

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038030**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- | | |
|---|--|
| <p>(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.06.25</p> <p>(21) Номер заявки
201892803</p> <p>(22) Дата подачи заявки
2017.05.31</p> | <p>(51) Int. Cl. <i>A61K 31/7064</i> (2006.01)
<i>A61K 31/7072</i> (2006.01)
<i>A61K 31/7076</i> (2006.01)
<i>A61P 35/00</i> (2006.01)
<i>A61P 35/02</i> (2006.01)</p> |
|---|--|

(54) ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ТЕРАПИЯ

- | | |
|---|--|
| <p>(31) 1609600.0</p> <p>(32) 2016.06.01</p> <p>(33) GB</p> <p>(43) 2019.06.28</p> <p>(86) PCT/GB2017/051560</p> <p>(87) WO 2017/207993 2017.12.07</p> <p>(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НУКАНА ПиЭлСи (GB)</p> <p>(72) Изобретатель:
Макгиган Крис (умер), Гриффит Хью,
Пеппер Крис (GB)</p> <p>(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)</p> | <p>(56) WO-A1-2012117246
WO-A1-2006100439
PERTUSATI F. ET AL.: "Diastereoselective synthesis of P-chirogenic phosphoramidate prodrugs of nucleoside analogues (ProTides) via copper catalysed reaction", CHEMICAL COMMUNICATIONS - CHEMCOM., vol. 51, no. 38, 1 January 2015 (2015-01-01), pages 8070-8073, XP055342703, ISSN: 1359-7345, DOI: 10.1039/C5CC00448A the whole document compound 8a
WO-A1-2016083830
WO-A1-2016181093</p> |
|---|--|

- (57) Предложены медицинские применения и способы для направленного действия на раковые стволовые клетки с применением соединений ProTide, в частности, для профилактики и лечения рака. Соединение ProTide может отличаться от соединения, выбранного из группы, состоящей из NUC-1031; ProTide, полученного из кордицепина; и ProTide, полученного из 8-хлораденозина. Медицинские применения и способы для направленного действия на раковые стволовые клетки особенно полезны для лечения рецидивирующего или рефрактерного рака у пациентов-людей. В изобретении также предложены способы выбора пациентов, которые будут получать пользу от профилактики или лечения рака посредством медицинских применений или способов лечения согласно изобретению.

B1**038030****038030****B1**

Область техники настоящего изобретения

Изобретение относится к медицинским применениям и способам направленного действия на раковые стволовые клетки, в частности в профилактике или лечении рака. Настоящее изобретение также относится к медицинским применениям и способам лечения рецидивирующего или рефрактерного рака у пациентов-людей. В изобретении предложены способы выбора пациентов, которые будут получать пользу от профилактики или лечения рака посредством медицинских применений или способов лечения согласно изобретению.

Введение.

Было высказано предположение, что раковые стволовые клетки присутствуют при различных видах рака человека, включая лейкозы и солидные опухоли. Согласно гипотезе о существовании раковых стволовых клеток, только небольшая субпопуляция опухолевых клеток отвечает за формирование и поддержание основной массы опухоли. Это концепция ведет свое начало с работы Lapidot et al. (1994), в которой автор показал, что только небольшой процент клеток острого миелоидного лейкоза способен вызывать лейкоз у мышей. Было показано, что эти клетки экспрессируют маркеры клеточной поверхности (CD34⁺/CD38⁻), аналогичные маркерам клеточной поверхности нормальных гематopoэтических стволовых клеток, поэтому можно предположить, что подобная иерархическая организация может возникать и в опухолях. Впоследствии раковые стволовые клетки были идентифицированы в целом ряде солидных опухолей, включая опухоли молочной железы, легкого, толстой кишки, предстательной железы, яичника, кожи и поджелудочной железы.

Традиционные способы противораковой терапии направлены преимущественно на популяции клеток основной массы опухоли. Такие стратегии часто имеют ограниченную эффективность из-за истинной или приобретенной лекарственной устойчивости и/или устойчивости к ионизирующему излучению, поэтому рецидив и появление лекарственной устойчивости являются общими чертами многих видов рака. Механизмы терапевтической устойчивости включают активацию распознавания и репарации поврежденных ДНК, индуцированных терапией, изменение контроля контрольной точки клеточного цикла, нарушение функционирования апоптотических путей и снижение накопления лекарственного средства в результате увеличения экспрессии ABC-транспортёров, осуществляющих перенос лекарственных средств из клетки наружу. Появились данные о том, что раковые стволовые клетки обладают повышенной устойчивостью к химиотерапии и лучевой терапии, и их количество часто повышено у пациентов с рецидивами. Обнаружено, что химиорезистентность характерна для раковых стволовых клеток при лейкозах человека, злокачественной меланоме и некоторых видах солидных опухолей, включая рак молочной железы, рак поджелудочной железы и колоректальный рак.

Показано, что фенотипы и функции, специфичные для раковых стволовых клеток, вносят вклад в онкогенность, прогрессирование рака и терапевтическую устойчивость. Сохранение раковых стволовых клеток также может обуславливать неудачи в лечении. Поэтому раковые стволовые клетки представляют собой новые и перспективные релевантные мишени для противораковой терапии.

Краткое описание настоящего изобретения

В изобретении предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в направленном действии на раковые стволовые клетки.

В изобретении предложено применение соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, в производстве лекарственных средств для направленного действия на раковые стволовые клетки.

В изобретении предложен способ направленного действия на раковые стволовые клетки, способ, включающий обеспечение популяции раковых стволовых клеток достаточным количеством соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, для направленного действия на такие раковые стволовые клетки.

Направленное действие на раковые стволовые клетки, упомянутое в настоящем изобретении, может применяться в профилактике или лечении рака. В таких вариантах осуществления популяция раковых стволовых клеток может быть в раковом или предраковом состоянии у пациента, нуждающегося в таком направленном действии, и способ может включать введение терапевтически эффективного количества соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, пациенту.

В изобретении предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в качестве лекарственного средства против раковых стволовых клеток. Это применение соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может также применяться для профилактики или лечения рака.

В изобретении предложен способ определения того, получит ли пациент с раковым или предраковым состоянием пользу от профилактики или лечения рака соединением по настоящему изобретению, способ, включающий оценку биологического образца, характеризующего раковое или предраковое состояние у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; при этом наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце свидетельствует о том, что пациент получит пользу от лечения соединением по настоящему изобретению.

В изобретении предложен способ определения подходящей схемы лечения для пациента с раковым или предраковым состоянием, способ, включающий оценку биологического образца, характеризующего

раковое или предраковое состояние у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; при этом наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце свидетельствует о том, что подходящая схема лечения будет включать лечение пациента соединением по настоящему изобретению.

В изобретении предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в профилактике или лечении рака у пациента, выбранного для такого лечения способом, включающим оценку биологического образца, характеризующего раковое или предраковое состояние у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; при этом наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце свидетельствует о том, что пациент подходит для лечения соединением по настоящему изобретению.

Вышеуказанные способы могут дополнительно включать стадию профилактики или лечения ракового или предракового состояния с применением соединения по настоящему изобретению.

В подходящих вариантах осуществления способов по настоящему изобретению рак представляет собой рецидивирующий или рефрактерный рак. Соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться для лечения такого рецидивирующего или рефрактерного рака.

В изобретении предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в лечении рефрактерного рака у субъекта. В изобретении предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в лечении рецидивирующего рака у субъекта. Субъектом может быть пациент-человек.

В изобретении предложено применение соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, в производстве лекарственного средства для лечения рецидивирующего или рефрактерного рака у пациентов-людей.

В изобретении предложен способ лечения рецидивирующего или рефрактерного рака у субъекта, способ, включающий обеспечение субъекта, нуждающегося в таком лечении, терапевтически эффективным количеством соединения ProTide, как это определено в настоящем документе.

В изобретении предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в лечении рака, при этом соединение ProTide применяется в дозе приблизительно от 500 до 1000 мг/м² в неделю на протяжении по меньшей мере одного начального цикла лечения и далее применяется в более низкой еженедельной дозе на протяжении по меньшей мере одного последующего цикла лечения. Рак может представлять собой рецидивирующий рак или рефрактерный рак.

В изобретении также предложено соединение ProTide, выбранное из CPF447, CPF727, CPF544, CPF680, CPF545, CPF682 и CPF792 или их фармацевтически приемлемых солей. В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение ProTide, выбранное из CPF447, CPF727, CPF544, CPF680, CPF545, CPF682 и CPF792, или его фармацевтически приемлемый наполнитель. Соединение ProTide может быть выбрано из CPF680, CPF544, CPF682 и CPF792 или их фармацевтически приемлемых солей. Соединение ProTide может быть выбрано из CPF447, CPF727, CPF544, CPF680, CPF545, CPF682 и CPF792. Соединение ProTide может быть выбрано из CPF680, CPF544, CPF682 и CPF792. Каждое из этих соединений ProTide может применяться для направленного действия на раковые стволовые клетки, и, таким образом, эти соединения ProTide представляют собой подходящие ProTide для применения в соответствии с различными аспектами и вариантами осуществления изобретения, указанными выше.

Подробное описание настоящего изобретения

Различные аспекты изобретения основаны на обнаружении того факта, что соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, способно преимущественно снижать количество раковых стволовых клеток. Это обнаружение удивительно, поскольку известно, что раковые стволовые клетки устойчивы ко многим химиотерапевтическим агентам, и ранее не предполагалось, что соединения ProTide, являющиеся объектом настоящего изобретения, способны направленно действовать на раковые стволовые клетки. Таким образом, обнаружение того, что соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, способно направленно действовать на раковые стволовые клетки и, таким образом, снижать их количество, обнаружение, которое авторы изобретения подтвердили для широкого спектра видов рака, является неожиданным и важным и открывает целый ряд новых терапевтических применений для соединений по настоящему изобретению.

Биологические активности, которыми обладают соединения по настоящему изобретению, описанные в других разделах в настоящей спецификации и о которых ранее не сообщалось, указывают на то, что с этими соединениями можно проводить лечение, которое, вероятно, будет эффективным для пациентов с рецидивирующим или рефрактерным раком. Лечение такого рода с применением соединений по настоящему изобретению может привести к уменьшению размера опухоли и/или снижению клинически значимых биомаркеров, что может быть связано с более благоприятным прогнозом. Более того, лечение соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, может способствовать поддержанию тенденции уменьшения размеров опухолей у пациентов с рецидивирующим раком или рефрактерным раком. Соответственно, благодаря лечению с применением соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может быть достигнут высокий, устойчивый показатель контроля заболеваемости (DCR) у пациентов с рецидивирующим раком или рефрактерным раком.

Не желая связывать себя какой-либо гипотезой, авторы изобретения считают, что способность соединений по настоящему изобретению направленно действовать на раковые стволовые клетки обуславливает терапевтическое применение этих соединений для лечения рецидивирующего рака или рефрактерного рака.

За исключением случаев, когда контекст требует иного, ссылки в этом раскрытии на "применение" соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, в соответствии с изобретением могут относиться к любому из медицинских применений соединений по изобретению, описанных в настоящем документе. Аналогично, ссылки на "способы" по настоящему изобретению, в которых применяется соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, относятся к любому из способов по изобретению, описанных в настоящем документе.

Способность соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, направленно действовать на раковые стволовые клетки, обеспечивает возможность для применения новых способов лечения, направленных против тех раковых клеток, которые, как считается, труднее всего поддаются лечению и играют важную роль в поддержании устойчивости, ограничивающей эффективность многих существующих способов лечения рака. Благодаря этой способности также открывается возможность для направленного действия на клетки, которые, как считается, ассоциированы с развитием, прогрессированием, рецидивом и распространением рака. Соответственно, будет признано, что такая активность соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, против раковых стволовых клеток создает преимущества в контекстах, в которых уже давно искали новые и эффективные виды лечения.

Настоящее изобретение в значительной степени основано на обнаружении, сделанного авторами изобретения, касающегося биологических активностей, демонстрируемых группой соединений ProTide. Как описано ниже, биологические активности этих соединений ProTide ясно указывают на то, что они будут обладать терапевтической активностью в различных клинических контекстах, рассмотренных в настоящем документе. Соединения ProTide в соответствии с различными аспектами настоящего изобретения могут быть особенно полезны для применения в профилактике или лечении рака, даже рецидивирующего рака или рефрактерного рака.

Авторы изобретения обнаружили, что соединение "ProTide", гемцитабин-[фенил-бензоксипропан-2-ил-аланинил]фосфат (также называемое NUC-1031 или в соответствии с коммерческим наименованием ацеларин (Acelarin)), которое представляет собой производное ProTide химиотерапевтического агента гемцитабина, способно обеспечивать эффективное лечение рака, в клинических исследованиях, в том числе эффективное лечение рецидивирующего рака или рефрактерного рака. Эффективность NUC-1031 в лечении рака, таким образом, по-видимому, обусловлена способностью этого соединения направленно действовать на раковые стволовые клетки при лечении рака. Эффективное лечение рака, обеспечиваемое ProTide NUC-1031, может приводить к уменьшению числа раковых стволовых клеток, замедлению прогрессирования заболевания, уменьшению размера опухоли и снижению уровней биомаркеров рака, таких как раковоэмбриональный антиген (CEA), раковый антиген (CA) 19.9, CA 125 и ингибин В. Подробная информация о клинических исследованиях, демонстрирующих терапевтическую полезность NUC-1031, приведена в сравнительном примере 2 настоящего изобретения.

Такая терапевтическая полезность NUC-1031 обусловлена биологической активностью соединения. NUC-1031 является цитотоксичным для раковых стволовых клеток *in vitro*. Более того, этот эффект оказался селективным, т.е. хотя NUC-1031 является цитотоксичным как для раковых стволовых клеток, так и для не стволовых раковых клеток, NUC-1031 в большей степени оказывает этот эффект на раковые стволовые клетки. Соответственно, в смешанных популяциях раковых стволовых клеток и не стволовых раковых клеток лечение NUC-1031 приводит к снижению доли раковых стволовых клеток до уровня ниже уровня в начале лечения. Сравнение эффектов NUC-1031 и исходного соединения, гемцитабина, на смешанные популяции раковых стволовых клеток и не стволовых раковых клеток, указывает на то, что селективность, которую демонстрирует NUC-1031, статистически значительно выше, чем селективность действия исходного соединения. Авторы изобретения считают, что активности, которые демонстрирует NUC-1031 *in vitro*, равноценны лечению рака при обеспечении этим соединением *in vivo*.

Как указано в других разделах в спецификации, определение соединений ProTide, подходящих для применения в соответствии с настоящим изобретением, исключает NUC-1031 и может также исключать соединения ProTide, основанные на противораковых агентах, кордицепине и 8-хлораденозине. Таким образом, соединение ProTide в соответствии с настоящим изобретением может представлять собой соединение ProTide, отличное от соединения, выбранного из группы, состоящей из NUC-1031; ProTide, полученного из кордицепина; и ProTide, полученного из 8-хлораденозина.

Как показано в результатах, приведенных в других разделах настоящей спецификации, авторы изобретения показали, что соединения ProTide, отличные от NUC-1031, способны направленно действовать на раковые стволовые клетки и тем самым снижать долю таких клеток в популяциях клеток, обработанных ProTide. Примеры соединений ProTide, для которых показано, что они подходят для таких применений, включают соединения, выбранные из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединения ProTide, выбранные из группы, состоящей из: CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381, CPF-581 и CPF-585; соединения ProTide, полученные из тиогуанозина, в частно-

сти соединения ProTide CPF-775 или CPF-782; соединения ProTide, полученные из кладрибина, в частности соединения ProTide CPF-793 и CPF-791; соединения ProTide, полученные из тиоинозина, в частности соединения ProTide CPF-761 и CPF-762; соединения ProTide, полученные из флударабина, в частности соединения ProTide CPF-544 и CPF-682; и соединения ProTide, полученные из клофарабина, в частности соединения ProTide, выбранные из группы, состоящей из: CPF-720, CPF-727 и CPF-448.

Более того, авторы изобретения показали, что некоторые соединения ProTide, отличные от NUC-1031, способны направленно действовать на раковые стволовые клетки с большей эффективностью, чем исходные противораковые соединения, из которых они получены. Такие соединения ProTide представляют собой очень перспективные агенты для терапевтических применений, описанных в настоящем документе, и включают соединения, выбранные из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединения ProTide, выбранные из группы, состоящей из: CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381 и CPF-581; соединения ProTide, полученные из тиогуанозина, в частности соединения ProTide CPF-775 или CPF-782; соединения ProTide, полученные из кладрибина, в частности соединения ProTide CPF-793; соединения ProTide, полученные из тиоинозина, в частности соединения ProTide CPF-761.

Авторы изобретения также показали, что некоторые соединения ProTide, отличные от NUC-1031, способны не только более эффективно направленно действовать на раковые стволовые клетки, чем исходные противораковые соединения, из которых они получены, но также демонстрируют более высокую противораковую активность, чем исходные соединения, из которых они получены. Такую комбинацию активностей демонстрирует NUC-1031 *in vitro*, и благодаря тому, что для этих соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, может быть получен аналогичный профиль активностей *in vitro*, эти соединения являются особенно перспективными агентами для достижения таких же значимых клинических эффектов, что и с применением NUC-1031. Такие соединения ProTide включают соединения, выбранные из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из: CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381 и CPF-581.

Как описано в настоящем документе, авторы изобретения обнаружили, что соединения ProTide, в том числе выбранные из группы, состоящей из CPF-373 (Iso A), CPF-373 (Iso B), CPF-381, CPF-581, CPF-782, CPF-775, CPF-544, CPF-682, CPF-793, CPF-448, CPF-585, CPF-791, CPF-720, CPF-727, CPF-761 и CPF-762, обладают селективным направленным действием на раковые стволовые клетки в отличие от не стволовых раковых клеток.

Соединения ProTide, в том числе выбранные из группы, состоящей из CPF-373 (Iso A), CPF-373 (Iso B), CPF-381, CPF-581, CPF-782, CPF-775, CPF-544, CPF-682, CPF-793 и CPF-448, демонстрируют высокую селективность в отношении раковых стволовых клеток.

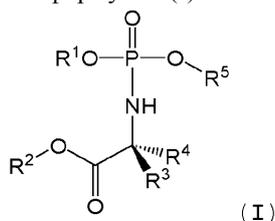
И наконец, соединения ProTide, в том числе выбранные из группы, состоящей из CPF-373 (Iso A), CPF-373 (Iso B), CPF-381, CPF-581 и CPF-782, демонстрируют высокую селективность в отношении раковых стволовых клеток и неожиданно также более высокую активность по сравнению с соответствующими исходными соединениями, из которых они получены.

Эти обнаружения, о которых ранее не сообщалось, свидетельствуют о том, что соединения ProTide, отличные от NUC-1031, будут также применимы для направленного действия на раковые стволовые клетки для лечения или профилактики рака. Таким образом, эти другие соединения ProTide, за счет направленного действия на раковые стволовые клетки могут иметь те же самые преимущества при лечении рака, что и NUC-1031, для которого эффективность была показана.

Определения

Соединения ProTide.

Нетрудно понять, что в данной области термин "ProTide" означает арилоксифосфорамидатное производное нуклеозида или аналога нуклеозида. Таким образом, ProTide может представлять собой соединение, имеющее структуру в соответствии с формулой (I)



где R¹ представляет собой арил;

R² представляет собой C₁-C₂₄-алкил, C₃-C₂₄-алкенил, C₃-C₂₄-алкинил, C₀-C₄-алкилен-C₃-C₆-циклоалкил или C₀-C₄-алкилен-арил;

R³ и R⁴, каждый независимо, выбран из H, C₁-C₆-алкила и C₁-C₃-алкилен-R⁶; или где R³ и R⁴ вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют 3-6-членную циклоалкильную или гетероциклоалкильную группу;

R^5 представляет собой нуклеозид или аналог нуклеозида;

R^6 независимо выбран из арила (например, фенила), имидазола, индола, SR^a , OR^a , CO_2R^a , $CO_2NR^aR^a$, NR^aR^b и $NH(=NH)NH_2$;

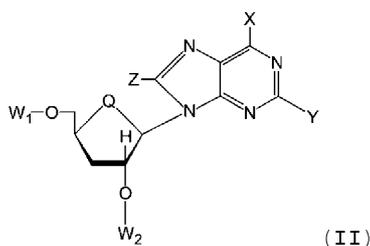
где любая арильная группа представляет собой либо фенил, либо нафтил, и где любая фенильная или нафтильная группа необязательно замещена от 1 до 4 заместителями, выбранными из галогена, нитро, циано, NR^aR^a , $NR^aS(O)_2R^a$, $NR^aC(O)R^a$, $NR^aCONR^aR^a$, $NR^aCO_2R^a$, OR^a ; SR^a , SOR^a , SO_3R^a , SO_2R^a , $SO_2NR^aR^a$, $CO_2R^aC(O)R^a$, $CONR^aR^a$, $CR^aR^aNR^aR^a$, C_1 - C_4 -алкила, C_2 - C_4 -алкенила, C_2 - C_4 -алкинила и C_1 - C_4 -галогеналкила;

где R^a независимо в каждом случае выбран из H и C_1 - C_4 -алкила; и

R^b независимо в каждом случае выбран из H, C_1 - C_4 -алкила и $C(O)$ - C_1 - C_4 -алкила.

NUC-1031 (гемцитабин-[фенил-бензокси-L-аланинил]фосфат или в соответствии с полным химическим наименованием 2'-дезоксидефтор-D-цитидин-5'-O-[фенил(бензокси-L-аланинил)фосфат]), однако, явно исключается из сферы применения этого изобретения.

Соединения в соответствии с формулой (II) также явно исключаются из сферы применения этого изобретения



(II)

где W_1 и W_2 , каждый независимо, выбран из группы, состоящей из $-P(=O)(U)(V)$ и H, при условии, что, по меньшей мере, либо W_1 , либо W_2 представляет собой $-P(=O)(U)(V)$,

где U и V, независимо для W_1 и W_2 , выбраны из группы, состоящей из

(a) U представляет собой $-OAg$, в комбинации с V представляет собой $-NR_D-CR_A R_B-C(=O)OR_C$,

где Ag выбран из группы, состоящей из C_{6-30} -арила и $5-30$ -гетероарила, каждый из которых необязательно замещен;

каждый из R_A и R_B независимо выбран из H и группы, состоящей из C_{1-20} -алкила, C_{6-30} -арил C_{1-6} -алкила, C_{2-20} -алкенила, C_{1-20} -алкокси, C_{1-20} -алкокси C_{1-20} -алкила, C_{1-20} -алкокси C_{6-30} -арила, C_{2-20} -алкинила, C_{3-20} -циклоалкил C_{6-30} -арила, C_{6-30} -арилокси и $5-20$ -гетероциклила, каждый из которых необязательно замещен;

R_C выбран из H и группы, состоящей из C_{1-20} -алкила, C_{6-30} -арил C_{1-20} -алкила, C_{2-20} -алкенила, C_{1-20} -алкокси C_{1-20} -алкила, C_{1-20} -алкокси C_{6-30} -арила, C_{2-20} -алкинила, C_{3-20} -циклоалкил C_{6-30} -арила и $5-20$ -гетероциклила, каждый из которых необязательно замещен;

R_D выбран из H и группы, состоящей из C_{1-20} -алкила, C_{6-30} -арил C_{1-20} -алкила, C_{2-20} -алкенила, C_{1-20} -алкокси, C_{1-20} -алкокси C_{1-20} -алкила, C_{1-20} -алкокси C_{6-30} -арила, C_{2-20} -алкинила, C_{3-20} -циклоалкил C_{6-30} -арила, C_{6-30} -арилокси и $5-20$ -гетероциклила, каждый из которых необязательно замещен; и

(b) каждый из U и V независимо выбран из $-NR_E R_F$,

где R_E выбран из группы, состоящей из H и C_{1-6} -алкила и R_F представляет собой $-CR_G R_H CO_2 R_I$, где R_G и R_H независимо выбраны из группы, состоящей из боковых цепей, включая H, встречающихся в природе α -аминокислот и R_I выбран из H и группы, состоящей из C_{1-20} -алкила, C_{6-30} -арил C_{1-20} -алкила, C_{2-20} -алкенила, C_{1-20} -алкокси C_{1-20} -алкила, C_{1-20} -алкокси C_{6-30} -арила, C_{2-20} -алкинила, C_{3-20} -циклоалкил C_{6-30} -арила и $5-20$ -гетероциклила, каждый из которых необязательно замещен; или

R_E и R_F вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют кольцевой фрагмент, содержащий от 5 до 8 атомов в кольце;

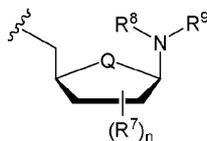
Q выбран из группы, состоящей из O, S и $CR_J R_K$, где R_J и R_K независимо выбраны из H, F и C_{1-6} -алкила;

каждый из X и Z независимо выбран из группы, состоящей из H, OH, F, Cl, Br, I, C_{1-6} -алкила, $-NR_L R_M$, где каждый R_L и R_M независимо выбран из H и C_{1-6} -алкила, и $-SR_N$, где R_N выбран из группы, состоящей из H и C_{1-6} -алкила; и

Y выбран из группы, состоящей из H, OH, F, Cl, Br, I, $-OC_{1-6}$ -алкила, C_{1-6} -алкила, C_{2-8} -алкинила, $-NR_O R_P$, где каждый R_O и R_P независимо выбран из H и C_{1-6} -алкила, и $-SR_Q$, где R_Q выбран из группы, состоящей из H и C_{1-6} -алкила,

или фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, соль сложного эфира, сольват или пролекарство соединения по формуле (II).

Нуклеозид или аналог нуклеозида может иметь структуру



где Q независимо выбран из O, NR^a и CH₂;

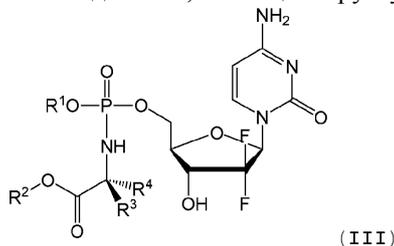
R⁷ независимо выбран из OR^a, SR^a, NR^aR^b; галогена (например, F), циано, C₁-C₄-алкила, C₂-C₄-алкенила и C₂-C₄-алкинила;

R⁸ и R⁹ вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенный пиримидин или замещенный пурин; где пурин или пиримидин замещены 1-5 группами, выбранными из OR^a, SR^a, NR^aR^b; галогена, циано, C₁-C₄-алкила, C₂-C₄-алкенила и C₂-C₄-алкинила;

n обычно представляет собой целое число от 0 до 4, n может представлять собой целое число от 1 до 3.

Специалисту в данной области очевидно, что если пиримидин или пурин замещен OH группой, присоединенной к атому углерода, расположенному рядом с одним из атомов азота в пиримидиновом или пуриновом ядре, пиримидин или пурин обычно будут существовать преимущественно в таутомерной форме, т.е. в форме, в которой нет двойной связи между атомом азота и соседними атомами углерода, но в которой существует двойная связь между соседним атомом углерода и кислородом OH группы. Указанный атом азота также может быть замещен, например, C₁-C₄-алкильной группой.

ProTide может представлять собой соединение, имеющее структуру в соответствии с формулой (III)

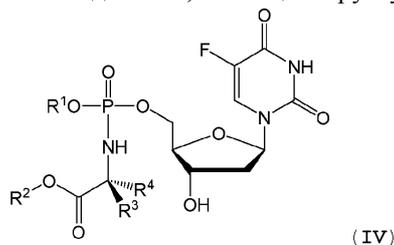


(III)

где R¹, R², R³ и R⁴ описаны выше для соединений по формуле (I).

NUC-1031 исключен из сферы применения этого изобретения и, таким образом, без сомнений, когда ProTide представляет собой соединение по формуле (III), R¹ не может представлять собой незамещенный фенил, R² не может представлять собой незамещенный бензил, R³ не может представлять собой Me и R⁴ не может представлять собой H. Соединения ProTide по формуле (III) являются производными гемцитабина.

ProTide может представлять собой соединение, имеющее структуру в соответствии с формулой (IV)

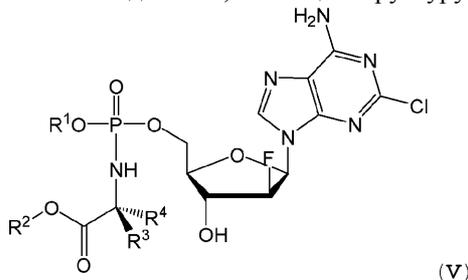


(IV)

где R¹, R², R³ и R⁴ описаны выше для соединений по формуле (I).

Соединения ProTide по формуле (IV) являются производными FUDR.

ProTide может представлять собой соединение, имеющее структуру в соответствии с формулой (V)

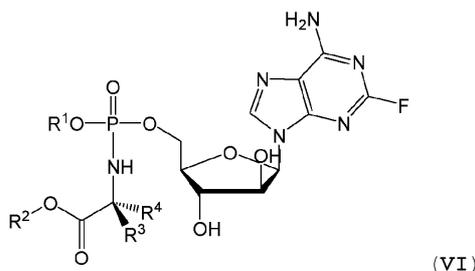


(V)

где R¹, R², R³ и R⁴ описаны выше для соединений по формуле (I).

Соединения ProTide по формуле (V) являются производными клофарабина.

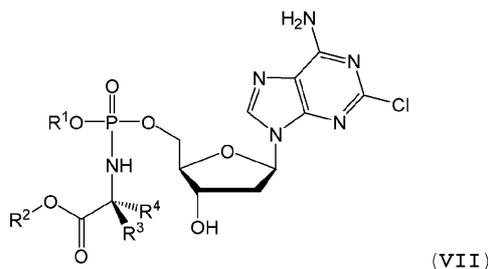
ProTide может представлять собой соединение, имеющее структуру в соответствии с формулой (VI)



где R^1 , R^2 , R^3 и R^4 описаны выше для соединений по формуле (I).

Соединения ProTide по формуле (VI) являются производными флударабина.

ProTide может представлять собой соединение, имеющее структуру в соответствии с формулой (VII)



где R^1 , R^2 , R^3 и R^4 описаны выше для соединений по формуле (I).

Соединения ProTide по формуле (VII) являются производными кладрибина.

Следующие утверждения применимы к соединениям ProTide по любой из формул от (I) и (III) до (VII). Эти утверждения являются независимыми и взаимозаменяемыми. Другими словами, любая характеристика, описанная в любом из следующих утверждений, может (где химически возможно) быть объединена с характеристикой, описанной в одном или нескольких других утверждениях ниже. В частности, когда соединение приведено в качестве примера или иллюстрации в данной спецификации, любые два или более приведенных ниже утверждений, описывающих характеристики этого соединения с любой степенью обобщения, могут быть объединены таким образом, что они представляют собой предмет заявки, который рассматривается как составная часть раскрытия этого изобретения в данной спецификации.

Возможно, что R^1 представляет собой замещенный или незамещенный фенил. Возможно, что R^1 представляет собой замещенный или незамещенный нафтил (например, 1-нафтил). Предпочтительно R^1 представляет собой незамещенный фенил или незамещенный нафтил (например, 1-нафтил). Таким образом, R^1 может представлять собой незамещенный фенил. Альтернативно, R^1 может представлять собой или незамещенный нафтил (например, 1-нафтил).

R^2 предпочтительно выбран таким образом, что он включает пять или более атомов углерода. Поэтому R^2 может быть выбран таким образом, что он включает шесть или более атомов углерода. R^2 предпочтительно выбран таким образом, что он включает только атомы углерода и водорода. R^2 может быть выбран из C_5 - C_7 -циклоалкила, C_5 - C_8 -алкила и бензила, необязательно при этом указанные группы являются незамещенными.

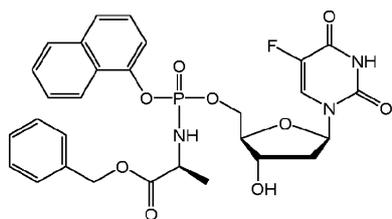
Возможно, что R^4 представляет собой H. Возможно, что R^3 выбран из C_1 - C_6 -алкила и C_1 - C_3 -алкилен- R^6 . Возможно, что R^3 представляет собой C_1 - C_4 -алкил. Возможно, что R^3 представляет собой метил.

Q предпочтительно представляет собой O.

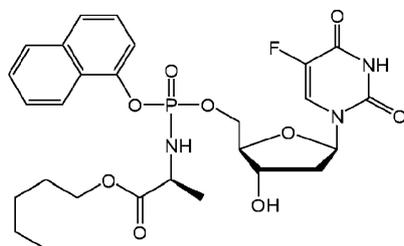
Примеры соединений ProTide по формуле (III) включают соединения, описанные в WO 2005/012327, включенной в настоящий документ посредством ссылки.

Примеры соединений ProTide по формуле (IV) включают соединения, описанные в WO 2012/117246, включенной в настоящий документ посредством ссылки. Примеры соединений ProTide по формуле (IV) включают

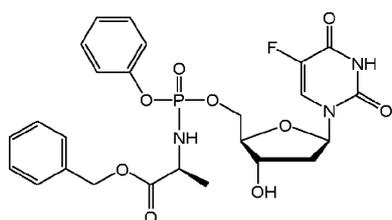
038030



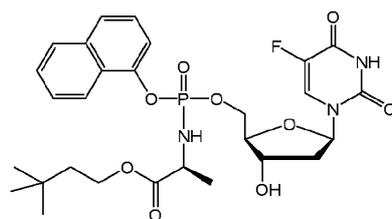
(CPF373),



(CPF581),



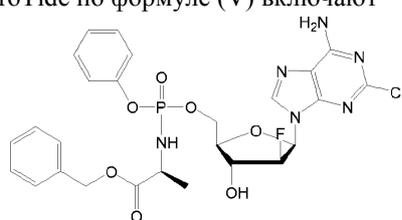
(CPF381) и



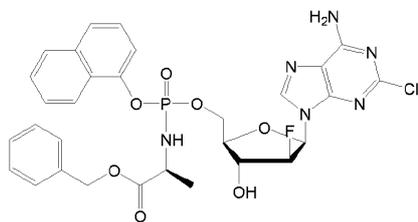
(CPF585).

Примеры соединений ProTide по формуле (V), (VI) и (VII) включают соединения, описанные в WO 2006/100439.

Примеры соединений ProTide по формуле (V) включают

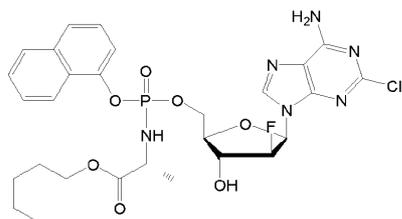
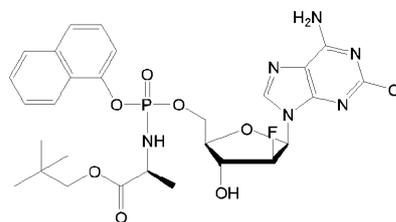


(CPF448),



(CPF447),

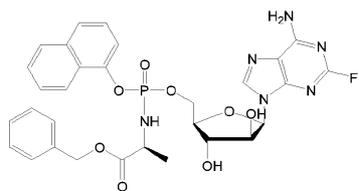
(CPF720); и



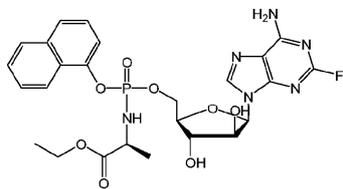
(CPF727).

Примеры соединений ProTide по формуле (VI) включают

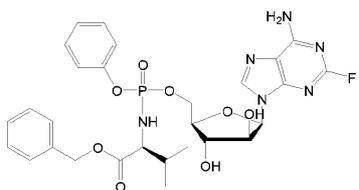
038030



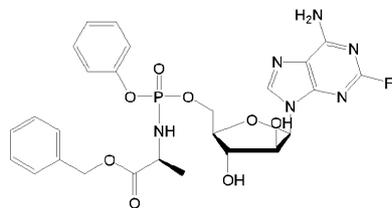
(CPF545),



(CPF544),

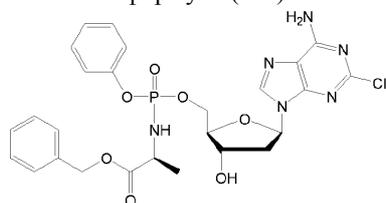


(CPF 680) и

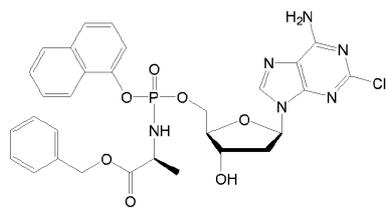


(CPF 682) .

Примеры соединений ProTide по формуле (VII) включают

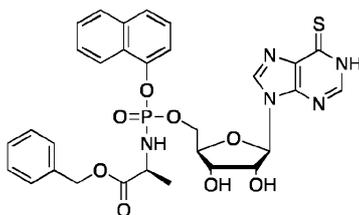


(CPF794) и

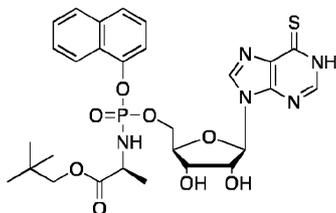


(CPF792) .

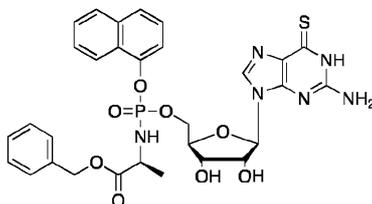
Другие примеры соединений ProTide, описанные в настоящем документе, включают



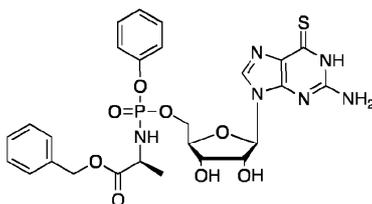
(CPF761)



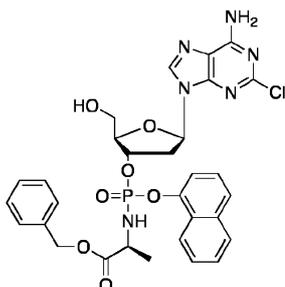
(CPF762)



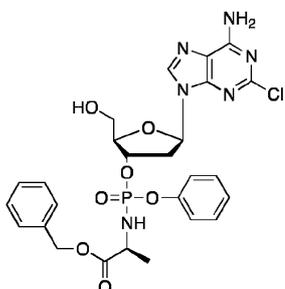
(CPF775)



(CPF782)



(CPF791)



(CPF793)

Направленное действие на раковые стволовые клетки.

В настоящем изобретении впервые указано, что соединения по изобретению могут применяться для направленного действия на раковые стволовые клетки. Способность соединений по настоящему изобре-

тению направленно действовать на раковые стволовые клетки продемонстрирована в исследованиях, в которых оценивали долю CD34⁺/CD38⁺/CD123⁺ клеток, выживших после их обработки различными концентрациями соединений ProTide, исследования приведены в примерах, раскрытых в разных разделах данной спецификации.

Из результатов, представленных в примерах, видно, что когда соединением ProTide, как это определено в настоящем документе (соединения ProTide, полученные из FUDR, в частности соединения ProTide, выбранные из группы, состоящей из CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381, CPF-581 и CPF-585; соединения ProTide, полученные из тиогуанозина, в частности соединения ProTide CPF-775 или CPF-782; соединения ProTide, полученные из кладрибина, в частности соединения ProTide CPF-793 и CPF-791; соединения ProTide, полученные из тиоинозина, в частности соединения ProTide CPF-761 и CPF-762; соединения ProTide, полученные из флударабина, в частности соединения ProTide CPF-544 и CPF-682; и соединения ProTide, полученные из клофарабина, в частности соединения ProTide CPF-720, CPF-727 и CPF-448), обрабатывают популяции раковых клеток, содержащих раковые стволовые клетки, соединения ProTide направленно действуют на присутствующие в популяции раковые стволовые клетки, что приводит к снижению общего количества раковых клеток и доли раковых клеток с фенотипическими маркерами раковых стволовых клеток.

Некоторые соединения ProTide обладают значительно большей способностью направленно действовать на раковые стволовые клетки по сравнению с исходным соединением, из которого они получены. Это верно для соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381 и CPF-581; соединений ProTide, полученных из тиогуанозина, в частности соединений ProTide CPF-775 или CPF-782; соединений ProTide, полученных из кладрибина, в частности соединения ProTide CPF-793; и соединений ProTide, полученных из тиоинозина, в частности соединения ProTide CPF-761.

Не желая быть связанными какой-либо гипотезой авторы изобретения полагают, что уменьшение числа раковых стволовых клеток происходит в результате избирательного уничтожения раковых стволовых клеток в популяции раковых клеток. То есть соединения по настоящему изобретению, по-видимому, уничтожают преимущественно раковые стволовые клетки по сравнению с не стволовыми раковыми клетками, тем самым вызывая гибель раковых стволовых клеток и снижая долю раковых стволовых клеток в общей популяции раковых клеток.

Хотя авторы изобретения полагают, что соединения по настоящему изобретению преимущественно уничтожают раковые стволовые клетки по сравнению с не стволовыми раковыми клетками, могут также существовать и другие механизмы, которые обуславливают уменьшение доли раковых стволовых клеток, вызванное направленным действием на эти клетки соединения по настоящему изобретению.

Исключительно в качестве примера лечение соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, может привести к активации дифференцировки раковых стволовых клеток, тем самым к уменьшению количества раковых стволовых клеток и доли стволовых раковых клеток среди всех раковых клеток. Альтернативно, в результате обработки соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, раковые стволовые клетки могут потерять свой фенотип стволовых клеток, например потерять способность к самообновлению, что, в свою очередь, приведет к уменьшению количества раковых стволовых клеток. Соответствующим образом следует интерпретировать и упоминания в настоящем раскрытии о направленном действии на раковые стволовые клетки.

Для целей настоящего раскрытия "направленное действие" на раковые стволовые клетки может подразумевать любой механизм, посредством которого соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, уменьшает долю раковых стволовых клеток, присутствующих в популяции клеток, как *in vitro*, так и *in vivo*. В частности, направленное действие на раковые стволовые клетки может подразумевать преимущественное уничтожение раковых стволовых клеток по сравнению с другими типами клеток, особенно по сравнению с не стволовыми раковыми клетками.

Раковые стволовые клетки.

Раковые стволовые клетки, которые иногда иначе называются "опухолевыми иницирующими клетками", хорошо известны специалистам в данной области. Как применяют в настоящем изобретении, термин "раковая стволовая клетка" следует интерпретировать в соответствии с его широко распространенным значением, т.е. как клетку, которая обладает способностью к самообновлению посредством асимметричного деления, а также способностью иницировать образование опухоли и давать начало более зрелым не стволовым раковым клеткам-потомкам посредством дифференцировки.

Раковые стволовые клетки играют важную роль в развитии, прогрессировании, рецидиве и распространении рака.

Соответственно, обнаружение того, что соединения по настоящему изобретению способны направленно действовать на раковые стволовые клетки и тем самым уменьшать их количество, предлагает терапевтические возможности для профилактики или лечения прогрессирования, рецидива и распространения рака.

Как более подробно описано в другом месте в спецификации, раковые стволовые клетки обнаруже-

ны в предраковых состояниях, при этом их присутствие, как полагают, способствует переходу таких состояний в состояние рака. Соответственно, способы лечения и медицинские применения по настоящему изобретению, в которых соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется для направленного действия на раковые стволовые клетки, могут применяться для уменьшения количества раковых стволовых клеток в предраковых состояниях (таких как миелодиспластический синдром или другие состояния, рассмотренные в другом месте в данной спецификации) и, таким образом, чтобы предотвратить переход таких предраковых состояний в рак.

Как упоминалось выше, в результате асимметричного деления раковые стволовые клетки дают начало дифференцированным не стволовым раковым клеткам. Таким образом, раковые стволовые клетки ответственны за образование и поддержание основной массы опухоли.

Накопление таких не стволовых раковых клеток играет важную роль в прогрессировании рака. Направленное действие на раковые стволовые клетки соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, может приводить к уменьшению количества раковых стволовых клеток, что, в свою очередь, уменьшает количество не стволовых раковых клеток-потомков. Таким образом, способы лечения и медицинские применения соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, в соответствии с настоящим изобретением приносят пользу при лечении рака за счет предотвращения прогрессирования рака. Такие варианты осуществления описаны более подробно в другом месте в настоящей спецификации.

Раковые стволовые клетки также могут являться резервуаром раковых клеток, так что могут вызывать рецидив рака после ремиссии. Даже в том случае, если большинство раковых клеток пациента были удалены (например, хирургическим вмешательством, лучевой терапией или химиотерапией, по отдельности, либо в комбинации), так что никаких наблюдаемых признаков рака не осталось, продолжающееся присутствие раковых стволовых клеток может привести к рецидиву рака с течением времени. Направленное действие на раковые стволовые клетки соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, обеспечивает новый способ уменьшения количества раковых стволовых клеток и их уничтожения. Соответственно и как более подробно описано в другом месте в данной спецификации, в подходящих вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает способы и медицинские применения, в которых соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, предотвращает или задерживает повторное возникновение рака.

Более того, перемещение раковых стволовых клеток из очага рака в другое место в организме может способствовать распространению рака, например, за счет возникновения метастазов. Следовательно, способность соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, направленно действовать на раковые стволовые клетки, таким образом, обеспечивает новые способы лечения и медицинские применения для профилактики или лечения распространения рака.

В дополнение к их биологическим активностям раковые стволовые клетки могут быть идентифицированы по экспрессии ими определенных характерных маркеров клеточной поверхности. Раковые стволовые клетки, идентифицируемые в гематологических злокачественных опухолях, обычно являются CD34⁺, тогда как в солидных опухолях маркерами раковых стволовых клеток являются CD44⁺, CD133⁺ и CD90⁺. В нижеследующей таблице приведены примеры известных фенотипов поверхности раковых стволовых клеток. Ожидается, что соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, в соответствии с настоящим изобретением может направленно действовать на каждую из этих форм раковых стволовых клеток, и поэтому способы или применения, в которых применяются такие соединения ProTide, могут применяться в профилактике или лечении видов рака, ассоциированных с раковыми стволовыми клетками, экспрессирующими любые из этих маркеров.

Тип опухоли	Известные маркеры клеточной поверхности для раковых стволовых клеток
<i>Солидные опухоли</i>	
Молочной железы	CD44 ⁺ /CD24 ^{-/low} /Lineage ⁻ /ESA ⁺
ЦНС	CD133 ⁺
Толстой кишки	CD133 ⁺
Толстой кишки	ESA ^{high} /CD44 ⁺ /Lineage ⁻ /(CD166 ⁺)
Юинга	CD133 ⁺
Головы и шеи	CD44 ⁺ /Lineage ⁻
Меланома	ABC5 ⁺
Печени	CD90 ⁺ /CD45 ⁻ (CD44 ⁺)
Холангиокарцинома	CD44 ⁺ /GLI1 ⁺ (гомолог онкогена-1, ассоциированного с глиомой)
Яичников	CD44 ⁺ /CD117 ⁺
Поджелудочной железы	CD44 ⁺ /CD24 ⁺ /ESA ⁺
Поджелудочной железы	CD133 ⁺
Немелкоклеточный рак легкого	CD44 ⁺ /Ber-EP4 ⁺
Рак мочевого пузыря	CD44 ⁺ /ALDH1A1 ⁺
<i>Гематологические опухоли</i>	
Острый миелоидный лейкоз	Lin ⁻ /CD34 ⁺ /CD38 ⁻ /CD123 ⁺
В-клеточный острый лимфобластный лейкоз	CD34 ⁺ /CD10 ⁻ или CD34 ⁺ /CD19 ⁻
В-клеточный острый лимфобластный лейкоз	CD34 ⁺ /CD38 ⁻ /CD19 ⁺
Множественная миелома	CD34 ⁻ /CD138 ⁻
Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз	CD34 ⁺ /CD4 ⁻ или CD34 ⁺ /CD7 ⁻

Данные, представленные в примерах, показывают, что соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, способны направленно действовать на раковые стволовые клетки лейкозных линий стволовых клеток, в частности на раковые стволовые клетки, присутствующие в линии клеток остро-

го миелоидного лейкоза KG1a. В этой клеточной линии есть небольшой компартмент клеток, подобных стволовым клеткам, с особым иммунофенотипом (Lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺), на которые направленно действуют соединения ProTide, как определено в настоящем документе. Соответственно, способы лечения или медицинские применения соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, в соответствии с настоящим изобретением могут применяться для профилактики или лечения лейкоза или других видов рака, ассоциированных с раковыми стволовыми клетками, экспрессирующими эти характерные маркеры.

В настоящем изобретении также предложены способы и медицинские применения, в которых пациентов выбирают для профилактики или лечения рака с применением соединения по настоящему изобретению, основанные на определении наличия раковых стволовых клеток в биологическом образце, характеризующем раковое или предраковое состояние у пациента. Вышеуказанные маркеры хорошо подходят для определения наличия раковых стволовых клеток в соответствии с такими вариантами осуществления изобретения. Способы, подходящие для исследования экспрессии этих маркеров в биологическом образце, рассмотрены далее в другом месте в данной спецификации.

Профилактика или лечение рака.

В изобретении предложены медицинские применения и способы лечения, в которых соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется для профилактики или лечения рака. В контексте настоящего изобретения "профилактику" рака следует понимать, как относящуюся к профилактическим применениям соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, применяемым до развития рака, и с целью предотвращения развития рака. С другой стороны, "лечение" рака понимается как относящееся к применению соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, после возникновения рака, с целью уменьшения интенсивности рака путем замедления или прекращения пролиферации раковых клеток и роста опухоли. Успешное лечение рака может привести к частичному или полному уменьшению числа раковых клеток и размеров опухоли. Эффективное лечение рака может привести к тому, что заболевание либо "стабилизируется", либо будет "отвечать" в соответствии с критериями RECIST (критерии оценки ответа солидных опухолей).

Как описано более подробно ниже, профилактика рака в соответствии с настоящим изобретением может быть особенно полезной для пациентов с предраковым состоянием, которое увеличивает вероятность развития у них рака.

Профилактика рака.

Профилактика рака в соответствии с настоящим изобретением может быть осуществлена путем лечения предракового состояния с применением соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, в соответствии с различными аспектами или вариантами осуществления изобретения, описанными в настоящем документе.

В частности, профилактика рака, в контексте настоящего изобретения, может быть осуществлена с помощью способов или медицинских применений по настоящему изобретению, в которых соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, вводят пациенту с предраковым состоянием. Способы лечения или медицинские применения в соответствии с этим вариантом осуществления могут способствовать предотвращению развития предракового состояния в рак, тем самым обеспечивая эффективную профилактику рака.

Ссылка на профилактику рака в контексте настоящего изобретения может также включать другие профилактические применения соединения по настоящему изобретению. Например, способность соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, направленно действовать на раковые стволовые клетки и, тем самым, предотвращать развитие рака, и/или предотвращать прогрессирование рака, и/или предотвращать рецидив рака, и/или предотвращать распространение рака.

Предраковые состояния.

Раку часто предшествует развитие предракового состояния, которое само по себе не является злокачественным, но ассоциировано с повышенным риском развития рака. Накопление генетических или эпигенетических изменений может привести к тому, что прежде нормальные клетки развивают фенотип раковых стволовых клеток. Соответственно, раковые стволовые клетки также могут присутствовать в таких предраковых состояниях, а также в раковых состояниях.

Считается, что наличие раковых стволовых клеток в предраковых состояниях способствует переходу (развитию) этих состояний в рак. Способы и медицинские применения по настоящему изобретению могут применяться для направленного действия на раковые стволовые клетки, присутствующие в предраковых состояниях, и таким образом для лечения таких состояний. Понятно, что новое и неожиданное обнаружение того, что соединения по настоящему изобретению направленно действуют на раковые стволовые клетки, означает, что лечение предраковых состояний такими соединениями может применяться для предотвращения развития таких состояний в рак. Представленным способом соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, можно применять в медицине для профилактики рака, как это рассматривается в другом месте в данной спецификации.

Примеры предраковых состояний, которые можно лечить в соответствии с настоящим изобретением, включают, но, не ограничиваясь этим, предраковые состояния, выбранные из группы, состоящей из

актинического кератоза, пищевода Барретта, атрофического гастрита, врожденного дискератоза, сидеропенической дисфагии, красного плоского лишая, подслизистого фиброза полости рта, солнечного эластоза, дисплазии шейки матки, лейкоплакии, эритроплакии, моноклональной гаммапатии неясной значимости (MGUS), моноклонального В-клеточного лимфоцитоза (MBL), миелодиспластических синдромов, а также предраковых состояний желудка, таких как атрофический гастрит, язва желудка, пернициозная анемия, культя желудка, полипы желудка и болезнь Менетрие. Среди перечисленных предраковых состояний желудка атрофический гастрит, пернициозная анемия, культя желудка и некоторые виды полипов желудка могут иметь особенно высокий риск перехода в рак.

Предраковые состояния часто представлены в форме повреждений, содержащих диспластические или гиперпластические клетки. Соответственно, наличие дисплазии или гиперплазии, в качестве альтернативы или в дополнение к наличию клеток, экспрессирующих маркеры или фенотипы, характерные для раковых стволовых клеток, может применяться при идентификации предраковых состояний.

Тяжесть дисплазии может различаться при разных предраковых состояниях или у одного предракового состояния с течением времени. Как правило, чем более развитая дисплазия, ассоциирована с предраковым состоянием, тем более вероятно, что данное предраковое состояние будет развиваться в рак. Дисплазия обычно классифицируется как слабая, средняя или тяжелая. Тяжелая дисплазия обычно развивается в рак, если ее не лечить. Соответственно, способы лечения или медицинские применения, в которых применяется соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, могут поэтому применяться для лечения пациента с предраковым состоянием, ассоциированным с тяжелой дисплазией.

В подходящем варианте осуществления изобретения соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется для лечения пациента с дисплазией шейки матки тяжелой степени. Дисплазия шейки матки тяжелой степени может быть диагностирована с помощью мазка на цитологию. В другом варианте осуществления изобретения соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется для лечения дисплазии пищевода тяжелой степени ("пищевод Барретта"). Дисплазия пищевода тяжелой степени может быть диагностирована после биопсии ткани.

Недавно сообщалось, что предопухолевые состояния также могут быть идентифицированы путем обнаружения соматических мутаций в клетках индивидуумов, у которых нет рака. В частности, сообщалось, что связанный с возрастом клональный гематопоз является распространенным предопухолевым состоянием, ассоциированным с повышенной общей смертностью и повышенным риском кардиометаболического заболевания. Большинство мутаций, обнаруженных в клетках крови, возникало в трех генах: DNMT3A, TET2 и ASXL1. Соответственно, пациенты, которые будут получать пользу от применения соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, для направленного действия на раковые стволовые клетки и, как следствие, лечения предракового состояния, могут быть идентифицированы путем анализа образца, содержащего клетки крови, на наличие генетических мутаций, указывающих на предраковое состояние по меньшей мере в одном из генов: DNMT3A, и/или TET2, и/или ASXL1.

Предраковые состояния, для лечения которых может оказаться полезным соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, в соответствии с изобретением направленное действующее на раковые стволовые клетки, могут быть идентифицированы путем определения наличия раковых стволовых клеток со ссылкой на любой из способов, основанных на экспрессии маркеров, характерных для раковых стволовых клеток, или фенотипов раковых стволовых клеток, обсуждаемых в другом месте в данной спецификации. Предраковые состояния, лечение которых может быть успешным путем направленного действия на раковые стволовые клетки соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, могут быть также идентифицированы путем определения присутствия раковых стволовых клеток любыми способами, основанными на экспрессии маркеров, характерных для раковых стволовых клеток или фенотипов раковых стволовых клеток, как обсуждается в данной спецификации.

Лечение рака.

Специалисту в данной области понятно, что существует много параметров, по которым можно оценить "лечение" рака. В качестве примера можно привести любое уменьшение или предотвращение развития рака, прогрессирования рака, рецидива рака или распространения рака, указывающие на эффективное лечение рака.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться для уменьшения доли раковых стволовых клеток в популяции раковых клеток; и/или для ингибирования роста опухоли; и/или для снижения онкогенности; и/или для профилактики или лечения первичного рака; и/или для профилактики или лечения рецидивирующего рака; и/или для профилактики или лечения метастатического или вторичного рака; и/или для лечения, предотвращения или ингибирования метастазов или рецидивов; и/или для лечения или предотвращения рефрактерного рака.

Способность данного способа лечения рака с применением соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, приводить к уменьшению размера опухоли, а также поддерживать такое уменьшение размера опухоли в процессе/после периода лечения, является значимым свидетельством того, что лечение рака эффективно. Как указано в примерах, способы лечения или медицинские применения по изобретению оказались неожиданно эффективными в этом отношении, даже на моделях с использовани-

ем клеток рецидивирующего или рефрактерного рака, ранее устойчивых к лечению другими способами.

Данные, представленные в примерах, свидетельствуют о том, что лечение соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, приводит к снижению доли раковых стволовых клеток в популяции раковых клеток. Характерные биологические активности или маркеры клеточной поверхности, с помощью которых могут быть идентифицированы раковые стволовые клетки, описаны в другом месте в данной спецификации. В подходящем варианте осуществления лечение рака в соответствии с настоящим изобретением может приводить к уменьшению доли раковых стволовых клеток, присутствующих в раке у пациента, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30% или по меньшей мере на 40%. В подходящих вариантах осуществления лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к уменьшению доли раковых стволовых клеток, присутствующих в раке у пациента, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% или по меньшей мере на 80%. Лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к уменьшению доли раковых стволовых клеток, присутствующих в раке у пациента, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. Действительно, лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к уменьшению доли раковых стволовых клеток, присутствующих в раке у пациента, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или даже на 100% (так что раковые стволовые клетки, по существу, отсутствуют).

Асимметричное деление раковых стволовых клеток способствует росту опухолей. Лечение рака соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, в соответствии с настоящим изобретением может приводить к ингибированию роста опухоли, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30% или по меньшей мере на 40%. Подходящее лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к ингибированию роста опухоли по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% или по меньшей мере на 80%. Лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к ингибированию роста опухоли по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% у пациента, подвергнутого лечению. Действительно, лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к ингибированию роста опухоли по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или даже на 100% при лечении рака.

Рост опухоли можно оценить любым подходящим способом, в котором изменение размера опухоли оценивается с течением времени. Соответственно, размер опухоли до лечения рака можно сравнить с размером той же самой опухоли в процессе или после лечения рака. Известны различные способы оценки размера опухоли. Например, размер опухоли можно оценить путем визуализации опухоли *in situ* внутри пациента. Подходящие способы, такие как способы визуализации, могут позволить определить объем опухоли и оценить изменения объема опухоли.

Как показано в результатах, приведенных в примерах в данной спецификации, способы лечения и медицинские применения соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, по настоящему изобретению могут приводить не только к остановке роста опухоли, но и в действительности к уменьшению объема опухоли у пациентов с раком, в том числе у пациентов с рецидивирующим раком или рефрактерным раком. Подходящее лечение рака в соответствии с настоящим изобретением может приводить к уменьшению объема опухоли по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30% или по меньшей мере на 40%. В подходящих вариантах осуществления лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к уменьшению объема опухоли по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% или по меньшей мере на 80%. Лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к уменьшению объема опухоли по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. Действительно, лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к уменьшению объема опухоли по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или даже на 100%.

Описанное выше уменьшение объема опухоли можно вычислить в сравнении с соответствующим контролем. Например, в исследованиях, проводимых *in vitro* или *in vivo* на подходящих животных моделях, уменьшение объема опухоли можно определить путем прямого сравнения объема опухоли, обработанной соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, и объема контрольной опухоли (которая может быть необработанной или может быть обработана соединением, отличным от соединения по настоящему изобретению). Понятно, что те модели, которые требуют отсутствия лечения опухоли, не могут быть приемлемыми с этической точки зрения в контексте клинических испытаний или терапевтического лечения пациентов, и в этом случае уменьшение объема опухоли можно оценить, сравнивая объем обработанной опухоли с объемом той же опухоли до начала лечения или с прогнозируемым объемом опухоли, которого она бы достигла, если бы лечение не проводилось.

Способы лечения и медицинские применения соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, могут приводить к уменьшению биомаркеров, характерных для рака. По уменьшению таких биомаркеров можно дополнительно оценивать эффективность лечения рака. Подходящие примеры таких биомаркеров могут быть выбраны, основываясь на типе рака, подлежащего лечению: в случае гинекологических видов рака подходящим примером биомаркера является CA125, в случае рака поджелудочной

железы или билиарного рака-СА19.9, а в случае колоректального рака подходящим биомаркером является СЕА.

Подходящее лечение рака в соответствии с настоящим изобретением может приводить к уменьшению биомаркеров рака по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30% или по меньшей мере на 40%. В подходящих вариантах осуществления лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к уменьшению биомаркеров рака по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% или по меньшей мере на 80%. Лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к уменьшению биомаркеров рака по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. Действительно, лечение рака в соответствии с изобретением может приводить к уменьшению биомаркеров рака по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или даже на 100%.

Благоприятные эффекты, такие как уменьшение доли присутствующих раковых стволовых клеток, уменьшение роста опухоли или уменьшение объема опухоли или биомаркеров рака, наблюдаемые при лечении рака в соответствии с настоящим изобретением, могут поддерживаться, по меньшей мере, на протяжении одного месяца. Соответственно, такие благоприятные эффекты могут поддерживаться на протяжении по меньшей мере двух месяцев, по меньшей мере трех месяцев, по меньшей мере четырех месяцев, по меньшей мере пяти месяцев или по меньшей мере шести месяцев. Действительно, такие благоприятные эффекты могут поддерживаться на протяжении по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев. Соответственно, благоприятные эффекты могут поддерживаться на протяжении по меньшей мере трех лет, по меньшей мере четырех лет, по меньшей мере пяти лет, по меньшей мере шести лет, по меньшей мере семи лет, по меньшей мере восьми лет, по меньшей мере девяти лет или по меньшей мере десяти лет или более.

В подходящем варианте осуществления изобретения соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется в способе профилактики или лечения рака или предопухолового состояния, осуществляемом путем направленного действия на раковые стволовые клетки. В подходящем варианте осуществления изобретения предложено применение соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, в способе профилактики или лечения рака или предопухолового состояния, в котором способ приводит к уменьшению онкогенности одной или более раковых стволовых клеток. Соответственно, такие способы могут предотвращать прогрессирование рака или ингибировать рост опухоли.

Когда соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется в способах или медицинских применениях по настоящему изобретению для профилактики или лечения прогрессирующего рака, такая профилактика или лечение могут приводить к замедлению, задержке или полному прекращению прогрессирующего рака.

Прогрессирование рака обычно определяют путем присвоения раку определенной стадии тяжести. Определение стадии обычно проводят, присваивая раку стадию от I до IV, при этом I стадия представляет собой изолированный рак, а IV представляет собой рак, который имеет предельные значения для оцениваемых параметров. Особенности стадий различаются в зависимости от видов рака, но, как правило, при определении стадии учитываются размер опухоли, поражение соседних органов, распространение в региональные (соседние) лимфатические узлы и появление опухолей в более отдаленных местах (метастазирование).

Как правило, рак I стадии локализуется в одной части тела и его можно лечить хирургической резекцией (применимо для солидных опухолей небольших размеров). Рак II стадии представляет собой местнораспространенный рак и поддается лечению путем химиотерапии, лучевой терапии, хирургического вмешательства или их комбинации. Рак III стадии также представляет собой местнораспространенный рак и различия между раком II стадии и раком III стадии зависят от конкретного типа рака, хотя рак III стадии обычно считается местнораспространенным раком "поздней" стадии. Рак IV стадии часто метастазирует в другие органы. Лечение рака с применением соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, в способах или медицинских применениях по настоящему изобретению может применяться для лечения I, II, III или IV стадии рака путем направленного действия на раковые стволовые клетки. Лечение соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться для предотвращения прогрессирующего рака от одной стадии до следующей. В одном из вариантов осуществления лечение соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется для предотвращения прогрессирующего рака от стадии I до стадии II. В другом варианте осуществления лечение соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется для предотвращения прогрессирующего рака от стадии II до стадии III. В еще одном варианте осуществления лечение соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется для предотвращения прогрессирующего рака от стадии III до стадии IV.

Предотвращение или ингибирование прогрессирующего рака особенно важно для предотвращения распространения рака, например, от I стадии до II стадии, когда рак распространяется локально, или от III стадии до IV стадии, когда рак метастазирует в другие органы. Раковые стволовые клетки являются онкогенными и, как полагают, играют важную роль как в локальном распространении рака, так и в метастазировании. Таким образом, способы лечения или медицинские применения по настоящему изобрете-

нию, в которых применяется соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, могут применяться для предотвращения распространения рака путем направленного действия на онкогенные раковые стволовые клетки и, как следствие, уменьшения их количества.

Виды рака.

Соединения ProTide, которые являются предметом настоящего изобретения, демонстрируют эффективную противораковую активность, и некоторые демонстрируют повышенную противораковую активность по сравнению с соединениями, из которых они получены. Противораковая активность этих соединений ProTide включает активность, которая проявляется как в отношении раковых стволовых клеток, так и в отношении не стволовых раковых клеток.

Раковые стволовые клетки играют важную роль в биологической активности различных видов рака. Соответственно, существует широкий спектр видов рака, которые могут быть подвергнуты профилактике или лечению в соответствии с настоящим изобретением.

Как отмечается в другом месте в настоящем документе, известно, что раковые стволовые клетки присутствуют во многих типах опухолей, включая опухоли жидких тканей (в том числе гематологические опухоли, такие как лейкозы и лимфомы) и солидные опухоли (такие как опухоли молочной железы, легкого, толстой кишки, предстательной железы, яичника, кожи, мочевого пузыря, билиарной системы и поджелудочной железы). Поэтому способы лечения и медицинские применения соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, с направленным действием на раковые стволовые клетки, как ожидается, будут полезны для профилактики или лечения таких видов рака.

Соответственно, соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться для предотвращения или лечения рака, выбранного из группы, состоящей из лейкоза, лимфомы, множественной миеломы, рака легкого, рака печени, рака молочной железы, рака головы и шеи, нейроblastомы, карциномы щитовидной железы, рака кожи (включая меланому), плоскоклеточной карциномы полости рта, рака мочевого пузыря, опухоли клеток Лейдига, билиарного рака, такого как холангиокарцинома или рак желчных протоков, рака поджелудочной железы, рака толстой кишки, колоректального рака и гинекологического рака, в том числе рака яичников, рака эндометрия, рака фаллопиевой трубы, рака матки и рака шейки матки, в том числе эпителиального рака шейки матки. В подходящих вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз и может быть выбран из группы, состоящей из: острого лимфобластного лейкоза, острого миелогенного лейкоза (также известного как острый миелоидный лейкоз или острый нелимфоцитарный лейкоз), острого промиелоцитарного лейкоза, острого лимфоцитарного лейкоза, хронического миелолейкоза (также известного как хронический миелоидный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз или хронический гранулоцитарный лейкоз), хронического лимфоцитарного лейкоза, монобластного лейкоза и волосатоклеточного лейкоза. В других предпочтительных вариантах осуществления рак представляет собой острый лимфобластный лейкоз. В подходящем варианте осуществления рак представляет собой лимфому, которая может быть выбрана из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина; неходжкинской лимфомы; лимфомы Беркитта и мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы.

Соответственно, благодаря направленному действию на раковые стволовые клетки при таких видах рака может достигаться эффективное лечение рака путем профилактики или предотвращения развития рака, путем профилактики или лечения прогрессирования рака, путем профилактики или лечения рецидива рака или путем профилактики или лечения распространения рака.

В подходящем варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в направленном действии на раковые стволовые клетки в профилактике или лечении метастатического рака.

В подходящем варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в направленном действии на раковые стволовые клетки в лечении рецидивирующего или рефрактерного рака.

В подходящем варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в направленном действии на раковые стволовые клетки в лечении первичного рака. Соответственно, подвергаемый лечению первичный рак может представлять собой второй первичный рак.

В изобретении предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в направленном действии на раковые стволовые клетки в лечении вторичного рака. В подходящем варианте осуществления вторичный рак представляет собой метастатический рак.

В подходящем варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в направленном действии на раковые стволовые клетки, при этом направленное действие на раковые стволовые клетки предотвращает или ингибирует (i) рецидив рака; (ii) возникновение второго первичного рака или (iii) метастазирование рака.

Способы лечения или медицинские применения, в которых соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется, основываясь на его способности направленно действовать на раковые стволовые клетки, могут применяться в лечении рецидивирующего или рефрактерного рака. Соображения, касающиеся рецидивирующего или рефрактерного рака в таких вариантах осуществления

такие же, как соображения для лечения рецидивирующего или рефрактерного рака в связи с другими аспектами или вариантами осуществления настоящего изобретения, если это не противоречит контексту описания изобретения.

Рецидивирующий или рефрактерный рак.

Как отмечено выше, некоторые аспекты и варианты осуществления изобретения, в частности, относятся к применению соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, в лечении рецидивирующего рака или рефрактерного рака.

Для целей настоящего изобретения рефрактерным раком может считаться рак, который демонстрирует устойчивость к способам лечения в рамках противораковой терапии, отличным от тех, в которых применяется соединение по настоящему изобретению. Например, соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в лечении рефрактерного рака, устойчивого к лучевой терапии. Альтернативно или дополнительно, соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в лечении рефрактерного рака, устойчивого к биологическим агентам, применяемым в лечении рака. В подходящем варианте осуществления соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в лечении рефрактерного рака, устойчивого к лечению химиотерапевтическими агентами, отличными от соединения по настоящему изобретению.

В частности, рефрактерный рак, лечение которого способами или медицинскими применениями по настоящему изобретению с применением соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может быть успешным, включает те виды рака, которые устойчивы к исходным соединениям, из которых получены различные соединения ProTide (например, виды рака, устойчивые к FUDR, тиогуанозину, кладрибину, тиоинозину, флударабину или клофарабину).

Рецидивирующий рак представляет собой рак, который снова возникает после периода ремиссии, в течение которого рак не обнаруживался. Рецидив рака может произойти в первоначальном месте возникновения рака (локальный рецидив рака), на участке, близком к месту первоначального возникновения рака (региональный рецидив рака), или на участке, удаленном от места первоначального возникновения рака (удаленный рецидив рака). Считается, что раковые стволовые клетки играют роль в рецидиве рака, поскольку являются источником образования клеток рецидивирующего рака. Соответственно, способы лечения и медицинские применения соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, в соответствии с изобретением, которые обеспечивают направленное действие на раковые стволовые клетки, могут иметь большую пользу в контексте рецидивирующего рака. Способность соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, направленно действовать на раковые стволовые клетки может применяться для уничтожения популяций тех клеток, которые способны вызывать рецидив, таким образом, для профилактики случаев рецидивирующего рака. Активность соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, против раковых стволовых клеток может также применяться для направленного действия на раковые стволовые клетки при рецидивах рака, кроме того, соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, потенциально оказывают цитотоксическое действие на не стволовые раковые клетки, тем самым обеспечивая лечение рецидивирующего рака.

Ввиду вышесказанного, будет понятно, что соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в способах или применениях по настоящему изобретению для профилактики или лечения рецидивирующего рака. Соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в способах или применениях по настоящему изобретению для профилактики или лечения локально, местно или отдаленно рецидивирующего рака.

Соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в способах или применениях по настоящему изобретению для предотвращения рецидива рака, обеспечивая ремиссию на протяжении по меньшей мере 2 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев или по меньшей мере 30 месяцев. Действительно, соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться для предотвращения рецидива рака, обеспечивая ремиссию на протяжении по меньшей мере 4 лет, по меньшей мере 5 лет, по меньшей мере 6 лет, по меньшей мере 7 лет, по меньшей мере 8 лет, по меньшей мере 9 лет или по меньшей мере 10 лет.

Соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в способах или применениях по настоящему изобретению для лечения рецидивирующего рака, возникшего по меньшей мере через 2 месяца, по меньшей мере через 6 месяцев, по меньшей мере через 12 месяцев, по меньшей мере через 18 месяцев, по меньшей мере через 24 месяца или по меньшей мере через 30 месяцев ремиссии. Действительно, соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться для лечения рецидивирующего рака, возникшего по меньшей мере через 4 года, по меньшей мере через 5 лет, по меньшей мере через 6 лет, по меньшей мере через 7 лет, по меньшей мере через 8 лет, по меньшей мере через 9 лет или по меньшей мере через 10 лет ремиссии.

Способность соединений по настоящему изобретению направленно действовать на раковые стволовые клетки обуславливает способность этих соединений предотвращать или лечить рак в соответствии с медицинскими применениями или способами лечения по настоящему изобретению. Однако следует отметить, что соединения по настоящему изобретению также оказывают прямое цитотоксическое действие

на не стволовые раковые клетки, которые составляют основную массу опухолей.

Несмотря на то, что активность именно раковых стволовых клеток может обуславливать основную устойчивость рецидивирующего или рефрактерного рака к лечению, не стволовые раковые клетки также являются основной составляющей такого рецидивирующего или рефрактерного рака.

Соединения по настоящему изобретению могут оказывать более сильное цитотоксическое действие на не стволовые раковые клетки, чем оказывают химиотерапевтические молекулы, из которых получены соединения по настоящему изобретению. Соответственно, механизм, посредством которого соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, действует при лечении рецидивирующего или рефрактерного рака, может не ограничиваться исключительно активностью этого соединения против раковых стволовых клеток, но также может включать действие соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, на не стволовые раковые клетки. В таких применениях лечение соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, будет вызывать уменьшение общего количества как раковых стволовых клеток, так и не стволовых раковых клеток, но предпочтительно уменьшение доли раковых стволовых клеток, остающихся после лечения.

Терапевтически эффективные дозы соединения по настоящему изобретению.

Терапевтически эффективное количество соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может представлять собой количество, достаточное для индуцирования гибели раковых клеток. Терапевтически эффективное количество соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может представлять собой количество, достаточное для индуцирования гибели раковых стволовых клеток. В некоторых вариантах осуществления, особенно относящихся к лечению рецидивирующего или рефрактерного рака, терапевтически эффективное количество соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может представлять собой количество, достаточное для индуцирования гибели раковых стволовых клеток и также для индуцирования гибели не стволовых раковых клеток.

Количество терапевтически эффективного соединения, такого как соединение по настоящему изобретению, подлежащее введению пациенту, может быть рассчитано и выражено различными способами. Например, особенно уместным способом выражения дозы агента для профилактики или лечения рака, является количество агента, подлежащее введению на единицу площади поверхности тела пациента. Такие дозы обычно выражают в виде количества агента (которое можно определить по массе) на квадратный метр (m^2) площади поверхности. Такие дозы обычно выражают в виде количества агента (которое можно определить по массе) на квадратный метр (m^2) площади поверхности.

В применениях соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, для профилактики или лечения рака может применяться еженедельная доза от 250 до 1000 mg/m^2 . При таком лечении, например, может применяться еженедельная доза от 375 до 900 mg/m^2 . Например, эффективное лечение рецидивирующего или рефрактерного рака можно обеспечить введением пациентам еженедельных доз соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, в диапазоне приблизительно от 500 до 825 mg/m^2 .

Не желая связывать себя какой-либо гипотезой авторы изобретения считают, что способность соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, направленно действовать на раковые стволовые клетки позволяет достичь терапевтической эффективности с применением более низких доз этого соединения, чем ожидалось бы. В качестве примера еженедельные дозы соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, составляющие всего 825, 750, 600 или 500 mg/m^2 , могут оказаться терапевтически эффективными при применении в способах по настоящему изобретению.

Выбранная еженедельная доза соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может быть введена за один раз или несколько раз в течение недели. Например, еженедельная доза соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может быть введена за два раза, за три раза или более. Таким образом, в случае еженедельной дозы 750 mg/m^2 , она может быть достигнута за три введения по 250 mg/m^2 в течение недельного курса или за два введения по 375 mg/m^2 в течение недели. Аналогично, в случае еженедельной дозы 600 mg/m^2 , она может быть достигнута за три введения по 200 mg/m^2 в течение недельного курса или за два введения по 300 mg/m^2 в течение недели.

Подходящее количество соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, подлежащее введению за один раз, чтобы обеспечить требуемую дозу этого соединения в течение недельного курса, может составлять приблизительно от 100 до 300 mg/m^2 .

Еженедельная доза соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может снижаться в течение курса лечения. Например, лечение может начинаться с еженедельной дозы около 1000, 900, 825, 750 или 725 mg/m^2 , и в течение курса лечения требуемая доза может снижаться до примерно 750 mg/m^2 (в тех случаях, когда начальная доза выше этого количества), примерно 650 mg/m^2 , примерно 625 mg/m^2 или даже примерно 500 mg/m^2 или примерно 375 mg/m^2 .

Дозы соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, могут, конечно, быть выражены иным способом. Наиболее распространенный способ - количество активного агента на единицу массы тела. Было рассчитано, что для среднестатистического пациента-человека доза 1 mg/m^2 эквивалентна приблизительно 0,025 mg/kg массы тела. Соответственно, данные указывают на то, что соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, является эффективным для лечения рецидивирующего

шего или рефрактерного рака в дозах в диапазоне от приблизительно 6,25 до приблизительно 25 мг/кг. Подходящая доза может, например, составлять от примерно 9,5 до 22,5 мг/кг. В подходящем варианте осуществления соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, эффективное лечение рецидивирующего или рефрактерного рака достигается, когда пациентам вводят еженедельные дозы в диапазоне приблизительно от 12,5 до 20,5 мг/кг.

Соображения относительно лекарственных форм соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, подходящих для применения в способах профилактики или лечения и медицинских применениях настоящего изобретения, описаны в другом месте этого раскрытия. В случае инъекционных лекарственных форм соединения по настоящему изобретению их можно вводить внутривенно. Внутривенное введение может быть достигнуто в течение любого подходящего периода времени, например в течение десятиминутной инъекции или т.п.

Типы лечения.

В подходящем варианте осуществления соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться для направленного действия на раковые стволовые клетки в качестве первой линии лечения рака.

Тем не менее, обнаружение того, что соединения по настоящему изобретению способны направленно действовать на раковые стволовые клетки и, тем самым, лечить рецидивирующий или рефрактерный рак, свидетельствует о том, что соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, способно обеспечить эффективное лечение рака в случаях, когда другие способы лечения оказались неэффективными. Соответственно, в подходящем варианте осуществления в настоящем изобретении предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для направленного действия на раковые стволовые клетки в качестве второй линии лечения рака. Действительно, в подходящем варианте осуществления в настоящем изобретении предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для направленного действия на раковые стволовые клетки в качестве третьей или последующей линии лечения рака.

В подходящем варианте осуществления предусмотрено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в качестве неоадьюванта в лечении рака. Неоадьювант представляет собой агент, вводимый пациенту с целью уменьшения размера опухоли до начала "основной" противораковой терапии, такой как хирургическое удаление рака. Соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в качестве неоадьювантной терапии для пациента, который далее будет подвергнут хирургическому лечению рака и/или лучевой терапии рака.

Альтернативно или дополнительно, в изобретении предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в качестве адьюванта в лечении рака. Адьювант представляет собой агент, вводимый пациенту после "основной" противораковой терапии, такой как хирургическое удаление рака, с целью предотвращения повторного возникновения рака после основной терапии. Соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в качестве адьюванта для пациента, который был подвергнут хирургическому лечению рака и/или лучевой терапии рака.

Соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в способах или применениях по настоящему изобретению в виде монотерапии, т.е. в профилактике или лечении, при которых соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, обеспечивает, по существу, всю терапевтическую активность в профилактике или лечении.

Альтернативно, в способах или применениях по настоящему изобретению может применяться соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, в комбинированной терапии. В таких вариантах осуществления соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, применяется вместе по меньшей мере с еще одной противораковой терапией. Дополнительная терапия рака может включать хирургическое вмешательство и/или лучевую терапию. Дополнительно или альтернативно, дополнительная терапия рака может включать применение по меньшей мере еще одного терапевтического агента, который способствует достижению профилактики или лечения рака. Соответственно, такой агент может представлять собой химиотерапевтический агент или биологический агент, применяемый в профилактике или лечении рака.

В подходящем варианте осуществления комбинированной терапии соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, и другой терапевтический агент могут вводиться пациенту в одно и то же время. В подходящем примере соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, и другой терапевтический агент могут быть составлены как часть одной и той же фармацевтической композиции. Альтернативно соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, и другой терапевтический агент могут быть составлены по отдельности для введения пациенту практически в одно и то же время.

В другом подходящем варианте осуществления комбинированной терапии соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, и другой терапевтический агент могут вводиться пациенту в разное время. Соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, и другой терапевтический агент могут вводиться пациенту последовательно. Например, соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, может вводиться пациенту до введения другого терапевтического агента.

Альтернативно, соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может вводиться пациенту после введения другого терапевтического агента.

Дополнительные терапевтические агенты.

Соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, может применяться в комбинации с широким спектром дополнительных терапевтических агентов для профилактики или лечения рака. Эти терапевтические агенты включают биологические агенты, иммунотерапевтические агенты и химиотерапевтические агенты, которые могут применяться для профилактики или лечения рака.

Несмотря на то, что в нижеследующих параграфах рассматриваются конкретные примеры подходящих дополнительных агентов, они не должны рассматриваться как ограничение спектра дополнительных терапевтических агентов, подходящих для применения с соединением по настоящему изобретению. Действительно, способность соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, направленно действовать на раковые стволовые клетки, означает, что оно может успешно применяться в комбинации с любым дополнительным терапевтическим агентом, применяемым в профилактике или лечении рака, независимо от того, действуют ли такие дополнительные агенты на раковые стволовые клетки, не стволовые раковые клетки или другие клетки или составляющие, вовлеченные в развитие, поддержание, рецидив, распространение рака.

Примеры других терапевтических агентов, которые могут применяться в комбинации с соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, включают:

(a) антиангиогенный агент, необязательно, в котором антиангиогенным агентом является (i) ингибитор пути VEGF, необязательно бевацизумаб; (ii) ингибитор тирозинкиназы, необязательно сорафениб, сунитиниб или пазопаниб; или (iii) ингибитор mTOR, необязательно эверолимус;

(b) алкилирующий агент;

(c) антимаболит;

(d) противоопухолевый антибиотик;

(e) топоизомеразу;

(f) ингибитор митоза;

(g) моноклональное антитело;

(h) металлический агент или

(i) активную или пассивную иммунотерапию.

За исключением случаев, когда контекст требует иного, дополнительные терапевтические агенты, приведенные в предыдущем списке, должны считаться подходящими для применения в любом из вариантов осуществления комбинированных терапий с соединением ProTide, как это определено в настоящем документе, рассмотренных выше.

Выбор пациентов.

Обнаружение авторами изобретения того, что соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, способно направленно действовать на раковые стволовые клетки делает возможными целый ряд способов, с помощью которых можно определять с какой вероятностью конкретный пациент получит пользу от введения соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, в профилактике или лечении рака, такого как рецидивирующий рак или рефрактерный рак.

Соответственно, в изобретении предложен способ определения того, получит ли пациент с раковым или предраковым состоянием пользу от профилактики или лечения рака соединением по настоящему изобретению, способ, включающий оценку биологического образца, характеризующего раковое или предраковое состояние у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; при этом наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце свидетельствует о том, что пациент получит пользу от лечения соединением по настоящему изобретению.

В изобретении также предложен способ определения подходящей схемы лечения для пациента с раковым или предраковым состоянием, способ, включающий оценку биологического образца, характеризующего раковое или предраковое состояние у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; при этом наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце свидетельствует о том, что подходящая схема лечения будет включать лечение пациента соединением по настоящему изобретению.

В изобретении также предложено соединение ProTide, как это определено в настоящем документе, для применения в профилактике или лечении рака у пациента, выбранного для такого лечения способом, включающим: оценку биологического образца, характеризующего раковое или предраковое состояние у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; при этом наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце свидетельствует о том, что пациент подходит для лечения соединением по настоящему изобретению.

В подходящих вариантах осуществления раковые стволовые клетки в биологическом образце могут быть идентифицированы по экспрессии ими характерных паттернов маркеров, рассмотренных ранее в данном изобретении.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что существует множество подходящих примеров биологических образцов, которые могут применяться в вариантах осуществления настоящего изобретения, описанных выше. Соответственно, такой образец может включать клетки рака или предра-

кового состояния. Подходящим биологическим образцом может быть образец ткани, например образец для применения в гистологии. Для клеток в таких образцах можно напрямую оценить экспрессию ими маркеров раковых стволовых клеток, таких как приведенные выше.

Альтернативно или дополнительно, подходящий биологический образец может содержать молекулы-мишени, с характерной для клеток рака или предракового состояния экспрессией генов. Примеры таких целевых молекул включают белки, кодируемые экспрессируемыми генами, или нуклеиновые кислоты, такие как мРНК, отражающими экспрессию генов.

Подходящие примеры способов, с помощью которых можно оценить экспрессию маркеров раковых стволовых клеток, могут быть выбраны с учетом типа образца. Способы исследования экспрессируемых маркеров часто применяются в контексте клинических оценок (например, с целью диагностики или прогноза) и их применение известно тем, кому будет необходимо реализовывать их в контексте настоящего изобретения. В качестве примера в образцах, содержащих белки, наличие маркеров раковых стволовых клеток можно оценить подходящими способами с применением антител, взаимодействующих с интересующими маркерами раковых стволовых клеток. Примеры таких образцов, содержащих белковые маркеры раковых стволовых клеток, включают гистологические образцы (в которых наличие маркеров может быть визуализировано с помощью способов иммуноцитохимии) или образцы, полученные из системы циркуляции. При этом наличие циркулирующих раковых стволовых клеток (которые, как считается, способствуют распространению рака посредством метастазирования) можно оценить с помощью таких способов, как проточная цитометрия.

В образцах, содержащих нуклеиновые кислоты, характеризующие экспрессию маркеров раковых стволовых клеток, такую экспрессию можно оценить с помощью подходящих молекулярно-биологических способов, таких как амплификация в полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием подходящих праймеров.

Получение.

Соединения ProTide, рассматриваемые в настоящем документе, могут быть синтезированы в соответствии со способами или аналогично способам, описанным в WO 2005/012327, WO 2012/117246 и WO 2006/100439.

Далее изобретение будет описано со ссылкой на следующие примеры и сопровождающие графические материалы, в которых

на фиг. 1A представлены результаты исследования активности противоракового агента тиоинозина и соединений ProTide, полученных из этого агента. На фиг. 1A сравниваются значения LD₅₀ для тиоинозина, CPF 761 и CPF 762. Все анализы были проведены на клетках KG1a и данные представлены в виде среднего (\pm SD) пяти независимых экспериментов;

на фиг. 1B - результаты изучения способности этих соединений направленно действовать на раковые стволовые клетки. На фиг. 1B представлен анализ способности тиоинозина и соединений ProTide CPF 761 и CPF 762 направленно действовать на лейкозные стволовые клетки. Все данные представлены в виде среднего (\pm SD) трех независимых экспериментов;

на фиг. 2A - результаты исследования активности противоракового агента клофарабина и соединений ProTide, полученных из этого агента. На фиг. 2A сравниваются значения LD₅₀ для клофарабина, CPF 448, CPF 720 и CPF 727. Все анализы были проведены на клетках KG1a и данные представлены в виде среднего (\pm SD) пяти независимых экспериментов;

на фиг. 2B - результаты изучения способности этих соединений направленно действовать на раковые стволовые клетки;

на фиг. 3A - результаты исследования активности противоракового агента клофарабина и соединений ProTide (CPF 727) и изомеров (A и B) соединения ProTide (CPF 448), полученных из этого агента;

на фиг. 3B - результаты изучения способности этих соединений направленно действовать на раковые стволовые клетки;

на фиг. 4A - результаты исследования активности противоракового агента кладрибина и соединений ProTide, полученных из этого агента. На фиг. 4A сравниваются значения LD₅₀ для кладрибина, CPF 791 и CPF 793. Все анализы были проведены на клетках KG1a и данные представлены в виде среднего (\pm SD) пяти независимых экспериментов;

на фиг. 4B - результаты изучения способности этих соединений направленно действовать на раковые стволовые клетки. На фиг. 4B представлен анализ способности кладрибина и соединений ProTide CPF 791 и CPF 793 направленно действовать на лейкозные стволовые клетки. Все данные представлены в виде среднего (\pm SD) трех независимых экспериментов;

на фиг. 5A - результаты исследования активности противоракового агента флударабина и соединений ProTide, полученных из этого агента. На фиг. 5A сравниваются значения LD₅₀ для флударабина, CPF 682 и CPF 544. Все анализы были проведены на клетках KG1a и данные представлены в виде среднего (\pm SD) пяти независимых экспериментов;

на фиг. 5B - результаты изучения способности этих соединений направленно действовать на раковые стволовые клетки. На фиг. 5B представлен анализ способности флударабина, CPF 682 и CPF 544 на-

правленно действовать на лейкозные стволовые клетки. Все данные представлены в виде среднего (\pm SD) трех независимых экспериментов;

на фиг. 6A - результаты исследования активности противоракового агента тиогуанозина и соединений ProTide, полученных из этого агента. На фиг. 6A сравниваются значения LD_{50} для тиогуанозина и соединений ProTide CPF 775 и CPF 782. Все анализы были проведены на клетках KG1a и данные представлены в виде среднего (\pm SD) пяти независимых экспериментов;

на фиг. 6B - результаты изучения способности этих соединений направленно действовать на раковые стволовые клетки. На фиг. 6B представлен анализ способности тиогуанозина и соединений ProTide CPF 775 и CPF 782 направленно действовать на лейкозные стволовые клетки. Все данные представлены в виде среднего (\pm SD) трех независимых экспериментов;

на фиг. 7A - результаты исследования активности противоракового агента FUDR и соединений ProTide, полученных из этого агента. На фиг. 7A сравниваются значения LD_{50} для 5-FU, FUDR и соединения ProTide CPF 373 (смесь) и его очищенных изомеров, CPF 585, CPF 381 и CPF 581. Все анализы были проведены на клетках KG1a и данные представлены в виде среднего (\pm SD) пяти независимых экспериментов;

на фиг. 7B - результаты изучения способности этих соединений направленно действовать на раковые стволовые клетки. На фиг. 7B представлен анализ способности 5-FU, FUDR и соединения ProTide CPF 373 (смесь) и его очищенных изомеров, CPF 585, CPF 381 и CPF 581 направленно действовать на лейкозные стволовые клетки. Все данные представлены в виде среднего (\pm SD) трех независимых экспериментов;

на фиг. 8A - результаты исследования активности противоракового агента гемцитабина и соединения ProTide NUC-1031, полученного из этого агента. На фиг. 8A сравниваются значения LD_{50} для гемцитабина, ProTide NUC-1031 и очищенных изомеров Rp- и Sp-;

на фиг. 8B - результаты изучения способности этих соединений направленно действовать на раковые стволовые клетки. На фиг. 8B представлен анализ способности гемцитабина и соединений ProTide NUC-1031 направленно действовать на лейкозные стволовые клетки. Все данные представлены в виде среднего (\pm SD) трех независимых экспериментов.

Примеры и сравнительные примеры

1. Направленное действие соединений ProTide преимущественно на раковые стволовые клетки.

Следующее исследование иллюстрирует способность соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, направленно действовать преимущественно на раковые стволовые клетки (CSC) *in vitro* и тем самым уменьшать долю CSC, присутствующих в популяциях раковых клеток. Способность соединений ProTide, охватываемых настоящим изобретением, направленно действовать на раковые стволовые клетки сравнивали с таковой способностью соединения сравнения ProTide, NUC-1031.

1.1. Сравнение значений LD_{50} для соединений ProTide и исходных соединений, из которых они получены, в бластных клетках первичного острого миелоидного лейкоза.

Соединений ProTide, как это определено в настоящем документе, и соединения сравнения ProTide, NUC-1031, оценивали их цитотоксическое действие на первичные культуры бластных клеток острого миелоидного лейкоза (AML). Значения LD_{50} (концентрация, необходимая для уничтожения 50% опухолевых клеток в культуре) рассчитывали для соединений ProTide по настоящему изобретению и исходных соединений, из которых они получены. Как можно видеть (показано ниже), некоторые соединения ProTide демонстрировали более высокую активность по сравнению с исходными соединениями, из которых они были получены. Значения LD_{50} для соединения ProTide, как это определено в настоящем документе, (и их исходных соединений) сравнивали со значениями LD_{50} для соединения сравнения ProTide, NUC-1031, и его исходного соединения гемцитабина.

Соединение ProTide	Исходное соединение
CPF 581 0,027 мкМ	FUDR 1,18 мкМ
CPF 381 0,039 мкМ	FUDR 1,18 мкМ
CPF 373 (смесь) 0,053 мкМ	FUDR 1,18 мкМ
CPF 373 (Iso A) 0,052 мкМ	FUDR 1,18 мкМ
CPF 373 (Iso B) 0,055 мкМ	FUDR 1,18 мкМ
CPF 585 0,79 мкМ	FUDR 1,18 мкМ
CPF 782 0,82 мкМ	Тиогуанозин 1 мкМ
Соединение сравнения	
ProTide	
NUC-1031 0,28 мкМ	Гемцитабин 1,4 мкМ

In vitro анализ цитотоксичности на клетках первичного острого миелоидного лейкоза.

Образцы костного мозга собирали в этилендиаминтетрауксусной кислоте (ЭДТА) от пациентов с впервые диагностированным, ранее не подвергавшимся лечению острым миелоидным лейкозом (AML). Бластные клетки AML обогащали центрифугированием в градиенте плотности с использованием Histopaque (Sigma, Poole, UK) и далее поддерживали в среде Roswell Park Memorial Institute (RPMI), обогащенной 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS). Клетки обрабатывали соединениями ProTide (либо охваченными настоящим изобретением, либо соединением сравнения ProTide, NUC-1031) или исходными соединениями, из которых были получены соединения ProTide, в диапазоне экспериментальных концентраций, и инкубировали в течение 48 ч. Все культуры поддерживали при 37°C в атмосфере с увлажнением и 5% содержанием CO₂.

Измерение апоптоза in vitro в клетках первичного AML.

Клетки собирали и метили CD34-флуоресцинизиотиоцианатом (FITC) (BD Biosciences, Buckingham, UK) и далее ресуспендировали в 200 мкл буфера для связывания, содержащего 4 мкл аннексина V, меченного аллофикоцианином (APC) (eBioscience Ltd, Hatfield, UK). Апоптоз CD34⁺ AML клеток количественно оценивали с помощью проточного цитометра Accuri C6 (Becton Dickinson, CA, USA). Регистрировали по меньшей мере 10000 событий и данные впоследствии анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo (Tree Star Inc., Ashland, OR, USA). Все значения LD₅₀ (концентрация лекарственного средства, необходимая для уничтожения 50% клеток) получали из кривых зависимости доза-реакция.

Идентификация и количественная оценка субпопуляции CD34⁺/CD123⁺ клеток в клетках первичного AML.

Предполагаемые лейкозные стволовые клетки идентифицировали по двойной экспрессии ими CD34 и CD123. Относительную чувствительность этих клеток к действию соединений ProTide и их исходных соединений оценивали как процентное содержание этих клеток, оставшихся жизнеспособными после обработки молярными эквивалентами каждого агента.

Результаты этого исследования позволили рассчитать среднее значение LD₅₀, полученное как для соединений ProTide, так и для исходных противораковых агентов, из которых они получены. О повышенной активности ProTide производных свидетельствовали значения LD₅₀ ниже, чем у соответствующего исходного соединения, результаты, полученные в этом исследовании, обсуждаются ниже.

Также исследовали способность соединений ProTide и исходных противораковых агентов истощать CSC в культуре бластных клеток AML в диапазоне экспериментальных концентраций, результаты этих исследований представлены ниже. Способность ProTide или исходного соединения направленно действовать на стволовые клетки демонстрировали по уменьшению доли раковых стволовых клеток, присутствующих в популяции обработанных клеток.

1.2. Направленное действие NUC-1031 преимущественно на CSC.

Соответствующие способности NUC-1031 и гемцитабина направленно действовать на CSC исследовали на линии клеток AML KG1a. Линия клеток KG1a была выбрана специально для этого исследования, поскольку CSC в данной популяции имеют иммунофенотип Lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺, благодаря чему их легко отличить от не стволовых раковых клеток (также называемых раковыми клетками "основной массы" опухоли) в популяции.

1.3. Условия культивирования культуры клеток KG1a.

Линию клеток KG1a острого миелоидного лейкоза (AML) поддерживали в среде RPMI (Invitrogen,

Paisley, UK), обогащенной 100 единицами/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 20% эмбриональной бычьей сыворотки. Клетки далее аликвотировали (по 10^5 клеток/100 мкл) в 96-луночные планшеты и инкубировали при 37°C в атмосфере с увлажнением и 5% диоксида углерода в течение 72 ч в присутствии NUC-1031 или гемцитабина в концентрациях, полученных экспериментально для каждого соединения. Кроме того, также поддерживали контрольные культуры без добавления к ним лекарственного средства. Клетки далее собирали центрифугированием и анализировали проточной цитометрией с помощью анализа с аннексином V.

1.4. Оценка апоптоза *in vitro*.

Культированные клетки собирали центрифугированием и далее ресуспендировали в 195 мкл богатого кальцием буфера. Далее к суспензии клеток добавляли 5 мкл аннексина V (Caltag Medsystems, Botolph Claydon, UK) и клетки инкубировали в темноте в течение 10 мин перед отмывкой. Клетки окончательно ресуспендировали в 190 мкл богатого кальцием буфера вместе с 10 мкл пропидий йодида. Апоптоз оценивали с помощью двухцветной иммунофлуоресцентной проточной цитометрии, как описано ранее.

Вследствие значения LD_{50} (доза, необходимая для уничтожения 50% клеток в культуре) рассчитывали для каждого аналога нуклеозида и ProTide.

1.5. Иммунофенотипическая идентификация компартмента лейкозных стволовых клеток.

Клетки KG1a культивировали в течение 72 ч в присутствии широкого диапазона концентраций каждого аналога нуклеозида и соответствующих им соединений ProTide. Клетки далее собирали и метили коктейлем антител анти-lineage (PE-cy7), анти-CD34 (FITC), анти-CD38 (PE) и анти-CD123 (PERCP cy5). Субпопуляцию клеток, имеющих фенотип лейкозных стволовых клеток (LSC), далее идентифицировали и оценивали в виде процента от всех жизнеспособных клеток, оставшихся в культуре. Проценты оставшихся стволовых клеток откладывали на графике зависимости доза-реакция и сравнивали доли раковых стволовых клеток в зависимости от различных концентраций соединений ProTide и их соответствующих исходных соединений, чтобы определить, действительно ли соединения направленно действуют преимущественно на раковые стволовые клетки.

1.6. Статистический анализ.

Данные, полученные в этих экспериментах, оценивали с помощью одностороннего ANOVA. Все данные были подтверждены как гауссово распределение или гауссово приближение с использованием универсального критерия K2. Значения LD_{50} рассчитывали, исходя из нелинейной регрессии и линейного анализа наилучшего соответствия по сигмоидальным кривым доза-реакция. Все статистические анализы проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA).

1.7. Тиоинозин и ProTide производные тиоинозина.

ProTide производные тиоинозина проявили пониженную активность по сравнению с исходным соединением (фиг. 1A).

На культуре клеток KG1a было показано, что обработка тиоинозином, CPF-761 или CPF-762 приводила к уменьшению доли раковых стволовых клеток по сравнению с не стволовыми раковыми клетками (фиг. 1B), что указывает на то, что тиоинозин, CPF-761 и CPF-762 направленно действуют преимущественно на раковые стволовые клетки.

Дополнительно, CPF-761 и CPF-762 показали более высокую селективность в отношении раковых стволовых клеток, чем тиоинозин. Из трех соединений CPF-761 оказалось самым селективным в отношении раковых стволовых клеток, и увеличение селективности было статистически значимым по сравнению с исходным соединением.

1.8. Клофарабин и ProTide производные клофарабина.

CPF-727, ProTide производное клофарабина, проявило активность, которая не отличалась значительно от исходного соединения, тогда как оба соединения ProTide CPF-448 и CPF-720 проявили пониженную активность по сравнению с исходным соединением (фиг. 2A). Дальнейшие исследования свойств изомеров А и В соединения CPF-448 показали, что оба изомера обладают значительно более низкой активностью, чем исходное соединение, но при этом изомер А значительно менее активный, чем изомер В.

На культуре клеток KG1a было показано, что обработка клофарабином, CPF-448, CPF-720 или CPF-727 приводила к уменьшению доли раковых стволовых клеток по сравнению с не стволовыми раковыми клетками (фиг. 2A). Это говорит о том, что клофарабин, CPF-448, CPF-720 и CPF-727 также направленно действуют преимущественно на раковые стволовые клетки. Такое селективное действие наблюдалось даже при очень низкой концентрации приблизительно 6×10^{-8} М. Следует также отметить, что соединение CPF-448 показало большую селективность по отношению к раковым стволовым клеткам, чем сам клофарабин.

При исследовании способности разных изомеров CPF-448 направленно и селективно действовать на раковые стволовые клетки, изомер А оказался более селективным, чем изомер В, и только изомер А показал статистически значимое увеличение селективности. Это увеличение селективности отмечалось как по сравнению с исходным соединением, так и по сравнению с соединением ProTide CPF-727 (фиг. 3B).

1.9. Кладрибин и ProTide производные кладрибина.

ProTide производные кладрибина проявили пониженную активность по сравнению с исходным соединением (фиг. 4A).

На культуре клеток KG1a было показано, что обработка кладрибином, CPF-791 или CPF-793 приводила к уменьшению доли раковых стволовых клеток по сравнению с не стволовыми раковыми клетками (фиг. 4B), что указывает на то, что эти соединения направленно действуют также преимущественно на раковые стволовые клетки. Уменьшение доли раковых стволовых клеток было особенно заметно для клеток, обработанных CPF-793. Селективность действия этого соединения наблюдалась даже при очень низкой концентрации (приблизительно 6×10^{-8} М).

Дополнительно оба ProTide производных (CPF-791 и CPF-793) показали более высокую селективность в отношении раковых стволовых клеток, чем исходное соединение - кладрибин. Для ProTide CPF-793 это увеличение селективности было статистически значимым.

1.10. Флударабин и ProTide производные флударабина.

ProTide производные флударабина проявили пониженную активность по сравнению с исходным соединением (фиг. 5A).

На культуре клеток KG1a было показано, что обработка флударабином, CPF-544 или CPF-682 приводила к значительному уменьшению доли раковых стволовых клеток по сравнению с не стволовыми раковыми клетками (фиг. 5B). Это показывает, что флударабин, CPF-544 или CPF-682 направленно действуют преимущественно на раковые стволовые клетки. Селективность ProTide производных (CPF-544 и CPF-682) в отношении раковых стволовых клеток оказалась сопоставимой с селективностью флударабина.

1.11. Тиогуанозин и ProTide производные тиогуанозина.

ProTide производные тиогуанозина проявили пониженную активность по сравнению с исходным соединением (фиг. 6A).

На культуре клеток KG1a было показано, что обработка тиогуанозином, CPF-782 или CPF-775 приводила к сильному уменьшению доли раковых стволовых клеток по сравнению с не стволовыми раковыми клетками (фиг. 6B). Это свидетельствует о том, что все три соединения направленно действуют преимущественно на раковые стволовые клетки. Из этих соединений CPF-782 было наиболее селективным, но оба соединения CPF-782 и CPF-775 показали статистически значимое увеличение селективности при определенных концентрациях.

1.12. FUDR и ProTide производные FUDR.

При изучении *in vitro* активности FUDR и соединений ProTide CPF-585, CPF-373 (Iso A), CPF-373 (Iso B), CPF-381 или CPF-581 (все получены из FUDR) было обнаружено, что все ProTide производные, отличные от CPF-585, значительно более активные, чем FUDR (фиг. 7A). Например, было обнаружено, что значение LD_{50} для CPF-581 составляет 0,027 мкМ по сравнению со значением LD_{50} для FUDR, равным 1,18 мкМ, что указывает на то, что CPF-581 более чем в 50 раз активнее, чем FUDR.

На культуре клеток KG1a было показано, что обработка FUDR, CPF-585, CPF-373 (Iso A), CPF-373 (Iso B), CPF-381 или CPF-581 приводила к уменьшению доли раковых стволовых клеток по сравнению с не стволовыми раковыми клетками, что свидетельствует о том, что обработка оказывает действие преимущественно на раковые стволовые клетки (фиг. 7B). Уменьшение доли раковых стволовых клеток было особенно значимым для клеток, обработанных CPF-373 (Iso A), CPF-373 (Iso B), CPF-381 или CPF-581, для них доля раковых стволовых клеток уменьшалась даже в случае обработки клеток очень низкой концентрацией соединения, приблизительно равной 8×10^{-8} М. Также следует отметить, что все упомянутые выше ProTide производные FUDR показали более высокую селективность в отношении раковых стволовых клеток, чем FUDR, причем увеличение селективности было статистически значимым в случае изоформ CPF-373.

1.13. Сравнительный пример: NUC-1031 направленно действует преимущественно на раковые стволовые клетки.

На культуре клеток KG1a для NUC-1031 (и его очищенные изомеры) была показана более высокая *in vitro* активность по сравнению с гемцитабином (фиг. 8A). Кроме того, существенных различий в активности между неразделенной смесью и очищенными изомерами NUC-1031 не наблюдалось.

Для NUC-1031 было показано преимущественное направленное действие на CSC по сравнению с гемцитабином. Это однозначно наблюдалось при субмикромольных концентрациях ProTide (фиг. 8B). Снова два очищенных изомера NUC-1031 не показали существенных различий в их способности направленно действовать на CSC в нашей экспериментальной системе.

Можно видеть, что биологическая активность NUC-1031 *in vitro* схожа с биологической активностью, наблюдаемой для ряда других соединений ProTide, упомянутых выше. Соответственно, авторы изобретения имеют веские основания полагать, что эти соединения ProTide также будут обладать клинической эффективностью NUC-1031, которая обсуждается далее в следующем сравнительном примере.

2. Сравнительный клинический пример: с помощью NUC-1031 можно лечить рецидивирующий или рефрактерный рак у пациентов-людей.

Следующие данные были получены в клинических исследованиях NUC-1031 на пациентах-людях с распространенным прогрессирующим раком, которые не восприимчивы или не поддаются лечению все-

ми традиционными способами лечения, применяемым на сегодняшний день. Результаты наглядно иллюстрируют способность NUC-1031 успешно лечить рефрактерный рак.

Несмотря на то, что основными задачами той части исследования, которая проводилась с увеличением дозы, были определение рекомендуемой дозы для фазы II (RP2D) и профиля безопасности, и дополнительно определение фармакокинетического (ФК) профиля, также в ходе этого исследования наблюдалось эффективное лечение пациентов с некоторыми видами рефрактерного рака.

В это исследование с увеличением дозы вошли 68 пациентов, из которых 49 оказались подлежащими оценке клинического ответа, поскольку они получили по меньшей мере 2 цикла NUC-1031, и поэтому к ним могли быть применены критерии оценки RECIST 1.1.

Таблица 1

Наилучший общий ответ в исследовании ProGem1		
Пациент	n=68	Наилучший общий ответ
ты		(к настоящему моменту)
Подлежащие оценке	n=49	Частичный ответ 5 (10%) Стабильное заболевание 33 (67%) Прогрессирующее заболевание 11 (22%)
Не подлежащие оценке	n=19	

NUC-1031 вводили посредством внутривенной медленной болюсной инъекции в течение 5-30 мин.

Схема А: NUC-1031 вводили в 1, 8, 15 дни 4-недельного цикла.

Схема В: NUC-1031 вводили в 1, 5, 8, 12, 15, 19 дни 4-недельного цикла.

Подлежащие оценке пациенты [n=49].

Подлежащими оценке пациентами считались пациенты, получившие ≥ 2 циклов NUC-1031, и потому подпадающие под критерии оценки RECIST 1.1 в конце 2 цикла. Если продолжительность ответа заболевания, измеренная в месяцах, сопровождается знаком "+", это указывает на то, что с последней даты регистрации данных продолжается вести контроль заболевания.

Пациент 004. Рак молочной железы: стабильное заболевание.

Женщина (67 лет).

В 2002 г. диагностирована инвазивная протоковая карцинома молочной железы 2 стадии (ER+, HER2-). В качестве первой линии лечения получала хирургическое лечение, адъюванты эпирубицин+доцетаксел, лучевую терапию и поддерживающую гормональную терапию тамоксифеном, далее анастрозол до 2010 г. В 2010 г. у пациента диагностированы метастазы в кости, она была подвергнута паллиативной лучевой терапии и начала получать ибандронат и фулвестрант в качестве второй линии лечения.

В 2012 г. было отмечено прогрессирование заболевания, и пациенту была проведена химиотерапия третьей линии с применением капецитабина и навельбина на протяжении 4 месяцев, но прогрессирование заболевания во время лечения продолжалось, и возникли новые метастазы в печень и легких. В сентябре 2012 г. пациент начал получать ингибитор PI3K (фаза I исследования) и завершил 2 цикла лечения (2 месяца), но прогрессирование заболевания во время лечения продолжалось, при этом размер метастазов в печени увеличился.

С 3 декабря 2012 г. начала получать NUC-1031 в дозе 500 мг/м² еженедельно. Завершила 6 циклов, лечение переносила хорошо. К концу исследования заболевание пациента стабилизировалось, лечение NUC-1031 было продолжено еще на 1 цикл из-за соображений гуманности, по завершению 7 цикла лечение было прекращено для "отдыха от лекарства". Заболевание оставалось стабильным на протяжении 5 месяцев без лечения, после чего снова начало прогрессировать.

Стабильное заболевание по RECIST (12 месяцев).

Пациент 005. Рак яичников: стабильное заболевание.

Женщина (58 лет).

В 2009 г. диагностирован двусторонний серозный рак яичников на стадии 3c (3 степени). 23 июня 2009 г. пациенту была проведена тотальная абдоминальная гистерэктомия и сальпингооферэктомия, но

неоперабельные очаги поражения на сальниках были оставлены *in situ*.

В октябре 2009 г. в качестве первой линии химиотерапии пациент получил 6 циклов карбоплатина+паклитаксела, но в конце последнего цикла лечения развилась аллергическая реакция на карбоплатин.

Первый рецидив произошел 8 месяцев спустя и в декабре 2010 г. пациент начал 6 циклов келикса плюс ингибитора VEGFR-2 (фаза II клинического исследования), оставаясь на поддерживающей монотерапии VEGFR-2. Второй рецидив произошел через 9 месяцев, подтвержден повышением уровня СА125 и наличием в полости таза с левой стороны образования размером 3,2 см по результатам КТ. Начала третью линию химиотерапии и получала 6 циклов паклитаксела еженедельно, отреагировала начальным умеренным снижением уровня СА125 и уменьшением объема опухоли. Прогрессирование заболевания было снова подтверждено через 5 месяцев по повышению уровня СА125 и увеличению размера опухоли. В марте 2012 г. пациент получил последнюю дозу паклитаксела.

С 7 января 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 500 мг/м² еженедельно. Завершила 6 циклов по протоколу исследования, заболевание было стабильным, далее на протяжении 6 месяцев получала NUC-1031, в результате суммарно лечение продолжалось 12 месяцев. Пациент переносил лечение хорошо. Уровень СА125 снизился с 208 в начале исследования до 140 в конце 6 цикла. Пациент решил прекратить терапию через 12 месяцев и через 3 месяца после окончания лечения возник рецидив.

Стабильное заболевание по RECIST (15 месяцев).

Пациент 006. Холангиокарцинома: стабильное заболевание.

Мужчина (43 года).

В 2009 г. диагностирована первичная холангиокарцинома. Была проведена операция Уиппла и пациент получил 6 циклов адьюванта гемцитабина. В феврале 2012 г. случился рецидив заболевания, пациент получал СареОх до июля 2012 г. Позже в 2012 г. результаты КТ-сканирования показали наличие метастазов в костях, которые подвергли лечению курсом лучевой терапии (нижняя часть спины).

С 31 января 2013 г. начал получать NUC-1031 в дозе 375 мг/м² дважды в неделю, завершил 2 цикла лечения. Перешел на схему лечения А с дозой 500 мг/м² и получил еще 1 дозу. Наблюдалось снижение уровня СА19.9 с 125002 до 59285 всего лишь после двух доз NUC-1031. Результаты КТ-сканирования выявили уменьшение очагов поражения в легком и лимфатическом узле по сравнению с исходным размером.

Стабильное заболевание по RECIST (3 месяца).

Пациент 007. Колоректальный рак: стабильное заболевание.

Мужчина (73 года).

В 2008 г. диагностирован колоректальный рак. После 6 циклов FOLFOX в апреле 2009 г. удалена первичная опухоль. Следующая операция состоялась в августе 2009 г., проведена правосторонняя гепатэктомия и илеостомия. В июле 2010 г. включен в исследование PICCOLO (панитумумаб+иринотекан). Через шесть месяцев проведена радиочастотная абляция (RFA) плюс билиарное стентирование из-за дополнительных осложнений. В декабре 2011 г. получил 7 циклов цетуксимаба+иринотекана+5-FU, но прогрессирование заболевания продолжилось.

С 11 февраля 2013 г. начал получать NUC-1031 в дозе 375 мг/м² дважды в неделю и завершил 0,5 цикла лечения.

После перерыва в лечении по просьбе пациента для его удобства в схеме лечения дозу изменили на 500 мг/м² еженедельно, пациент завершил 2 цикла лечения. Во время лечения развилась тромбоцитопения (G3) (возможно, связанная со спленомегалией, которая наблюдалась исходно). Результаты ультразвукового сканирования, проведенного 25 февраля 2013 г., выявили компрессию портальной вены с возможным тромбозом в результате спленомегалии. Уровень СЕА снизился с 361 до 286, а уровень СА19.9 с 3151 до 2957.

Стабильное заболевание по RECIST (3 месяца).

Пациент 008. Рак с неизвестной первичной локализацией: стабильное заболевание.

Женщина (37 лет).

В 2012 г. диагностированы ретроперитонеальное новообразование и метастазы с неизвестной первичной локализацией. Быстрое прогрессирование опухоли после 4 циклов гемцитабина+цисплатина с августа 2012 г.

С 12 февраля 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 375 мг/м² дважды в неделю и завершила 2 цикла. Во время 1 цикла наблюдалось облегчение симптомов в ответ на лечение и общее улучшение состояния здоровья, настроения и самочувствия. Развился временный (G3) трансаминит (ALT и AST). Во время 2 цикла прогрессировала лимфедема, наблюдавшаяся исходно.

Также происходило накопление выпота в плевральной полости (G3), что по оценкам с низкой вероятностью было связано с исследуемым препаратом.

Стабильное заболевание по RECIST (3 месяца).

Пациент 010. Рак эндометрия: стабильное заболевание.

Женщина (60 лет).

В 2012 г. диагностирован рак эндометрия (IV стадия, 3 степень). В феврале 2012 г. пациенту проведена лучевая терапия образования в полости таза, пациент получил 6 циклов карбоплатина

на+паклитаксела. В связи с прогрессированием заболевания в ноябре 2012 г. получила 3 цикла паклитаксела, но далее после получения цикла Мегейса (Megace) в январе 2013 г. заболевание прогрессировало.

С 19 марта 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно и завершила 1 цикл. Во время 1 цикла развилась нейтропения (G3), которая прошла через несколько дней после введения GCSF. Дозу снизили до 500 мг/м² со 2 цикла и пациент завершил 5 циклов с этой дозой. У пациента развилась временная анемия 3 степени. Уровень СА125 снизился с 727 до 488. Заболевание пациента было стабильно на протяжении лечения, продолжавшееся еще 3 месяца после прекращения получения NUC-1031.

Стабильное заболевание по RECIST (9 месяцев).

Пациент 011. Карциносаркома матки: стабильное заболевание.

Женщина (67 лет).

Диагностирована карциносаркома матки (рецидив МММТ матки) и метастазы в печени, легких и парааортальных лимфоузлах. В июне 2011 г. проведена операция, включающая радикальную гистерэктомию и двустороннюю сальпингоофоректомию. С июня 2011 г. по ноябрь 2012 г. пациент получил адьювант цисплатин и доксорубин - завершил 6 циклов (хороший ответ на лечение с почти полной ремиссией).

В июне 2012 г. проведена еще одна операция, включающая переднюю экзентерацию, диссекцию прямой кишки, восстановление и формирование илеального кондуита с анастомозом конец в конец. В июне 2012 г. проведена еще одна операция, включающая лапаротомию и имплантацию мочеточника в илеальный конduit и операцию Гартмана по удалению ректального свища. В марте 2013 г. завершила 6 циклов паклитаксела еженедельно, но заболевание прогрессировало на протяжении этого курса лечения.

С 15 апреля 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 375 мг/м² дважды в неделю и завершила 2,6 циклов. В соответствии с RECIST заболевание было стабильным, объем опухоли уменьшился на 26%. Во время лечения развилась временная нейтропения (G3), уровень гемоглобина был низким (G2). По просьбе пациента схему лечения с 4 цикла изменили на 625 мг/м² NUC-1031 еженедельно, пациент завершил еще 1 цикл. Результаты КТ-сканирования по окончании 4 цикла (конец 4 месяца) в августе 2013 г. показали, что заболевание прогрессирует. Возникли три новых очага поражения: 2 в легком и 1 в лимфатическом узле в задней части полой вены. Первоначальный очаг поражения в печени продолжал уменьшаться в размере, другой целевой очаг поражения в легком оставался стабильным. Пациент исключен из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (4 месяца).

Пациент 012. Холангиокарцинома: стабильное заболевание.

Женщина (48 лет).

В 2013 г. диагностирована холангиокарцинома IV стадии, 3 степени после обращения с жалобами по поводу боли в правой части живота. Результаты КТ-сканирования выявили метастазы в печени, легких и брюшной полости. С января по апрель 2013 г. пациент получил 3 цикла цисплатина+гемцитабина, заболевание быстро прогрессировало.

С 16 мая 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 375 мг/м² дважды в неделю и закончила 3 цикла. По просьбе пациента схему лечения с 4 цикла изменили на 625 мг/м² NUC-1031 еженедельно, пациент завершил еще 3 цикла, лечение переносил хорошо. В конце исследования заболевание стабильно, пациент получил еще два цикла, суммарно 8 циклов лечения.

Стабильное заболевание по RECIST (8 месяцев).

Пациент 013. Рак шейки матки: частичный ответ.

Женщина (51 год).

В сентябре 2011 г. диагностирован неоперабельный, слабо дифференцированный плоскоклеточный рак шейки матки (стадия 2b, G2/3). Получала лечение цисплатином (4 цикла) плюс лучевую терапию, направляющий врач отмечал "хороший ответ".

В июле 2012 г. у пациента наблюдалось прогрессирование заболевания, и с июля по ноябрь 2012 г. она получила 6 доз карбоплатина+паклитаксела плюс цедирианиба (клиническое испытание CIRCCA), достигнуто стабильное заболевание. В апреле 2013 г. результаты МРТ-сканирования выявили прогрессирование заболевания с увеличением поражения подвздошных лимфатических узлов.

С 28 мая 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно и завершила 2 цикла. Дозу снизили до 625 мг/м² и провели еще 4 цикла лечения. До начала исследования отмечались боли в нижней тазовой области, во время лечения наблюдалось облегчение боли при значительном сокращении употребления опиоидов.

У пациента были проблемы с рецидивирующими инфекциями мочевых путей как до начала лечения NUC-1031, так и во время лечения из-за двусторонних металлических мочеточниковых стентов.

У пациента наблюдался частичный ответ по завершению исследования ProGem1, далее проведены еще 3 цикла лечения со сниженной дозой 500 мг/м² еженедельно, суммарно 9 циклов NUC-1031. Опухоль пациента уменьшилась до такой степени, что возможность проведения операции по уменьшению размера опухоли пересмотрели.

Частичный ответ по RECIST (9 месяцев, PFS 11 месяцев).

Пациент 014. Мезотелиома: прогрессирующее заболевание.

Женщина (51 год).

В 2012 г. у пациента диагностирована рецидивирующая эпителиоидная мезотелиома в правой половине грудной клетки. Получила 4 цикла перметрекседа+карбоплатина. В связи с прогрессированием заболевания в декабре 2012 г. включена в клиническое исследование с целью получения дазатиниба, к лечению была невосприимчива, прогрессирование заболевания продолжалось.

С 20 июня 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно и завершила 1 цикл. Дозу снизили до 625 мг/м² и провели еще 1 цикл лечения. Исключена из исследования.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 015. Рак (с неизвестной первичной локализацией): частичный ответ.

Мужчина (54 года).

В сентябре 2012 г. диагностирован рак с неизвестной первичной локализацией после обращения с жалобами по поводу боли в животе.

Также в это время были обнаружены метастазы в печени и легких. Биопсия печени выявила слабо дифференцированную карциному с фокальной железистой дифференциацией. Получил 8 циклов эпирубицина+цисплатина+капецитабина с октября 2012 г. по апрель 2013 г. в рамках клинического исследования "CUP", но заболевание прогрессировало, наблюдались отеки, плевральный выпот, образование асцита, вес увеличился на 20 кг. Пациент испытывал сильную тошноту, рвоту и усталость при таком режиме лечения.

С 20 июня 2013 г. начал получать NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно и получил 2 дозы. Дозу снизили до 625 мг/м² для завершения 1 цикла, получил еще 5 циклов с более низкой дозой. На момент включения в исследование у пациента отмечался отек нижних конечностей и образование асцита в брюшной полости (приблизительно 20 кг). После 1 цикла лечения сообщалось об уменьшении отеков и асцита, состояние пациента заметно улучшилось. На 8 день 1 цикла развилась тромбоцитопения (G3), лимфопения (G3) и нейтропения (G2), в результате чего лечение было прервано на две недели. Результаты сканирования по окончании 2 цикла показали уменьшение всех целевых очагов поражения, согласно оценке по RECIST заболевание стабильно. Результаты сканирования по окончании 4 цикла показали дальнейшее уменьшение всех целевых очагов поражения, согласно оценке по RECIST наблюдался частичный ответ, который продолжался до конца исследования. По просьбе пациента из соображений гуманности лечение было продолжено, пациент получил еще 3 цикла с этой дозой. На 8 день каждого цикла у пациента наблюдалось постоянное уменьшение количества клеток крови.

После 10 циклов дозу снизили до 500 мг/м² с желаемым эффектом и провели еще 10 циклов (суммарно 19).

Недавние результаты КТ-сканирования, проведенного 9 января 2015 г., показали устойчивый частичный ответ (размер опухоли уменьшился приблизительно на 58%), целевой узел в брыжейке больше не обнаруживался. На протяжении 10 циклов наблюдались отеки обеих ног, но пациент хорошо реагировал на спиронолактон, и состояние полностью разрешалось. 12 декабря 2014 г. проведена замена линии Хикмана после 19 месяцев *in situ*, побочных эффектов не было. Клиническое состояние пациента оставалось хорошим. После обсуждения с врачом-клиницистом (CI) пациент с радостью согласился сделать перерыв в лечении, после чего будет снова направлен к онкологу для обсуждения дальнейших вариантов лечения.

Продолжающийся частичный ответ по RECIST (20+ месяцев; PFS 24 + месяцев).

Пациент 017. Рак легких: частичный ответ.

Женщина (60 лет).

В сентябре 2011 г. диагностирована аденокарцинома легкого с метастазами в легкие, печень и надпочечники. Метастазы также были обнаружены в средостенных, внутрибрюшных и шейных лимфатических узлах. В декабре 2011 г. пациенту проведен плеродез, в дальнейшем получила 3 цикла цисплатина+перметрекседа, завершив лечение в марте 2012 г., был достигнут частичный ответ. С марта по сентябрь 2012 г. получила суммарно 6 циклов доцетаксела, был достигнут частичный ответ. В апреле 2013 г. было отмечено прогрессирование заболевания, повторно назначен доцетаксел, но заболевание продолжало прогрессировать после 2 циклов доцетаксела.

В июле 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно на протяжении 1 дозы. Дозу снизили до 625 мг/м² и она получила еще 2 дозы для завершения 1 цикла лечения, далее завершила еще 5 циклов. Были перерывы в лечении на 4 недели из-за легочных инфекций и низкого уровня тромбоцитов. Значительный ответ на лечение в пораженных заболеванием лимфатических узлах, особенно в шейных.

Целевые участки поражения продолжили уменьшаться, что было подтверждено результатами КТ-сканирования по окончании 2 цикла и 4 цикла. На этой стадии в соответствии с оценкой по RECIST ответом на лечение было стабильное заболевание.

Результаты КТ-сканирования по окончании 6 цикла показали дальнейшее уменьшение целевых участков поражения, в конце исследования оценка по RECIST была изменена на частичный ответ во всех целевых участках поражения. По просьбе пациента из соображений гуманности лечение было продолжено, завершены еще 3 цикла. Пациент хорошо переносил лечение NUC-1031, проблемы с хриплым голо-

сом и дисфагия уменьшились. Результаты сканирования по окончании 9 цикла, проведенного 17 апреля 2014 г., выявили прогрессирующее заболевание, рост целевых очагов поражения и образование новых очагов поражения в печени. Исключен из исследования.

Частичный ответ по RECIST (3 месяца; PFS 10 месяцев).

Пациент 018. Рак легких: стабильное заболевание.

Женщина (65 лет).

В мае 2011 г. диагностирован плоскоклеточный рак легких. С июня по октябрь 2011 г. получила 6 циклов гемцитабина+цисплатина в рамках исследования SQUIRE. В апреле 2012 г. случился рецидив заболевания, получила однократную дозу паллиативной лучевой терапии в области ворот правого легкого и 6 циклов доцетаксела с мая по сентябрь 2012 г.

В октябре 2012 г. заболевание прогрессирует. В декабре 2012 г. начала получать эрлотиниб на протяжении 3 месяцев, но в марте 2013 г. обнаружено, что заболевание прогрессирует в области ворот правого легкого.

С 25 июля 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 625 мг/м² еженедельно, закончила 4 цикла. В соответствии с RECIST заболевание стабильно (4 месяца). Пациент исключен из исследования из-за ухудшения симптомов, вызванного обструкцией полых вен. Подвергнута лучевой терапии в низкой дозе с целью разрешить обструкцию и снова начала получать NUC-1031 по программе гуманитарного доступа. После одной следующей дозы NUC-1031 было принято решение исключить пациента из программы гуманитарного доступа. После этого заболевание пациента было в основной массе стабильно.

Стабильное заболевание по RECIST (4 месяца).

Пациент 021. Рак фаллопиевой трубы: частичный ответ.

Женщина (61 год).

В 2008 г. диагностирована рецидивирующая эндометриоидная аденокарцинома яичников 2а стадии, 2 степени. Получила 6 циклов карбоплатина+паклитаксела, завершила в октябре 2008 г. В июне 2011 г. случился рецидив, обнаружены плевральные подкапсульные печеночные, сальниковые и брыжеечные опухолевые узелки, пациентка была включена в исследование ICON6, получила 6 циклов карбоплатина плюс паклитаксела ± цедираниба. Был достигнут частичный ответ на терапию. Оставалась на поддерживающем лечении цедиранибом до марта 2012 г., когда лечение было прекращено из-за повышения уровня СА125 и прогрессирования заболевания в брюшной полости.

С марта по июль 2012 г. получала 6 циклов паклитаксела еженедельно, изначально с хорошим рентгенологическим ответом для заболевания в брюшине. В феврале 2013 г. у пациента были обнаружены новый выпот и продолжение прогрессирования заболевания в брюшине. Начала получать карбоплатин+паклитаксел и ежедневно ингибитор АКТ в рамках исследования AKTRES, но в мае 2013 г. после 3 циклов лечения заболевание продолжало прогрессировать (новое опухолевое образование в малом тазу).

С 28 августа 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 625 мг/м² еженедельно, завершила 6 циклов. Отмечено значительное уменьшение количества асцита в брюшной полости; до начала исследования каждые две недели требовалось проводить дренирование, после начала получения NUC-1031 дренирование больше не требовалось. Пациент хорошо переносил лечение NUC-1031. Стабильное заболевание по RECIST в конце исследования. По просьбе пациента из соображений гуманности лечение было продолжено, завершен еще один цикл. Результаты КТ-сканирования по окончании 7 цикла, проведенного 26 февраля 2014 г., показали дальнейшее уменьшение объема опухоли, частичный ответ подтвержден по RECIST. Значительный ответ по уровню СА125: снизился на 91% по сравнению с исходным уровнем (372) к концу 6 цикла (35).

Наилучший общий ответ к настоящему моменту - частичный ответ (3 месяца) в соответствии с RECIST или частичный ответ (9 месяцев) в соответствии с критериями GCIG.

Частичный ответ.

Пациент 024. Рак неизвестной первичной локализации: прогрессирующее заболевание.

Женщина (51 год).

В апреле 2002 г. диагностирован рак неизвестной первичной локализации. Получала 8 циклов CAPOX с апреля по октябрь 2012 г. В октябре получала иринотекан с подключением бевацизумаба в ноябре 2012 г., но без ответа на лечение.

С 26 сентября 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 675 мг/м² еженедельно, завершила 2 цикла. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что заболевание прогрессирует.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 025. Мезотелиома: стабильное заболевание.

Мужчина (54 года).

В марте 2013 г. диагностирована T4 N3 M0 эпителиоидная мезотелиома правого легкого. С мая по август 2013 г. получил 4 цикла пеметрекседа+цисплатина.

С 23 октября 2013 г. начал получать NUC-1031 в дозе 725 мг/м² еженедельно, завершил 4 цикла. Результаты КТ-сканирования по окончании 4 цикла показали, что заболевание прогрессирует. Исключен из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (4 месяца).

Пациент 026. Колоректальный рак: стабильное заболевание.

Женщина (63 года).

В феврале 2007 г. диагностирован колоректальный рак, T4 N2, с метастазами в легкие и мочевой пузырь. В ноябре 2007 г. получила 12 циклов адьюванта FOLFOX. Случился рецидив заболевания в малом тазу, получала капецитабин в 2009 г.

В связи с рецидивом в 2012 г. была подвергнута FOLFIRI в сентябре 2012 г., а также получала капецитабин+иринотекан до января 2013 г.. В июле 2013 г. КТ-сканирование показало, что заболевание прогрессирует, рецидив пресакральной опухоли, вызвавший разрушение крестца, узел в легких.

С 17 октября 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 725 мг/м² еженедельно, завершила 4 цикла. Заметное уменьшение боли на фоне значительного сокращения применения опиоидных анальгетиков. Результаты КТ-сканирования по окончании 4 цикла показали, что заболевание прогрессирует.

Стабильное заболевание по RECIST (4 месяца).

Пациент 027. Рак яичников: стабильное заболевание.

Женщина (46 лет).

В декабре 2009 г. диагностирована серозная аденокарцинома обоих яичников. После тотальной гистерэктомии, двусторонней сальпингоофорэктомии и оментэктомии получила 6 циклов карбоплатина+паклитаксела, была достигнута полная ремиссия в мае 2010 г. У пациента случился рецидив в июне 2011 г., получила 6 циклов карбоплатина+паклитаксела (исследование ICON6). В декабре 2012 г. пациент получил еще 3 цикла гемцитабина+карбоплатина, но в связи с развившейся аллергической реакцией на карбоплатин пациент был переведен на цисплатин. Завершила суммарно 6 циклов, был достигнут частичный ответ в апреле 2013 г. Далее на протяжении 6 месяцев получала тамоксифен, но в июле 2013 г. результаты КТ-сканирования выявили поражение медиастинальных лимфатических узлов и повышение уровня СА125. КТ-сканирование в октябре 2013 г. показало увеличения размера метастазов в брюшине.

С 30 октября 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 725 мг/м² еженедельно. После 1 дня 1 цикла поднялся уровень ALT (G3) с 96 исходно до 256 на 7 день, DLT в этой когорте. Уровень ALT восстановился до G2 через несколько дней, что позволило пациенту продолжить лечение с 8 дня 1 цикла со сниженной дозой 675 мг/м². Завершила 1 цикл со сниженной дозой, далее получила еще 3 цикла. Заболевание пациента было стабильно в соответствии с RECIST, объем опухоли уменьшился на 23%. Уровень СА125 снизился со 188 исходно до 99 в конце 6 цикла. Начиная с 5 цикла доза была дополнительно снижена до 625 мг/м² из-за легкой нейтропении. Завершила исследование с этой дозой без дальнейших проблем. По просьбе пациента из соображений гуманности лечение было продолжено, завершено еще 1 цикл.

Стабильное заболевание по RECIST (8 месяцев).

Пациент 029. Рак молочной железы: стабильное заболевание.

Женщина (53 года).

В 2002 г. диагностирован метастатический рак молочной железы (ER- и PGR-положительный), с множественными метастазами в кости и печень. Получила 6 циклов FEC, адьювантную лучевую терапию и тамоксифен с гозерелином. В 2010 г. были обнаружены новые метастазы в кость, получала лечение золадексом, летрозолом и памидронатом.

В июле 2011 г. переведена на золадекс и экземестан с подключением фаслодекса в ноябре. В связи с дальнейшим прогрессированием заболевания в 2012 г. получала капецитабин+зомету, далее паклитаксел на протяжении только 3 циклов. Начато лечение рукапарибом в мае 2013 г. Прогрессирующее заболевание печени в июле 2013 г., получала гемцитабин+карбоплатин на протяжении 3 циклов.

С 14 ноября 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 725 мг/м² еженедельно. Завершила 3 цикла. К сожалению, умерла, находясь дома, от остановки сердца, не связанной с исследованием.

Стабильное заболевание по RECIST (4 месяца).

Пациент 030. Рак яичника: стабильное заболевание.

Женщина (62 года).

В 2012 г. диагностирована серозная аденокарцинома яичника. Получала адьювантное лечение карбоплатин+паклитакселом на протяжении 6 циклов до июля 2012 г., достигнута полная ремиссия. В августе 2013 г. обнаружено, что заболевание прогрессирует, начато лечение карбоплатин+келиксом, после 3 циклов заболевание продолжало прогрессировать.

С 21 ноября 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 725 мг/м² еженедельно. Завершила 3 цикла, лечение исследуемым препаратом переносила хорошо. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно. Периодические диетические проблемы и связанные с ними эпизоды обезвоживания и недостаточности питания приводили к длительным перерывам в лечении. Исключена из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (3 месяца).

Пациент 031. Холангиокарцинома: прогрессирующее заболевание.

Женщина (76 года).

В июле 2013 г. диагностирована холангиокарцинома. 27 июля проведена модифицированная операция Уиппла. Во время операции обнаружены множественные метастазы в печени. В августе 2013 г. нача-

ла получать гемцитабин+оксалиплатин каждые две недели на протяжении 6 циклов.

С 9 декабря 2013 г. начала получать NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно, завершила 2 цикла. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что заболевание прогрессирует. Исключена из исследования.

Пациент 032. Рак пищевода: стабильное заболевание.

Мужчина (56 лет).

В июне 2013 г. диагностирована плоскоклеточная карцинома пищевода. Получил 3 цикла цисплатина+капецитабина с июля по сентябрь 2013 г.. Прогрессирующее заболевание с метастазами в брюшину и легкие. В октябре 2013 г. установлен пищеводный стент, чтобы контролировать симптомы дисфагии.

С 16 декабря 2013 г. начал получать NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно, завершил 2 цикла. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно. У пациента были проблемы с легочной/трахеальной фистулой. Исключен из исследования в связи с прогрессированием заболевания.

Стабильное заболевание по RECIST (2 месяца).

Пациент 033. Холангиокарцинома: стабильное заболевание.

Женщина (37 лет).

В июне 2013 г. диагностирована холангиокарцинома на поздней стадии с метастазами в печень, брюшину и парааортальные лимфатические узлы и небольшие узелки в легких. В июне проведена биопсия печени, которая выявила слабо дифференцированную холангиокарциному, с некоторыми особенностями, предполагающими первичную локализацию в печени. В июле 2013 г. начата химиотерапия гемцитабином и цисплатин, пациент получил 6 циклов, пропустив часть лечения в рамках 5 цикла из-за развившегося нейтропенического сепсиса.

К сожалению, несмотря на то, что результаты промежуточного сканирования демонстрировали частичный ответ, КТ-сканирование после лечения, проведенное 28 ноября 2013 г., показало, что заболевание прогрессирует, очаг поражения в печени стабилен, но метастазы в легких увеличились в размерах и появились новые метастазы в брюшине. У пациента также имелось литическое поражение грудины.

С 3 января 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно, завершила 4 цикла. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно. Результаты КТ-сканирования по окончании 4 цикла показали, что заболевание прогрессирует, и пациент был исключен из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (3 месяца).

Пациент 036. Карцинома почки: стабильное заболевание.

Мужчина (20 лет).

В декабре 2012 г. диагностирована медуллярная почечно-клеточная карцинома. С января по июль 2013 г. получил 5 циклов гемцитабина+паклитаксела+карбоплатина, в результате чего во время лечения заболевание стабилизировалось. У пациента были перерывы в лечении из-за тромбоцитопении и нейтропении, требовавшие введения G-CSF. В связи с рецидивом в июле 2013 г. начал получать гемцитабин+доксорубин, но в сентябре 2013 г. обнаружено, что через 2 цикла заболевание продолжало прогрессировать.

С 28 января 2014 г. начал получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, завершил 4 цикла. Пациент испытывал слабость и повышенную утомляемость во время 1 цикла. Прекращен прием лоразепам, пациент стал чувствовать себя бодрее. Пациент сообщал о том, что переносит лечение NUC-1031 намного лучше, чем все предыдущие режимы лечения. Результаты КТ-сканирования по окончании 4 цикла показали, что заболевание устойчиво стабильно, объем опухоли уменьшился на 7%. После 1 дня 5 цикла развилась тромбоцитопения (G3) и доза была снижена до 750 мг/м². После 8 дня 5 цикла развилась слабость, потеря аппетита, возможности для дальнейшего лечения не было. Исключен из исследования в связи с прогрессированием заболевания.

Стабильное заболевание по RECIST (5 месяцев).

Пациент 037. Рак поджелудочной железы: частичный ответ.

Женщина (70 лет).

В марте 2013 г. диагностирована аденокарцинома поджелудочной железы. На 26 марта 2013 г. была запланирована операция Уиппла, но резекцию опухоли провести не удалось из-за множественных спаек, были взяты образцы биопсии. Во время клиновидной резекции печени подтвердилось наличие метастазов в печени. Результаты гистологии показали умеренно дифференцированную аденокарциному. Пациент получил 6 циклов гемцитабина с марта по октябрь 2013 г.. Результаты КТ-сканирования в ноябре 2013 г. показали частичный ответ опухоли поджелудочной железы на лечение, но в левой латеральной доли печени были обнаружены новые метастазы.

С 4 февраля 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 1000 мг/м² еженедельно на протяжении 1 цикла (с этой дозой). В это время DSMC решили снизить дозу для всех пациентов в этой группе до 900 мг/м² из-за DLT у одного пациента (пациент 039). Пациент получил еще один цикл с новой дозой. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно, объем опухоли уменьшился на 18,4%.

Боль в животе и спине в значительной степени уменьшилась; пациент получал оксиконтин в дозе 80 мг два раза в сутки и прекратил прием морфина. Также наблюдалось значительное снижение уровня опухолевых маркеров: для СА19.9 с 15000 исходно до 4000 и для СЕА с 536 исходно до 42. Основной проблемой после каждого цикла была слабость. Результаты КТ-сканирования, проведенного 29 апреля 2014 г., показали, что объем опухоли уменьшился еще на 30%, был достигнут частичный ответ в соответствии с RECIST. Пациент потерял аппетит, испытывал сильную слабость и был исключен из исследования.

Частичный ответ по RECIST (1 месяц; PFS 4 месяца).

Пациент 038. Рак яичника: прогрессирующее заболевание.

Женщина (65 лет).

В 2000 г. диагностирована рецидивирующая серозная аденокарцинома яичника 3с стадии 3 степени. В ноябре 2000 г. проведена тотальная абдоминальная гистерэктомия с двусторонней сальпингоофорэктомией и циторедукцией, после чего осталось только минимальное остаточное заболевание. Получала 6 циклов карбоплатина+паклитаксела 3 раза в неделю до марта 2001 г. В связи с рецидивом в 2002 г. получила 6 циклов карбоплатина плюс эпозидола до полной ремиссии в марте 2003 г. Еще один рецидив в 2005 г., проведена еще одна циторедукция, после этого 6 циклов карбоплатина+гемцитабина, завершившиеся в июле 2006 г., достигнута полная ремиссия. Потребовалась дополнительная циторедукция, включающая спленэктомию, в связи с рецидивом в 2009 г. Далее получила 6 циклов карбоплатина+келикса, достигнута полная ремиссия. В 2010 г. появился рецидив в правой части таза возле сосудов в правой внешней части подвздошной кишки, и этот рецидив был признан неоперабельным. Пациент получал карбоплатин и паклитаксел на протяжении 6 циклов, это лечение было завершено в апреле 2011 г. с частичным ответом. Пациентке было проведено 6 циклов лечения карбоплатином и паклитакселом, которые были завершены в апреле 2011 г. с частичным ответом. В октябре 2011 г. у пациента наблюдалось прогрессирование заболевания, поэтому было проведено 6 циклов лечения топотеканом до марта 2012 г., после чего заболевание стало стабильным. В это время пациенту была проведена установка стента в правую уретральную область из-за гидронефроза. В июне 2012 г. после дальнейшего прогрессирования заболевания с возникновением новых билатеральных метастазов в легких было начато лечение карбоплатином+паклитакселом+бевацизумабом еженедельно до марта 2013 г., затем проводили поддерживающую терапию бевацизумабом+летрозолом до сентября 2013 г. После этого проводили 3 цикла лечения циклофосфамидом+бевацизумабом, но промежуточное сканирование показало, что заболевание прогрессирует, и 11 ноября 2013 г. лечение было прекращено. Правый уретральный стент был удален в январе 2014 г.

С 4 марта 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, завершила 2 цикла. Основное токсическое действие было связано с возникновением отсроченной слабости на 3-4 дни цикла. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что заболевание прогрессирует, объем опухоли увеличился на 25%. Исключена из исследования.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 040. Холангиокарцинома: стабильное заболевание.

Женщина (69 лет).

В мае 2013 г. диагностирована внутривенная холангиокарцинома 2 степени, с опухолевой массой размером 11 см в печени, блокирующей общий желчный проток, в следствие чего развилась желтуха. Был установлен билиарный стент. С августа по декабрь получила 7 циклов гемцитабина+цисплатина.

С 20 февраля 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 1000 мг/м² еженедельно на протяжении 1 дозы. Через 8 дней 1 цикла, 27 февраля, возникли лихорадка, судороги, уровень билирубина был повышен. Допускалось, источником инфекции (G3) был стент, заблокированный опухолью и кистой желчных путей. Два новых стента работали хорошо. 1 цикл завершила с дозой 900 мг/м² из-за DLT в этой когорте. Завершила 3 цикла. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла, проведенного 23 мая, показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно, объем опухоли незначительно уменьшился с 85 исходно до 82,1. Уровень СА 19.9 снизился с 664 исходно до 155 к 4 июня. Госпитализирована в июне 2014 г. с делирием, диагностирована инфекция мочевыводящих путей. Дальнейшие исследования также выявили, что заболевание в печени продолжает прогрессировать. Исключена из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (4 месяца).

Пациент 041. Рак молочной железы: стабильное заболевание.

Женщина (54 года).

Диагностирован метастатический инвазивный протоковый рак молочной железы (ER+ и PR+) с двусторонними метастазами в подмышечные лимфатические узлы, легкие и печень. Получила 3 цикла FEC, 9 циклов паклитаксела, 8 циклов капецитабина, 3 цикла эрибулина и 1 дозу гемцитабина+карбоплатина. Последнюю химиотерапевтическую дозу получила 19 декабря 2013 г., результаты последнего КТ-сканирования перед включением в исследование показали, что заболевание прогрессирует.

С 18 марта 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, завершила 3 цикла. Было 2 перерыва в лечении после 8 и 15 дня 1 цикла из-за нейтропении, которая спонтанно прошла через неделю. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что в соответствии с RECIST за-

болевание стабильно. Уровень опухолевого маркера СА 15.3 исходно составлял 726, во время 2 цикла - 845 и на 19 мая 2014 г. - 824. (Этот опухолевый маркер раньше всегда был надежным показателем ответа). Во время 3 цикла испытывала слабость (G3), но удалось значительно снизить опиоиды. Дозу NUC-1031 снизили до 825 мг/м² с 4 цикла. Результаты сканирования по окончании 4 цикла показали, что заболевание прогрессирует, целевые очаги увеличились и появились новые очаги поражения в костях. Исключена из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (4 месяца).

Пациент 042. Холангиокарцинома: прогрессирующее заболевание.

Мужчина (48 лет).

В январе 2013 г. диагностирована метастатическая холангиокарцинома. В феврале 2013 г. проведена частичная гепатэктомия. Включен в наблюдаемую группу в рамках исследования BILCAP (сравнение капецитабина с наблюдением после хирургического вмешательства по поводу рака желчных протоков). В связи с прогрессирующим заболеванием начал получать гемцитабин и цисплатин на протяжении 6 циклов. В связи с дальнейшим прогрессирующим заболеванием в ноябре 2013 г. начал получать капецитабин. Однако лечение было прекращено через два месяца из-за ангины. В связи с дальнейшим прогрессирующим заболеванием начал получать 5FU на протяжении 6 недель, но заболевание продолжало прогрессировать и появились метастазы в легкие, печень и кости.

Последнее лечение проведено в январе 2014 г. 20 января 2014 г. проведена паллиативная лучевая терапия в связи с болью из-за метастазов в правой лопаточной кости.

С 18 марта 2014 г. начал получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, завершил 2 цикла. Пациент испытывал отсроченную слабость (G2) на 3-5 день после начала получения исследуемого препарата. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали уменьшение объема опухоли на 9% в первичном целевом очаге поражения, но также выявили новые очаги поражения в легких и костях. Исключен из исследования.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 043. Рак яичника: стабильное заболевание.

Женщина (54 года).

Диагностирован папиллярный серозный перитонеальный рак 4 стадии, 3 степени. В сентябре 2007 г. проведена тотальная абдоминальная гистерэктомия с двусторонней сальпингоофорэктомией и оментэктомией. Получила 4 цикла карбоплатина+паклитаксела, далее 2 цикла только карбоплатина в связи с невропатией, завершила курс в январе 2008 г. В апреле 2011 г. проведена вторая операция по уменьшению опухолевой массы в малом тазу (в связи с рецидивом заболевания). Пациент отказался от адьювантной химиотерапии или лучевой терапии.

Еще один рецидив заболевания в июле 2012 г., установлен стент из-за гидронефроза. Рецидив заболевания в августе 2012 г., начала получать карбоплатин+гемцитабин. КТ-сканирование в марте 2013 г. выявило, что заболевание прогрессирует; пациент завершил 6 циклов келикса в октябре 2013 г. В начале 2014 г. выявлено, что заболевание прогрессирует с образованием плеврального выпота, который требует постоянного отведения.

С 20 марта 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно и завершила 6 циклов. 7 апреля 2014 г. получены результаты ПЕТ-сканирования, которые показали, заболевание стабильно, значения SUV уменьшились в некоторых целевых опухолях. Уровень СА125 снизился с 1099 исходно до 783 в начале 2 цикла. Объем жидкости в плевральном выпоте также уменьшился (ранее каждую неделю удаляли 300 мл жидкости, теперь 150 мл в неделю). На 4 и 5 дни развилась отсроченная слабость (G2), в остальные дни - G1. Результаты КТ-сканирования по окончании 6 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно, в целом объем опухоли уменьшился на 10% по сравнению с исходным объемом. Уровень СА125 упал с исходного значения 1099 до 910 к 15 июля. По окончании исследования лечение было продолжено из соображений гуманности. Дозу снизили до 750 мг/м² с 7 цикла, пациент получил еще 1 цикл лечения. Усилился (до G3) отек ног, прогрессирующего заболевания не наблюдалось, но были предложены другие варианты лечения и пациент был исключен из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (13 месяцев).

Пациент 044. Рак легкого: стабильное заболевание.

Женщина (64 года).

В феврале 2010 г. диагностирована аденокарцинома легкого (левой нижней доли) после обращения по поводу не проходящего в течение 7 месяцев кашля. С января 2011 г. по апрель 2012 г. пациент получил gefитиниб 250т, но заболевание прогрессировало. С апреля по ноябрь 2012 г. получила афатиниб (но доза была снижена из-за кожной токсичности), но заболевание снова прогрессировало. С ноября 2012 по июнь 2013 г. пациент получал эрлотиниб после ухудшения кашля и прогрессирующего первичного очага заболевания. В июне 2013 г. развились нарушения зрения, возникли черные тени в левом глазу и были обнаружены метастазы в сосудистой оболочке глаза, проведена лучевая терапия на оба глаза, в результате чего зрение улучшилось. В июне 2013 г. начала получать пеметрексед+карбоплатин на протяжении 6 циклов, далее получила поддерживающую терапию пеметрекседом до 6 февраля 2014 г., когда было подтверждено прогрессирующее заболевание.

С 27 марта 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно и завершила 2 цикла. 19 апреля была легочная инфекция G3, хорошо реагировала на антибиотики. Начала 2 цикл со сниженной дозой, 825 мг/м², завершила еще 2 цикла. Сканирование по окончании 2 цикла показало, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно, объем опухоли уменьшился на 10%. Было 2 перерыва в лечении для дренажа асцита и еще два в связи с тромбоцитопенией. Сканирование по окончании 4 цикла выявило прогрессирующее заболевание в легких и новые метастазы в печени. Исключен из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (5 месяцев).

Пациент 046. Карцинома надпочечников: стабильное заболевание.

Мужчина (36 лет).

В августе 2011 г. диагностирована крупная (20×19×9 см) адренокортикальная карцинома. Значение индекса Ki 67 составило 35-40%, митотический индекс 25/50 в поле зрения, 6 по оценке Вейса 6, опухоль распространяется на 0,3 мм от внешней границы, поражение почек отсутствовало. До января 2012 г. получал адьювант митотан, отменен из-за тошноты и диареи. В июне 2012 г. возобновили лечение митотаном. В июне 2013 г. произошел рецидив, возникли новые метастазы в печени, пациент начал получать этопозид+карбоплатин.

КТ-сканирование, проведенное в сентябре 2013 г. с целью стадирования заболевания, выявило дифференциальный ответ, но в целом заболевание было стабильным, пациент получил еще 3 цикла, заболевание оставалось стабильным после завершения лечения в ноябре 2013 г. В январе 2014 г. выявлено наличие прогрессирующего заболевания в печени.

С 16 апреля 2014 г. начал получать NUC-1031 в дозе 1000 мг/м² еженедельно и завершил 1 цикл. Во время 1 цикла пациент испытывал отсроченную слабость, тошноту и рвоту (все G3). Дозу снизили до 900 мг/м² со 2 цикла и пациент получил еще 5 циклов с этой дозой до завершения исследования. Результаты КТ-сканирования по окончании 6 цикла показали, что объем опухоли снизился на 12,6% по сравнению с исходным объемом. Лечение было продолжено из соображений гуманности, получил еще 3 цикла. К 1 дню 8 цикла развилась слабость (G3) и нейтропения (G2), дозу снизили до 750 мг/м² с 8 цикла, после чего пациент получил еще 2 цикла лечения. Состояние улучшилось до G1, слабость сохранилась, дополнительно появилась тошнота и рвота, и дозу дополнительно снизили до 625 мг/м² с 11 цикла. Получил еще 2 дозы. Исключен из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (11 месяцев).

Пациент 048. Рак яичников: стабильное заболевание.

Женщина (63 года).

В 2000 г. диагностирована гранулезоклеточная опухоль яичника и проведена тотальная абдоминальная гистерэктомия и двусторонняя сальпингоофорэктомия+оментэктомия. В связи с рецидивом в феврале 2004 г. начала получать 3 цикла ВЕР (блеомицин+этопозид+цисплатин) до момента прогрессирования заболевания. В июле 2004 г. проведена вторичная циторедукция.

В июне 2006 г. проведены частичная гепатэктомия, спленэктомия и удаление метастазов в желудке и брюшной полости. После этого проведена радиочастотная абляция метастазов в печени. Проведена лапаротомия и резекция еще 4 метастазов в сентябре 2008 г. В марте 2009 г. начала получать 3 цикла карбоплатина+паклитаксела еженедельно, смешанный ответ. С 12 мая 2009 г. лечение изменили на карбоплатин+низкая доза паклитаксела еженедельно. Завершили лечение в октябре 2009 г., уровни PR и CA-125 были отрицательными.

В октябре 2011 г. проведена еще одна операция по уменьшению объема опухоли, возникли осложнения, потребовавшие длительного пребывания в отделении интенсивной терапии. Результаты КТ-сканирования в апреле 2014 г. выявили увеличение размера очага поражения в 8 сегменте печени, новые небольшие перитонеальные метастазы в желудочно-печеночной связке, несколько новых лимфаденопатий небольшого размера в брыжейке тонкого кишечника, а также небольшие перитонеальные метастазы в тазу около ректосигмоидного соединения.

С 29 апреля 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 1000 мг/м² еженедельно на протяжении 1 дозы. После 1 дня 1 цикла наблюдались ALT, (G3, DLT); AST и нейтропения (G2); ALP (G1). Дозу снизили до 900 мг/м² с 8 дня 1 цикла. Уровень ALT снизился до G3 на 8 и 15 день. Дозу снизили со 2 цикла до 825 мг/м². Результаты PET-сканирования по окончании 1 цикла показали, что заболевание стабильно и SUV снизился в целевых очагах поражения. В январе 2014 г. уровень ингибина В был равен 430 и увеличился до 1038 на момент включения пациента в исследование. Уровень ингибина В в июле 2014 г. стабилизировался и был равен 1106, в августе - 1148, в сентябре - 1053. Дозу снизили с 15 дня 4 цикла до 750 мг/м² из-за нейтропии (G3), несмотря на введение G-CSF. Завершила исследование с этой дозой. Результаты КТ-сканирования по окончании 6 цикла, проведенного 11 ноября, подтвердили, что согласно RECIST заболевание стабильно. Лечение продолжили из соображений гуманности. Из-за диареи после каждой дозы с 7 цикла пациент начал получать сниженную дозу 625 мг/м². Развились эмболы рядом с линией Хикмана, и, несмотря на то, что это было ответом на клексан, пациент был исключен из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (8 месяцев).

Пациент 050 (202). Рак пищевода: прогрессирующее заболевание.

Женщина (41 год).

В ноябре 2013 г. диагностирована плоскоклеточная карцинома пищевода 4 стадии с метастазами в печень. Получила 6 циклов цисплатина+капецитабина с декабря 2013 г. по апрель 2014 г. Результаты сканирования после лечения показали, что заболевание прогрессирует, обнаружены новые метастазы в легких.

С 21 мая 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно на протяжении 3 циклов. После 1 дня 1 цикла поднялся уровень ALT (G3) и развилась слабость (G3), дозу снизили с 8 дня 1 цикла. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что заболевание прогрессирует, хотя оставалась неопределенность в отношении некоторых изначальных очагов поражения.

Поскольку пациент получил клиническую пользу в виде улучшения дисфагии, было решено провести еще один цикл лечения. Результаты КТ-сканирования по окончании 3 цикла подтвердили прогрессирование заболевания, и пациент был исключен из исследования.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 051 (203). Рак анального канала: прогрессирующее заболевание.

Женщина (51 год).

В октябре 2013 г. диагностирована метастатическая плоскоклеточная карцинома ануса. Прогрессирование заболевания после 6 циклов цисплатина+SFU с октября 2013 г. по март 2014 г.

С 3 июня 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно и получила 2 цикла. Во время 2 цикла потребовалось переливание крови, но лечение переносила хорошо. Результаты КТ-сканирования показали, что заболевание прогрессирует.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 052 (204). Рак пищевода: стабильное заболевание.

Мужчина (66 лет).

В декабре 2012 г. диагностирован рак пищевода IV стадии. Получала FOX с января по июль 2013 г., достигнут частичный ответ. В апреле 2014 г. выявлено прогрессирование заболевания. Установлен стент в пищевод.

С 10 июня 2014 г. начал получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно и завершил 1 цикл. Из-за слабости дозу снизили до 825 мг/м² со 2 цикла, эффект был хороший. Завершила еще 2 цикла с этой дозой. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно. Продолжалась боль в костях, но сканирование показало, что это не связано с болезнью. Дисфагия усилилась. Результаты КТ-сканирования по окончании 4 цикла, проведенного 10 ноября, выявили прогрессирование заболевания.

Стабильное заболевание по RECIST (5 месяцев).

Пациент 053 (205). Рак толстой кишки: прогрессирующее заболевание.

Женщина (31 год).

В 2008 г. диагностирована T3 N1 M0 аденокарцинома толстой кишки. Проведена резекция, получила 12 циклов FOLFOX, которые были завершены в 2009. В связи с прогрессированием заболевания в 2011 г. получила 13 циклов FOLFIRI (6 циклов включали авастин). В связи с дальнейшим прогрессированием заболевания в 2012 г. получила 12 циклов FOLFOX (6 циклов включали авастин). Заболевание продолжало прогрессировать в январе 2014 г., выявлены метастазы в легких и позвонках. Проведена лучевая терапия позвоночника.

С 12 июня 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно и завершила 1 цикл. У пациентки наблюдался ряд инфекций, и потребовалась дефункционализирующая илеостомия. После многих перерывов в лечении получила 15 дней 2 цикла и результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла выявили прогрессирование заболевания и новые очаги поражения в легких и печени.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 055 (207). Рак яичников: стабильное заболевание.

Женщина (42 года).

В январе 2002 г. диагностирована папиллярная серозная аденокарцинома яичников стадии 2с 1 степени. Проведена тотальная абдоминальная гистерэктомия, двусторонняя сальпингоофорэктомия и оментэктомия и 6 циклов адьювантов карбоплатина+паклитаксела, завершившие лечение в июне 2002 г.

В январе 2012 г. развился новый первичный рак брюшины 3 степени 3с стадии, охвативший ректосигмоидное соединение. Проведена задняя экзентерация, включающая резекцию слепой кишки, прямой кишки и сигмовидной кишки плюс оментэктомия и чистку брюшины. С марта по август 2012 г. получила 6 циклов адьюванта карбоплатина+паклитаксела.

В связи с рецидивом заболевания в январе 2013 г. получала 6 циклов паклитаксела еженедельно до мая 2013 г. В связи с дальнейшим прогрессированием заболевания в октябре 2013 г. в рамках исследования AKTRES начала получать 3 паклитаксела еженедельно+карбоплатина еженедельно+ингибитора АКТ ежедневно. В мае 2014 г. результаты КТ-сканирования выявили новые очаги поражения и прогрессирование заболевания.

Со 2 июля 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно на протяжении 1 цикла. Дозу снизили до 825 мг/м² со 2 цикла из-за слабости, завершили еще 4 цикла. После химиотерапии испытывала тошноту и рвоту, дозу снизили до 625 мг/м² с 6 цикла и завершили еще один цикл. Результаты

КТ-сканирования по окончании 6 цикла, проведенного 16 декабря 2014 г., показали, что согласно RECIST заболевание продолжало быть стабильным, объем опухоли уменьшился на 18% по сравнению с исходным объемом. Уровень СА 125 у пациента исходно составлял 36, в январе 2015 г. - 24. По окончании исследования лечение было продолжено из соображений гуманности. Получила еще 2 цикла по программе гуманитарного доступа, без возникновения проблем. Пациент решил прервать исследование и выйти из него, поскольку необходимо было ездить на дальние расстояния.

Стабильное заболевание по RECIST (10+ месяцев).

Пациент 057 (209). Рак яичников: стабильное заболевание.

Женщина (58 лет).

В октябре 2011 г. диагностирован серьезный рак яичников на 3с стадии (3 степени). Получила 3 цикла неоадьюванта карбоплатина+таксола, но во время 3 цикла развилась аллергия на таксол. 21 декабря 2011 г. проведены задняя экзентерация, удаление части яичников, передняя резекция с первичным анастомозом и оментэктомия. В марте 2012 г. завершила 3 цикла карбоплатина+доцетаксела. В июне 2013 г. возник рецидив 2013, получила 6 циклов карбоплатина+келикса к ноябрю 2013 г. В феврале 2014 г. результаты КТ подтвердили рецидив заболевания, получила 3 цикла карбоплатина+гемцитабина с марта по июнь.

С 9 июля 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно на протяжении 2 доз. На 15 день 1 цикла, 30 июля, зарегистрированы анемия G3 и образование асцита G3.

Дозу снизили до 825 со 2 цикла, получила еще 2 цикла лечения. Результаты КТ-сканирования по окончании 4 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание продолжает оставаться стабильным, объем опухоли уменьшился на 10% по сравнению с исходным объемом.

Был установлена дренажная система PleurX и каждую неделю из полости тела удаляли приблизительно 1000 мл очень кровянистой жидкости. Дополнительно снизили дозу до 750 мг/м² с 1 дня 4 цикла из-за слабости, получила еще один цикл. Увеличение объема абдоминальной жидкости. Исключена из исследования из-за клинического течения заболевания.

Стабильное заболевание по RECIST (5 месяцев).

Пациент 058 (210). Рак легкого: стабильное заболевание.

Мужчина (54 года).

В январе 2014 г. диагностирована метастатическая немелкоклеточная аденокарцинома легкого, с метастазами в лимфатические узлы и кости.

Получил 3 цикла цисплатина и пеметрекседа, заболевание стабилизировалось. В марте 2014 г. начал получать поддерживающую терапию пеметрекседом, получил 4 цикла к апрелю 2014 г. В мае 2014 г. было подтверждено прогрессирование заболевания с образованием двусторонних метастазов в легкие, получил еще 1 дозу пеметрекседа.

С 14 июля 2014 г. начал получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно на протяжении 1 цикла. 15 день 1 цикла был задержан на одну неделю в связи с трансаминитом G3 (ALT), DLT, и доза была снижена до 750 мг/м². Следует сказать, что некоторое повышение уровня ферментов печени может быть связано с врожденными особенностями. Получил еще 1 цикл лечения в дозе 750 мг/м². Результаты КТ-сканирования по окончании 4 цикла показали, что заболевание прогрессирует, и в костях возникли новые очаги поражения.

Стабильное заболевание по RECIST (4 месяца).

Пациент 059 (211). Рак шейки матки: стабильное заболевание.

Женщина (52 года).

В декабре 2012 г. диагностирована плоскоклеточная карцинома шейки матки IV стадии. Начала получать химиотерапию карбоплатином+таксолом, которая была прекращена из-за токсичности, главным образом, таксола (сыпь и зуд), в феврале 2013 г. С марта по июль 2013 г. получила 6 циклов цисплатина+топотекана, была достигнута стабилизация заболевания. В октябре 2013 г. КТ-сканирование показало, что заболевание прогрессирует. Была проведена лучевая терапия тазовой области, суммарно 30Gu в 10 фракциях, которая была завершена в ноябре 2013 г. В декабре 2013 г. начала получать гемцитабин+карбоплатин и завершила 3 цикла. Но результаты промежуточного КТ-сканирования в феврале 2014 г. показали, что заболевание прогрессирует.

С 24 июля 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно на протяжении 1 цикла. 15 день 1 цикла был отсрочен на 1 неделю в связи с тромбоцитопенией (G3). Дозу снизили до 750 мг/м² со 2 цикла и повели еще 2 цикла лечения. Результаты КТ-сканирования по окончании 4 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание остается стабильным. Дозу снизили до 625 мг/м² с 4 цикла из-за слабости (G3), наблюдаемой на протяжении 3 цикла, что дало хороший эффект. Проведены еще 2 цикла с этой дозой. Из-за неудобства для пациента мочевые стенты были заменены в январе 2015 г. Во время 6 цикла лечения пациент заявил о сильной усталости и вышел из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (7 месяцев).

Пациент 060 (212). Рак поджелудочной железы: прогрессирующее заболевание.

Мужчина (83 года).

В январе 2014 г. диагностирован метастатический рак поджелудочной железы (умеренно диффе-

ренцированная аденокарцинома), с множественными метастазами в печень. С января по июнь 2014 г. был включен в исследование Maestro и получал паллиативную химиотерапию (гемцитабин в 1, 8 и 15 день и активируемое гипоксией TH302), однако заболевание прогрессировало.

С 5 августа 2014 г. начал получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно на протяжении 1 цикла. 10 сентября у пациента обнаружены ALP, AST, ALT, все G3. Требовался новый стент. После перерыва 1 октября завершен 2 цикл лечения. Результаты КТ-сканирования показали, что заболевание прогрессирует, и образуются новые очаги поражения в печени.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 061 (213). Колоректальный рак: стабильное заболевание.

Женщина (53 года).

В 2012 г. диагностирован рак толстой кишки. Хирургическое вмешательство, включающее двустороннюю сальпингофорэктомию, оментэктомию и петлевую илеостомию. С января по июль 2013 г. получила 12 циклов FOLFOX. После рецидива заболевания в апреле 2014 г. получила 8 циклов FOLFIRI и цетуксимаба с апреля по июль 2014 г. На все виды химиотерапии отвечала сильной тошнотой и рвотой.

С 11 августа 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно на протяжении 4 циклов. Тошноты и рвоты на протяжении лечения не было. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно и объем опухоли уменьшился на 2%. КТ-сканирование по окончании 4 цикла показало прогрессирование заболевания и возникновение новых очагов поражения в селезенке и печени.

Стабильное заболевание по RECIST (3 месяца).

Пациент 063 (215). Рак яичников: стабильное заболевание.

Женщина (78 лет).

В мае 2011 г. диагностирована сопутствующая меланома вульвы (4 уровень по Кларку) и рак яичников 3b стадии. С августа по сентябрь 2011 г. получила 3 цикла карбоплатина+паклитаксела, с последующим поэтапным хирургическим вмешательством с целью уменьшения объема опухоли, включающим тотальную абдоминальную гистерэктомию, двустороннюю сальпингофорэктомию и оментэктомию. Далее получила еще 3 цикла карбоплатина+паклитаксела, завершив лечение в ноябре 2011 г. В связи с прогрессированием заболевания с сентября 2013 г. по февраль 2014 г. получила 6 циклов гемцитабина+карбоплатина+авастина. С апреля по июнь 2014 г. получила 2 цикла келикса.

С 27 августа 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно на протяжении 1 цикла. Дозу снизили до 750 мг/м² с 15 дня 2 цикла из-за анемии и нейтропении и провели еще один цикл лечения. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно. Дозу снизили до 625 мг/м² с 1 дня 4 цикла из-за слабости (G3), наблюдавшейся на протяжении 3 цикла. Развилась стойкая одышка. Исключена из исследования.

Стабильное заболевание по RECIST (3 месяца).

Пациент 064 (216). Трофобластический рак: прогрессирующее заболевание.

Женщина (38 лет).

В июне 2011 г. диагностирована рецидивирующая 3 стадии смешанная трофобластическая опухоль плацентарной площади и эпителиоидная трофобластическая опухоль (PSTT/ETT). После радикальной гистерэктомии и лимфаденэктомии с июня по октябрь 2011 г. получала адьювантную химиотерапию паклитакселом+цисплатином в конечном счете паклитакселом+этопозидом, после чего в ноябре 2011 г. была проведена операция по устранению просачивания лимфы, а в феврале 2012 г. осуществлена двусторонняя имплантация мочеточников.

В феврале 2013 г. проведена левая оофорэктомия и удаление серозной оболочки мочевого пузыря в связи с рецидивом заболевания, с марта по июль 2013 г. проведена адьювантная химиотерапия высокой дозой этопозида и трансплантация аутологических стволовых клеток. В январе 2014 г. проведена задняя экзентерация, включающая резекцию верхней части влагалища, прямой кишки и мочевого пузыря, удаление левого яичника, передней части влагалища, брыжеечного узла и правого мочеточника. Получила 5 циклов пеметрекседа+карбоплатина с февраля по май 2014 г. Переведена на гемцитабин+карбоплатин из-за повышения уровней HCG. Получила 2 цикла, но результаты промежуточного КТ-сканирования показали наличие очагов поражения в нижней доле левого легкого, считавшихся неоперабельными.

С 3 сентября 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно на протяжении 2 циклов. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали прогрессирование заболевания, рост существующих очагов поражений в легких и брюшной полости.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 066 (218). Колоректальный рак: стабильное заболевание.

Мужчина (65 лет).

В мае 2011 г. впервые диагностирована pT4b pN0 умеренно дифференцированная аденокарцинома сигмовидной кишки. В ноябре 2011 г. проведена передняя резекция, в январе 2012 г. химиотерапия FOLFOX. После 3 циклов развилась периферическая невропатия, был переведен на монотерапию 5FU. Лечение также прерывалось из-за диареи и чувства общего недомогания. Через 3 месяца лечения 5FU наблюдался стабильный ответ по маркерам, но неоднозначный ответ по данным КТ-сканирования в июле

2012 г. Состояние пациента было стабильно без лечения до мая 2013 г., когда КТ-сканирование показало прогрессирование заболевания наряду с увеличением уровня опухолевых маркеров в два раза. Начал снова получать SFU+авастин, лечение завершено в октябре 2013 г. Лечение осложнилось многочисленными госпитализациями с инфекциями дыхательных путей и болью в груди. Получил 8 циклов цетуксимаба с марта по июль 2014 г. КТ-сканирование показало прогрессирование заболевания, лечение изменили на 5FU плюс авастин. В июне 2014 г. проведены лапаротомия и адгезиолизис из-за наличия спаек между метастазами в брюшной полости. Пациент получил еще один цикл авастина, но лечение было прекращено из-за повышения СЕА. Пациент имеет множество сопутствующих заболеваний, хроническую обструктивную болезнь сердца (ХОБЛ), ишемическую болезнь сердца и застойную сердечную недостаточность.

С 16 сентября 2014 начал получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно на протяжении 2 циклов. Доза снижена до 750 мг/м² с 3 цикла из-за слабости, после чего проведен еще 1 цикл лечения. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно.

Недавно проведены две госпитализации из-за осложнений грыжи, в результате чего лечение было приостановлено. Результаты внепланового КТ-сканирования, проведенного 30 декабря, показали, что заболевание стабильно и объем опухоли уменьшился на 16% по сравнению с исходным уровнем. Дозу дополнительно снизили до 625 мг/м² с 4 цикла из-за слабости. Пациент получил еще 1 цикл лечения с этой дозой без каких-либо осложнений. Во время 5 цикла лечения пациент госпитализирован с острой болью в спине, вызванной старым переломом (не связанным с исследованием). После обследования была показана хирургическая операция. Исключен из исследования из-за перерывов в лечении.

Стабильное заболевание по RECIST (8+ месяцев).

Пациент 067 (219). Остеосаркома: стабильное заболевание.

Мужчина (38 лет).

24 февраля 2012 диагностирована остеосаркома проксимального отдела правой больше берцовой кости. Получил 6 циклов цисплатина+доксорибуцина+метотрексата с февраля по ноябрь 2012 г. В ноябре 2012 г. проведена операция по замене проксимального отдела большеберцовой кости, получал постхирургическую химиотерапию мифамуртидом на протяжении 6 месяцев. Результаты КТ-сканирования в августе 2014 г. показали наличие метастазов в легких и перикарде, ниже нижней полой вены и рядом с правым предсердием.

С 30 сентября 2014 г. начал получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно на протяжении 5 циклов. КТ-сканирование по окончании 4 цикла показало, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно. К концу каждого цикла лечения отмечалась тенденция к развитию нейтропении G2, но количество нейтрофилов быстро восстанавливалось. Закончил лечение 3 марта 2015 г. Исследуемый препарат переносил хорошо. Результаты КТ-сканирования показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно и число эозинофилов (EOS) уменьшилось на 1% по сравнению с исходным уровнем. Сканирование также обнаружило значительную кальцификацию опухоли. По просьбе пациента из соображений гуманности применение исследуемого препарата было продолжено, 7 цикл лечения был завершен 2 апреля 2015 г. со сниженной дозой 750 мг/м². 26 апреля 2015 г. было принято решение о проведении хирургической операции на грудной клетке в целях удаления поражения в нижней доле левого легкого. 26 апреля 2015 г. была проведена хирургическая операция на грудной клетке для удаления кальцинированного поражения в нижней доле. Очаг поражения был удален полностью, оставлен четкий край нормальной окружающей ткани. Пациент продемонстрировал хорошее восстановление после операции.

Стабильное заболевание по RECIST (7+ месяцев).

Пациент 068 (220). Рак легкого.

Мужчина (60 лет).

В мае 2011 г. диагностирована T3 N3 M1b немелкоклеточная карцинома правого легкого (аденокарцинома), дикий тип по EGFR. Получил 10 циклов пеметрекседа и цисплатина с февраля по декабрь 2013 г., после этого проведена паллиативная лучевая терапия грудной области. С января по май 2014 г. включен в исследование POPLAR в группу доцетаксела.

С 3 октября 2014 г. начал получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно на протяжении 2 циклов. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла показали, что заболевание прогрессирует. Исключен из исследования.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 069 (221). Колоректальный рак.

Женщина (45 лет).

В мае 2011 г. диагностирован колоректальный рак. В августе 2011 г. получала капецитабин в качестве неoadъюванта совместно с лучевой терапией, в декабре 2011 г. проведена первичная операция по уменьшению объема опухоли. Получала адъювант FOLFOX с января по июль 2012 г. В апреле 2013 г. диагностирован одиночный рецидив в легком, который был удален хирургическим путем. В июле 2013 г. обнаружен и удален рецидив в правой затылочно-теменной области вместе с некоторыми кожными и подкожными раковыми образованиями. Начала получать цетуксимаб с FOLFIRI с сентября 2013 г. и

продолжала получать цетуксимаб до сентября 2014 г. В сентябре 2014 г. проведено лечение с помощью гамма-ножа с целью удаления метастазов в головном мозге. Неврологических симптомов не наблюдается.

С 9 октября 2014 г. начала получать NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно на протяжении 3 циклов. Результаты ПЕТ-сканирования 30 октября показали частичный ответ. Исследование, проведенное до начала 2 цикла лечения показало, что кожные и подкожные метастазы значительно уменьшились или полностью исчезли, а новые не появились. Результаты КТ-сканирования по окончании 2 цикла лечения показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно, и объем опухоли уменьшился на 11% по сравнению с исходным объемом. Во время 3 цикла лечения развилась нейтропения (G4) и лейкопения (G3) и дозу снизили до 750 мг/м² с 4 цикла. Результаты КТ-сканирования по окончании 4 цикла лечения показали, что в соответствии с RECIST заболевание стабильно, и объем опухоли уменьшился на 26% по сравнению с исходным объемом. После 1 дня 4 цикла развилась нейтропения и лейкопения, G3, и дозу снизили до 675 мг/м² с 8 дня 4 цикла. Дозу снизили до 625 мг/м² с 8 дня 5 цикла из-за нейтропении и лейкопении, G2. Испытывала зрительные нарушения, КТ-сканирование показало, что поражение головного мозга увеличилось. Пораженные участки удалили с помощью лазерного ножа. Пациентка снова начнет получать исследуемый препарат, с 1 дня 7 цикла, 29 апреля 2015 г. в сниженной дозе 500 мг/м².

Стабильное заболевание по RECIST (7+ месяцев).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения ProTide в направленном действии на раковые стволовые клетки, где соединение ProTide отличается от соединения, выбранного из группы, состоящей из NUC-1031; ProTide, полученного из кордицепина; и ProTide, полученного из 8-хлораденозина.

2. Применение по п.1 для направленного действия на раковые стволовые клетки в профилактике или лечении рака.

3. Применение по п.2, в котором рак выбран из группы, состоящей из лейкоза, лимфомы, множественной миеломы, рака легкого, рака печени, рака молочной железы, рака головы и шеи, нейробластомы, карциномы щитовидной железы, рака кожи (включая меланому), плоскоклеточной карциномы полости рта, рака мочевого пузыря, опухоли клеток Лейдига, билиарного рака, такого как холангиокарцинома или рак желчных протоков, рака поджелудочной железы, рака толстой кишки, колоректального рака и гинекологического рака, в том числе рака яичников, рака эндометрия, рака фаллопиевой трубы, рака матки и рака шейки матки, в том числе эпителиального рака шейки матки.

4. Применение по п.3, в котором рак представляет собой лейкоз, выбранный из группы, состоящей из острого лимфобластного лейкоза, острого миелогенного лейкоза (также известного как острый миелоидный лейкоз или острый нелимфоцитарный лейкоз), острого промиелоцитарного лейкоза, острого лимфоцитарного лейкоза, хронического миелолейкоза (также известного как хронический миелоидный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз или хронический гранулоцитарный лейкоз), хронического лимфоцитарного лейкоза, монобластного лейкоза и волосатоклеточного лейкоза.

5. Применение по п.3, в котором рак представляет собой лимфому, выбранную из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина; неходжкинской лимфомы; лимфомы Беркитта и мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы.

6. Применение по любому из пп.2-5, в которых ProTide выбран из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381, CPF-581 и CPF-585; соединений ProTide, полученных из тиогуанозина, в частности соединений ProTide CPF-775 или CPF-782; соединений ProTide, полученных из кладрибина, в частности соединений ProTide CPF-793 и CPF-791; соединений ProTide, полученных из тиоинозина, в частности соединений ProTide CPF-761 и CPF-762; соединений ProTide, полученных из флударабина, в частности соединений ProTide CPF-544 и CPF-682; и соединений ProTide, полученных из клофарабина, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-720, CPF-727 и CPF-448.

7. Применение по п.6, в котором ProTide выбран из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из: CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381 и CPF-581; соединений ProTide, полученных из тиогуанозина, в частности соединений ProTide CPF-775 или CPF-782; соединений ProTide, полученных из кладрибина, в частности соединения ProTide CPF-793; и соединений ProTide, полученных из тиоинозина, в частности соединения ProTide CPF-761.

8. Применение по п.7, в котором ProTide выбран из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381 и CPF-581.

9. Применение по любому из предыдущих пунктов, в которых направленное действие на раковые стволовые клетки вызывает их смерть.

10. Применение по любому из пп.2-5, в которых лечение рака представляет собой лечение с помо-

шью адьюванта или неоадьюванта.

11. Применение по любому из пп.3-10 в профилактике или лечении рака путем уменьшения или предотвращения развития рака.

12. Применение по любому из пп.3-10 в профилактике или лечении рака путем уменьшения или предотвращения прогрессирования рака.

13. Применение по любому из пп.3-10 в профилактике или лечении рака путем уменьшения или предотвращения рецидивов рака.

14. Применение по любому из пп.3-10 в профилактике или лечении рака путем уменьшения или предотвращения распространения рака.

15. Применение по любому из пп.3-14, в котором рак представляет собой рецидивирующий рак или рефрактерный рак.

16. Применение по любому из пп.3-15, в котором рак представляет собой метастатирующий или вторичный рак.

17. Способ направленного действия на раковые стволовые клетки, включающий обеспечение популяции раковых стволовых клеток терапевтически эффективным количеством соединения ProTide, в котором соединение ProTide отличается от соединения, выбранного из группы, состоящей из NUC-1031; ProTide, полученного из кордицепина; и ProTide, полученного из 8-хлораденозина.

18. Способ направленного действия на раковые стволовые клетки по п.17 в профилактике или лечении рака.

19. Способ направленного действия на раковые стволовые клетки по п.18, в котором рак выбран из группы, состоящей из лейкоза, лимфомы, множественной миеломы, рака легкого, рака печени, рака молочной железы, рака головы и шеи, нейробластомы, карциномы щитовидной железы, рака кожи (включая меланому), плоскоклеточной карциномы полости рта, рака мочевого пузыря, опухоли клеток Лейдига, билиарного рака, такого как холангиокарцинома или рак желчных протоков, рака поджелудочной железы, рака толстой кишки, колоректального рака и гинекологического рака, в том числе рака яичников, рака эндометрия, рака фаллопиевой трубы, рака матки и рака шейки матки, в том числе эпителиального рака шейки матки.

20. Способ направленного действия на раковые стволовые клетки по п.19, в котором рак представляет собой лейкоз, выбранный из группы, состоящей из острого лимфобластного лейкоза, острого миелогенного лейкоза (также известного как острый миелоидный лейкоз или острый нелимфоцитарный лейкоз), острого промиелоцитарного лейкоза, острого лимфоцитарного лейкоза, хронического миелолейкоза (также известного как хронический миелоидный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз или хронический гранулоцитарный лейкоз), хронического лимфоцитарного лейкоза, монобластного лейкоза и волосатоклеточного лейкоза.

21. Способ направленного действия на раковые стволовые клетки по п.19, в котором рак представляет собой лимфому, выбранную из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина; неходжкинской лимфомы; лимфомы Беркитта и мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы.

22. Способ направленного действия на раковые стволовые клетки по любому из пп.17-21, в котором ProTide выбран из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381, CPF-581 и CPF-585; соединений ProTide, полученных из тиогуанозина, в частности соединений ProTide CPF-775 или CPF-782; соединений ProTide, полученных из кладрибина, в частности соединений ProTide CPF-793 и CPF-791; соединений ProTide, полученных из тиоинозина, в частности соединений ProTide CPF-761 и CPF-762; соединений ProTide, полученных из флударабина, в частности соединений ProTide CPF-544 и CPF-682; и соединений ProTide, полученных из клофарабина, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-720, CPF-727 и CPF-448.

23. Способ направленного действия на раковые стволовые клетки по п.22, в котором ProTide выбран из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381 и CPF-581; соединений ProTide, полученных из тиогуанозина, в частности соединений ProTide CPF-775 или CPF-782; соединений ProTide, полученных из кладрибина, в частности соединения ProTide CPF-793; и соединений ProTide, полученных из тиоинозина, в частности соединения ProTide CPF-761.

24. Способ направленного действия на раковые стволовые клетки по п.23, в котором ProTide выбран из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381 и CPF-581.

25. Способ определения того, получит ли пациент с раковым или предраковым состоянием пользу от профилактики или лечения рака соединением ProTide, включающий оценку биологического образца, характеризующего раковое или предраковое состояние у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; при этом наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце свидетельствует о том, что пациент получит пользу от лечения соединением ProTide, в котором соединение ProTide отличается от соединения, выбранного из группы, состоящей из NUC-1031; ProTide, полученного из кордицепина; и ProTide, полученного из 8-хлораденозина.

26. Способ определения подходящей схемы лечения для пациента с раковым или предраковым состоянием, включающий оценку биологического образца, характеризующего раковое или предраковое состояние у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; при этом наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце свидетельствует о том, что подходящая схема лечения будет включать лечение пациента соединением ProTide, в котором соединение ProTide отличается от соединения, выбранного из группы, состоящей из NUC-1031; ProTide, полученного из кордицепина; и ProTide, полученного из 8-хлораденозина.

27. Способ по любому из пп.25, 26, в котором рак выбран из группы, состоящей из лейкоза, лимфомы, множественной миеломы, рака легкого, рака печени, рака молочной железы, рака головы и шеи, нейроblastомы, карциномы щитовидной железы, рака кожи (включая меланому), плоскоклеточной карциномы полости рта, рака мочевого пузыря, опухоли клеток Лейдига, билиарного рака, такого как холангиокарцинома или рак желчных протоков, рака поджелудочной железы, рака толстой кишки, колоректального рака и гинекологического рака, в том числе рака яичников, рака эндометрия, рака фаллопиевой трубы, рака матки и рака шейки матки, в том числе эпителиального рака шейки матки.

28. Способ по п.27, в котором рак представляет собой лейкоз, выбранный из группы, состоящей из острого лимфобластного лейкоза, острого миелогенного лейкоза (также известного как острый миелоидный лейкоз или острый нелимфоцитарный лейкоз), острого промиелоцитарного лейкоза, острого лимфоцитарного лейкоза, хронического миелолейкоза (также известного как хронический миелоидный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз или хронический гранулоцитарный лейкоз), хронического лимфоцитарного лейкоза, монобластного лейкоза и волосатоклеточного лейкоза.

29. Способ по п.27, в котором рак представляет собой лимфому, выбранную из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина; неходжкинской лимфомы; лимфомы Беркитта и мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы.

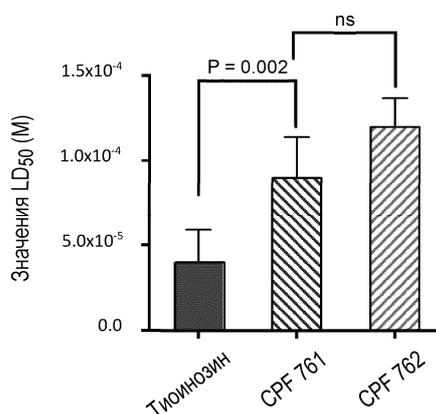
30. Способ по любому из пп.25-29, в котором ProTide выбран из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381, CPF-581 и CPF-585; соединений ProTide, полученных из тиогуанозина, в частности соединений ProTide CPF-775 или CPF-782; соединений ProTide, полученных из кладрибина, в частности соединений ProTide CPF-793 и CPF-791; соединений ProTide, полученных из тиоинозина, в частности соединений ProTide CPF-761 и CPF-762; соединений ProTide, полученных из флударабина, в частности соединений ProTide CPF-544 и CPF-682; и соединений ProTide, полученных из клофарабина, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-720, CPF-727 и CPF-448.

31. Способ по п.30, в котором ProTide выбран из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381 и CPF-581; соединений ProTide, полученных из тиогуанозина, в частности соединений ProTide CPF-775 или CPF-782; соединений ProTide, полученных из кладрибина, в частности соединения ProTide CPF-793; и соединений ProTide, полученных из тиоинозина, в частности соединения ProTide CPF-761.

32. Способ по п.31, в котором ProTide выбран из группы, состоящей из соединений ProTide, полученных из FUDR, в частности соединений ProTide, выбранных из группы, состоящей из: CPF-373 (или изомер А, или изомер В), CPF-381 и CPF-581.

33. ProTide, выбранный из CPF447, CPF727, CPF544, CPF680, CPF545, CPF682 и CPF792 или их фармацевтически приемлемых солей.

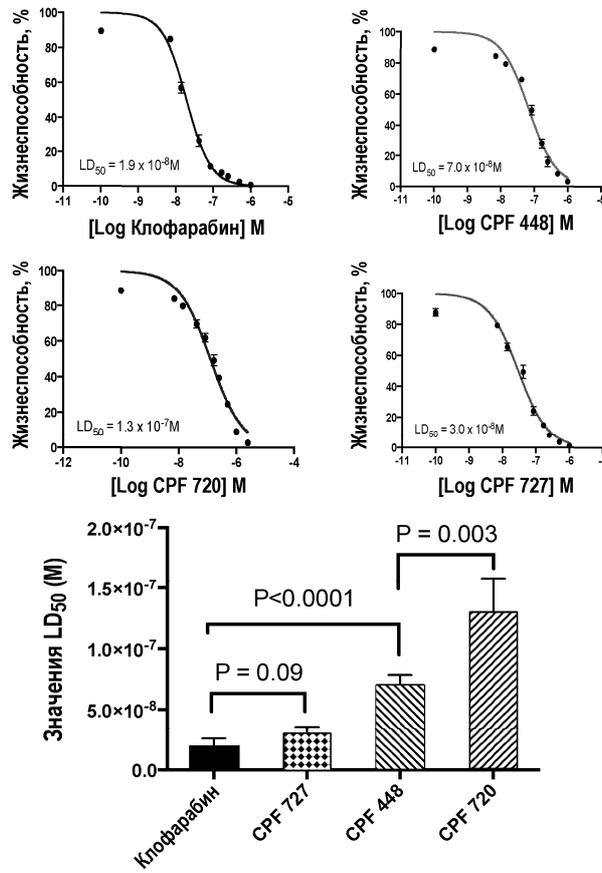
34. Фармацевтическая композиция для применения в лечении рака, содержащая ProTide, выбранный из CPF447, CPF727, CPF544, CPF680, CPF545, CPF682 и CPF792 или их фармацевтически приемлемых солей, и фармацевтически приемлемый носитель.



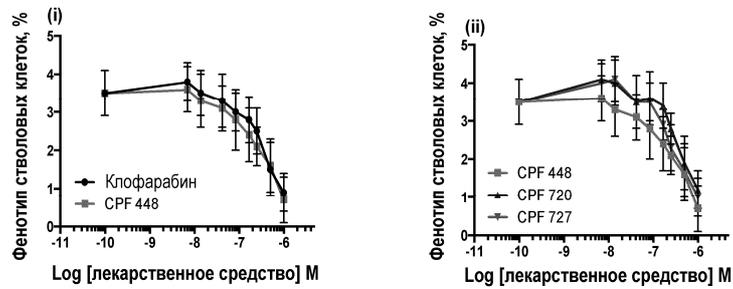
Фиг. 1А



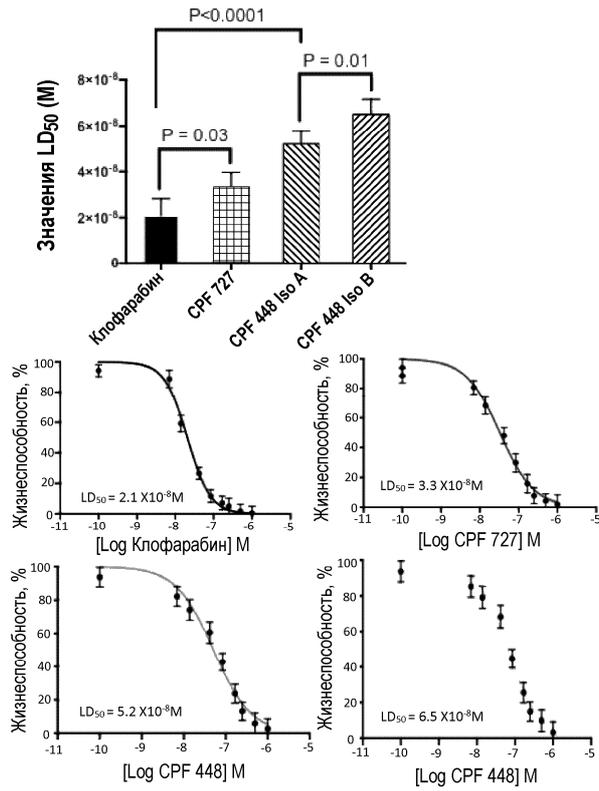
Фиг. 1В



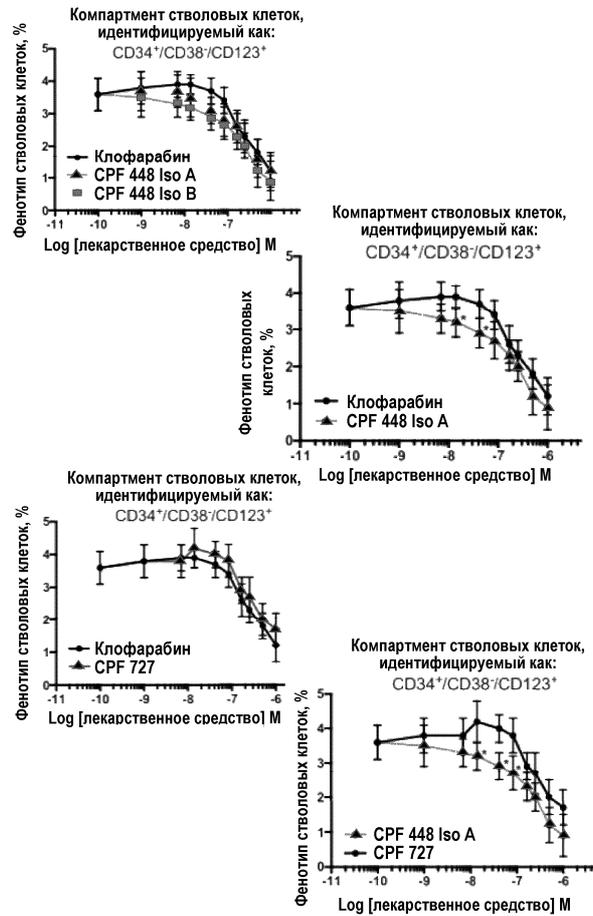
Фиг. 2А



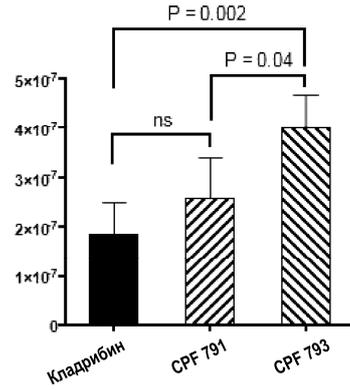
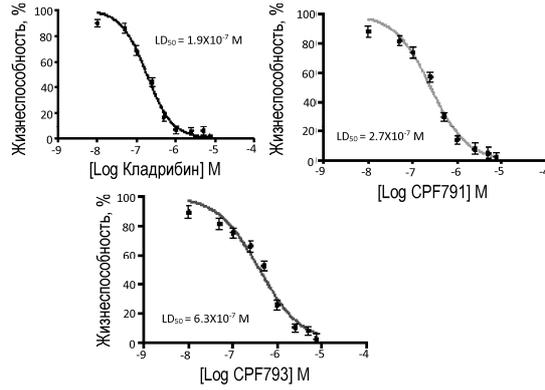
Фиг. 2В



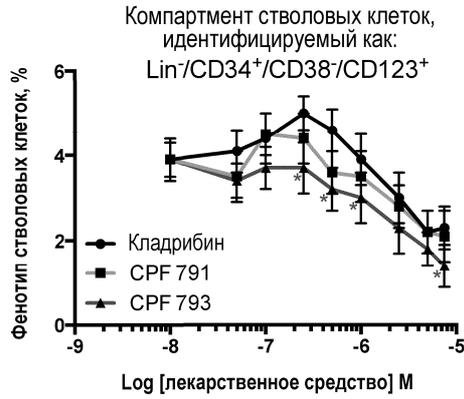
Фиг. 3А



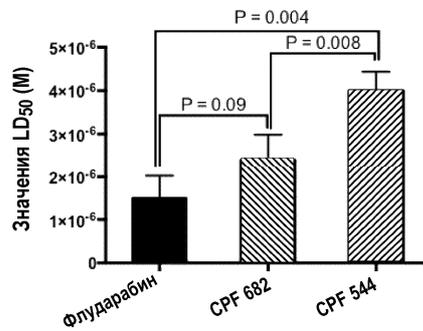
Фиг. 3В



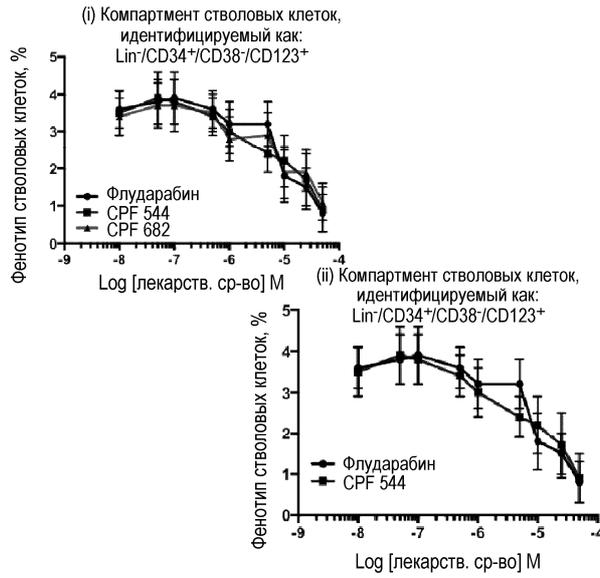
Фиг. 4А



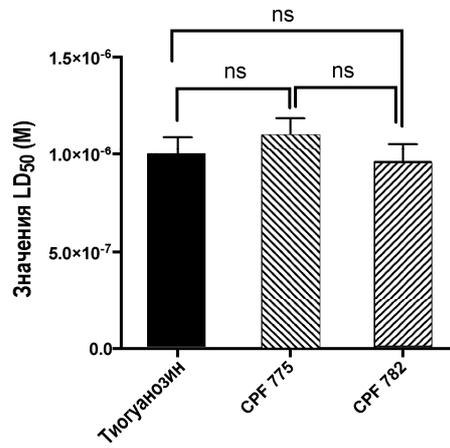
Фиг. 4В



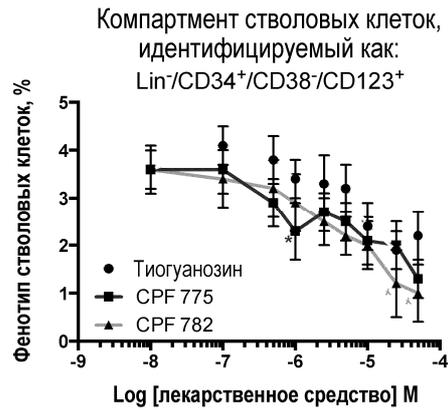
Фиг. 5А



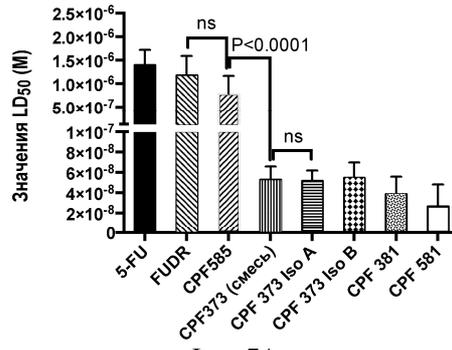
Фиг. 5В



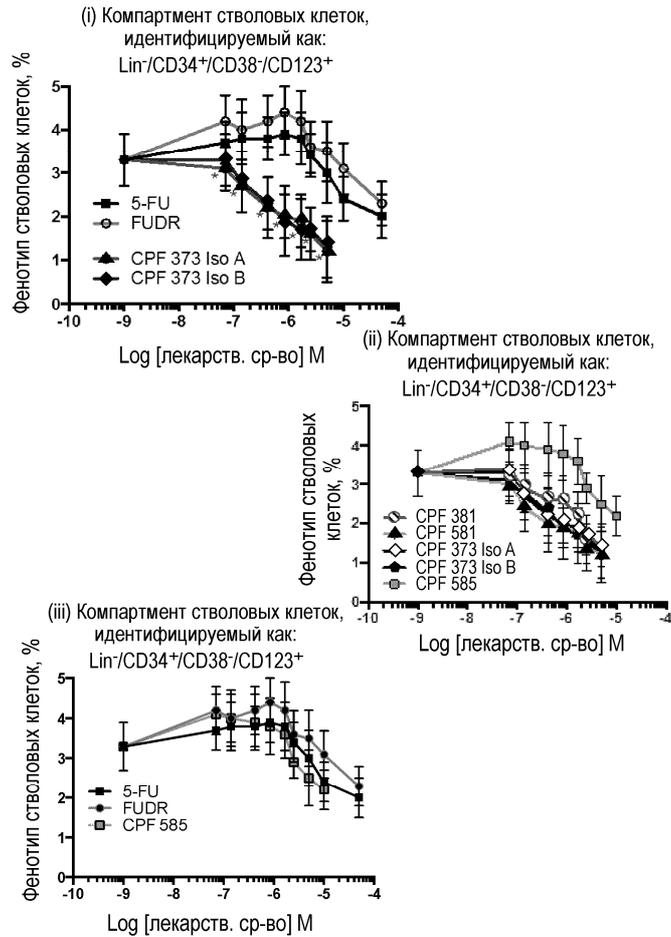
Фиг. 6А



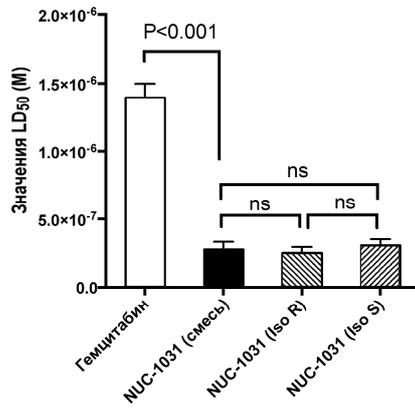
Фиг. 6В



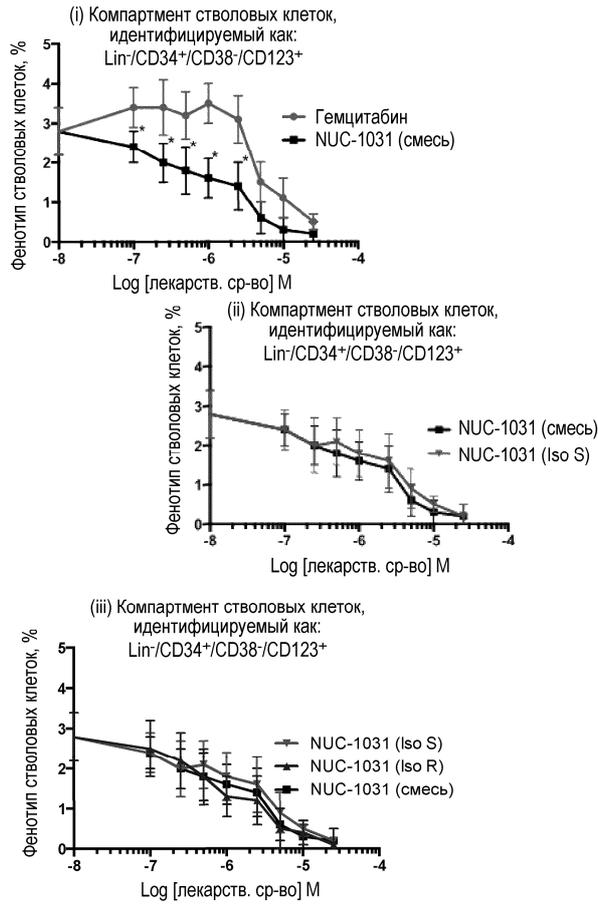
Фиг. 7А



Фиг. 7В



Фиг. 8А



Фиг. 8В

