOLFOX», как используется в настоящем документе, не предназначен для ограничения какими-либо конкретными количествами или режимами дозирования для этих компонентов. Скорее, как используется в настоящем документе, «FOLFOX» включает все комбинации этих компонентов в любых количествах и режимах дозирования. Как используется в данном документе, любое приведение термина «FOLFOX» может быть заменено перечислением отдельных компонентов. Например, термин «FOLFOX» может быть заменен фразой «по меньшей мере одно соединение оксалиплатина, выбранное из оксалиплатина, фармацевтически приемлемых солей оксалиплатина, сольватов оксалиплатина и сольватов фармацевтически приемлемых солей оксалиплатина; по меньшей мере, одно соединение 5-фторурацила, выбранное из 5-фторурацила, фармацевтически приемлемых солей 5-фторурацила, сольватов 5-фторурацила и сольватов фармацевтически приемлемых солей 5-фторурацила; и по меньшей мере одно соединение фолиниевой кислоты, выбранное из лейковорина, левофолината, фармацевтически приемлемых солей любого из вышеуказанного и сольватов любого из вышеуказанного».

[0269] «Терапевтически эффективный режим FOLFOX», как используется в настоящем документе, означает терапевтически эффективное количество компонентов

FOLFOX, определенных в настоящем документе, вводимое в соответствии с режимом дозирования, которое является достаточным для достижения желаемого результата, включая, но не ограничиваясь этим, лечение заболевания, как показано далее. В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтически эффективный режим FOLFOX включает введение оксалиплатина вместе с лейковорином внутривенно с последующим введением 5-FU внутривенно. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективный режим FOLFOX включает введение оксалиплатина в количестве от около 50 мг/м<sup>2</sup> до около 200 мг/м<sup>2</sup> вместе с лейковорином в количестве от около 200 мг/м<sup>2</sup> до около 600 мг/м<sup>2</sup> внутривенно, затем 5-FU в количестве от около 1200 мг/м<sup>2</sup> до около 3600 мг/м<sup>2</sup> внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтически эффективный режим FOLFOX включает введение оксалиплатина около 85 мг/м<sup>2</sup> вместе с лейковорином около 400 мг/м<sup>2</sup> внутривенно, с последующим введением 5-FU около 2400 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтически эффективный режим FOLFOX включает введение оксалиплатина около 85 мг/м<sup>2</sup> вместе с лейковорином около 400 мг/м<sup>2</sup> внутривенно, затем 5-FU около 400 мг/м<sup>2</sup> однократно и 5-FU около 1200 мг/м<sup>2</sup>/день (всего 2400 мг/м<sup>2</sup> за 46-48 часов) непрерывной внутривенной инфузией. В некоторых вариантах осуществления изобретения вышеуказанный терапевтически эффективный режим FOLFOX повторяется каждые несколько дней, например, каждые 7 дней, 14 дней или 21 день. В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтически эффективный режим FOLFOX включает: день 1 - оксалиплатин около 85 мг/м<sup>2</sup> в/в инфузией и лейковорин около 200 мг/м<sup>2</sup> в/в инфузией, оба в течение 120 минут, в то же время в отдельных пакетах, с последующим введением 5-FU около 400 мг/м<sup>2</sup> болюсное в/в в течение 2-4 минут с последующим введением 5-FU около 600 мг/м<sup>2</sup> в/в в 500 мл D5W в виде 22-часовой непрерывной инфузии; день 2 - лейковорин около 200 мг/м<sup>2</sup> в/в инфузией в течение 120 минут, затем 5-FU около 400 мг/м<sup>2</sup> болюсное в/в за 2-4 минуты, затем 5-FU около 600 мг/м<sup>2</sup> в/в инфузией в виде 22-часовой непрерывной внутривенной инфузии. В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтически эффективный режим FOLFOX включает: день 1-2 - оксалиплатин около 100 мг/м<sup>2</sup> в течение 120 минут в/в инфузией, одновременно с лейковорином около 400 мг/м<sup>2</sup> (или леволейковорином около 200 мг/м<sup>2</sup>) в/в инфузией, затем 5-FU около 400 мг/м<sup>2</sup> болюсное в/в, с последующей 46-часовой инфузией 5-FU (около 2400 мг/м<sup>2</sup> в первых двух циклах, повышая до около 3000 мг/м<sup>2</sup> при отсутствии токсичности); дни 3-14 - отдых. В некоторых вариантах осуществления изобретения FOLFOX вводится раз в две недели.

**[0270]** В некоторых вариантах осуществления изобретения в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, терапевтически эффективный режим FOLFOX включает оксалиплатин, лейковорин и 5-фторурацил (5-FU), где оксалиплатин, лейковорин и 5-фторурацил вводятся по определенному графику дозирования и введения. В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтически эффективный режим FOLFOX выбран из группы, включающей режим FOLFOX4, режим FOLFOX6, режим

FOLFOX7, модифицированный режим FOLFOX4 (mFOLFOX4), модифицированный режим FOLFOX6 (mFOLFOX6) и модифицированный режим FOLFOX7 (mFOLFOX7). См. таблицу 1 примеров режимов FOLFOX. Различные режимы FOLFOX или модификации режимов FOLFOX, не ограничивающиеся перечисленными в таблице 1, известны или могут быть осуществлены специалистом в данной области без излишних экспериментов. Например, см. Kim et al., *Oncol Lett.* 2012 Feb; 3(2): 425-428; Mitchell et al., *Clin Colorectal Cancer.* 2006 Jul;6(2):146-51.

[0271] Таблица 1

Режим	Дозирование
FOLFOX4	<p>День 1: оксалиплатин 85 мг/м<sup>2</sup> в/в и лейковорин 200 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 2 часов, затем 5-FU 400 мг/м<sup>2</sup> болюсное в/в в течение 2-4 минут, и затем 5-FU 600 мг/м<sup>2</sup> в/в 22-часовой непрерывной инфузией.</p> <p>День 2: лейковорин 200 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 2 часов, затем 5-FU 400 мг/м<sup>2</sup> болюсное в/в в течение 2-4 минут, и затем 5-FU 600 мг/м<sup>2</sup> в/в 22-часовой непрерывной инфузией.</p> <p>Дни 3-14: дни отдыха.</p>
FOLFOX6	<p>День 1-2: оксалиплатин 100 мг/м<sup>2</sup> в/в и лейковорин 400 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 2 часов, затем 5-FU 400 мг/м<sup>2</sup> болюсное в/в, и затем 5-FU 2400-3000 мг/м<sup>2</sup> в/в 46-часовой непрерывной инфузией.</p> <p>Дни 3-14: дни отдыха.</p>
FOLFOX7	<p>День 1-2: оксалиплатин 130 мг/м<sup>2</sup> в/в и лейковорин 400 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 2 часов, затем 5-FU 2400 мг/м<sup>2</sup> в/в 46-часовой непрерывной инфузией.</p> <p>Дни 3-14: дни отдыха.</p>
Пример mFOLFOX6	<p>День 1: оксалиплатин 85 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 2 часов и лейковорин 400 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 2 часов</p> <p>Дни 1-3: 5-FU 400 мг/м<sup>2</sup> болюсное в/в в день 1, затем 1 200 мг/м<sup>2</sup>/день×2 дня (всего 2400 мг/м<sup>2</sup> за 46-48 часов) в/в непрерывной инфузией.</p> <p>День 4-14: дни отдыха.</p>

#### Дозирование и способ введения

[0272] Доза композиции наночастиц ингибитора mTOR (например, композиция наночастиц сиролимуса/альбумина), вводимая индивидууму (например, человеку) в комбинированной терапии, может варьироваться в зависимости от конкретной композиции, способа введения и конкретной стадии лечимого рака толстой кишки. Количество должно быть достаточным для получения желаемого ответа, такого как терапевтический или профилактический ответ против рака толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда индивидууму вводят композицию наночастиц ингибитора mTOR, количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус,

например, сиролимус или его производное) в композиции представлено ниже уровня, который вызывает токсикологический эффект (например, эффект сильнее клинически приемлемого уровня токсичности) или находится на уровне, когда возможный побочный эффект можно контролировать или он является допустимым.

**[0273]** В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно. Например, композиции наночастиц ингибитора mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся с временным интервалом не более около 15 минут, например, не более около 10, 5 или 1 минута. В одном примере, когда соединения находятся в растворе, одновременное введение может быть достигнуто путем введения раствора, содержащего комбинацию соединений. В другом примере может использоваться одновременное введение отдельных растворов, один из которых содержит композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина), а другой содержит анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX. В одном примере одновременное введение может быть достигнуто путем введения композиции, содержащей комбинацию соединений. В другом примере одновременное введение может быть достигнуто путем введения двух отдельных композиций, одна из которых содержит композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина), а другая содержит анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения одновременное введение ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере части режима FOLFOX может быть объединено с дополнительными дозами ингибитора mTOR и/или анти-VEGF антитела и/или по меньшей мере части режима FOLFOX.

**[0274]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX не вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX не вводят индивидууму одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) вводится перед введением анти-VEGF антитела и/или по меньшей мере части режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводится перед введением композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина). Интервал по времени при неодновременном введении может превышать 1 минуту, пять минут, 10 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 60 минут, два часа, три часа, шесть часов, девять часов, 12 часов, 24

часа, 36 часов или 48 часов. В некоторых вариантах осуществления изобретения первое вводимое соединение дается для того, чтобы воздействовать на пациента до введения второго вводимого соединения. В некоторых вариантах осуществления разница во времени не выходит за пределы времени, в течение которого первое введенное соединение достигает полного эффекта у пациента, или за пределами времени, когда первое введенное соединение полностью или по существу выводится или деактивируется у пациента.

**[0275]** В некоторых вариантах осуществления изобретения введение композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела и/или по меньшей мере части режима FOLFOX осуществляется одновременно, то есть период введения композиции наночастиц ингибитора mTOR и композиция антитела против VEGF и/или по меньшей мере части режима FOLFOX перекрываются друг с другом. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение анти-VEGF антитела и по меньшей мере части режима FOLFOX осуществляется одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) вводится по меньшей мере одним циклом (например, по меньшей мере 2, 3 или 4 циклами) перед введением анти-VEGF антитела и/или по меньшей мере части режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся в течение по меньшей мере одной, двух, трех или четырех недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела и/или по меньшей мере части режима FOLFOX начинают примерно в одно и то же время (например, в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение анти-VEGF антитела и по меньшей мере части режима FOLFOX начинают примерно в одно и то же время (например, в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и антитела против VEGF и/или по меньшей мере части режима FOLFOX прекращают примерно в одно и то же время (например, в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела против VEGF и/или по меньшей мере части режима FOLFOX прекращают примерно в одно и то же время (например, в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела против VEGF и/или по меньшей мере части режима FOLFOX продолжают (например, примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев) после прекращения введения композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела против VEGF и/или по меньшей мере части режима FOLFOX начинают после (например, через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев) начала введения композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как

композиция наночастиц сиролимуса/альбумина). В некоторых вариантах осуществления введение композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и антитела против VEGF и/или по меньшей мере части режима FOLFOX начинают и прекращают примерно в одно и то же время. В некоторых вариантах осуществления введение композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и антитела против VEGF и/или по меньшей мере части режима FOLFOX начинают примерно в одно и то же время, и введение анти-VEGF-антитела и/или по меньшей мере части режима FOLFOX продолжается (например, в течение примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев) после прекращения введения композиции наночастиц ингибитора mTOR. В некоторых вариантах осуществления введение композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и антитела против VEGF и/или по меньшей мере части схемы FOLFOX прекращают примерно в одно и то же время, и введение средства против -VEGF-антитело и/или по меньшей мере части схемы FOLFOX начинают после (например, примерно через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев) начало введения композиции наночастиц ингибитора mTOR.

**[0276]** В некоторых вариантах осуществления изобретения введение композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела и/или по меньшей мере части режима FOLFOX осуществляют не одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение анти-VEGF антитела и по меньшей мере части режима FOLFOX осуществляют не одновременно. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) прекращают перед введением анти-VEGF антитела и/или по меньшей мере части режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение анти-VEGF антитела и/или по меньшей мере части режима FOLFOX прекращают перед введением композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина). Период времени между этими двумя одновременными введениями может варьироваться от двух до восьми недель, например, около четырех недель.

**[0277]** Частота дозирования композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и антитела против VEGF и/или по меньшей мере части схемы FOLFOX может регулироваться в течение курса лечения на основе решение назначающего врача. При раздельном введении композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и антитела против VEGF и/или по меньшей мере части режима FOLFOX можно вводить с различной частотой или интервалами дозирования. Например, композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) можно вводить еженедельно, тогда как антитело против VEGF и FOLFOX можно вводить более или менее часто. В некоторых вариантах осуществления может использоваться состав из

наночастиц и/или антитела против VEGF и/или FOLFOX с пролонгированным непрерывным высвобождением. В данной области техники известны различные составы и устройства для достижения замедленного высвобождения. Также может использоваться комбинация конфигураций введения, описанных в настоящем документе.

**[0278]** Композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере части режима FOLFOX может вводиться с использованием одного и того же пути введения или различных путей введения. В некоторых вариантах осуществления изобретения (как при одновременном, так и при последовательном введении) ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся в заранее определенном соотношении. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения массовое соотношение ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR и анти-VEGF антитела или FOLFOX составляет примерно 1 к 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения массовое соотношение может быть в диапазоне от около 0,001 до около 1 и от около 1000 до около 1, или в диапазоне от 0,01 до около 1 и от 100 до около 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения массовое соотношение ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR и анти-VEGF антитело или FOLFOX составляет менее чем около 100:1, 50:1, 30:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 и 1:1. В некоторых вариантах осуществления изобретения массовое соотношение ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR и анти-VEGF антитело или FOLFOX составляет более чем около 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 30:1, 50:1, 100:1. Предполагаются и другие соотношения.

**[0279]** Дозы, требуемые для ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR и/или анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере части режима FOLFOX, могут (но не обязательно) быть таким же или ниже, чем обычно требуется, когда каждый агент вводится отдельно. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения вводится субтерапевтическое количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR и/или анти-VEGF антитела и/или по меньшей мере части режима FOLFOX. «Субтерапевтическое количество» или «субтерапевтический уровень» относится к количеству, которое меньше терапевтического количества, то есть меньше, чем количество, обычно используемое, когда композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и/или анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся отдельно. Снижение может быть

отражено в терминах количества, вводимого при данном введении, и/или количества, вводимого в течение определенного периода времени (сниженная частота).

**[0280]** В некоторых вариантах осуществления изобретения вводится достаточное количество второго терапевтического агента (такого как анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере компонент FOLFOX), чтобы обеспечить снижение обычной дозы ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR, необходимой для обеспечения такой же уровня лечения, по меньшей мере на около 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более. В некоторых вариантах осуществления изобретения вводится достаточное количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR, чтобы обеспечить снижение обычной дозы анти-VEGF антитела и/или режима FOLFOX, необходимой для обеспечения такой же уровня лечения, по меньшей мере на около 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более.

**[0281]** В некоторых вариантах осуществления изобретения доза как ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR, так и анти-VEGF антитела и/или режима FOLFOX уменьшена по сравнению с соответствующей нормальной дозой каждого при введении отдельно. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR и/или анти-VEGF антитела и/или режим FOLFOX вводятся в субтерапевтическом, то есть сниженном уровне. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц ингибитора mTOR и/или анти-VEGF антитела и/или режима FOLFOX существенно меньше, чем установленная максимальная токсическая доза (MTD). Например, доза композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и/или анти-VEGF антитела и/или по меньшей мере режима FOLFOX составляет менее чем около 50%, 40%, 30%, 20% или 10% от MTD.

**[0282]** Может использоваться комбинация схем введения, описанных в настоящем документе. Методы комбинированной терапии, описанные в настоящем документе, могут выполняться отдельно или в сочетании с другой терапией, такой как хирургия, облучение, генная терапия, иммунотерапия, трансплантация костного мозга, трансплантация стволовых клеток, гормонотерапия, таргетная терапия, криотерапия, ультразвуковая терапия, фотодинамическая терапия, и/или химиотерапия и тому подобное.

**[0283]** Как будет понятно специалистам в данной области техники, подходящие дозы анти-VEGF антитела и режима FOLFOX будут приблизительно такими, которые уже используются в клинической терапии, где анти-VEGF антитело или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводится отдельно или в комбинации. Изменения в дозировке, вероятно, произойдут в зависимости от состояния, которое лечат. Как описано выше, в

некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело и режим FOLFOX могут быть введены при сниженном уровне.

**[0284]** В некоторых вариантах осуществления изобретения в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, количество анти-VEGF антитела составляет от около 1 мг/кг до 5 мг/кг, от 1 мг/кг до 10 мг/кг, от 1 мг/кг до 15 мг/кг, от 1 мг/кг до 20 мг/кг, от 1 мг/кг до 25 мг/кг, от 1 мг/кг до 30 мг/кг, от 5 мг/кг до 10 мг/кг, от 5 мг/кг до 15 мг/кг, от 5 мг/кг до 20 мг/кг, от 5 мг/кг до 25 мг/кг, от 5 мг/кг до 30 мг/кг, от 10 мг/кг до 15 мг/кг, от 10 мг/кг до 20 мг/кг, от 10 мг/кг до 25 мг/кг, от 10 мг/кг до 30 мг/кг, от 15 мг/кг до 20 мг/кг, от 15 мг/кг до 25 мг/кг, от 15 мг/кг до 30 мг/кг, от 20 мг/кг до 25 мг/кг, от 20 мг/кг до 30 мг/кг или от 25 мг/кг до 30 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество анти-VEGF антитела составляет около 5 мг/кг или 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно, внутривезикулярно, подкожно, интратекально, внутриплевральное, внутримышечно, интратрахеально, интраокулярно, трансдермально, перорально или путем ингаляции. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится один раз еженедельно, каждые две недели, один раз каждые три недели, или один раз каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится один раз в месяц, один раз каждые два месяца, один раз каждые три месяца, или один раз более чем каждые три месяца. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится в дозе от около 1 мг/кг до около 20 мг/кг (включая, например, от около 5 мг/кг до 15 мг/кг или от около 10 мг/кг) по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или более циклами, где каждый цикл состоит из по меньшей мере 2 недель (таких как по меньшей мере 3, 4 недели, или 1, 2, 3, 4, 5, 6 месяцев). В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится в дозе не более чем около 20 мг/кг (например, не более чем около 17,5, 15, 12,5, 10, 7,5, 5, 2,5 или менее) мг по меньшей мере одним циклом (например, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более). В некоторых вариантах осуществления изобретения около 10 мг/кг анти-VEGF антитела вводится внутривенно один раз каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения около 10 мг/кг анти-VEGF антитела вводится внутривенно один раз каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения около 5 мг/кг анти-VEGF антитела вводится внутривенно один раз каждые две недели. Дозирование анти-VEGF антитела может быть отменено или прервано, с уменьшением дозы или без, для подавления побочных лекарственных реакций. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-VEGF антитело вводится в соответствии с инструкцией по применению утвержденной марки анти-VEGF антитела.

**[0285]** При введении в терапевтических или субтерапевтических количествах комбинация композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела и/или режима FOLFOX

должна быть эффективной при лечении рака толстой кишки. Например, субтерапевтическое количество композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) может быть эффективным количеством, если в сочетании со вторым терапевтическим агентом (таким как анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере компонент FOLFOX), эта комбинация эффективна при лечении рака толстой кишки и наоборот.

**[0286]** Доза композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и доза анти-VEGF антитела и/или режима FOLFOX, вводимая индивидууму (такому как человек), могут варьироваться в зависимости от конкретной композиции, способа введения и типа рака толстой кишки, подлежащего лечению. В некоторых вариантах осуществления изобретения дозы являются эффективными для получения объективного ответа (такого как частичный ответ или полный ответ). В некоторых вариантах осуществления дозы являются достаточными для полного ответа у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления дозы являются достаточными, чтобы привести к частичному ответу у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления вводимые дозы являются достаточными для получения общего уровня ответа более чем на около 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 64%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% или 90% в популяции индивидуумов, которых лечили композицией наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антителом и/или режимом FOLFOX. Ответы индивидуума на лечение описанными здесь способами могут быть определены, например, на основе уровней RECIST.

**[0287]** В некоторых вариантах осуществления изобретения количество композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела и/или режима FOLFOX являются достаточными для продления выживаемости индивида без прогрессирования заболевания. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела и/или режима FOLFOX являются достаточными для продления общей выживаемости индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела и/или режима FOLFOX являются достаточными для получения клинического эффекта, превышающего около 50%, 60%, 70% или 77% в популяции индивидуумов, которых лечили композицией наночастиц ингибитора mTOR и анти-VEGF антителом и/или режимом FOLFOX.

**[0288]** В некоторых вариантах осуществления изобретения количество композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела и/или режима FOLFOX являются достаточными для уменьшения размера опухоли, уменьшения количества раковые клетки или уменьшить скорость роста опухоли по меньшей мере на около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%

или 100% по сравнению соответствующему размеру опухоли, количеству раковых клеток или скорости роста опухоли у того же индивидуума до лечения или по сравнению с соответствующей активностью у других индивидуумов, не получавших лечение. Для определения величины этого эффекта могут быть использованы стандартные методы, такие как анализы *in vitro* с очищенным ферментом, клеточные анализы, модели на животных или тестирование на людях.

**[0289]** В некоторых вариантах осуществления изобретения количество композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела и/или режима FOLFOX является ниже уровней, которые вызывают токсикологический эффект (то есть эффект выше клинически приемлемого уровня токсичности) или находятся на уровне, при котором потенциальный побочный эффект можно контролировать или его переносить, когда индивидууму вводят композицию наночастиц ингибитора mTOR и анти-VEGF антитело и/или режим FOLFOX.

**[0290]** В некоторых вариантах осуществления изобретения количество композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) является близким к максимально переносимой дозе (MTD) композиции после того же режима дозирования при введении с анти-VEGF антителом и/или по меньшей мере частью режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) составляет более чем около 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 98% от MTD при введении с анти-VEGF антителом и/или режимом FOLFOX.

**[0291]** В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус) в композиции наночастиц ингибитора mTOR входит в любой из следующих диапазонов: от около 0,1 мг до около 1000 мг, от около 0,1 мг до около 2,5 мг, от около 0,5 мг до около 5 мг, от около 5 мг до около 10 мг, от около 10 мг до около 15 мг, от около 15 мг до около 20 мг, от около 20 мг до около 25 мг, от около 20 мг до около 50 мг, от около 25 мг до около 50 мг, от около 50 мг до около 75 мг, от около 50 мг до около 100 мг, от около 75 мг до около 100 мг, от около 100 мг до около 125 мг, от около 125 мг до около 150 мг, от около 150 мг до около 175 мг, от около 175 мг до около 200 мг, от около 200 мг до около 225 мг, от около 225 мг до около 250 мг, от около 250 мг до около 300 мг, от около 300 мг до около 350 мг, от около 350 мг до около 400 мг, от около 400 мг до около 450 мг или от около 450 мг до около 500 мг, от около 500 мг до около 600 мг, от около 600 мг до около 700 мг, от около 700 мг до около 800 мг, от около 800 мг до около 900 мг или от около 900 мг до около 1000 мг, включая любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус) в эффективном количестве композиции (например, стандартная лекарственная форма) находится в диапазоне от около 5 мг до около 500 мг, например, от около 30 до около 400 мг, от 30 мг до около 300 мг или от около 50 мг до около 200 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR (такого

как препарат лимус, например, сиролimus) в эффективном количестве композиции наночастиц ингибитора mTOR (например, стандартная лекарственная форма) находится в диапазоне от около 150 мг до около 500 мг, включая, например, около 150 мг, около 225 мг, около 250 мг, около 300 мг, около 325 мг, около 350 мг, около 375 мг, около 400 мг, около 425 мг, около 450 мг, около 475 мг или около 500 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения концентрация ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus) в композиции наночастиц ингибитора mTOR является разваленной (около 0,1 мг/мл) или концентрированной (около 100 мг/мл), включая, например, от около 0,1 мг/мл до около 50 мг/мл, от около 0,1 мг/мл до около 20 мг/мл, от около 1 мг/мл до около 10 мг/мл, от около 2 мг/мл до около 8 мг/мл, от около 4 мг/мл до около 6 мг/мл или от около 5 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения концентрация ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus) в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет по меньшей мере около 0,5 мг/мл, 1,3 мг/мл, 1,5 мг/мл, 2 мг/мл, 3 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 15 мг/мл, 20 мг/мл, 25 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл или 50 мг/мл.

**[0292]** В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных аспектов количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus) в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет по меньшей мере около 1 мг/кг, 2,5 мг/кг, 3,5 мг/кг, 5 мг/кг, 6,5 мг/кг, 7,5 мг/кг, 10 мг/кг, 15 мг/кг, 20 мг/кг, 25 мг/кг, 30 мг/кг, 35 мг/кг, 40 мг/кг, 45 мг/кг, 50 мг/кг, 55 мг/кг или 60 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективное количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus) в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет менее чем около 350 мг/кг, 300 мг/кг, 250 мг/кг, 200 мг/кг, 150 мг/кг, 100 мг/кг, 50 мг/кг, 25 мг/кг, 20 мг/кг, 10 мг/кг, 7,5 мг/кг, 6,5 мг/кг, 5 мг/кг, 3,5 мг/кг, 2,5 мг/кг или 1 мг/кг.

**[0293]** В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных аспектов количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus) в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет около 10 мг/м<sup>2</sup>, 15 мг/м<sup>2</sup>, 20 мг/м<sup>2</sup>, 25 мг/м<sup>2</sup>, 30 мг/м<sup>2</sup>, 35 мг/м<sup>2</sup>, 40 мг/м<sup>2</sup>, 45 мг/м<sup>2</sup>, 50 мг/м<sup>2</sup>, 55 мг/м<sup>2</sup>, 60 мг/м<sup>2</sup>, 65 мг/м<sup>2</sup>, 70 мг/м<sup>2</sup>, 75 мг/м<sup>2</sup>, 80 мг/м<sup>2</sup>, 90 мг/м<sup>2</sup>, 100 мг/м<sup>2</sup>, 120 мг/м<sup>2</sup>, 160 мг/м<sup>2</sup>, 175 мг/м<sup>2</sup>, 180 мг/м<sup>2</sup>, 200 мг/м<sup>2</sup>, 210 мг/м<sup>2</sup>, 220 мг/м<sup>2</sup>, 250 мг/м<sup>2</sup>, 260 мг/м<sup>2</sup>, 300 мг/м<sup>2</sup>, 350 мг/м<sup>2</sup>, 400 мг/м<sup>2</sup>, 500 мг/м<sup>2</sup>, 540 мг/м<sup>2</sup>, 750 мг/м<sup>2</sup>, 1000 мг/м<sup>2</sup> или 1080 мг/м<sup>2</sup> ингибитор mTOR. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR включает менее чем около 350 мг/м<sup>2</sup>, 300 мг/м<sup>2</sup>, 250 мг/м<sup>2</sup>, 200 мг/м<sup>2</sup>, 150 мг/м<sup>2</sup>, 120 мг/м<sup>2</sup>, 100 мг/м<sup>2</sup>, 90 мг/м<sup>2</sup>, 50 мг/м<sup>2</sup>, от 30 мг/м<sup>2</sup> ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролimus). В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролimus) на введение составляет меньше чем около 25 мг/м<sup>2</sup>, 22 мг/м<sup>2</sup>, 20 мг/м<sup>2</sup>, 18 мг/м<sup>2</sup>, 15 мг/м<sup>2</sup>, 14 мг/м<sup>2</sup>, 13 мг/м<sup>2</sup>, 12 мг/м<sup>2</sup>, 11 мг/м<sup>2</sup>, 10 мг/м<sup>2</sup>, 9 мг/м<sup>2</sup>, 8 мг/м<sup>2</sup>, 7 мг/м<sup>2</sup>, 6 мг/м<sup>2</sup>, 5 мг/м<sup>2</sup>, 4 мг/м<sup>2</sup>, 3 мг/м<sup>2</sup>, 2 мг/м<sup>2</sup> или 1 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения

эффективное количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус) в композиции наночастиц ингибитора mTOR входит в любой из следующих диапазонов: от около 1 до около 5 мг/м<sup>2</sup>, от около 5 до около 10 мг/м<sup>2</sup>, от около 10 до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 45 до около 75 мг/м<sup>2</sup>, от около 75 до около 100 мг/м<sup>2</sup>, от около 100 до около 125 мг/м<sup>2</sup>, от около 125 до около 150 мг/м<sup>2</sup>, от около 150 до около 175 мг/м<sup>2</sup>, от около 175 до около 200 мг/м<sup>2</sup>, от около 200 до около 225 мг/м<sup>2</sup>, от около 225 до около 250 мг/м<sup>2</sup>, от около 250 до около 300 мг/м<sup>2</sup>, от около 300 до около 350 мг/м<sup>2</sup> или от около 350 до около 400 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективное количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус) в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 30 до около 300 мг/м<sup>2</sup>, например, от около 100 до около 150 мг/м<sup>2</sup>, от около 120 мг/м<sup>2</sup>, от около 130 мг/м<sup>2</sup> или от около 140 мг/м<sup>2</sup>.

**[0294]** В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективное количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус) в композиции наночастиц ингибитора mTOR находится в любом из следующих диапазонов: от около 10 до около 20 мг/м<sup>2</sup>, от около 10 до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 10 до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 10 до около 60 мг/м<sup>2</sup>, от около 20 до около 30 мг/м<sup>2</sup>, от около 20 до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 20 до около 60 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 до около 45 мг/м<sup>2</sup>, от около 30 до около 60 мг/м<sup>2</sup> или от около 45 до около 60 мг/м<sup>2</sup>, каждый включительно. В некоторых вариантах осуществления изобретения частота дозирования для введения композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) составляет три из четырех недель.

**[0295]** В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX вводится по меньшей мере одним циклом (например, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более). В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX вводится в течение не более 12 (например, не более 11, 10, 9, 8, 7, 6 или менее) циклов. Режим FOLFOX может быть отменен или прерван, с уменьшением дозы или без, для подавления побочных лекарственных реакций.

**[0296]** В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4, анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг, и количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 100 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4, анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг, и количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4, анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг, и количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения

режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4, анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг, и количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4, анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг, и количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 75 мг/м<sup>2</sup> до около 100 мг/м<sup>2</sup>.

**[0297]** В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой модифицированный режим FOLFOX6, анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 5 мг/кг, и количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 100 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой модифицированный режим FOLFOX6, анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 5 мг/кг, и количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой модифицированный режим FOLFOX6, анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 5 мг/кг, и количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой модифицированный режим FOLFOX6, анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 5 мг/кг, и количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления изобретения режим FOLFOX представляет собой модифицированный режим FOLFOX6, анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 5 мг/кг, и количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 75 мг/м<sup>2</sup> до около 100 мг/м<sup>2</sup>.

**[0298]** В некоторых вариантах осуществления изобретения комбинация соединений проявляет синергетический эффект (то есть больше, чем аддитивный эффект) при лечении рака толстой кишки. Термин «синергетический эффект» относится к действию двух агентов, таких как композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и второго терапевтического агента (такого как анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере компонент FOLFOX), оказывающее эффект, например, замедляющий симптоматическое прогрессирование рака или его симптомов, больший, чем простое сложение эффектов каждого лекарственного средства, вводимых самостоятельно. Синергетический эффект может быть рассчитан, например, с использованием подходящих методов, таких как сигмоидальное уравнение для вычисления максимальной эффективности Sigmoid-Emax (Holford, N. H. G. and Scheiner,

L. B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 (1981)), уравнение аддитивности Loewe (Loewe, S. and Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326 (1926)) и уравнение медианного эффекта (Chou, T. C. and Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984)). Каждое уравнение, упомянутое выше, может быть применено к экспериментальным данным для создания соответствующего графика, чтобы помочь в оценке эффектов комбинации лекарств. Соответствующие графики, связанные с уравнениями, упомянутыми выше, представляют собой кривую концентрация-эффект, кривую изоболограммы и кривую комбинированного индекса, соответственно.

**[0299]** В различных вариантах осуществления изобретения, в зависимости от комбинации и используемых эффективных количеств, комбинация соединений может ингибировать рост рака, достигать остановки роста рака или даже достигать существенной или полной регрессии рака.

**[0300]** Хотя количества композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела и режима FOLFOX должно приводить к эффективному лечению рака толстой кишки, при этом количества, когда они объединены, предпочтительно, не являются чрезмерно токсичными для индивидуума (то есть количества, предпочтительно, находятся в пределах токсичности, установленной медицинскими рекомендациями). В некоторых вариантах осуществления изобретения или для предотвращения чрезмерной токсичности и/или для обеспечения более эффективного лечения рака толстой кишки предусмотрено ограничение общей вводимой дозы.

**[0301]** Для лечения рака толстой кишки могут быть использованы различные схемы дозирования. В некоторых вариантах осуществления изобретения суточную дозу, такую как любую дозу из примеров доз, описанных выше, вводят один, два, три раза или четыре раза в день в течение трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти или больше дней. В зависимости от стадии и тяжести рака наряду с высокой дозировкой может быть использовано более короткое время лечения (например, до пяти дней), или наряду с низкой дозировкой может использоваться более длительное время лечения (например, десять или более дней, недель или месяц или дольше). В некоторых вариантах осуществления изобретения одноразовую или двухразовую суточную дозу вводят через день.

**[0302]** В некоторых вариантах осуществления изобретения частота дозирования для введения композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) включает, но этим не ограничиваются, ежедневно, каждые два дня, каждые три дня, каждые четыре дня, каждые пять дней, каждые шесть дней, еженедельно без перерыва, три из четырех недель (например, в дни 1, 8 и 15 из 28-дневного цикла), один раз каждые три недели, один раз каждые две недели или две из трех недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) вводится примерно один раз каждые 2 недели, один раз каждые 3 недели, один раз каждые 4

недели, один раз каждые 6 недель или один раз каждые 8 недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) вводится по меньшей мере примерно 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз или 7 раз (то есть ежедневно) в неделю. В некоторых вариантах осуществления изобретения интервалы между каждым введением составляют менее примерно 6 месяцев, 3 месяцев, 1 месяц, 20 дней, 15, дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8 дни, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дня, 3 дня, 2 дня или 1 день. В некоторых вариантах осуществления изобретения интервалы между каждым введением составляют более чем примерно 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 8 месяцев или 12 месяцев. В некоторых вариантах осуществления изобретения в графике дозирования нет перерывов. В некоторых вариантах осуществления интервал между каждым введением составляет не более примерно недели.

**[0303]** В некоторых вариантах осуществления изобретения частота дозирования составляет один раз каждые два дня продолжительностью один раз, два раза, три раза, четыре раза, пять раз, шесть раз, семь раз, восемь раз, девять раз, десять раз или одиннадцать раз. В некоторых вариантах осуществления частота дозирования составляет один раз каждые два дня продолжительностью пять раз. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор mTOR (такой как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) вводится в течение периода, по меньшей мере, десяти дней, где интервал между каждым введением составляет не более около двух дней, и где доза ингибитора mTOR при каждом введении составляет от около  $0,25 \text{ мг/м}^2$  до около  $250 \text{ мг/м}^2$ , от около  $0,25 \text{ мг/м}^2$  до около  $150 \text{ мг/м}^2$ , от около  $0,25 \text{ мг/м}^2$  до около  $75 \text{ мг/м}^2$ , например, от около  $0,25 \text{ мг/м}^2$  до около  $25 \text{ мг/м}^2$  или от около  $25 \text{ мг/м}^2$  до около  $50 \text{ мг/м}^2$ .

**[0304]** Введение композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) может продолжаться в течение длительного периода времени, такого как от примерно месяца до примерно семи лет. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) вводится в течение периода по меньшей мере около 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 или 84 месяцев.

**[0305]** В некоторых вариантах осуществления изобретения дозировка ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц может быть в диапазоне  $5\text{-}400 \text{ мг/м}^2$ , когда дается по 3-недельному графику, или  $5\text{-}250 \text{ мг/м}^2$  (например,  $80\text{-}150 \text{ мг/м}^2$ , например,  $100\text{-}120 \text{ мг/м}^2$ ), когда дается по еженедельному графику. Например, количество ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) составляет от около 60 до около  $300 \text{ мг/м}^2$  (например, около  $260 \text{ мг/м}^2$ ) при трехнедельном графике.

**[0306]** В некоторых вариантах осуществления изобретения примерные схемы дозирования для введения композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) включают, но этим не ограничиваются,  $100 \text{ мг/м}^2$ , еженедельно, без перерыва;  $10 \text{ мг/м}^2$  еженедельно, 3 из четырех недель

(например, в дни 1, 8 и 15 28-дневного цикла); 45 мг/м<sup>2</sup> еженедельно, 3 из четырех недель (например, в дни 1, 8 и 15 28-дневного цикла); 75 мг/м<sup>2</sup> еженедельно, 3 из четырех недель (например, в дни 1, 8 и 15 28-дневного цикла); 100 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, 3 из 4 недель; 125 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, 3 из 4 недель; 125 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, 2 из 3 недель; 130 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, без перерыва; 175 мг/м<sup>2</sup>, один раз каждые 2 недели; 260 мг/м<sup>2</sup>, один раз каждые 2 недели; 260 мг/м<sup>2</sup>, один раз каждые 3 недели; 180-300 мг/м<sup>2</sup>, каждые три недели; 60-175 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, без перерыва; 20-150 мг/м<sup>2</sup> два раза в неделю; и 150-250 мг/м<sup>2</sup> два раза в неделю. Частоту дозирования композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) можно регулировать в течение курса лечения на основании решения лечащего врача.

**[0307]** В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуума лечат в течение по меньшей мере приблизительно одного, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или десяти циклов лечения.

**[0308]** Композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина), описанная в настоящем документе, позволяет проводить инфузию композиции наночастиц ингибитора mTOR индивидууму в течение времени инфузии, которое короче, чем примерно 24 часа. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) вводится в течение периода инфузии, составляющего менее чем примерно 24 часа, 12 часов, 8 часов, 5 часов, 3 часа, 2 часа, 1 час, 30 минут, 20 минут или 10 минут. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) вводится в течение периода инфузии, составляющего приблизительно 30 минут.

**[0309]** В некоторых вариантах осуществления изобретения пример дозы ингибитора mTOR (в некоторых вариантах осуществления изобретения препарат лимус, например, сиролимус) в композиции наночастиц ингибитора mTOR включает, но этим не ограничивается, около 50 мг/м<sup>2</sup>, 60 мг/м<sup>2</sup>, 75 мг/м<sup>2</sup>, 80 мг/м<sup>2</sup>, 90 мг/м<sup>2</sup>, 100 мг/м<sup>2</sup>, 120 мг/м<sup>2</sup>, 160 мг/м<sup>2</sup>, 175 мг/м<sup>2</sup>, 200 мг/м<sup>2</sup>, 210 мг/м<sup>2</sup>, 220 мг/м<sup>2</sup>, 260 мг/м<sup>2</sup> и 300 мг/м<sup>2</sup>. Например, дозировка ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус или его производное) в композиции наночастиц может быть в диапазоне около 100-400 мг/м<sup>2</sup>, когда дается по 3-недельному графику, или от около 10-250 мг/м<sup>2</sup>, когда дается по еженедельному графику.

**[0310]** В некоторых вариантах осуществления изобретения дозировка ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус) составляет от около 100 мг до около 400 мг, например, около 100 мг, около 200 мг, от около 300 мг или около 400 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения препарат лимус вводится около 100 мг еженедельно, около 200 мг еженедельно, около 300 мг еженедельно, около 100 мг два раза в неделю или около 200 мг два раза в неделю. В некоторых вариантах осуществления

изобретения введение далее следует ежемесячная поддерживающая доза (которая может быть такой же или отличной от еженедельной дозы).

**[0311]** В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда композиция наночастиц лимуса вводится внутривенно, дозировка ингибитора mTOR (такого как препарат лимус, например, сиролимус) в композиции наночастиц может быть в диапазоне около 30 мг до около 400 мг. Композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина), описанную в настоящем документе, можно вводить инфузией композиции наночастиц ингибитора mTOR индивидууму в течение времени инфузии, которое короче, чем примерно 24 часа. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) вводится в течение периода инфузии, составляющего менее чем примерно 24 часа, 12 часов, 8 часов, 5 часов, 3 часа, 2 часа, 1 час, 30 минут, 20 минут или 10 минут. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) вводится в течение периода инфузии от примерно 30 минут до примерно 40 минут.

**[0312]** В некоторых вариантах осуществления изобретения каждая дозировка содержит как композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина), так и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX, подлежащие доставке в виде одной дозы, тогда как в других вариантах осуществления каждая дозировка содержит либо композицию наночастиц ингибитора mTOR, либо анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX, которые должны быть доставлены в виде отдельных доз.

**[0313]** Композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX, в чистом виде или в подходящей фармацевтической композиции, можно вводить посредством любых из принятых способов введения или агентов, известных в данной области. Композиции и/или агенты можно вводить, например, перорально, назально, парентерально (например, внутривенно, внутримышечно или подкожно), местно, трансдермально, интравагинально, интравезикально, интрацистемально или ректально. Лекарственная форма может быть, например, твердой, полутвердой, лиофилизированным порошком или жидкой лекарственной формой, такой как таблетки, пилюли, мягкие эластичные или твердые желатиновые капсулы, порошки, растворы, суспензии, суппозитории, аэрозоли или тому подобное, предпочтительно, в единичных дозированных формах, подходящих для простого введения точных дозировок.

**[0314]** Как обсуждалось выше, композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX могут быть введены в виде единичной дозы или в отдельных дозированных формах. Соответственно, фраза «фармацевтическая комбинация» включает комбинацию двух лекарственных средств в одной лекарственной

форме или в отдельных лекарственных формах, то есть фармацевтически приемлемые носители и эксципиенты, описанные в заявке, могут быть объединены с композицией наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и вторым терапевтическим агентом (таким как анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере компонент FOLFOX) в одной разовой дозе, а также индивидуально в сочетании с композицией наночастиц ингибитора mTOR и вторым терапевтическим агентом (таким как анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере компонент FOLFOX), когда эти соединения вводят отдельно.

**[0315]** Эксципиенты и адъюванты могут включать, например, консервирующие, смачивающие, суспендирующие, подслащивающие, придающие вкус, ароматизирующие, эмульгирующие и дозирующие агенты. Защита от действия микроорганизмов обычно обеспечивается различными антибактериальными и противогрибковыми средствами, такими как парабены, хлорбутанол, фенол, сорбиновая кислота и тому подобное. Также могут быть включены изотонические агенты, такие как сахара, хлорид натрия и тому подобное. Пролонгированная абсорбция инъекционной фармацевтической формы может быть достигнута путем использования агентов, замедляющих абсорбцию, например, моностеарата алюминия и желатина. Эксципиенты также могут включать смачивающие агенты, эмульгирующие агенты, pH-буферные агенты и антиоксиданты, такие как лимонная кислота, сорбитанмонолаурат, триэтаноламин олеат, бутилированный гидрокситолуол и тому подобное.

**[0316]** Твердые лекарственные формы могут быть приготовлены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие, хорошо известные в данной области. Они могут содержать успокаивающие агенты и могут составлять такую композицию, которая высвобождает активное соединение или соединения в определенной части кишечного тракта с задержкой. Примеры залитых композиций, которые можно использовать, являются полимерные вещества и воски. Активные соединения также могут быть в микроинкапсулированной форме, если необходимо, с одним или несколькими из вышеупомянутых эксципиентов.

**[0317]** Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Такие лекарственные формы получают, например, путем растворения, диспергирования и т. д. композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) или второго терапевтического агента (такого как анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере компонент FOLFOX), описанных в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли и необязательных фармацевтических адъювантов в носителе, таком как, например, вода, физиологический раствор, водная декстроза, глицерин, этанол и тому подобное; солюбилизующих агентов и эмульгаторов, таких как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид; масел, в частности, хлопкового масла, арахисового масла, масла

кукурузного зародыша, оливкового масла, касторового масла и кунжутного масла, глицерина, тетрагидрофурурилового спирта, полиэтиленгликолей и эфиров жирных кислот и сорбита; или смесей этих веществ и тому подобное, чтобы тем самым образовать раствор или суспензию.

**[0318]** В некоторых вариантах осуществления, в зависимости от предполагаемого способа введения, фармацевтически приемлемые композиции будут содержать от около 1% до около 99% по массе соединений, описанных в настоящем документе, или их фармацевтически приемлемых солей, и от 99% до 1% по массе фармацевтически приемлемого эксципиента. В одном примере композиция будет иметь от около 5% до около 75% по массе соединения, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли, а остальным являются подходящие фармацевтические эксципиенты.

**[0319]** Фактические способы приготовления таких дозированных форм известны или будут очевидны для специалистов в данной области. Ссылка дается, например, на Remington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>th</sup> Ed., (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990).

**[0320]** В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина), анти-VEGF антитело и режим FOLFOX могут быть введены с любым из следующих режимов дозирования, как в таблице 2.

**[0321]** Таблица 2. Пример режима дозирования при комбинированной терапии.

	Пример режима дозирования
1	<p>Сиролимус (то есть рапамицин): около 10 мг/м<sup>2</sup>, вводимый внутривенно (в/в) еженедельно в течение 3 недель с последующей неделей отдыха.</p> <p>Бевацизумаб: около 10 мг/кг в/в каждые две недели.</p> <p>Модифицированный режим FOLFOX6: Оксалиплатин около 85 мг/м<sup>2</sup> в/в с лейковорином около 400 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 2 часов; 5-FU около 400 мг/м<sup>2</sup> болюсное в/в с последующей около 2400 мг/м<sup>2</sup> в/в непрерывной инфузией продолжительностью 46 часов каждые две недели.</p> <p>(Модификация дозы каждого агента в FOLFOX может быть сделана независимо в зависимости от конкретного вида наблюдаемой токсичности)</p>
2	<p>Сиролимус (то есть рапамицин): около 20 мг/м<sup>2</sup>, вводимый внутривенно (в/в) еженедельно в течение 3 недель с последующей неделей отдыха.</p> <p>Бевацизумаб: около 10 мг/кг в/в каждые две недели.</p> <p>Модифицированный режим FOLFOX6: Оксалиплатин около 85 мг/м<sup>2</sup> в/в с лейковорином около 400 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 2 часов; 5-FU около 400 мг/м<sup>2</sup> болюсное в/в с последующей около 2400 мг/м<sup>2</sup> в/в непрерывной инфузией продолжительностью 46 часов каждые две недели.</p>

	(Модификация дозы каждого агента в FOLFOX может быть сделана независимо в зависимости от конкретного вида наблюдаемой токсичности)
3	<p>Сиролимус (то есть рапамицин): около <math>30 \text{ мг/м}^2</math>, вводимый внутривенно (в/в) еженедельно в течение 3 недель с последующей неделей отдыха.</p> <p>Бевацизумаб: около <math>10 \text{ мг/кг}</math> в/в каждые две недели.</p> <p>Модифицированный режим FOLFOX6: Оксалиплатин около <math>85 \text{ мг/м}^2</math> в/в с лейковорином около <math>400 \text{ мг/м}^2</math> в/в в течение 2 часов; 5-FU около <math>400 \text{ мг/м}^2</math> болюсное в/в с последующей около <math>2400 \text{ мг/м}^2</math> в/в непрерывной инфузией продолжительностью 46 часов каждые две недели.</p> <p>(Модификация дозы каждого агента в FOLFOX может быть сделана независимо в зависимости от конкретного вида наблюдаемой токсичности)</p>
4	<p>Сиролимус (то есть рапамицин): около <math>45 \text{ мг/м}^2</math>, вводимый внутривенно (в/в) еженедельно в течение 3 недель с последующей неделей отдыха.</p> <p>Бевацизумаб: около <math>10 \text{ мг/кг}</math> в/в каждые две недели.</p> <p>Модифицированный режим FOLFOX6: Оксалиплатин около <math>85 \text{ мг/м}^2</math> в/в с лейковорином около <math>400 \text{ мг/м}^2</math> в/в в течение 2 часов; 5-FU около <math>400 \text{ мг/м}^2</math> болюсное в/в с последующей около <math>2400 \text{ мг/м}^2</math> в/в непрерывной инфузией продолжительностью 46 часов каждые две недели.</p> <p>(Модификация дозы каждого агента в FOLFOX может быть сделана независимо в зависимости от конкретного вида наблюдаемой токсичности)</p>
5	<p>Сиролимус (то есть рапамицин): около <math>60 \text{ мг/м}^2</math>, вводимый внутривенно (в/в) еженедельно в течение 3 недель с последующей неделей отдыха.</p> <p>Бевацизумаб: около <math>10 \text{ мг/кг}</math> в/в каждые две недели.</p> <p>Модифицированный режим FOLFOX6: Оксалиплатин около <math>85 \text{ мг/м}^2</math> в/в с лейковорином около <math>400 \text{ мг/м}^2</math> в/в в течение 2 часов; 5-FU около <math>400 \text{ мг/м}^2</math> болюсное в/в с последующей около <math>2400 \text{ мг/м}^2</math> в/в непрерывной инфузией продолжительностью 46 часов каждые две недели.</p> <p>(Модификация дозы каждого агента в FOLFOX может быть сделана независимо в зависимости от конкретного вида наблюдаемой токсичности)</p>
6	<p>Сиролимус (то есть рапамицин): от около <math>10</math> до около <math>60 \text{ мг/м}^2</math> в/в</p> <p>Бевацизумаб: от около <math>5 \text{ мг/кг}</math> до около <math>10 \text{ мг/кг}</math> в/в</p> <p>Модифицированный режим FOLFOX6: Оксалиплатин около <math>85 \text{ мг/м}^2</math> в/в с лейковорином около <math>400 \text{ мг/м}^2</math> в/в в течение 2 часов; 5-FU около <math>400 \text{ мг/м}^2</math> болюсное в/в с последующей около <math>2400 \text{ мг/м}^2</math> в/в непрерывной инфузией продолжительностью 46 часов в две недели.</p>

	(Модификация дозы каждого агента в FOLFOX может быть сделана независимо в зависимости от конкретного вида наблюдаемой токсичности)
7	<p>Сиролимус (то есть рапамицин): около 30 мг/м<sup>2</sup>, вводимый внутривенно (в/в) один раз каждые две недели;</p> <p>Бевацизумаб: около 5 мг/кг до около 10 мг/кг в/в (например, около 5 мг/кг в/в)</p> <p>Модифицированный режим FOLFOX6: Оксалиплатин около 85 мг/м<sup>2</sup> в/в с лейковорином около 400 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 2 часов; 5-FU около 400 мг/м<sup>2</sup> болюсное в/в с последующей около 2400 мг/м<sup>2</sup> в/в непрерывной инфузией продолжительностью 46 часов в две недели.</p> <p>(Модификация дозы каждого агента в FOLFOX может быть сделана независимо в зависимости от конкретного вида наблюдаемой токсичности)</p>

**[0322]** Лечение, соответствующее любым режимам дозирования, таким как примеры режимов дозирования, рассмотренные выше, может повторяться несколькими циклами (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более циклами, например, примерно 1-10 циклами, 1-7 циклами, 1-5 циклами, 1-4 циклами, 1-3 циклами). В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение в соответствии с определенным режимом дозирования повторяется в течение по меньшей мере двух, трех или более циклов. В некоторых вариантах осуществления лечение в соответствии с конкретным режимом дозирования непрерывно повторяется (то есть без интервала) в течение по меньшей мере двух, трех или более циклов.

**[0323]** В некоторых вариантах осуществления изобретения существует интервал между двумя соседними циклами. В некоторых вариантах осуществления интервал составляет, по меньшей мере, приблизительно одну, две, три или четыре недели. В некоторых вариантах осуществления интервал составляет, по меньшей мере, примерно один, два, три, четыре, пять, шесть или более месяцев. В некоторых вариантах осуществления интервал составляет примерно период времени, который позволяет индивидууму набрать вес (например, после интервала индивидуум имеет вес около или, по меньшей мере, около 90%, 92%, 95%, 97% от веса до начала лечения).

**[0324]**

**[0325]** Композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) можно вводить индивидууму (например, человеку) различными путями, включая, например, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, внутрилегочное, пероральное, ингаляционное, интравезикулярное, внутримышечное, внутритрахеальное, подкожное, интраокулярное, интратекальное, трансмукозальное и трансдермальное. В некоторых вариантах осуществления может использоваться состав композиции с замедленным непрерывным высвобождением. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция вводится внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция вводится интрапортально.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция вводится внутриаартериально. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция вводится внутривенно.

#### **Категория пациентов**

[0326] В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидууму по меньшей мере около 50, 55, или 60 лет.

[0327] В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет в анамнезе курение. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивидуум имеет в анамнезе курение в течение по меньшей мере около 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 или 40 лет.

[0328] В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивидуума имеется метастатический колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления рак метастазировал в другие один, два, три или более органа (например, поджелудочную железу, легкое, печень, почку, мозг).

#### **Готовое изделие и наборы**

[0329] В некоторых вариантах осуществления изобретения предложено готовое изделие, содержащее вещества, которые могут использоваться для лечения рака толстой кишки, включающие композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитело и режим FOLFOX. Готовое изделие может содержать контейнер и этикетку или вкладыш в упаковке или связанный с контейнером. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы и т. д. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Как правило, контейнер содержит композицию, которая эффективна для лечения заболевания или расстройства, описанного в настоящем документе, и может иметь стерильное отверстие для доступа (например, контейнер может представлять собой мешок для внутривенного раствора или флакон с пробкой, прокалываемой иглой для подкожных инъекций). По меньшей мере один активный агент в композиции представляет собой а) состав наночастиц ингибитора mTOR; б) анти-VEGF антитело или с) по меньшей мере часть режима FOLFOX. Этикетка или вкладыш в упаковке указывает, что композиция используется для лечения конкретного состояния у индивидуума. Этикетка или вкладыш в упаковке будут дополнительно содержать инструкции по введению композиции индивидууму. Также рассматриваются готовое изделие и наборы, содержащие комбинированные медицинские препараты, описанные в настоящем документе.

[0330] Вставка в упаковке относится к инструкциям, обычно включаемым в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, введении, противопоказаниях и/или предупреждениях относительно использования таких терапевтических продуктов. В некоторых вариантах осуществления изобретения вставка в упаковке относится к инструкциям, обычно включаемым в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, введении,

противопоказаниях и/или предупреждениях относительно использования таких терапевтических продуктов.

**[0331]** Кроме того, готовое изделие может дополнительно содержать второй контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер, такой как бактериостатическая вода для инъекций (BWFI), физиологический раствор с фосфатным буфером, раствор Рингера и раствор декстрозы. Кроме того, он может включать другие вещества, желательные с коммерческой и пользовательской точек зрения, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и шприцы

**[0332]** Также предоставляются наборы, которые могут быть использованы для различных целей, например, для лечения рака толстой кишки. Наборы по изобретению включают один или несколько контейнеров, содержащих композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) (или стандартную лекарственную форму и/или готовое изделие), и в некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительно содержат анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX и/или инструкции по применению в соответствии с любым из способов, описанных в настоящем документе. Набор может дополнительно содержать описание выбора лиц, подходящих для лечения. Инструкции, поставляемые в наборах по изобретению, обычно представляют собой письменные инструкции на этикетке или на вкладыше в упаковке (например, лист бумаги, включенный в набор), но также приемлемы машиночитаемые инструкции (например, инструкции, хранящиеся на магнитном или оптическом диске для хранения).

**[0333]** Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения набор включает композицию, содержащую композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина). В некоторых вариантах осуществления изобретения набор включает а) композицию, содержащую композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и б) анти-VEGF антитело (например, бевацизумаб) и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления изобретения набор включает а) композицию, содержащую композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и б) инструкции по введению индивидууму композиции наночастиц ингибитора mTOR в комбинации с анти-VEGF антителом (например, бевацизумабом) и режима FOLFOX для лечения рака толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения набор включает а) композицию, содержащую композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина), б) анти-VEGF антитело и с) инструкции по введению индивидууму композиции наночастиц ингибитора mTOR и анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба) и/или режима FOLFOX для лечения рака толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления изобретения набор включает а) композицию, содержащую композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина), б) анти-VEGF антитело, с) по меньшей

мере часть режима FOLFOX и d) инструкции по введению индивидууму композиции наночастиц ингибитора mTOR и анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба) и/или режима FOLFOX для лечения рака толстой кишки. Композиция наночастиц ингибитора mTOR (такая как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела (например, бевацизумаба) и/или по меньшей мере части режима FOLFOX может быть в отдельных контейнерах или в одном контейнере. Например, набор содержать одну отдельную композицию или две или более композиций, где одна композиция содержит композицию наночастиц ингибитора mTOR (такую как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина), а другая композиция содержит анти-VEGF антитело (например, бевацизумаб) и/или по крайней мере, часть режима FOLFOX.

**[0334]** Наборы по изобретению находятся в подходящей упаковке. Подходящая упаковка включает, но этим не ограничивается, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку (например, герметичные майларовые или пластиковые пакеты) и тому подобное. Наборы могут дополнительно предоставлять дополнительные компоненты, такие как буферы и пояснительная информация. Таким образом, в настоящей заявке предложены также изделия, которые включают флаконы (такие как герметичные флаконы), бутылки, банки, гибкую упаковку и тому подобное.

**[0335]** Инструкции, касающиеся использования композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела (например, бевацизумаб) и/или по меньшей мере части режима FOLFOX обычно включают информацию относительно дозировки, графика дозирования и пути введения для предполагаемого лечения. Контейнеры могут быть единичными дозами, объемными упаковками (например, многодозовыми упаковками) или единичными дозами. Например, могут быть предоставлены наборы, которые содержат достаточные дозировки композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела (например, бевацизумаб) и/или по меньшей мере части режима FOLFOX, описанных в настоящем документе, для обеспечения эффективного лечения индивидуума в течение длительного периода, такого как неделя, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 6 недель, 8 недель, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев или более. Наборы могут также включать несколько единичных доз композиции наночастиц ингибитора mTOR (такой как композиция наночастиц сиролимуса/альбумина) и анти-VEGF антитела (например, бевацизумаб) и/или режима FOLFOX и инструкции по применению, упакованных в количествах, достаточных для хранения и использовать в аптеках, например, в больничных аптеках и в рецептурных аптеках.

**[0336]** Специалистам в данной области техники будет понятно, что в рамках объема и сущности этого изобретения возможны несколько вариантов осуществления. Далее изобретение описано более подробно со ссылкой на следующие неограничивающие примеры. Следующие примеры дополнительно иллюстрируют изобретение, но, конечно, не должны рассматриваться как ограничивающие его объем.

**ПРИМЕРЫ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

**[0337]** Вариант осуществления 1. Способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела, с) терапевтически эффективного режима FOLFOX.

**[0338]** Вариант осуществления 2. Способ варианта осуществления 1, где рак толстой кишки включает aberrацию активации mTOR.

**[0339]** Вариант осуществления 3. Способ варианта осуществления 2, где aberrация активации mTOR включает aberrацию PTEN.

**[0340]** Вариант осуществления 4. Способ варианта осуществления 3, где aberrация активации mTOR, кроме того, включает aberrацию KRAS.

**[0341]** Вариант осуществления 5. Способ варианта осуществления 3, где aberrация активации mTOR, кроме того, включает вторую aberrацию, где вторая aberrация не является aberrацией PTEN или KRAS.

**[0342]** Вариант осуществления 6. Способ варианта осуществления 1-5, где ингибитор mTOR представляет собой препарат лимус.

**[0343]** Вариант осуществления 7. Способ варианта осуществления 6, где препарат лимус представляет собой рапамицин.

**[0344]** Вариант осуществления 8. Способ по любому из вариантов осуществления 1-7, где анти-VEGF антитело представляет собой бевацизумаб.

**[0345]** Вариант осуществления 9. Способ по любому из вариантов осуществления 1-8, где количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>.

**[0346]** Вариант осуществления 10. Способ по любому из вариантов осуществления 1-8, где количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>.

**[0347]** Вариант осуществления 11. Способ по любому из вариантов осуществления 1-8, где количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>.

**[0348]** Вариант осуществления 12. Способ по любому из вариантов осуществления 1-8, где количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 75 мг/м<sup>2</sup> до около 100 мг/м<sup>2</sup>.

**[0349]** Вариант осуществления 13. Способ по любому из вариантов осуществления 1-12, где композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, один раз каждые 2 недели или один раз каждые 3 недели.

**[0350]** Вариант осуществления 14. Способ по любому из вариантов осуществления 1-12, где композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится 2 раза каждые 3 недели.

**[0351]** Вариант осуществления 15. Способ по любому из вариантов осуществления 1-12, где композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится 3 раза каждые 4 недели.

**[0352]** Вариант осуществления 16. Способ по любому из вариантов осуществления 1-15, где средний диаметр наночастиц в композиции составляет не более чем около 200 нм.

**[0353]** Вариант осуществления 17. Способ по любому из вариантов осуществления 1-16, где массовое отношение альбумина к ингибитору mTOR в композиции наночастиц составляет не более чем около 9:1.

**[0354]** Вариант осуществления 18. Способ по любому из вариантов осуществления 1-17, где наночастицы содержат ингибитор mTOR, связанный с альбумином.

**[0355]** Вариант осуществления 19. Способ варианта осуществления 18, где наночастицы содержат ингибитор mTOR, покрытый альбумином.

**[0356]** Вариант осуществления 20. Способ по любому из вариантов осуществления 1-19, где композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно, внутривезикулярно, подкожно, интратекально, внутрипупьмонально, внутримышечно, интратрахеально, интраокулярно, трансдермально, перорально или путем ингаляции.

**[0357]** Вариант осуществления 21. Способ варианта осуществления 20, где композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно.

**[0358]** Вариант осуществления 22. Способ по любому из вариантов осуществления 1-21, где количество анти-VEGF антитела составляет от около 1 мг/кг до около 5 мг/кг.

**[0359]** Вариант осуществления 23. Способ по любому из вариантов осуществления 1-21, где количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг.

**[0360]** Вариант осуществления 24. Способ по любому из вариантов осуществления 1-21, где количество анти-VEGF антитела составляет от около 10 мг/кг до около 15 мг/кг.

**[0361]** Вариант осуществления 25. Способ по любому из вариантов осуществления 1-21, где количество анти-VEGF антитела составляет от около 15 мг/кг до около 20 мг/кг.

**[0362]** Вариант осуществления 26. Способ по любому из вариантов осуществления 1-25, где анти-VEGF антитело вводится внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно, внутривезикулярно, подкожно, интратекально, внутрипупьмонально, внутримышечно, интратрахеально, интраокулярно, трансдермально, перорально или путем ингаляции.

**[0363]** Вариант осуществления 27. Способ варианта осуществления 26, где анти-VEGF антитело вводится внутривенно.

**[0364]** Вариант осуществления 28. Способ варианта осуществления 27, где количество анти-VEGF антитела составляет около 10 мг/кг, и где анти-VEGF антитело вводится один раз каждые две недели.

**[0365]** Вариант осуществления 29. Способ по любому из вариантов осуществления 1-27, где анти-VEGF антитело вводится еженедельно.

**[0366]** Вариант осуществления 30. Способ по любому из вариантов осуществления 1-27, где анти-VEGF антитело вводится один раз каждые две недели.

**[0367]** Вариант осуществления 31. Способ по любому из вариантов осуществления 1-27, где анти-VEGF антитело вводится один раз каждые три недели.

**[0368]** Вариант осуществления 32. Способ по любому из вариантов осуществления 1-31, где режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4 или FOLFOX6.

**[0369]** Вариант осуществления 33. Способ по любому из вариантов осуществления 1-31, где режим FOLFOX представляет собой модифицированный режим FOLFOX4 или модифицированный режим FOLFOX6.

**[0370]** Вариант осуществления 34. Способ варианта осуществления 32 или 33, где режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4, и где анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг.

**[0371]** Вариант осуществления 35. Способ варианта осуществления 33, где режим FOLFOX представляет собой модифицированный FOLFOX6, и где анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг.

**[0372]** Вариант осуществления 36. Способ по любому из вариантов осуществления 1-35, где ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно.

**[0373]** Вариант осуществления 37. Способ по любому из вариантов осуществления 1-35, где анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно.

**[0374]** Вариант осуществления 38. Способ по любому из вариантов осуществления 1-35, где ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.

**[0375]** Вариант осуществления 39. Способ по любому из вариантов осуществления 1-35, где анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.

**[0376]** Вариант осуществления 40. Способ по любому из вариантов осуществления 1-35, где ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.

**[0377]** Вариант осуществления 41. Способ по любому из вариантов осуществления 1-35, где анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.

**[0378]** Вариант осуществления 42. Способ по любому из вариантов осуществления 1-41, где индивидуумом является человек.

**[0379]** Вариант осуществления 43. Способ по любому из вариантов осуществления 1-42, дополнительно включающий выбор индивидуума для лечения на основании наличия по меньшей мере одной аберрации активации mTOR или состояния MSI.

**[0380]** Вариант осуществления 44. Способ варианта осуществления 43, где аберрация активации mTOR включает мутацию в гене, связанным с mTOR.

**[0381]** Вариант осуществления 45. Способ варианта осуществления 43 или 44, где аберрация активации mTOR имеется по меньшей мере в одном mTOR-ассоциированном

гене, выбранном из группы, состоящей из AKT1, FLT-3, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, TP53, FGFR4, BAP1, KRAS, NRAS и PTEN.

**[0382]** Вариант осуществления 46. Способ варианта осуществления 45, где aberrация активации mTOR имеется в PTEN.

**[0383]** Вариант осуществления 47. Способ по любому из вариантов осуществления 1-46, дополнительно включающий оценку aberrации активации mTOR у индивидуума.

**[0384]** Вариант осуществления 48. Способ варианта осуществления 47, где aberrация активации mTOR оценивается секвенированием генов или иммуногистохимией.

**[0385]** Вариант осуществления 49. Способ по любому из вариантов осуществления 1-48, дополнительно включающий выбор индивидуума для лечения на основе по меньшей мере одного биомаркера, указывающего на благоприятный ответ на лечение анти-VEGF антителом.

**[0386]** Вариант осуществления 50. Способ по любому из вариантов осуществления 1-49, дополнительно включающий выбор индивидуума для лечения на основе по меньшей мере одного биомаркера, указывающего на благоприятный ответ на лечение FOLFOX.

**[0387]** Вариант осуществления 51. Способ по любому из вариантов осуществления 1-50, где рак толстой кишки является раком на поздней стадии.

**[0388]** Вариант осуществления 52. Способ по любому из вариантов осуществления 1-51, где рак толстой кишки является злокачественным.

**[0389]** Вариант осуществления 53. Способ по любому из вариантов осуществления 1-52, где рак толстой кишки является метастатическим.

**[0390]** Вариант осуществления 54. Способ по любому из вариантов осуществления 1-53, где рак толстой кишки является раком I, II, III или IV стадии.

**[0391]** Вариант осуществления 55. Способ по любому из вариантов осуществления 1-54, где рак толстой кишки характеризуется геномной нестабильностью.

**[0392]** Вариант осуществления 56. Способ варианта осуществления 55, где геномная нестабильность включает микросателлитную нестабильность (MSI), нестабильность генома (CIN) и/или фенотип CpG-островного метилатора (CIMP).

**[0393]** Вариант осуществления 57. Способ варианта осуществления 1-56, где рак толстой кишки характеризуется альтерацией пути, где альтерация пути включает инактивацию генов PTEN, TP53, BRAF, PI3CA или APC, активацию KRAS, TGF- $\beta$ , CTNNB, эпителиально-мезенхимального перехода (EMT) или передачи сигналов WNT, и/или амплификацию MYC.

**[0394]** Вариант осуществления 58. Способ по любому из вариантов осуществления 1-57, где рак толстой кишки классифицируется в системе подтипов рака толстой кишки (CCS) как CCS1, CCS2 или CCS3.

**[0395]** Вариант осуществления 59. Способ по любому из вариантов осуществления 1-58, где рак толстой кишки классифицируется по определению колоректального рака

(система CRCA) как стволоподобный, бокаловидный, воспалительный, транзитный амплифицирующий, или энтероцитарный подтип.

**[0396]** Вариант осуществления 60. Способ по любому из вариантов осуществления 1-59, где индивидуум ранее проходил лечение химиотерапией, лучевой терапией или хирургией.

**[0397]** Вариант осуществления 61. Способ по любому из вариантов осуществления 1-59, где индивидуум ранее не получал лечения.

**[0398]** Вариант осуществления 62. Способ по любому из вариантов осуществления 1-60, где способ используется в качестве адьювантной терапии.

### **ПРИМЕРЫ**

**Пример 1. Применение Nab-рапамицина в комбинации с FOLFOX и бевацизумабом в качестве терапии первой линии у пациентов с распространенным или метастатическим колоректальным раком**

**[0399]** ABI-009 («nab-рапамицин») представляет собой наночастицы, связанные с белком рапамицина, для инъекционной суспензии (связанной с альбумином). После комбинации с FOLFOX и бевацизумабом он повышает терапевтическую эффективность и/или снижает токсичность для нормальной ткани при распространенном или метастатическом колоректальном раке. Это исследование является проспективным I/II фазой, однокомпонентным, открытым, многоинституциональным исследованием для определения рекомендуемой дозы II фазы (RP2D) и определения профиля эффективности и безопасности ABI-009, вводимого в качестве терапии первой линии в комбинация с FOLFOX и бевацизумабом у пациентов с запущенным или метастатическим колоректальным раком.

#### **Введение комбинированной терапии**

**[0400]** Пациенты получают ABI-009 в различных дозировках, как описано в таблице 3, путем внутривенной инфузии в течение 30 минут в неделю в течение 3 недель с последующей неделей отдыха (qw3/4, 28-дневный цикл). Бевацизумаб в дозе 10 мг/кг и mFOLFOX6 вводят каждые 2 недели, начиная с цикла 1, день 1.

**[0401]** Модифицированный режим FOLFOX6 является следующим: оксалиплатин 85 мг/м<sup>2</sup> внутривенно с лейковорином (LV) 400 мг/м<sup>2</sup> внутривенно в течение 2 часов плюс 5-FU 400 мг/м<sup>2</sup> внутривенно болюсно и 2400 мг/м<sup>2</sup> непрерывно в течение 46 часов каждый раз 2 недели. Модификации дозы каждого агента в FOLFOX могут быть сделаны независимо, основываясь на определенных типах наблюдаемой токсичности. Бевацизумаб может быть пропущен или прекращен из-за токсичности, связанной с бевацизумабом, но доза не уменьшается.

**[0402]** Пациенты продолжают комбинированную терапию: 1) до прогрессирования заболевания, 2) до неприемлемой токсичности, 3) до того времени, когда исследователь считает, что пациент больше не получает пользу от терапии, или 4) по усмотрению пациента. Пациенты, которые остаются на лечении более 6 месяцев, могут переключаться

на mFOLFOX и бевацизумаб каждые 3 недели и ABI-009 еженедельно в течение 2 недель с последующей неделей отдыха (qw2/3, 21-дневный цикл) по усмотрению исследователя.

#### **Цели и конечные точки**

**[0403]** Фаза I исследования проводится для определения RP2D ABI-009 в сочетании с FOLFOX и бевацизумабом и для оценки предварительной эффективности и безопасности ABI-009 в сочетании с FOLFOX и бевацизумабом в RP2D. Фаза II исследования проводится для дальнейшей оценки эффективности и безопасности ABI-009 в сочетании с FOLFOX и бевацизумабом на RP2D, а также профиля токсичности ABI-009 при комбинированной терапии на RP2D. Протеомные профили сыворотки пациентов, получавших комбинированную терапию, также определены.

**[0404]** Первичными конечными точками, используемыми в фазе I, являются токсичность, ограничивающая дозу (DLT), и максимально переносимая доза (MTD) ABI-009 в сочетании с FOLFOX и бевацизумабом. Вторичные конечные точки, используемые в фазе I, представляют собой: а) профиль безопасности когорт доз, проанализированных отдельно и вместе; и б) показатель контроля заболевания (DCR) когорт доз, проанализированных отдельно и вместе.

**[0405]** В фазе II выживаемость без прогрессирования (PFS) через 6 месяцев после ABI-009 (в сочетании с FOLFOX и бевацизумабом) в RP2D и во всех когортах дозы оценивают как первичные конечные точки. Общий уровень ответа (ORR), продолжительность ответа (DOR), медианная PFS и частота контроля заболевания (DCR) на RP2D и все когорты дозы и безопасность на RP2D, включая пациентов с фазы I, используются в качестве вторичных конечных точек.

**[0406]** Кроме того, биопсия опухоли перед лечением (например, архивные образцы или свежие ткани в течение 3 месяцев до лечения) проводится всем пациентам с фазы I и II для оценки базового биомаркера и мутационного анализа, включая, но не ограничиваясь этим, оценку потери PTEN, мутационный статус Ras, маркеры пути mTOR (включая, но не ограничиваясь этим, S6K, 4EBP1). Образцы крови в разные моменты времени (например, до лечения, после лечения (например, в 1-й день третьего цикла, т.е. C3-D1) и при рецидиве заболевания) отбирают у всех пациентов из фаз I и II. Молекулярный анализ анализа циркулирующей ДНК с использованием секвенирования следующего поколения проводят для оценки изменений во времени в ответ на комбинированную терапию в отношении распространенности мутаций, выявленных в исходных образцах опухоли. Например, нуклеиновые кислоты, выделенные из крови, используются для исследования того, связаны ли циркулирующие в опухоли нуклеиновые кислоты с рецидивом заболевания. Фармакокинетическая и/или фармакодинамическая информация ABI-009 всех пациентов из фаз I и II изучается для оценки взаимосвязей с конечными точками безопасности и/или эффективности.

#### **Дизайн исследования и правила определения дозы**

**[0407]** Исследование проводится в соответствии с Международной конференцией по гармонизации (ICH) надлежащей клинической практики (GCP).

**[0408]** В части исследования дозы (фаза I) уровни дозы ABI-009 тестировали в когортах по 3 пациента, каждый из которых использовал схему определения дозы 3+3, как показано в таблице 3.

**[0409]** Таблица 3.

Величина дозы	ABI-009 в мг/м <sup>2</sup>
-2	10
-1	20
1	30
2	45
3	60

**[0410]** Повышение до следующего уровня дозы с новой когортой из 3 пациентов происходит после того, как не наблюдали DLT в 1-м цикле лечения 4 недели. Повышение дозы внутри пациента не допускается. Если DLT происходит в когорте, дополнительные 3 пациента будут завербованы в когорте. Если дальнейших DLT не происходит, то можно зарегистрировать новую когорту из 3 пациентов со следующим более высоким уровнем дозы. Если два или более из шести пациентов с определенным уровнем дозы испытывают DLT, то эта когорта будет закрыта для дальнейшей регистрации, и 3 пациента будут включены в следующий более низкий уровень дозы, и так далее.

**[0411]** MTD представляет собой наивысший уровень дозы, при котором DLT менее чем у одного пациента. RP2D идентифицируется на основе совокупности данных о безопасности и эффективности.

#### **Пациенты**

**[0412]** В исследовании участвуют до 42 оцениваемых пациентов, до 18 в фазе I для определения дозы и 24 дополнительных пациента в фазе II (всего N=30 в фазе II, включая пациентов из фазы I при RP2D).

**[0413]** По оценкам, в фазе I для достижения MTD требуется максимум 18 пациентов; Тем не менее, MTD может быть достигнуто только с 9 пациентами.

**[0414]** В фазе II 24 дополнительных пациента включены в RP2D, в общей сложности 30 пациентов (включая 6 пациентов из фазы I в RP2D).

**[0415]** Пациент имеет право на включение в это исследование, только если при скрининге соблюдены все следующие критерии. 1. Пациент с гистологически подтвержденным распространенным или метастатическим колоректальным раком, для которого показана химиотерапия. 2. Пациент не должен был предварительно проходить химиотерапию по поводу прогрессирующего или метастатического заболевания, хотя пациенты могли получать адъювантную химиотерапию или адъювантную химиотерапию. 3. Пациент должен иметь как минимум 1 измеримый участок заболевания в соответствии

с RECIST v1.1, который ранее не был облучен. Однако, если у пациента было ранее облучение до поражения маркером, должно быть свидетельство прогрессирования после облучения. 4. Пациент должен быть не моложе 18 лет, его состояние должно быть 0, 1 или 2 с показателями Восточной объединенной онкологической группы (ECOG). 5. Пациент не должен был ранее лечиться ингибитором mTOR. 6. Пациент должен иметь адекватную функцию печени, которая включает в себя: а) общий билирубин равен или меньше 1,5-кратного верхнего предела нормы (ULN) мг/дл; и б) аспартатаминотрансфераза (AST) и аланинаминотрансфераза (ALT) составляют или составляют менее  $2,5 \times \text{ULN}$  (менее  $5 \times \text{ULN}$ , если у пациента имеются метастазы в печени). 7. Пациент должен иметь адекватную функцию почек, что означает, что уровень креатинина в сыворотке крови составляет или превышает 2 раза по ULN, или клиренс креатинина превышает 50 см<sup>3</sup>/ч. 8. Пациент должен иметь адекватные биологические параметры, которые включают: а) абсолютное количество нейтрофилов (АНК) составляет или превышает  $1,5 \times 10^9/\text{л}$ ; б) количество тромбоцитов составляет или превышает  $100000/\text{мм}^3$  ( $100 \times 10^9/\text{л}$ ); и с) уровень гемоглобина составляет или превышает 9 г/дл. 9. Уровень триглицеридов сыворотки натощак составляет или составляет менее 300 мг/дл; уровень сывороточного холестерина натощак составляет или составляет менее 350 мг/дл. 10. Интернационализированное нормализованное соотношение (INR) и частичное время тромбопластина (ПТВ) составляет менее  $1,5 \times \text{ULN}$  (антикоагуляция разрешена, если целевой INR составляет менее 1,5 при стабильной дозе варфарина или при стабильной дозе гепарина LMW для более чем 2 недели на момент зачисления). 11. После начала любой серьезной операции, завершения лучевой терапии или завершения всей предшествующей системной противораковой терапии (адекватно восстановленной после острой токсичности любой предшествующей терапии) прошло как минимум четыре недели.

#### **Продолжительность лечения и участие в исследовании**

**[0416]** Это исследование занимает приблизительно 36 месяцев от первого зарегистрированного пациента до последнего последующего наблюдения пациента, включая приблизительно 24 месяца периода регистрации, приблизительно 6 месяцев лечения (или до тех пор, пока лечение больше не переносится).

**[0417]** Конец лечения (ЕОТ) для пациента определяется как дата последней дозы ABI-009. Конец визита лечения пациента - это когда оценки безопасности и процедуры выполняются после последнего лечения, которое должно произойти в течение 1 недели ( $\pm 3$  дня) после последней дозы ABI-009.

**[0418]** Конец исследования (ЕОС) определяется либо как дата последнего посещения последнего пациента, завершившего исследование, либо как дата получения последней точки данных от последнего пациента, которая требуется для анализа, например, как это описано в настоящем документе.

**[0419]** Период наблюдения представляет собой период исследования после визита ЕОТ. Все пациенты, которые прекратили комбинированную терапию и не отозвали полное согласие на участие в исследовании, продолжают фазу наблюдения за выживанием

и началом другой противоопухолевой терапии. Наблюдение продолжается примерно каждые 12 недель ( $\pm 3$  недели) до тех пор, пока смерть, отзыв согласия или исследование не будут закрыты, в зависимости от того, что наступит раньше. Эта оценка может быть сделана путем проверки записи и/или телефонного контакта.

#### **Ключевые оценки эффективности**

**[0420]** Эффективность оценивают с использованием компьютерной томографии и критериев RECIST (версия 1.1). Используются стандартные определения RECIST (версия 1.1) стабильных, прогрессирующих заболеваний и ответов. Для оценки ответа используются только критерии RECIST (версия 1.1). ПЕТ используется только для качественных целей.

**[0421]** Для фазы II исследования первичной конечной точкой является выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS) через 6 месяцев после лечения. Выживаемость без прогрессирования определяется как время от первого дня введения комбинированной терапии до прогрессирования заболевания или смерти по любой причине. В дополнение к точному биномиальному тесту для 6-месячного периода PFS анализируется с использованием методов Каплана-Мейера и обобщается путем представления 25-го, 50-го и 75-го перцентилей PFS и связанных с ними двусторонних 95% доверительных интервалов.

**[0422]** ORR и DCR сообщаются вместе с 95%-ным доверительным интервалом, вычисленным методом Клоппера-Пирсона.

#### **Ключевые оценки безопасности**

**[0423]** Оценки безопасности состоят из мониторинга и регистрации всех нежелательных явлений и серьезных нежелательных явлений, регулярного мониторинга показателей гематологии, химического состава крови и мочи, регулярного измерения показателей жизнедеятельности и проведения физических обследований.

**[0424]** Безопасность и переносимость оценивают в соответствии с NCI CTCAE, версия 4.0.

**[0425]** Для фазы I исследования первичной конечной точкой является безопасность в качестве обобщенной описательной статистики.

#### **Пример 2. Пациент с метастатическим колоректальным раком стадии IVB, получавший ABI-009**

**[0426]** У пациента, которому 61 год, был диагностирован метастатический колоректальный рак стадии IVB в мае 2018 года, метастазами в поджелудочную железу, легкие и печень и продолжающейся потерей веса с февраля 2018 года. Пациент также имел длительную историю курения ( $>40$  лет). Пациент получал экспериментальный терапевтический ABI-009 в дозе  $30 \text{ мг/м}^2$  внутривенно, наряду со стандартным лечением модифицированным FOLFOX6 плюс бевацизумаб (дозы: болюс 5FU при  $400 \text{ мг/м}^2$ , 5FU непрерывной  $2400 \text{ мг/м}^2$ , оксалиплатин при  $85 \text{ мг/м}^2$ , бевацизумаб при  $5 \text{ мг/кг}$ ). Этот пациент получал 3 полных дозы каждого терапевтического препарата каждую вторую неделю, в течение 5 недель в июле и августе 2018 года. Пациент был представлен для

последующего посещения лечения и сообщил об анорексии и продолжающейся потере веса (140 фунтов в начале лечения и 123 фунта во время посещения; потеря веса 17 фунтов [12%]). Пациент был госпитализирован из-за неуспеха в сентябре 2018 года, а затем был освобожден для паллиативной помощи на дому с кормлением из трубки.

**[0427]** В октябре 2018 года пациент, как сообщалось, выздоровел после эпизода, лучше ел и начал набирать вес. Пациент не получал никакой дополнительной противораковой терапии с момента последней исследуемой дозы в августе 2018 года. Пациент прошел компьютерную томографию и физическое обследование в ноябре 2018 года, через 2,5 месяца после последней дозы терапии. Эта оценка показала, что по сравнению с исходными КТ, проведенными в июле до лечения, наблюдалось интервальное уменьшение размера метастатических поражений печени и поджелудочной железы. Кроме того, произошло уменьшение размера левого общего подвздошного отдела лимфатического узла, а также нескольких легочных узелков. Удивительно, но доминирующий узелок в правой перигилярной области легкого (8,7×6,0 см) появился в виде полостного очага со значительным некрозом, несмотря на отсутствие терапии этого заболевания пациента со времени последней дозы в августе 2018 года, 2,5 месяца назад.

**[0428]** Пациент сообщил, что чувствует себя хорошо с прибавкой массы тела в 15,2 фунта, измеренной с начала госпитализации в сентябре и опухолевый биомаркер карциноэмбрионального антигена (СЕА) снизился почти в 3 раза (с 14,4 до 5,1 нг/мл) ниже уровней скрининга исходного уровня, когда пациент был представлен для терапии. Важно отметить, что нормальный уровень СЕА для курильщиков составляет <5 нг/мл. Лечащий врач сообщил, что он не видел такой реакции у пациентов, получающих только комбинацию FOLFOX и бевацизумаба.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Способ лечения рака толстой кишки у индивидуума, включающий введение индивидууму: а) эффективного количества композиции, содержащей наночастицы, которые содержат ингибитор mTOR и альбумин, б) эффективного количества анти-VEGF антитела, в) терапевтически эффективного режима FOLFOX.
2. Способ по п.1, где рак толстой кишки включает аберрацию активации mTOR.
3. Способ по п.2, где аберрация активации mTOR включает аберрацию PTEN.
4. Способ по п.3, где аберрация активации mTOR, кроме того, включает аберрацию KRAS.
5. Способ по п.3, где аберрация активации mTOR, кроме того, включает вторую аберрацию, где вторая аберрация не является аберрацией PTEN или KRAS.
6. Способ по п.1-5, где ингибитор mTOR представляет собой препарат лимус.
7. Способ по п.6, где препарат лимус представляет собой рапамицин.
8. Способ по любому из пп.1-7, где анти-VEGF антитело представляет собой бевацизумаб.
9. Способ по любому из пп.1-8, где количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 10 мг/м<sup>2</sup> до около 30 мг/м<sup>2</sup>.
10. Способ по любому из пп.1-8, где количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 30 мг/м<sup>2</sup> до около 45 мг/м<sup>2</sup>.
11. Способ по любому из пп.1-8, где количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 45 мг/м<sup>2</sup> до около 75 мг/м<sup>2</sup>.
12. Способ по любому из пп.1-8, где количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц ингибитора mTOR составляет от около 75 мг/м<sup>2</sup> до около 100 мг/м<sup>2</sup>.
13. Способ по любому из пп.1-12, где композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится еженедельно, один раз каждые 2 недели или один раз каждые 3 недели.
14. Способ по любому из пп.1-12, где композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится 2 раза каждые 3 недели.
15. Способ по любому из пп.1-12, где композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится 3 раза каждые 4 недели.
16. Способ по любому из пп.1-15, где средний диаметр наночастиц в композиции составляет не более чем около 200 нм.
17. Способ по любому из пп.1-16, где массовое отношение альбумина к ингибитору mTOR в композиции наночастиц составляет не более чем около 9:1.
18. Способ по любому из пп.1-17, где наночастицы содержат ингибитор mTOR, связанный с альбумином.
19. Способ по п.18, где наночастицы содержат ингибитор mTOR, покрытый альбумином.
20. Способ по любому из пп.1-19, где композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно, внутривезикулярно,

подкожно, интратекально, внутривезикулярно, внутримышечно, интратрахеально, интраокулярно, трансдермально, перорально или путем ингаляции.

21. Способ по п.20, где композиция наночастиц ингибитора mTOR вводится внутривенно.

22. Способ по любому из пп.1-21, где количество анти-VEGF антитела составляет от около 1 мг/кг до около 5 мг/кг.

23. Способ по любому из пп.1-21, где количество анти-VEGF антитела составляет от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг.

24. Способ по любому из пп.1-21, где количество анти-VEGF антитела составляет от около 10 мг/кг до около 15 мг/кг.

25. Способ по любому из пп.1-21, где количество анти-VEGF антитела составляет от около 15 мг/кг до около 20 мг/кг.

26. Способ по любому из пп.1-25, где анти-VEGF антитело вводится внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно, внутривезикулярно, подкожно, интратекально, внутривезикулярно, внутримышечно, интратрахеально, интраокулярно, трансдермально, перорально или путем ингаляции.

27. Способ по п.26, где анти-VEGF антитело вводится внутривенно.

28. Способ по п.27, где количество анти-VEGF антитела составляет около 10 мг/кг, и где анти-VEGF антитело вводится один раз каждые две недели.

29. Способ по любому из пп.1-27, где анти-VEGF антитело вводится еженедельно.

30. Способ по любому из пп.1-27, где анти-VEGF антитело вводится один раз каждые две недели.

31. Способ по любому из пп.1-27, где анти-VEGF антитело вводится один раз каждые три недели.

32. Способ по любому из пп.1-31, где режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4 или FOLFOX6.

33. Способ по любому из пп.1-31, где режим FOLFOX представляет собой модифицированный режим FOLFOX4 или модифицированный режим FOLFOX6.

34. Способ по п.32 или 33, где режим FOLFOX представляет собой FOLFOX4, и где анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг.

35. Способ по п.33, где режим FOLFOX представляет собой модифицированный FOLFOX6, и где анти-VEGF антитело вводится внутривенно один раз каждые две недели в количестве около 10 мг/кг.

36. Способ по любому из пп.1-35, где ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно.

37. Способ по любому из пп.1-35, где анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму последовательно.

38. Способ по любому из пп.1-35, где ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.

39. Способ по любому из пп.1-35, где анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.
40. Способ по любому из пп.1-35, где ингибитор mTOR и анти-VEGF антитело и/или по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.
41. Способ по любому из пп.1-35, где анти-VEGF антитело и по меньшей мере часть режима FOLFOX вводятся индивидууму одновременно.
42. Способ по любому из пп.1-41, где индивидуумом является человек.
43. Способ по любому из пп.1-42, дополнительно включающий выбор индивидуума для лечения на основании наличия по меньшей мере одной аберрации активации mTOR или состояния MSI.
44. Способ по п.43, где аберрация активации mTOR включает мутацию в гене, связанным с mTOR.
45. Способ по п.43 или 44, где аберрация активации mTOR находится по меньшей мере в одном mTOR-ассоциированном гене, выбранном из группы, состоящей из AKT1, FLT-3, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, TP53, FGFR4, VAP1, KRAS, NRAS и PTEN.
46. Способ по п.45, где аберрация активации mTOR происходит в PTEN.
47. Способ по любому из пп.1-46, дополнительно включающий оценку аберрации активации mTOR у индивидуума.
48. Способ по п.47, где аберрация активации mTOR оценивается секвенированием генов или иммуногистохимией.
49. Способ по любому из пп.1-48, дополнительно включающий выбор индивидуума для лечения на основе по меньшей мере одного биомаркера, указывающего на благоприятный ответ на лечение анти-VEGF антителом.
50. Способ по любому из пп.1-49, дополнительно включающий выбор индивидуума для лечения на основе по меньшей мере одного биомаркера, указывающего на благоприятный ответ на лечение FOLFOX.
51. Способ по любому из пп.1-50, где рак толстой кишки является раком на поздней стадии.
52. Способ по любому из пп.1-51, где рак толстой кишки является злокачественным.
53. Способ по любому из пп.1-52, где рак толстой кишки является метастатическим.
54. Способ по любому из пп.1-53, где рак толстой кишки является раком I, II, III или IV стадии.
55. Способ по любому из пп.1-54, где рак толстой кишки характеризуется геномной нестабильностью.
56. Способ по п.55, где геномная нестабильность включает микросателлитную нестабильность (MSI), нестабильность генома (CIN) и/или фенотип CpG-островного метилатора (CIMP).

57. Способ по пп.1-56, где рак толстой кишки характеризуется альтерацией пути, где альтерация пути включает инактивацию генов PTEN, TP53, BRAF, PI3CA или APC, активацию KRAS, TGF- $\beta$ , CTNNB, эпителиально-мезенхимального перехода (EMT) или передачи сигналов WNT, и/или амплификацию MYC.

58. Способ по любому из пп.1-57, где рак толстой кишки классифицируется в системе подтипов рака толстой кишки (CCS) как CCS1, CCS2 или CCS3.

59. Способ по любому из пп.1-58, где рак толстой кишки классифицируется по определению колоректального рака (система CRCA) как стволоподобный, бокаловидный, воспалительный, транзитный амплифицирующий или энтероцитарный подтип.

60. Способ по любому из пп.1-59, где индивидуум ранее проходил лечение химиотерапией, лучевой терапией или хирургией.

61. Способ по любому из пп.1-59, где индивидуум ранее не получал лечения.

62. Способ по любому из пп.1-60, где способ используется в качестве адьювантной терапии.

По доверенности