

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040796**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.07.28

(21) Номер заявки
201792509

(22) Дата подачи заявки
2015.05.14

(51) Int. Cl. **A61K 31/513 (2006.01)**
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ЛЕЧЕНИЕ РАКА**(43) 2018.05.31****(86) PCT/GB2015/051438****(87) WO 2016/181093 2016.11.17**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НУКАНА ПиЭлСи (GB)

(72) Изобретатель:
**Гриффит Хью, Макгиган Крис,
Пеппер Крис (GB)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) Ghazaly et al.: "ProGeml: A phase I/II study of a first-in-class nucleotide analogue Acelarin (NUC-1031) in patients with advanced solid tumors", 2014, XP002750002, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.nucanabiomed.com/downloads/Nucana2014ASCOPoster.pdf> [retrieved on 2015-11-02], Methods; column 1, Table: AEs Grade 3 or 4 occurring in >=5% patients; column 3

McGuigan: "A phosphoramidate ProTide (NUC-1031) and acquired and intrinsic resistance to gemcitabine", J. Clin. Oncol., vol. 29, E13540, 2011, XP002750003, Retrieved from the Internet: URL: <http://meetinglibrary.asco.org/print/571553> [retrieved on 2015-11-02], the whole document

Ghazaly et al.: "Acelarin: A novel nucleotide analogue that overcomes the key cancer resistance mechanisms with poor survival", 2014, XP002750004, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.nucanabiomed.com/downloads/Nucana2014AACRPoster.pdf> [retrieved on 2015-11-02], the whole document

SLUSARCZYK: "Application of ProTide Technology to Gemcitabine: A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) in Clinical Development", J. MED. CHEM., vol. 57, 2014, pages 1531-1542, XP55205033, cited in the application, the whole document

WO-A1-2009036099

MACS-Miltenyi Biotec: "Cancer Stem Cells", 2008, XP002750006, Retrieved from the Internet: URL: <https://www.miltenyibiotec.com/media/Images/Products/Import/0001700/IM0001784.aspx> [retrieved on 2015-11-02], the whole document

SHE MIAORONG ET AL.: "Resistance of leukemic stem-like cells in AML cell line KG1a to natural killer cell-mediated cytotoxicity.", CANCER LETTERS, 28 MAY 2012, vol. 318, no. 2, 28 May 2012 (2012-05-28), pages 173-179, XP002750007, ISSN: 1872-7980, abstract

(57) Изобретение относится к NUC-1031 (гемцитабин[фенилбензокси-L-аланинил]фосфату), т.е. к производному гемцитабина ProTide, для применения в нацеливании на раковые стволовые клетки. Такое нацеливание на раковые стволовые клетки может быть применено для профилактики или лечения рака. Изобретение также относится к NUC-1031 для применения в лечении рецидивирующего или не поддающегося лечению рака у человека. Не претендуя на какую-либо гипотезу, авторы лишь отмечают, что способность NUC-1031 нацеливаться на раковые стволовые клетки вносит свой вклад в его терапевтическую ценность в лечении рецидивирующего или не поддающегося лечению рака.

B1**040796****040796****B1**

Область, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к клиническому применению и к способам нацеливания на раковые стволовые клетки, в частности к способам профилактики или лечения рака. Настоящее изобретение также относится к клиническому применению и к способам лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака у человека. Настоящее изобретение относится к способам отбора пациентов, на которых будут оказывать благоприятное воздействие меры по профилактике или лечению рака благодаря клиническим применениям или способам лечения согласно изобретению.

Введение

Было высказано предположение, что у многих пациентов, страдающих раком, включая лейкоз и солидные опухоли, могут присутствовать раковые стволовые клетки. Гипотеза о существовании раковых стволовых клеток основана на том, что лишь небольшая субпопуляция опухолевых клеток ответственна за образование и сохранение основной массы опухоли. Появление этой концепции можно проследить еще в работе Lapidot et al. (1994), которые со всей очевидностью показали, что лишь небольшой процент клеток острого миелоидного лейкоза способен вызывать лейкоз у мышей. Было показано, что эти клетки экспрессируют маркеры клеточной поверхности (CD34⁺/CD38⁻), аналогичные маркерам нормальных гемопоэтических стволовых клеток, а поэтому можно сказать, что аналогичная иерархическая организация может существовать и в опухолях. Впоследствии раковые стволовые клетки были идентифицированы в солидных опухолях широкого ряда, включая опухоли молочной железы, легких, толстой кишки, предстательной железы, яичника, кожи и поджелудочной железы.

Стандартные методы противораковой терапии направлены преимущественно на популяции клеток основной массы опухоли. Такие стратегии часто имеют ограниченную эффективность, что обусловлено природной или приобретенной резистентностью к лекарственным средствам и/или резистентностью к ионизирующему излучению, а поэтому рецидивы и появление резистентности к лекарственным средствам являются основными признаками многих раковых заболеваний. Механизмы резистентности к терапевтическим средствам включает увеличение степени распознавания и репарации повреждения ДНК, индуцированного терапией; регуляцию модифицированной сверхочной точки клеточного цикла; ухудшение функционирования апоптотических путей и пониженную аккумуляцию лекарственных средств в результате увеличения уровня экспрессии переносчиков ABC, которые способствуют выведению лекарственных средств. Было подтверждено, что раковые стволовые клетки обладают повышенной резистентностью к химиотерапии и к лучевой терапии, и их количество является высоким у пациентов с рецидивами. Явная резистентность раковых стволовых клеток к химиотерапии наблюдается у пациентов с лейкозом, со злокачественной меланомой и с некоторыми видами солидных опухолей, включая раковые опухоли молочной железы, поджелудочной железы и прямой и ободочной кишки.

Было показано, что фенотипы и функции, специфичные для раковых стволовых клеток, участвуют в онкогенезе, прогрессировании рака и в индуцировании резистентности к терапии. Персистенция раковых стволовых клеток может также быть причиной неэффективности лечения. Следовательно, раковые стволовые клетки представляют собой новые и перспективно релевантные мишени для противораковой терапии.

Описание сущности изобретения

В своем первом аспекте настоящее изобретение относится к NUC-1031 для применения для нацеливания на раковые стволовые клетки.

В своем втором аспекте настоящее изобретение относится к применению NUC-1031 для промышленного приготовления лекарственного препарата для нацеливания на раковые стволовые клетки.

В своем третьем аспекте настоящее изобретение относится к способу нацеливания на раковые стволовые клетки, где указанный способ включает обработку популяции раковых стволовых клеток NUC-1031 в количестве, достаточном для нацеливания на такие раковые стволовые клетки.

Нацеливание на раковые стволовые клетки согласно изобретению, например согласно первому, второму или третьему аспектам изобретения, может быть применено для профилактики или лечения рака. В таких вариантах третьего аспекта изобретения популяция раковых стволовых клеток может наблюдаться в случае рака или предракового состояния у пациента, нуждающегося в таком нацеливании, и указанный способ может включать введение пациенту терапевтически эффективного количества NUC-1031.

В своем четвертом аспекте настоящее изобретение относится к NUC-1031 для его применения в качестве противоракового препарата, нацеливаемого на раковые стволовые клетки. Такое применение NUC-1031 может быть также осуществлено для профилактики или лечения рака.

В своем пятом аспекте настоящее изобретение относится к способу, позволяющему определить, будет ли профилактика или лечение рака с использованием NUC-1031 оказывать благоприятное действие на пациента с раком или предраковым состоянием, где указанный способ включает анализ биологического образца, который является репрезентативным для пациента с раком или предраковым состоянием, на присутствие РСК, где присутствие РСК в биологическом образце указывает на то, что у данного пациента будет наблюдаться благоприятный ответ на лечение препаратом NUC-1031.

В своем шестом аспекте настоящее изобретение относится к способу определения подходящей схемы лечения пациента с раком или предраковым состоянием, где указанный способ включает анализ био-

логического образца, который является репрезентативным для пациента с раком или предраковым состоянием, на присутствие РСК, где присутствие РСК в биологическом образце указывает на то, что такая схема лечения будет включать лечение данного пациента препаратом NUC-1031.

В своем седьмом аспекте настоящее изобретение относится к NUC-1031 для его применения для профилактики или лечения рака у пациента, отобранного для проведения такого лечения способом, включающим анализ биологического образца, который является репрезентативным для пациента с раком или предраковым состоянием, на присутствие РСК, где присутствие РСК в биологическом образце указывает на то, что этот пациент является подходящим для лечения препаратом NUC-1031.

Способы согласно пятому, шестому или седьмому аспектам изобретения могут также включать стадию профилактики или лечения рака или предракового состояния с использованием NUC-1031.

В подходящих вариантах пятого, шестого или седьмого аспектов изобретения раком является рецидивирующий или не поддающийся лечению рак. NUC-1031 может быть использован для лечения такого рецидивирующего или не поддающегося лечению рака.

В своем восьмом аспекте настоящее изобретение относится к NUC-1031 для его применения для лечения не поддающегося лечению рака у человека.

В своем девятом аспекте настоящее изобретение относится к применению NUC-1031 для промышленного изготовления лекарственного препарата для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака у человека.

В своем десятом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака у человека, где указанный способ включает введение терапевтически эффективного количества NUC-1031 пациенту, нуждающемуся в таком лечении.

В своем одиннадцатом аспекте настоящее изобретение относится к NUC-1031 для его применения для лечения рака, где NUC-1031 вводят в дозе приблизительно от 500 до 1000 мг/м² в неделю по меньшей мере за один начальный цикл лечения, а затем в более низкой еженедельной дозе по меньшей мере за один дополнительный цикл лечения. Раком может быть рецидивирующий или не поддающийся лечению рак.

Первые семь аспектов согласно изобретению основаны на обнаружении того факта, что NUC-1031 обладает способностью преимущественно снижать число раковых стволовых клеток (РСК).

Неожиданность в обнаружении этого факта заключается в том, что РСК, как известно, являются резистентными ко многим химиотерапевтическим средствам, и ранее не высказывалось каких-либо предположений, что NUC-1031 или гемцитабин, т.е. родительское пролекарственное соединение, от которого происходит NUC-1031, способны нацеливаться на РСК. Таким образом, обнаружение того факта, что NUC-1031 способен нацеливаться на РСК и тем самым снижать их число, и эта способность, которая была подтверждена авторами настоящего изобретения, может быть применена для лечения раковых заболеваний широкого ряда и представляет собой удивительное достижение, которое позволяет разработать ряд новых способов применения NUC-1031 в терапии.

8-10-й аспекты изобретения основаны на неожиданном обнаружении того факта, что NUC-1031 является эффективным для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака у человека. Проводимые авторами исследования показали, что введение NUC-1031 пациентам со многими различными формами рецидивирующего или не поддающегося лечению рака будет приводить к эффективному лечению рака. В частности, такое введение может приводить к снижению размера опухоли и/или к уменьшению клинически релевантных биомаркеров, ассоциированных с более благоприятным прогнозом. Кроме того, лечение препаратом NUC-1031 позволяет сохранить уменьшение размера опухоли у пациентов с рецидивирующим или не поддающимся лечению раком. В соответствии с этим NUC-1031 позволяет достичь высокого устойчивого уровня снижения тяжести заболевания (DCR) у пациентов с рецидивирующим или не поддающимся лечению раком.

Действительно, не претендуя на какую-либо гипотезу, авторы лишь отмечают, что способность NUC-1031 нацеливаться на РСК вносит свой вклад в терапевтическую ценность NUC-1031 для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака.

Если это не следует из контекста изобретения, то используемый здесь термин "применение" NUC-1031 согласно изобретению может рассматриваться как применение NUC-1031 в соответствии с первым, вторым, четвертым, седьмым, восьмым, девятым или одиннадцатым аспектами изобретения. Аналогичным образом, термин "способы" согласно изобретению с использованием NUC-1031 должен рассматриваться как способы согласно третьему, пятому, шестому или десятому аспектам изобретения.

Способность NUC-1031 нацеливаться на РСК представляет собой новый способ терапии, направленный против тех раковых клеток, которые, как считается, очень трудно поддаются лечению и, вероятно, играют главную роль в развитии резистентности, которая ограничивает эффективность применения многих современных противораковых способов терапии. Эта способность также открывает путь нацеливания на клетки, которые предположительно ассоциируются с развитием, прогрессированием, рецидивом и распространением рака. В соответствии с этим очевидно, что такая активность NUC-103, направленная против РСК, будет давать благоприятный эффект при осуществлении новых и эффективных способов терапии, поиск которых продолжается уже много лет.

Описание фигур

На фиг. 1 показана структура гемцитабина.

На фиг. 2 представлены графики, иллюстрирующие сравнение цитотоксического действия NUC-1031 и гемцитабина на первичные клетки лейкоза и значительное снижение величины LD₅₀, вычисленной для NUC-1031.

На фиг. 3 представлены точечные графики сравнения цитотоксического действия NUC-1031 и гемцитабина на стволовые клетки лейкоза и показано, что лечение с использованием NUC-1031 приводит к преимущественному истощению CD34⁺/CD123⁺-клеток, от которых происходят популяции обрабатываемых клеток.

На фиг. 4 представлен график, на котором показано, что NUC-1031 обеспечивает значительное снижение жизнеспособности CD34⁺/CD123⁺-клеток лейкоза в концентрации 1 и 2,5 мкМ по сравнению с гемцитабином.

На фиг. 5 представлены график и таблица, где сравниваются величины LD₅₀, полученные с использованием выделенных Rp- и Sp-изомеров NUC-1031, смеси изомеров NUC-1031 или гемцитабина в культурах стволовых клеток лейкоза KG1a.

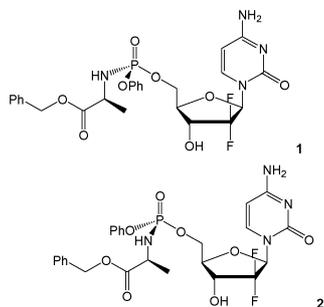
На фиг. 6 представлены графики, иллюстрирующие способность NUC-1031 нацеливаться на РСК лейкоза по сравнению с цитотоксической активностью гемцитабина.

Подробное описание изобретения

Для лучшего понимания настоящего изобретения ниже приводятся определения "NUC-1031".

Соединение гемцитабин[фенилбензокси-L-аланинил]фосфата (также называемое здесь NUC-1031 или имеющее торговый знак Ацеларин (Acelarin)) представляет собой производное "ProTide" химиотерапевтического средства гемцитабина. Это средство позволяет устранить многие природные и приобретенные механизмы резистентности, ограничивающие ценность гемцитабина (см. WO 2005/012327 и Application of ProTide Technology to Gemcitabine: "A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) in Clinical Development"; Slusarczyk et al; J. Med. Chem.; 2014, 57, 1531-1542). Концептуально, это соединение представляет собой пролекарство монофосфат гемцитабина, хотя это необязательно должно указывать на механизм его действия против раковых стволовых клеток.

NUC-1031 существует в двух диастереоизомерных формах, т.е. эпимерных формах с фосфатным центром: гемцитабин[фенилбензокси-L-аланинил]-(S)-фосфат 1 и гемцитабин[фенилбензокси-L-аланинил]-(R)-фосфат 2:



Таким образом, NUC-1031, используемый в настоящем изобретении, может представлять собой диастереоизомерно чистый или по существу диастереоизомерно чистый гемцитабин[фенилбензокси-L-аланинил]-(S)-фосфат; может представлять собой диастереоизомерно чистый или по существу диастереоизомерно чистый гемцитабин[фенилбензокси-L-аланинил]-(R)-фосфат или может представлять собой смесь этих двух изомеров.

"По существу диастереоизомерно чистый" определен в целях настоящего изобретения как диастереоизомерная чистота приблизительно выше 90%. Это может означать, что диастереоизомерная чистота составляет приблизительно более чем 95%, приблизительно более чем 98%, приблизительно более чем 99% или даже приблизительно более чем 99,5%. Диастереоизомеры могут быть разделены с помощью хроматографии (например, ВЭЖХ, необязательно на хиральной колонке) либо они могут быть разделены посредством кристаллизации. Этот метод может оказаться более удобным для получения защищенной формы диастереоизомерной смеси NUC1031, для разделения защищенных форм диастереоизомеров NUC1031 (например, с помощью хроматографии или кристаллизации) и для последующего удаления защитных групп с получением по существу диастереоизомерно чистого NUC1031. Альтернативно, диастереоизомеры могут быть синтезированы в основном в диастереоизомерно чистой форме известными методами. Эти методы могут включать химические и ферментативные стадии.

NUC-1031 может быть получен в форме свободного основания или в форме фармацевтически приемлемой соли. Подходящими фармацевтически приемлемыми солями являются, но не ограничиваются ими, соли фармацевтически приемлемых неорганических кислот, таких как хлористоводородная, серная,

фосфорная, азотная, угольная, борная, сульфамовая и бромистоводородная кислоты, или соли фармацевтически приемлемых органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, масляная, винная, малеиновая, гидроксималеиновая, фумаровая, яблочная, лимонная, молочная, слизевая, глюконовая, бензойная, янтарная, щавелевая, фенилуксусная, метансульфоновая, толуолсульфоновая, бензолсульфоновая, салициловая, сульфониловая, аспарагиновая, глутаминовая, эдегиновая, стеариновая, пальмитиновая, олеиновая, лауриновая, пантотеновая, дубильная, аскорбиновая и валериановая кислоты. Подходящими солями оснований являются соли оснований, которые образуют нетоксичные соли. Примерами являются соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглумина, оламина, калия, натрия, трометамин и цинка. Могут быть также образованы полусоли кислот и оснований, например гемисульфат и полусоли кальция.

NUC-1031 может существовать в виде одной кристаллической формы или в смеси кристаллических форм либо он может быть аморфным. Таким образом, соединения согласно изобретению, используемые в фармацевтике, могут быть введены в виде кристаллических или аморфных продуктов. Эти соединения могут быть получены, например, в виде твердых носителей, порошков или пленок с применением таких методов, как осаждение, кристаллизация, сушка вымораживанием, сушка распылением или сушка выпариванием. Для этой цели может быть применена микроволновая или радиочастотная сушка.

Препараты "NUC-1031".

NUC-1031 или его фармацевтически приемлемая соль могут быть использованы отдельно, но обычно их вводят в форме фармацевтической композиции, в которой NUC-1031 или его фармацевтически приемлемая соль присутствуют в комбинации с фармацевтически приемлемым адьювантом, разбавителем или носителем. Стандартные методы отбора и приготовления подходящих фармацевтических препаратов описаны, например, в "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M.E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

В зависимости от способа введения NUC-1031 или его фармацевтически приемлемой соли, фармацевтическая композиция, используемая для введения NUC-1031 или его фармацевтически приемлемой соли, предпочтительно содержит от 0,05 до 99 мас.% (процентов по массе) NUC-1031 или его фармацевтически приемлемой соли, более предпочтительно, от 0,05 до 80 мас.% NUC-1031 или его фармацевтически приемлемой соли, еще более предпочтительно, от 0,10 до 70 мас.% NUC-1031 или его фармацевтически приемлемой соли, а еще более предпочтительно, от 0,10 до 50 мас.% NUC-1031 или его фармацевтически приемлемой соли, где все проценты даны по массе всей композиции.

NUC-1031 или его фармацевтически приемлемая соль могут быть введены перорально. Для перорального введения, NUC-1031 может быть смешан с адьювантом или с носителем, например с лактозой, сахарозой, сорбитом, маннитом или крахмалом, например с картофельным крахмалом, кукурузным крахмалом или амилопектином; производным целлюлозы; со связующим агентом, например желатином или поливинилпирролидоном; и/или лубрикантом, например со стеаратом магния, стеаратом кальция, полиэтиленгликолем, воском, парафином и т.п., а затем спрессован в таблетки. Если необходимо получить таблетки с покрытием, то сердцевинки, приготовленные, как описано выше, могут быть покрыты концентрированным сахарным раствором, который может содержать, например, аравийскую камедь, желатин, тальк и диоксид титана. Альтернативно, таблетка может быть покрыта подходящим полимером, растворенным в достаточно летучем органическом растворителе.

Однако NUC-1031 предпочтительно вводить парентерально, в частности, внутривенно. Для парентерального (например, внутривенного) введения NUC-1031 или его фармацевтически приемлемая соль могут быть приготовлены в виде стерильного водного или масляного раствора. NUC-1031 является в высокой степени липофильным. Следовательно, водные препараты для внутривенного введения, в частности препараты, содержащие NUC-1031 в виде свободного основания, также обычно содержат фармацевтически приемлемый полярный органический растворитель, например диметилацетамид, и один или более солюбилизаторов или других добавок.

"Раковые стволовые клетки".

Раковые стволовые клетки, которые иногда называются здесь "опухоль-иницирующими клетками", хорошо известны специалистам. Используемый здесь термин "раковая стволовая клетка" (обычно в настоящем документе сокращенно обозначаемая РСК) интерпретируется в широком смысле и означает клетку, способную самообновляться посредством асимметричного деления, инициировать развитие опухоли и образовывать более зрелое потомство раковых нестволовых клеток посредством дифференцировки.

РСК играют главную роль в развитии, прогрессировании, рецидивировании и распространении рака. В соответствии с этим обнаружение того факта, что NUC-1031 способен нацеливаться на РСК и тем самым снижать их число, дает возможность разработать способы профилактики или лечения заболеваний, связанных с такой активностью.

Как более подробно обсуждается в настоящем документе, присутствие РСК обнаруживается в предрakovом состоянии, и такое присутствие, очевидно, вносит свой вклад в превращение такого состояния в раковые заболевания. В соответствии с этим способы лечения и клинического применения согласно изобретению, где NUC-1031 используется для нацеливания на РСК, могут быть применены для сни-

жения числа РСК в предраковых состояниях (таких как миелодиспластический синдром или другие состояния, рассматриваемые в настоящем документе) и, таким образом, для предупреждения прогрессирования таких предраковых состояний в рак.

Как упоминалось выше, асимметричное деление клеток РСК приводит к образованию дифференцированных нестволовых раковых клеток. Аккумуляция таких нестволовых раковых клеток играет важную роль в прогрессировании рака. Нацеливание NUC-1031 на РСК может приводить к снижению числа РСК, что, в свою очередь, будет снижать число клеток потомства нестволовых раковых клеток. Таким образом, способы лечения и клинического применения NUC-1031 согласно изобретению являются эффективными для лечения рака благодаря предупреждению его прогрессирования. Такие варианты осуществления изобретения более подробно описаны в настоящем документе.

РСК также могут действовать как резервуар раковых клеток, которые могут вызывать рецидив рака после ремиссии. Даже в том случае, когда большинство раковых клеток пациента было удалено (например, после хирургической операции, лучевой терапии или химиотерапии, проводимых отдельно или в комбинации) до того уровня, при котором уже не наблюдалось видимых признаков рака, постоянное присутствие РСК со временем может вызывать рецидив рака. Нацеливание NUC-1031 на РСК позволяет разработать новый способ снижения числа РСК и их уничтожения. В соответствии с этим и как более подробно обсуждается в настоящем документе, в своих подходящих вариантах настоящее изобретение относится к способам и клиническому применению NUC-1031 для предупреждения или замедления рецидива рака.

Кроме того, миграция РСК из участка рака в другой участок организма может приводить к распространению рака, например к развитию метастазов. Следовательно, способность NUC-1031 нацеливаться на РСК позволяет разработать новые способы лечения и клинического применения для предупреждения или устранения распространения рака.

РСК, помимо их биологической активности, могут быть идентифицированы по их способности экспрессировать некоторые характерные маркеры клеточной поверхности. Раковыми стволовыми клетками, идентифицированными в гематологических злокачественных опухолях, обычно являются CD34⁺-клетки, а в солидных опухолях - CD44⁺, CD133⁺ и CD90⁺ были идентифицированы как маркеры раковых стволовых клеток. В нижеприведенной таблице систематизированы примеры некоторых известных фенотипов поверхности РСК. Предполагается, что на каждую из этих форм РСК может быть нацелен NUC-1031 согласно изобретению, и такие способы или NUC-1031 могут быть применены для профилактики или лечения рака, ассоциированного с экспрессией клетками РСК любого из этих наборов маркеров.

Типы опухолей	Маркеры поверхности клеток РСК
<i>Солидные опухоли</i>	
Опухоль молочной железы	CD44 ⁺ /CD24 ⁻ /низкий/линия дифференцировки ⁻ /ESA ⁺
Опухоль ЦНС	CD133 ⁺
Опухоль толстой кишки	CD133 ⁺
Опухоль толстой кишки	ESA ^{высокий} /CD44 ⁺ /линия дифференцировки ⁻ (CD166 ⁺)
Опухоль Юинга	CD133 ⁺
Опухоль головы и шеи	CD44 ⁺ /линия дифференцировки ⁻
Меланома	АВСВ5 ⁺
Опухоль печени	CD90 ⁺ /CD45 ⁻ / (CD44 ⁺)
Холангиокарцинома	CD44 ⁺ /GLI1 ⁺ (ассоциированный с глиомой онкогенный гомолог-1)
Опухоль яичника	CD44 ⁺ /CD117 ⁺
Опухоль поджелудочной железы	CD44 ⁺ /CD24 ⁺ /ESA ⁺
Опухоль поджелудочной железы	CD133 ⁺
Немелкоклеточный рак легких	CD44 ⁺ /Ber-EP4 ⁺
Рак мочевого пузыря	CD44 ⁺ /ALDH1A1 ⁺
<i>Гематологические опухоли</i>	
Острый миелоидный лейкоз	L1n ⁻ /CD34 ⁺ /CD38 ⁻ /CD123 ⁺
Острый лимфобластный лейкоз В	CD34 ⁺ /CD10 ⁻ или CD34 ⁺ /CD19 ⁻
Острый лимфобластный лейкоз В	CD34 ⁺ /CD38 ⁻ /CD19 ⁺
Множественная миелома	CD34 ⁻ /CD138 ⁻
Острый лимфобластный лейкоз Т	CD34 ⁺ /CD4 ⁻ или CD34 ⁺ /CD7 ⁻

Данные, представленные в примерах, продемонстрировали, что NUC-1031 может нацеливаться на РСК стволовых клеточных линий лейкоза, в частности на РСК, присутствующие в клеточной линии острого миелоидного лейкоза KG1a. Эта клеточная линия имеет небольшой компартмент, подобный ком-

партменту стволовых клеток с отличающимся иммунофенотипом ($Lin^-/CD34^+/CD38^-/CD123^+$), на который нацеливается NUC-1031. В соответствии с этим способы лечения или клинического применения NUC-1031 согласно изобретению могут быть использованы для профилактики или лечения лейкоза или других раковых заболеваний, ассоциированных с РСК, экспрессирующими эти характеристические маркеры.

Настоящее изобретение также относится к способам и клиническим применениям, где проводят отбор пациентов для профилактики или лечения рака с использованием NUC-1031 согласно изобретению на основе идентификации присутствия РСК в биологическом образце пациента с раком или предраком. Перечисленные выше маркеры служат подходящими примерами маркеров, которые могут быть использованы для идентификации присутствия РСК в соответствии с такими вариантами осуществления изобретения. Подходящие методы оценки экспрессии этих маркеров в биологическом образце также рассматриваются в описании.

"Нацеливание на раковые стволовые клетки".

Настоящее изобретение относится к первому показанию по использованию NUC-1031 для нацеливания на РСК. Способность NUC-1031 нацеливаться на РСК проиллюстрирована в Испытании 1, описанном в примерах настоящего документа.

Результаты Испытания 1 показали, что при введении NUC-1031 в популяции раковых клеток, содержащих РСК, этот NUC-1031 нацеливается на присутствующие РСК, что приводит к снижению общего числа раковых клеток и к снижению числа всех раковых клеток, экспрессирующих фенотипические маркеры РСК.

Не претендуя на какую-либо гипотезу, авторы лишь отмечают, что снижение числа РСК вызывается в результате нацеленного уничтожения РСК в популяции раковых клеток. То есть, NUC-1031 уничтожает преимущественно РСК, но не нестволовые раковые клетки, что приводит к уничтожению РСК и к снижению числа РСК во всей популяции раковых клеток.

Хотя авторы настоящего изобретения считают, что NUC-1031 уничтожает преимущественно РСК, а не нестволовые раковые клетки, однако существуют и другие механизмы, которые могут участвовать в снижении числа РСК, вызываемом нацеливанием NUC-1031 на эти клетки.

Для примера просто можно отметить, что лечение с использованием NUC-1031 может приводить к повышению степени дифференцировки РСК и тем самым к снижению числа РСК, а также к снижению числа всех раковых клеток, представленных РСК. Альтернативно, NUC-1031 может приводить к потере фенотипа стволовых клеток РСК, например к потере их способности к самообновлению и тем самым к снижению числа РСК.

Термин "нацеливание на РСК" согласно изобретению должен быть интерпретирован следующим образом. В целях раскрытия настоящего изобретения можно сказать, что термин "нацеливание на РСК" может охватывать любой механизм, посредством которого NUC-1031 снижает число РСК, присутствующих в популяции клеток *in vitro* или *in vivo*. В частности, "нацеливание на РСК" может охватывать уничтожение преимущественно РСК, но не клеток других типов, в частности нестволовых раковых клеток.

"Профилактика или лечение рака".

Настоящее изобретение относится к клиническому применению и к способам лечения, где NUC-1031 используется для профилактики или лечения рака. В контексте настоящего изобретения "профилактика" рака рассматривается как профилактическое применение NUC-1031 до развития рака и для прекращения его развития. С другой стороны, "лечение" рака означает использование NUC-1031 после развития рака в целях облегчения ракового заболевания посредством замедления или прекращения пролиферации раковых клеток и роста опухоли. Лечение рака может преимущественно приводить к частичному снижению числа раковых клеток и размера опухоли или к полному их уничтожению. Эффективное лечение рака может приводить к "стабилизации" или "ответственности на лечение" в соответствии с правилами RECIST (критериями оценки восприимчивости солидных опухолей к лечению).

Как более подробно описано ниже, профилактика рака согласно изобретению может быть особенно эффективной у пациентов с предраковым состоянием, которое повышает вероятность развития рака.

"Профилактика рака".

Профилактика рака согласно изобретению может оказаться эффективной при лечении предракового состояния с использованием NUC-1031 в соответствии с различными описанными здесь аспектами или вариантами осуществления изобретения.

В частности, профилактика рака в контексте настоящего изобретения может быть достигнута способами согласно изобретению или посредством клинических применений согласно изобретению, где NUC-1031 вводят пациенту в предраковом состоянии. Способы лечения или клинического применения согласно этому варианту осуществления изобретения могут способствовать предупреждению развития предракового состояния в рак и тем самым эффективной профилактики рака.

В контексте настоящего изобретения термин "профилактика" рака может также включать другие профилактические применения NUC-1031. Так, например, этот термин означает способность NUC-1031 нацеливаться на РСК и тем самым предупреждать развитие рака, и/или прогрессирование рака, и/или

рецидивы рака, и/или распространение рака.

"Предраковые состояния".

Рак часто развивается из предракового состояния, которое само по себе не является раком, но ассоциируется с повышенным риском развития рака. Аккумуляция генетических или эпигенетических изменений может стимулировать развитие нормальных клеток в клетки фенотипа РСК. В соответствии с этим РСК могут также присутствовать при таких предраковых состояниях, а также при раке.

Очевидно, что присутствие РСК в случае предраковых состояний вносит свой вклад в развитие этих состояний в рак. Способы и клинические применения согласно изобретению могут быть использованы для нацеливания на РСК, присутствующие при предраковых состояниях, и тем самым для лечения таких состояний. Следует отметить, что новое и неожиданное обнаружение того факта, что NUC-1031 нацеливается на РСК, означает, что лечение предраковых состояний с использованием NUC-1031 может быть проведено для предупреждения развития таких состояний в рак. Это указывает на то, что NUC-1031 может быть использован в медицине для профилактики рака, как описано в настоящем документе.

Примерами предраковых состояний, которые могут быть подвергнуты лечению в соответствии с настоящим изобретением, являются, но не ограничиваются ими, состояния, выбранные из группы, состоящей из лучевого кератоза, эзофагита Баретта, атрофического гастрита, наследственного дискератоза, сидеропенической дисфагии, плоского лишая, фиброза подслизистой оболочки рта, солнечного эластоза, дисплазии шейки матки, лейкоплакии, эритроплакии, моноклональной гаммапатии неизвестной этиологии (МГНЭ), моноклонального В-клеточного лимфоцитоза (МБЛ), миелодиспластических синдромов, а также предраковых состояний желудка, таких как атрофический гастрит, язва желудка, пернициозная анемия, нарушение перистальтики кишечника, полипы в кишечнике и болезнь Менетрие. Из перечисленных предраковых состояний желудка самый высокий риск развития рака может быть связан с атрофическим гастритом, пернициозной анемией, нарушением перистальтики кишечника и полипами в кишечнике некоторых типов.

Предраковые состояния часто принимают форму поражений, содержащих диспластические или гиперпластические клетки. В соответствии с этим присутствие дисплазии или гиперплазии как альтернативы или дополнения к присутствию клеток, экспрессирующих маркеры или фенотипы, характерные для РСК, может быть использовано для идентификации предраковых состояний.

Тяжесть дисплазии может варьироваться при различных предраковых состояниях или в течение развития одного предракового состояния. Вообще говоря, чем больше тяжесть дисплазии, ассоциированной с предраковым состоянием, тем более вероятно, что такое предраковое состояние будет переходить в рак. Обычно дисплазия классифицируется как легкая, умеренная или тяжелая. Тяжелая дисплазия, если ее не лечить, обычно переходит в рак. В соответствии с этим способы лечения или клинического применения NUC-1031 согласно изобретению могут быть использованы для лечения пациента с предраковым состоянием, ассоциированным с тяжелой дисплазией.

В соответствующем варианте осуществления изобретения NUC-1031 используют для лечения пациента с тяжелой дисплазией шейки матки. Тяжелая дисплазия шейки матки может быть диагностирована путем взятия мазка. В другом варианте осуществления изобретения NUC-1031 используют для лечения тяжелой эзофагальной дисплазии ("эзофагита Баретта"). Тяжелая эзофагальная дисплазия может быть диагностирована путем взятия биоптата ткани.

Недавно сообщалось, что предзлокачественные заболевания могут быть также идентифицированы путем детектирования соматических мутаций в клетках индивидуумов, у которых наличие рака не было установлено. В частности, сообщалось, что возрастной клональный гемопоэз представляет собой общее предзлокачественное состояние, которое ассоциируется с повышенной общей смертностью и повышенным риском развития кардиометаболического заболевания. Большинство мутаций, детектируемых в клетках крови, наблюдается в трех генах: DNMT3A, TET2 и ASXL1. В соответствии с этим пациенты, у которых наблюдался благоприятный эффект при использовании NUC-1031 для нацеливания на РСК и тем самым для лечения предракового состояния, могут быть идентифицированы путем анализа образца, содержащего клетки крови на присутствие генетических мутаций, указывающих на наличие предракового состояния по меньшей мере в одном из DNMT3A и/или TET2 и/или ASXL1.

Предраковые состояния, которые могут быть излечены путем нацеливания NUC-1031 согласно изобретению на РСК, могут быть также идентифицированы путем определения присутствия РСК любыми методами на основе экспрессии маркеров, характерных для РСК или фенотипов РСК, как обсуждается в настоящем документе.

"Лечение рака".

Для специалиста в этой области очевидно, что существует много параметров, по которым можно оценить "лечение" рака. В качестве простого примера можно отметить, что любое снижение или предупреждение развития рака, прогрессирования рака, рецидива рака или распространения рака может рассматриваться как эффективное лечение рака.

В некоторых вариантах осуществления изобретения NUC-1031 может быть использован для снижения количества РСК в популяции раковых клеток; и/или для ингибирования роста опухоли; и/или для снижения иммуногенности; и/или для профилактики или лечения первичного рака; для профилактики

или лечения рецидивирующего рака; и/или профилактики или лечения метастазирующего или вторичного рака; и/или для лечения, профилактики или ингибирования метастазов или рецидивов; и/или для лечения или профилактики рака, не поддающегося лечению.

Возможность лечения рака с использованием NUC-1031, приводящего к снижению размера опухоли, а также к сохранению такого снижения размера опухоли во время/после лечения, является особенно ценным признаком эффективного лечения рака. Как описано в примерах, в этом отношении способы лечения или клинического применения согласно изобретению оказались неожиданно эффективными даже при лечении рецидивирующего или рака, который ранее не поддавался лечению другими терапевтическими способами.

Данные, представленные в примерах, показали, что лечение с помощью NUC-1031 уменьшает число РСК в популяции раковых клеток. Характерная биологическая активность или маркеры клеточной поверхности, с помощью которых могут быть идентифицированы РСК, описаны в настоящем документе. В подходящем варианте осуществления изобретения лечение рака согласно изобретению может приводить к снижению числа РСК, присутствующих у ракового 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 изобретения лечение рака согласно изобретению может приводить к снижению числа РСК, присутствующих у ракового пациента, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% или по меньшей мере на 80%. Лечение рака согласно изобретению может приводить к снижению числа РСК, присутствующих у ракового пациента, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. Действительно, лечение рака согласно изобретению может приводить к снижению числа РСК, присутствующих у ракового 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% (т.е. так, чтобы РСК по существу отсутствовали).

Асимметричное деление РСК способствует росту опухолей. Лечение рака с помощью NUC-1031 согласно изобретению 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%. Соответственно, лечение рака согласно изобретению 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 согласно изобретению может приводить к ингибированию роста опухоли по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% у пациента, подвергаемого такому лечению. Действительно, лечение рака согласно изобретению 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% у пациента, подвергаемого такому лечению.

Рост опухоли может быть оценен любым подходящим способом, в котором изменение размера опухоли оценивают в течение определенного периода времени. Было бы желательно сравнить размер опухоли до лечения рака с размером той же опухоли во время или после лечения рака. Существует целый ряд способов, с помощью которых может быть оценен размер опухоли. Например, размер опухоли может быть оценен путем визуализации опухоли *in situ* у пациента. Подходящие методы, такие как методы визуализации, позволяют определять объем опухоли и оценивать изменения объема опухоли.

Как показали результаты, представленные в примерах, способы лечения и клиническое применение NUC-1031 согласно изобретению позволяют не только прекратить рост опухоли, но и фактически уменьшить объем опухоли у пациентов с раком, включая пациентов с рецидивирующим или не поддающимся лечению раком. В соответствии с этим лечение рака согласно изобретению 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 изобретения лечение рака согласно изобретению 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 согласно изобретению 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 согласно изобретению 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%.

Уменьшение объема опухоли описанного выше типа может быть вычислено по сравнению с подходящим контролем. Так, например, в исследованиях, проведенных *in vitro* или *in vivo* на подходящих животных-моделях, уменьшение объема опухоли может быть определено путем прямого сравнения объема опухоли, обработанной NUC-1031, и объема контрольной опухоли (которая может быть необработанной или может быть обработана другим препаратом, но не NUC-1031). В этой связи следует отметить, что такие модели, которые требуют отсутствия лечения опухоли, не могут быть этически приемлемыми в контексте клинических испытаний или терапевтического лечения пациентов, и в этом случае уменьшение объема опухоли может быть оценено путем сравнения объема опухоли, подвергавшейся лечению, с объемом той же опухоли до лечения или с предсказанным объемом опухоли, который мог быть достигнут без лечения.

Результаты, изложенные в примерах, показали, что способы лечения и клинические применения

NUC-1031 согласно изобретению могут приводить к снижению числа биомаркеров, указывающих на рак. Сокращение числа таких биомаркеров дает дополнительное свидетельство, указывающее на эффективное лечение рака. Подходящие примеры таких биомаркеров могут быть выбраны исходя из типа рака, подлежащего лечению, т.е. в случае рака женских половых органов, подходящим примером биомаркера служит СА125, в случае рака поджелудочной железы или желчных протоков подходящим примером биомаркера служит СА19.9, а в случае рака прямой и ободочной кишки подходящим биомаркером может служить СЕА.

В соответствии с этим лечение рака согласно изобретению может приводить к уменьшению числа 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 изобретения лечение рака согласно изобретению может приводить к уменьшению числа 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 согласно изобретению может приводить к уменьшению числа биомаркеров рака по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. Действительно, лечение рака согласно изобретению может приводить к уменьшению числа 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 числа имеющихся РСК, снижение роста опухоли или уменьшение объема опухоли или числа биомаркеров рака, наблюдаемые при лечении рака согласно изобретению, могут сохраняться по меньшей мере в течение одного месяца. Соответственно, такие благоприятные эффекты могут поддерживаться в течение 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 в течение по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев. В соответствии с этим благоприятные эффекты могут поддерживаться в течение 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 в течение десяти лет или более.

В подходящем варианте осуществления изобретения NUC-1031 используют в способе профилактики или лечения рака или предракового состояния путем нацеливания на раковые стволовые клетки. В своем подходящем варианте настоящее изобретение относится к применению NUC-1031 в способе профилактики или лечения рака или предракового состояния, где указанный способ снижает онкогенность одной или более раковых стволовых клеток. В соответствии с этим такие способы могут предупреждать прогрессирование рака или ингибировать рост опухоли.

Если NUC-1031 используется в способах или клинических применениях согласно изобретению для профилактики или предотвращения прогрессирования рака, то такая профилактика или лечение могут приводить к замедлению, задержке или к полному прекращению прогрессирования рака.

Прогрессирование рака обычно определяют путем присвоения раковому заболеванию определенной стадии тяжести. Такое определение стадии рака обычно осуществляют путем присвоения ему номера от I до IV, где цифра I означает локализованный рак, а цифра IV означает рак, который распространился за пределы области, где он был обнаружен. Особенности определения стадии рака варьируются в зависимости от типа рака, но обычно стадию присваивают исходя из размера опухоли, а также в зависимости от того, насколько рак распространился в соседние органы, от числа региональных (близко расположенных) лимфоузлов, в которые он распространился (если это наблюдалось), и от того, распространился ли он в более удаленные участки (метастазы).

В общих чертах, рак стадии I локализован в одном участке организма и может быть подвергнут лечению с помощью хирургической операции (в случае солидных опухолей, которые имеют достаточно малый размер). Рак стадии II имеет более распространенную местную локализацию и поддается лечению посредством химиотерапии, лучевой терапии, хирургической операции или их комбинаций. Рак стадии III также имеет более распространенную местную локализацию и присвоение ему стадии II или III зависит от конкретного типа рака, хотя стадия III, как правило, считается "поздней" стадией с более распространенной местной локализацией. Рак стадии IV часто метастазирует в другой орган. Лечение рака с использованием NUC-1031 в способах или клинических применениях согласно изобретению могут быть использованы для лечения рака на стадии I, II, III или IV путем нацеливания на РСК. Лечение с использованием NUC-1031 может быть проведено для предотвращения прогрессирования рака от одной стадии к другой. В одном из вариантов осуществления изобретения лечение с использованием NUC-1031 осуществляют для предотвращения прогрессирования рака от стадии I к стадии II. В другом варианте осуществления изобретения лечение с использованием NUC-1031 осуществляют для предотвращения прогрессирования рака от стадии II к стадии III. В еще одном варианте осуществления изобретения лечение с использованием NUC-1031 осуществляют для предотвращения прогрессирования рака от стадии III к стадии IV.

Предотвращение или ингибирование прогрессирования рака является особенно важным для предотвращения распространения рака, например, его прогрессирования от стадии I к стадии II, когда рак распространяется локально, или его перехода от стадии III к стадии IV, где рак метастазирует в другие

органы. РСК являются онкогенными, и, вероятно, что они играют решающую роль в распространении рака, как локально, так и метастатически. Следовательно, способы лечения или клинического применения NUC-1031 согласно изобретению могут быть использованы для предотвращения распространения рака посредством нацеливания на онкогенные РСК и, таким образом, уменьшения их числа.

"Раковые заболевания".

РСК играют определенную роль в биологической активности широкого спектра раковых заболеваний. Соответственно, существует широкий диапазон раковых заболеваний, которые могут быть предотвращены или вылечены в соответствии с настоящим изобретением.

Как обсуждается в настоящем документе, РСК, как известно, присутствуют в опухолях многих типов, включая жидкие опухоли (в том числе гематологические опухоли, такие как лейкозы и лимфомы) и солидные опухоли (такие как опухоли молочной железы, легких, толстой кишки, предстательной железы, яичников, кожи, мочевого пузыря, желчного пузыря и поджелудочной железы). Следовательно, способы лечения и клинические применения NUC-1031 для нацеливания на РСК могут оказаться подходящими для профилактики или лечения таких раковых заболеваний.

В соответствии с этим NUC-1031 может быть использован для профилактики или лечения рака, выбранного из группы, состоящей из лейкоза, лимфомы, множественной миеломы, рака легких, рака печени, рака молочной железы, рака головы и шеи, нейробластомы, карциномы щитовидной железы, рака кожи (включая меланому), плоскоклеточной карциномы ротовой полости, рака мочевого пузыря, опухоли клеток Лейдига, билиарного рака, такого как холангиокарцинома или рак желчных протоков, рака поджелудочной железы, рака толстой кишки, рака прямой и ободочной кишки и рака женских половых органов, включая рак яичника, рак эндометрия, рак фаллопиевых труб, рак матки и рак шейки матки, в том числе карциному эпителия шейки матки. В подходящих вариантах осуществления изобретения раком является лейкоз, который 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 лимфобластного лейкоза, хронического миелогенного лейкоза (также известного как хронический миелоидный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз или хронический гранулоцитарный лейкоз), хронического лимфоцитарного лейкоза, монобластного лейкоза и ретикулоэндотелиоза. В других предпочтительных вариантах осуществления изобретения рак представляет собой острый лимфобластный лейкоз. В подходящем варианте осуществления изобретения рак представляет собой лимфому, которая может быть выбрана из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы; лимфомы Беркитта и мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы.

В соответствии с этим нацеливание на РСК при таких раковых заболеваниях может обеспечивать эффективное лечение рака путем профилактики или предотвращения развития рака путем профилактики или предотвращения прогрессирования рака, путем профилактики или предотвращения рецидива рака или путем профилактики или предотвращения распространения рака.

В своем подходящем варианте настоящее изобретение относится к NUC-1031, используемому для нацеливания на РСК для профилактики или лечения метастазирующего рака.

В своем подходящем варианте настоящее изобретение относится к NUC-1031, используемому для нацеливания на РСК для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака.

В своем подходящем варианте настоящее изобретение относится к NUC-1031, используемому для нацеливания на РСК при лечении первичного рака. Соответственно, первичным раком, подвергаемым лечению, может быть второй первичный рак.

Настоящее изобретение относится к NUC-1031, используемому для нацеливания на РСК при лечении вторичного рака. В подходящем варианте осуществления изобретения вторичным раком является метастазирующий рак.

В своем подходящем варианте настоящее изобретение относится к NUC-1031, используемому для нацеливания на РСК, где нацеливание на РСК предотвращает или ингибирует (i) рецидив рака, (ii) возникновение второго первичного рака или (iii) метастазирование рака.

Способы лечения или клинического применения NUC-1031 основаны на его способности нацеливаться на РСК и могут быть применены для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака. Обсуждения, касающиеся рецидивирующего или не поддающегося лечению рака в таких вариантах осуществления изобретения, являются такими же, как данные для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака согласно восьмому-десятому аспектам изобретения, если это не противоречит контексту описания изобретения.

"Рецидивирующий или не поддающийся лечению рак".

Как указывалось выше, некоторые аспекты и варианты осуществления изобретения, в частности, относятся к применению NUC-1031 для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака.

С точки зрения настоящего изобретения, не поддающиеся лечению раковые заболевания могут рассматриваться как рак, резистентный к противораковой терапии без использования NUC-1031. Так, например, NUC-1031 может быть использован для лечения рака, резистентного к лучевой терапии. Альтернативно или дополнительно, NUC-1031 может быть использован для лечения рака, который является

резистентным к биологическим агентам, используемым для лечения рака. В подходящем варианте осуществления изобретения NUC-1031 может быть использован для лечения рака, резистентного к лечению химиотерапевтическими средствами без использования NUC-1031.

В частности, не поддающиеся лечению раковые заболевания, которые могут быть восприимчивыми к лечению способами терапии посредством клинического применения NUC-1031 согласно изобретению, включают раковые заболевания, резистентные к гемцитабину.

Рецидивирующими раковыми заболеваниями (или рекуррентными раковыми заболеваниями) являются заболевания, которые возвращаются после периода ремиссии, в течение которого рак не может быть обнаружен. Рецидив рака может наблюдаться в области возникновения первичного рака (местный рецидив рака); в области, близкой к области первичной раковой опухоли (региональный рецидив рака), или в области, далекой от области первичной раковой опухоли (дистальный рецидив рака). Предполагается, что РСК играет определенную роль в рецидиве рака, обеспечивая источник, из которого генерируются клетки рецидива рака. В соответствии с этим способы лечения и клиническое применение NUC-1031 согласно изобретению, которые обеспечивают нацеливание на РСК, могут оказаться особенно эффективными для лечения рецидивирующих раковых заболеваний. Способность NUC-1031 нацеливаться на РСК может быть использована для удаления популяций клеток, которые могут вызывать рецидив, что, тем самым, позволяет предотвратить рецидивы рака. Анти-РСК активность NUC-1031 может быть также использована для нацеливания на РСК при рецидивирующих раковых заболеваниях, а также в качестве возможных цитотоксических эффектов, направленных на не-стволовые раковые клетки, для лечения рецидивирующего рака.

Из всего вышесказанного очевидно, что NUC-1031 может быть использован в способах или применениях согласно изобретению для профилактики или лечения рецидивирующего рака. NUC-1031 может быть использован в способах или применениях согласно изобретению для профилактики или лечения локального, регионального или дистального рецидивирующего рака.

NUC-1031 может быть использован в способах или применениях согласно изобретению для профилактики рецидива рака с ремиссией в течение 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, NUC-1031 может быть использован для профилактики рецидива рака с ремиссией в течение 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.

NUC-1031 может быть использован в способах или применениях согласно изобретению для лечения рецидивирующего рака, который рецидивировал 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 месяца после ремиссии. Действительно, NUC-1031 может быть использован для лечения рецидивирующего рака, который рецидивировал 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 после ремиссии.

Способность NUC-1031 нацеливаться на РСК позволяет использовать это соединение для профилактики или лечения рака в соответствии с клиническими применениями или способами лечения согласно первому-шестому аспектам изобретения. Однако следует отметить, что NUC-1031 также оказывает прямое цитотоксическое действие на нестволовые раковые клетки, которые составляют основную массу опухолей. Хотя активность РСК может лежать в основе большей части резистентности, затрудняющей лечение рецидивирующего или не поддающегося лечению рака, однако нестволовые раковые клетки также являются основным компонентом таких рецидивирующих или не поддающихся лечению раковых заболеваний.

NUC-1031 оказывает большее цитотоксическое действие на нестволовые раковые клетки, чем гемцитабин, т.е. химиотерапевтическая молекула, от которой происходит NUC-1031. В соответствии с этим механизм, посредством которого NUC-1031 действует при лечении рецидивирующего или не поддающегося лечению рака, например, согласно восьмому, девятому или десятому аспектам изобретения, не может быть ограничен только анти-РСК активностью этого соединения, и NUC-1031 может быть также использован для воздействия на нестволовые раковые клетки. При таких применениях лечение с помощью NUC-1031 позволяет снизить общее число РСК и нестволовых раковых клеток, и будет преимущественно уменьшать число РСК, оставшихся после лечения.

Терапевтически эффективные дозы NUC-1031.

Терапевтически эффективное количество NUC-1031 может представлять собой количество, достаточное для индуцирования гибели РСК. В некоторых вариантах осуществления изобретения, относящихся, в частности, к лечению рецидивирующего или не поддающегося лечению рака, терапевтически эффективным количеством NUC-1031 может быть количество, достаточное для индуцирования гибели РСК, а также для индуцирования гибели нестволовых раковых клеток.

Существуют различные другие способы, в которых может быть вычислено и точно определено количество терапевтически эффективного соединения, такого как NUC-1031, вводимого пациенту. Одним

из таких способов, который является особенно подходящим для определения доз средств для профилактики или лечения рака, является способ определения количества вводимого агента в расчете на единицу площади поверхности тела пациента. Такие дозы, как правило, выражаются в количестве агента (которое может быть вычислено по массе) в расчете на квадратный метр (m^2) площади поверхности.

Применение NUC-1031 для профилактики или лечения рака может включать введение еженедельной дозы от 250 до 1000 mg/m^2 . Такое лечение, например, может включать введение еженедельной дозы от 375 до 900 mg/m^2 . Как описано далее в примерах, авторами настоящего изобретения было обнаружено, что NUC-1031 позволяет осуществлять эффективное лечение рецидивирующего или не поддающегося лечению рака при его введении в еженедельных дозах, составляющих приблизительно от 500 до 825 mg/m^2 .

Не ограничиваясь какой-либо конкретной гипотезой, авторы лишь отмечают, что способность NUC-1031 нацеливаться на РСК обеспечивает достижение терапевтической эффективности с использованием более низких доз этого соединения, чем это можно было бы ожидать в других случаях. Для примера просто можно отметить, что еженедельные дозы NUC-1031, которые составляют по меньшей мере 825, 750, 600 или 500 mg/m^2 , могут оказаться терапевтически эффективными в применениях и способах согласно изобретению.

Выбранная еженедельная доза NUC-1031 может быть введена один раз в неделю или несколько раз в неделю. Так, например, еженедельная доза NUC-1031 может быть введена два раза, три раза или более. Таким образом, в случае еженедельной дозы 750 mg/m^2 эффект может быть достигнут при введении 250 mg/m^2 три раза в неделю или 375 mg/m^2 два раза в неделю. Аналогичным образом, в случае еженедельной дозы 600 mg/m^2 эффект может быть достигнут при введении 200 mg/m^2 три раза в неделю или 300 mg/m^2 два раза в неделю.

Подходящее количество NUC-1031, вводимое за один курс лечения, вычисляют так, чтобы требуемая доза соединения, вводимого в течение недели, составляла приблизительно от 100 до 300 mg/m^2 .

Недельная доза NUC-1031 может быть снижена в течение курса лечения. Например, авторами настоящего изобретения было обнаружено, что лечение может быть начато с еженедельной дозы приблизительно 1000, 900, 825, 750 или 725 mg/m^2 . В течение курса лечения необходимая доза может быть снижена приблизительно до 750 mg/m^2 (в тех случаях, когда начальная доза выше этого количества), приблизительно до 650 mg/m^2 , приблизительно до 625 mg/m^2 или даже приблизительно до 500 mg/m^2 или приблизительно до 375 mg/m^2 .

Дозы терапевтических агентов, таких как NUC-1031, могут быть определены другими способами. Наиболее распространенными из них является количество активного агента, выраженного на единицу массы тела. Было вычислено, что в среднем для пациента доза 1 mg/m^2 эквивалентна приблизительно 0,025 mg/kg массы тела. Соответственно, данные показали, что NUC-1031 является эффективным для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака в дозах, составляющих приблизительно от 6,25 до приблизительно 25 mg/kg . Подходящая доза может, например, составлять приблизительно от 9,5 до 22,5 mg/kg . В подходящем варианте осуществления изобретения NUC-1031 позволяет осуществлять эффективное лечение рецидивирующего или не поддающегося лечению рака при его введении пациентам в еженедельных дозах, составляющих приблизительно от 12,5 до 20,5 mg/kg .

Обсуждение препаратов NUC-1031, подходящих для их использования в способах профилактики или лечения и клинического применения согласно изобретению, описаны в настоящем документе. В случае препаратов для инъекций NUC-1031 они могут быть введены внутривенно. Внутривенное введение может быть осуществлено в любых подходящих временных рамках, например в течение 10 мин или т.п.

Схемы введения доз.

В своем одиннадцатом аспекте настоящее изобретение относится к NUC-1031, применяемому для лечения рака, где NUC-1031 используется в относительно высокой дозе (приблизительно от 625 до 1000 mg/m^2 в неделю) в течение по меньшей мере одного цикла в начале лечения с переходом на более низкую еженедельную дозу по меньшей мере в одном другом цикле лечения. Такие схемы введения доз могут применяться для профилактики или лечения рака путем нацеливания на РСК или для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака.

В подходящем примере NUC-1031 может быть введен путем внутривенной инъекции ударной дозы в течение 5, 10 или 30 мин.

В соответствии с этим NUC-1031 может быть введен в дни 1, 8, 15 в 4-6-недельный цикл. В качестве альтернативы NUC-1031 может быть введен в дни 1, 5, 8, 12, 15, 19 в 4-6-недельный цикл.

Схемы и циклы введения доз NUC-1031, предусматривающие введение NUC-1031 два раза в неделю, являются особенно эффективными для лечения рака, такого как рецидивирующий или не поддающийся лечению рак.

Типы лечения.

В своем подходящем варианте настоящее изобретение относится к NUC-1031 для его применения по п.1 формулы изобретения для нацеливания на РСК в качестве средства первого ряда для лечения рака.

Однако обнаружение того факта, что NUC-1031 может нацеливаться на РСК и таким образом может быть использован для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака, показало, что

NUC-1031 способен обеспечить эффективное лечение рака в тех случаях, когда другие методы лечения оказались неэффективными. В соответствии с этим в своем подходящем варианте настоящее изобретение относится к NUC-1031 для нацеливания на РСК как к средству второго ряда для лечения рака. Действительно, в своем подходящем варианте настоящее изобретение относится к NUC-1031 для нацеливания на РСК как к средству третьего или другого ряда для лечения рака.

В своем подходящем варианте настоящее изобретение относится к NUC-1031, применяемому в качестве неоадьюванта для лечения рака. Неоадьювант представляет собой агент, вводимый пациенту для уменьшения размера опухоли до проведения "основной" противораковой терапии, такой как хирургическое удаление раковой опухоли. NUC-1031 может быть использован в качестве неоадьювантной терапии для пациента, которому впоследствии будет проведена хирургическая операция и/или лучевая терапия по поводу рака.

Альтернативно или дополнительно, настоящее изобретение относится к NUC-1031, применяемому в качестве адьюванта для лечения рака. Адьювант представляет собой агент, вводимый пациенту для проведения "основной" противораковой терапии, такой как хирургическое удаление раковой опухоли для предотвращения возникновения рака после основной терапии. NUC-1031 может быть использован в качестве адьюванта, вводимого пациенту, которому впоследствии будет проведена хирургическая операция и/или лучевая терапия по поводу рака.

NUC-1031 может быть использован в способах или применениях согласно изобретению в виде монотерапии, т.е. для профилактики или лечения, где NUC-1031 обладает, по существу, всей терапевтической активностью, которая может быть использована для профилактики или лечения.

Альтернативно, способы или применения согласно изобретению могут включать использование NUC-1031 в комбинированной терапии. В таких вариантах осуществления изобретения NUC-1031 используется в комбинации по меньшей мере с одной другой противораковой терапией. Дополнительная противораковая терапия может включать хирургическую операцию и/или лучевую терапию. Дополнительно или альтернативно, дополнительная противораковая терапия может включать использование по меньшей мере одного другого терапевтического средства, которое вносит свой вклад в профилактику или лечение рака. Соответственно, таким средством может быть химиотерапевтическое средство или биологический агент, используемые для профилактики или лечения рака.

В подходящем варианте комбинированной терапии NUC-1031 и дополнительное терапевтическое средство могут быть введены пациенту в одно и то же время. В подходящем примере NUC-1031 и дополнительное терапевтическое средство могут быть приготовлены как часть одной и той же фармацевтической композиции. Альтернативно, NUC-1031 и дополнительное терапевтическое средство могут быть приготовлены отдельно для введения пациенту, по существу, в одно и то же время.

В другом подходящем варианте комбинированной терапии NUC-1031 и дополнительное терапевтическое средство могут быть введены пациенту в различные периоды времени. NUC-1031 и дополнительное терапевтическое средство могут быть введены пациенту последовательно. Так, например, NUC-1031 может быть введен пациенту до введения дополнительного терапевтического средства. Альтернативно, NUC-1031 может быть введен пациенту после введения дополнительного терапевтического средства.

"Дополнительные терапевтические средства".

NUC-1031 может быть использован в комбинации с дополнительными терапевтическими средствами широкого ряда для профилактики или лечения рака. Они включают биологические средства, иммуно-терапевтические средства и химиотерапевтические средства, которые могут быть использованы для профилактики или лечения рака.

Хотя конкретные примеры подходящих дополнительных средств рассматриваются в следующих параграфах, однако они не должны рассматриваться как ограничение спектра дополнительных терапевтических агентов, подходящих для их использования вместе с NUC-1031. Действительно, способность NUC-1031 нацеливаться на РСК означает, что он может быть с успехом использован в комбинации с любым дополнительным терапевтическим средством, применяемым для профилактики или лечения рака, независимо от того, предназначается ли такое дополнительное средство для нацеливания на РСК, стволовые раковые клетки или другие клетки или компоненты, участвующие в развитии, поддержании или распространении рака.

Примерами дополнительных терапевтических средств, которые могут быть использованы в комбинации с NUC-1031, являются:

(a) антиангиогенный агент, где антиангиогенный агент необязательно представляет собой (i) ингибитор пути VEGF, необязательно бевацизумаб; (ii) ингибитор тирозинкиназы, необязательно сорафениб, сунитиниб или пазопаниб; или (iii) ингибитор mTOR, необязательно эверолимус;

(b) алкилирующий агент;

(c) антимацетолит;

(d) противоопухолевый антибиотик;

(e) топоизомераза;

(f) ингибитор митоза;

(g) моноклональное антитело;

(h) металлический агент или

(i) активное или пассивное иммунотерапевтическое средство.

За исключением случаев, когда это противоречит контексту изобретения, дополнительные терапевтические средства, перечисленные в вышеупомянутом списке, должны рассматриваться как средства, подходящие для их применения в любых вариантах комбинированной терапии вместе с описанным выше NUC-1031.

Отбор пациентов.

Обнаружение авторами того факта, что NUC-1031 может нацеливаться на РСК, было положено в основу разработки ряда способов, с помощью которых можно определить, является ли конкретный пациент восприимчивым к введению NUC-1031 для профилактики или лечения рака, такого как рецидивирующий или не поддающийся лечению рак.

В соответствии с этим настоящее изобретение относится к способу определения того факта, может ли у пациента с раком или предраковым состоянием наблюдаться благоприятный эффект после профилактического или терапевтического лечения рака с использованием NUC-1031, где указанный способ включает анализ биологического образца, взятого у пациента с раком или предраковым состоянием, на наличие РСК, где присутствие РСК в биологическом образце указывает на то, что пациент будет восприимчивым к лечению с использованием NUC-1031.

Кроме того, настоящее изобретение также относится к способу определения подходящей схемы лечения пациента с раком или предраковым состоянием, где указанный способ включает анализ биологического образца, взятого у пациента с раком или предраковым состоянием, на наличие РСК, где присутствие РСК в биологическом образце указывает на то, что схема лечения с использованием NUC-1031 будет подходящей для данного пациента.

Настоящее изобретение также относится к NUC-1031, используемому для профилактики или лечения рака у пациента, отобранного для такого лечения способом, включающим анализ биологического образца, взятого у пациента с раком или предраковым состоянием, на наличие РСК, где присутствие РСК в биологическом образце указывает на то, что данный пациент является подходящим для лечения с использованием NUC-1031.

В подходящих вариантах осуществления изобретения РСК в биологическом образце могут быть идентифицированы по экспрессии ими характеристических паттернов маркеров, обсуждаемых выше в настоящем документе.

Для специалиста в данной области будет очевидно, что существует много подходящих примеров биологических образцов, которые могут быть использованы в вариантах осуществления настоящего изобретения, таких как варианты, описанные выше. Соответственно, такой образец может включать клетки, взятые у пациента с раком или предраковым состоянием. Подходящим биологическим образцом может быть образец ткани, такой как образец, используемый в гистологии. Клетки в таких образцах могут быть непосредственно оценены на экспрессию ими маркеров РСК, таких как маркеры, описанные выше.

Альтернативно или дополнительно, подходящий биологический образец может содержать молекулы-мишени, которые являются репрезентативными по экспрессии генов клетками пациента с раком или предраковым состоянием. Примерами таких молекул-мишеней являются белки, кодируемые экспрессируемыми генами, или нуклеиновые кислоты, такие как мРНК, репрезентативные по экспрессии генов.

Подходящие примеры способов, с помощью которых может быть оценена экспрессия маркеров РСК, могут быть выбраны в зависимости от типа образца. Методы исследования экспрессируемых маркеров часто используются при клинических оценках (например, в диагностических или прогностических целях), и такое их применение известно специалистам, осуществляющим оценку в соответствии с настоящим изобретением. Для примера просто можно отметить, что в образцах, содержащих белки, наличие маркеров РСК может быть оценено подходящими методами с использованием антител, которые реагируют с рассматриваемыми маркерами РСК. Примерами таких образцов, содержащих белковые маркеры РСК, являются гистологические образцы (где присутствие маркеров может быть визуализировано подходящими иммуноцитохимическими методами) или образцы, полученные из кровотока. В данном случае присутствие циркулирующих РСК (которые, вероятно, участвуют в метастазировании рака) может быть оценено такими методами, как проточная цитометрия.

В образцах, содержащих нуклеиновые кислоты, репрезентативные по экспрессии маркеров РСК, такая экспрессия может быть оценена подходящими методами, применяемыми в молекулярной биологии, такими как амплификация посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием подходящих праймеров.

Настоящее изобретение более подробно описано со ссылкой на нижеследующие примеры.

Примеры

1. NUC-1031 преимущественно нацеливается на РСК.

В нижеследующем исследовании проиллюстрирована способность NUC-1031 преимущественно нацеливаться на РСК *in vitro* и тем самым снижать число РСК, присутствующих в популяциях раковых клеток.

1.1. Сравнение величин LD₅₀ для NUC-1031 и гемцитабина в бластных клетках первичного острого

миелоидного лейкоза NUC-1031 анализировали на его цитотоксическое действие на первичные культуры бластных клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). Величины LD_{50} (концентрация, необходимая для уничтожения 50% опухолевых клеток в культуре) вычисляли для NUC-1031 и гемцитабина.

Анализ *in vitro* на цитотоксичность в клетках первичного острого миелоидного лейкоза.

Образцы костного мозга, взятые у пациентов с только что диагностированным и ранее не подвергавшимся лечению острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), собирали в этилендиаминтетрауксусной кислоте (EDTA). Властные клетки ОМЛ обогащали путем центрифугирования в градиенте плотности с использованием Гистобака (Sigma, Poole, UK), а затем выдерживали в среде Roswell Park Memorial Institute (RPMI), в которую была добавлена 10% фетальная бычья сыворотка (FBS). Клетки обрабатывали гемцитабином или NUC-1031 в концентрациях от 0,25 до 10 мкМ и инкубировали в течение 48 ч. Все культуры хранили при 37°C в 5% CO_2 в атмосфере повышенной влажности.

Оценка апоптоза *in vitro* первичных клеток ОМЛ.

Клетки собирали и метили CD34-флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ) (BD Biosciences, Buckingham, UK), а затем ресуспендировали в 200 мкл буфера для связывания, содержащего 4 мкл аннексина V, меченного аллофикоцианином (АФЦ) (eBioscience Ltd, Hatfield, UK). Апоптоз количественно оценивали для CD34⁺-клеток ОМЛ на проточном цитометре Accuri C6 (Becton Dickinson, CA, USA). Было зарегистрировано по меньшей мере 10000 событий, и данные были проанализированы с использованием компьютерной программы FlowJo (Tree Star Inc., Ashland, OR, USA). Все величины LD_{50} (концентрация лекарственного средства, необходимая для уничтожения 50% клеток) были получены исходя из кривых доза-ответ.

Идентификация и количественное определение субпопуляций CD34⁺/CD123⁺ в первичных клетках ОМЛ.

Предполагаемые лейкозные стволовые клетки были идентифицированы по двойной экспрессии CD34 и CD123. Относительная чувствительность этих клеток к действию гемцитабина и NUC-1031 была оценена как процентное содержание этих клеток, которые оставались жизнеспособными после обработки молярными эквивалентами каждого агента.

Результаты этого исследования представлены на фиг. 2, где на панели А показаны перекрывающиеся кривые доза-ответ, построенные для NUC-1031 и гемцитабина, а на панели В показана гистограмма, иллюстрирующая значительно более низкую среднюю величину LD_{50} , полученную для NUC-1031 ($1,6 \times 10^{-6}$ М) и для гемцитабина ($3,1 \times 10^{-6}$ М).

Помимо повышенной активности, наблюдаемой для NUC-1031 по сравнению с гемцитабином, NUC-1031 также обнаруживал повышенную способность истощать РСК в культурах бластных клеток ОМЛ в микромолярных концентрациях (фиг. 3 и 4). Цитотоксическая активность NUC-1031, измеренная в этом анализе, была более высокой для РСК и нестволовых раковых клеток по сравнению с цитотоксической активностью гемцитабина.

1.2. Преимущественное нацеливание NUC-1031 на РСК.

Соответствующие способности NUC-1031 и гемцитабина нацеливаться на РСК оценивали в клеточной линии KG1a ОМЛ. Для этого исследования была выбрана, в частности, клеточная линия KG1, поскольку РСК в данной популяции имеет иммунофенотип Lin7CD34⁺/CD38⁺/CD123⁺, что позволяет легко отличить эти клетки от нестволовых раковых клеток (также называемых здесь "объемными" раковыми клетками) в данной популяции.

1.3. Условия культивирования клеток KG1a.

Клеточные линии KG1 острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) поддерживали в среде RPMI (Invitrogen, Paisley, UK) с добавлением 100 единиц/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 20% фетальной телячьей сыворотки. Затем клетки разделяли на аликвоты (10^5 клеток/100 мкл) в 96-луночных планшетах и инкубировали при 37°C в атмосфере повышенной влажности с 5% диоксидом углерода в течение 72 ч в присутствии NUC-1031 или гемцитабина в концентрациях, которые были экспериментально определены для каждого соединения. Кроме того, использовали контрольные культуры, в которые не добавляли лекарственное средство. После этого, клетки собирали центрифугированием и анализировали посредством проточной цитометрии с помощью анализа на связывание с аннексином V.

1.4. Оценка апоптоза *in vitro*.

Культивируемые клетки собирали центрифугированием, а затем ресуспендировали в 195 мкл буфера, обогащенного кальцием. После этого к клеточной суспензии добавляли 5 мкл аннексина V (Caltag Medsystems, Botolph Claydon, UK) и клетки инкубировали в темноте в течение 10 мин перед промывкой. И наконец, клетки ресуспендировали в 190 мкл буфера, обогащенного кальцием, вместе с 10 мкл иодида пропидия. Апоптоз оценивали с помощью двухцветной иммунофлуоресцентной проточной цитометрии, как было описано ранее. Затем вычисляли величины LD_{50} (дозы, необходимой для уничтожения 50% клеток в культуре) для каждого нуклеозидного аналога и ProTide.

1.5. Иммунофенотипическая идентификация компартмента лейкозных стволовых клеток.

Клетки KG1a культивировали в течение 72 ч в присутствии каждого нуклеозидного аналога и их соответствующих ProTides в широком диапазоне концентраций. Затем клетки собирали и метили коктей-

лем из антитела против линии дифференцировки (PE-cy7), анти-CD34 антитела (FITC), анти-CD38 антитела (PE) и анти-CD123 антитела (PerCP Cy5). Затем идентифицировали субпопуляцию клеток, имеющих фенотип лейкозных стволовых клеток (ЛСК), и их число выражали как процент от всех жизнеспособных клеток, оставшихся в культуре. Процентное содержание оставшихся стволовых клеток откладывали на кривой доза-ответ и эффекты ProTides сравнивали с эффектами родительского нуклеозида.

Клетки KG1a культивировали в течение 72 ч в присутствии каждого анализируемого соединения в широком диапазоне концентраций. Затем клетки собирали и метили коктейлем из антитела против линии дифференцировки (PE-cy7), анти-CD34 антитела (FITC), анти-CD38 антитела (PE) и анти-CD123 антитела (PerCP Cy5). Затем идентифицировали субпопуляцию клеток, имеющих фенотип РСК, и их число выражали как процент от всех жизнеспособных клеток, оставшихся в культуре. Процентное содержание оставшихся РСК откладывали на кривой доза-ответ и эффекты NUC-1031 (и его очищенных изомеров) сравнивали с эффектами гемцитабина.

1.6. Статистический анализ.

Данные, полученные в этих экспериментах, были оценены с использованием одностороннего ANOVA. Все данные были подтверждены как гауссово распределение или гауссово приближение с использованием универсального критерия K2. Величины LD₅₀ вычисляли исходя из нелинейной регрессии и линейного анализа наилучшего соответствия по сигмоидальным кривым "доза-ответ". Все статистические анализы проводили с использованием компьютерной программы GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA).

В клетках KG1a NUC-1031 (и его очищенные изомеры) обладали повышенной активностью *in vitro* по сравнению с гемцитабином (фиг. 5). Однако каких-либо существенных различий в активности между неразделенной смесью и очищенными изомерами NUC-1031 не наблюдалось. Кроме того, NUC-1031, в отличие от гемцитабина, преимущественно нацеливался на РСК. Это явно наблюдалось при субмикромольных концентрациях ProTide (фиг. 6). И в этом случае два очищенных изомера NUC-1031 не обнаруживали каких-либо значимых различий в их способности нацеливаться на РСК в экспериментальной системе согласно изобретению.

2. NUC-1031 может быть использован для лечения рецидивирующего или не поддающегося лечению рака у человека.

Нижеследующие данные были получены в клинических испытаниях NUC-1031 с участием пациентов с прогрессирующими раковыми заболеваниями, которые были резистентными ко всем известным в настоящее время методам лечения или не поддавались лечению этими методами. Результаты явно указывают на возможность использования NUC-1031 для успешного лечения раковых заболеваний, не поддающихся лечению.

Хотя первичной целью части испытания с увеличением доз было определение рекомендованной дозы фазы II (RP2D) и профиля безопасности, а вторичной целью было определение ФК-профиля, однако, в рамках данного испытания также наблюдали эффективное лечение пациентов с не поддающимися лечению раковыми заболеваниями широкого ряда.

В это испытание с увеличением доз было включено всего 68 пациентов, из которых 49 пациентов были обследованы на клинический ответ на введение NUC-1031 по меньшей мере за 2 цикла, а поэтому они были включены в программу оценки RECIST 1.1.

Таблица 1

Наилучший общий ответ в испытании ProGem1

Пациенты	n= 68	Наилучший общий ответ (на данный момент)
Обследованные	n= 49	Частичные ответы 5 (10%) Стабильное заболевание 33 (67%) Прогрессирующее заболевание 11 (22%)
Не обследованные	n= 19	

NUC-1031 вводили путем внутривенной медленной инъекции ударной дозы в течение 5-30 мин.

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

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

Обследуемые пациенты [n=49].

Обследуемыми пациентами были пациенты, которые получали NUC-1031 за ≥ 2 цикла, а поэтому они были включены в программу оценки RECIST 1.1 по окончании цикла 2. В случае если продолжительность ответа на лечение заболевания составляла несколько месяцев, то стоящий далее символ "+" указывает на текущий контроль за течением болезни на самую последнюю дату оценки.

Пациентка 004 с раком молочной железы: Стабильное заболевание.

Женщина (67 лет)

Была диагностирована инвазивная карцинома протоков молочной железы 2-й степени (ER+, HER2-) в 2002 году. В качестве терапии первого ряда была проведена хирургическая операция, а затем была про-

ведена адьювантная терапия эпирубицином+доцетакселом, после чего была проведена лучевая терапия и поддерживающая гормонотерапия тамоксифеном, а затем анастрозолом до 2010 года. В 2010 году у пациентки было диагностировано метастазирующее заболевание кости и была проведена паллиативная лучевая терапия и терапия ибондронатом и фулвестрантом в качестве терапии второго ряда.

В 2012 году было отмечено прогрессирование заболевания, и пациентке проводили химиотерапию третьего ряда с использованием капецитабина и навелбина в течение 4 месяцев, но во время такого лечения заболевание прогрессировало, и появлялись новые метастазы в печени и в легких. Пациентке начали вводить ингибитор Р13К (испытание фазы 1) в сентябре 2012 г. и проводили 2 цикла терапии (2 месяца), но во время лечения заболевание прогрессировало, и наблюдалось увеличение метастазов в печени.

С 3 декабря 2012 г. начинали еженедельно вводить NUC-1031 в дозе 500 мг/м². Было проведено 6 циклов терапии, и пациентка хорошо переносила такое лечение. У пациентки наблюдалось стабильное заболевание в конце испытания, и по ее просьбе ей из чувства сострадания был проведен 7-й цикл терапии NUC-1031, а затем после цикла 7 ей были назначены "лекарственные каникулы". Заболевание осталось стабильным в течение еще 5 месяцев без дополнительного лечения до прогрессирования заболевания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (12 месяцев).

Пациентка 005 с раком яичника: Стабильное заболевание.

Женщина (58 лет).

В 2009 году был диагностирован билатеральный серозный рак яичника стадии 3с (3 степени). 23 июня 2009 г. пациентке была проведена общая абдоминальная гистерэктомия и удаление придатков матки с яичниками, но отложения в сальнике оставались неоперабельными, а поэтому они были оставлены *in situ*.

В октябре 2009 г. пациентке проводили химиотерапию первого ряда, а именно, 6 циклов лечения карбоплатином+паклитакселом, но по окончании этого цикла у нее наблюдалась аллергическая реакция на карбоплатин.

Первый рецидив наблюдался через 8 месяцев, а в декабре 2010 г. пациентке начали вводить 6 циклов лечения целиксом плюс ингибитором VEGFR-2 (клиническое испытание фазы II), и при этом продолжали проводить монотерапию VEGFR-2 в качестве поддерживающего лечения. Второй рецидив наблюдался через 9 месяцев, а затем появлялись СА125 и СТ, которые свидетельствовали о наличии опухоли в левой части таза размером 3,2 см. После этого начинали проводить химиотерапию третьего ряда и еженедельное введение паклитаксела за 6 циклов, в результате чего наблюдался первоначальный умеренный ответ со снижением числа СА125 и небольшим уменьшением объема опухоли. Через 5 месяцев было подтверждено прогрессирование заболевания с повышением уровней СА125 и увеличением размера опухоли. Пациентка получала последнюю дозу паклитаксела в марте 2012 г.

С 7 января 2013 г. начинали еженедельно вводить NUC-1031 в дозе 500 мг/м². Было проведено 6 циклов терапии по протоколу испытаний, при этом наблюдалось стабильное заболевание, а затем еще в течение 6 месяцев вводили NUC-1031, и все лечение продолжалось 12 месяцев. Пациентка хорошо переносила такое лечение. Уровни СА125 снижались с 208 в начале исследования и до 140 по окончании цикла 6. Пациентка решила прекратить лечение через 12 месяцев, а через 3 месяца после прекращения лечения, у нее наблюдался рецидив.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (15 месяцев).

Пациент 006 с холангиокарциномой: Стабильное заболевание.

Мужчина (43 года).

В 2009 году была диагностирована первичная холангиокарцинома. Была проведена процедура Уиппла, и пациенту вводили адьювантный гемцитабин в течение шести циклов. После рецидива заболевания в феврале 2012 г., пациенту начали вводить СареОх до июля 2012 г.. В том же году, но позже компьютерная томография показала наличие метастазов в кости, и был проведен курс лучевой терапии в нижней части спины.

С 31 января 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 375 мг/м² 2 раза в неделю, и всего было проведено 2 цикла. Затем схему лечения изменяли на А и вводили дозу 500 мг/м² и одну дополнительную дозу. Уже после введения двух доз NUC-1031 наблюдалось снижение числа СА19.9 с 125002 до 59285. КТ показала уменьшение метастатических поражений легких и лимфоузлов от базового уровня.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (3 месяца).

Пациент 007 с раком прямой и ободочной кишки: Стабильное заболевание.

Мужчина (73 года).

В 2008 году был диагностирован рак прямой и ободочной кишки. В апреле 2009 г., после шести циклов FOLFOX была удалена первичная опухоль. В августе 2009 г. была проведена еще одна хирургическая операция по гепатэктомии правой области и илеостомии. В июле 2010 г. было проведено испытание PICCOLO (панитумумаб+иринотекан). Через шесть месяцев была проведена радиочастотная абляция (РЧА) плюс билиарное стентирование для оценки дополнительных осложнений. В декабре 2011 г. было проведено 7 циклов лечения цетуксимабом+иринотеканом+5-FU, но при этом наблюдалось прогрессирование заболевания.

11 февраля 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 375 мг/м² 2 раза в неделю, и было проведено 0,5 цикла.

После отсрочки лечения, а также по желанию пациента, для его удобства, схема была заменена на схему еженедельного введения дозы 500 мг/м² и всего было проведено 2 цикла. По окончании этого периода лечения, у пациента развивалась тромбоцитопения (G3) (возможно, связанная со спленомегалией, наблюдаемой на исходном уровне). Ультразвуковое сканирование, проведенное 25 февраля 2013 г., показало сжатие воротной вены с возможным тромбозом, вызванным спленомегалией. Снижение СЕА составляло от 361 до 286, а снижение числа СА19.9 составляло от 3151 до 2957.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (3 месяца).

Пациентка 008 с раком неизвестной этиологии: Стабильное заболевание.

Женщина (37 лет).

В 2012 году была диагностирована опухоль в ретроперитонеальной области и метастазирующее заболевание неизвестной этиологии. В августе 2012 г., после 4 циклов лечения гемцитабином+цисплатином наблюдалось быстрое прогрессирование опухоли.

12 февраля 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 375 мг/м² два раза в неделю, и было проведено 2 цикла. Во время 1 цикла лечения у пациентки наблюдалось ослабление симптомов заболевания и общее улучшение настроения и самочувствия. Затем наблюдался временный (G3) трансаминит (ALT и AST). Отек лимфы, который присутствовал на исходном уровне, прогрессировал в течение цикла 2.

Также наблюдались плевральные выпоты (G3), которые были оценены как расстройство, вероятно, не связанное с приемом испытываемого препарата.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (3 месяца).

Пациентка 010 с раком эндометрия: Стабильное заболевание.

Женщина (60 лет).

В 2012 году был диагностирован рак эндометрия (стадия IV, 3 степени). В феврале 2012 г. пациентке проводили лучевую терапию опухолевой массы таза и 6 циклов лечения карбоплатином+паклитакселом. После прогрессирования заболевания в ноябре 2012 г. проводили 3 цикла лечения паклитакселом, а затем после проведения множества циклов в январе 2013 г., заболевание быстро прогрессировало.

19 марта 2013 г. начинали вводить еженедельно NUC-1031 в дозе 750 мг/м², и был проведен 1 цикл. Во время проведения 1 цикла развивалась нейтропения (G3), которая прекращалась в течение нескольких дней после введения GCSF. Во время цикла 2 доза была уменьшена до 500 мг/м², и с этой дозой было проведено всего 5 циклов. У пациентки развивалась транзиторная анемия 3-й степени. Наблюдалось снижение числа СА125 от 727 до 488. Пациентка имела стабильное заболевание во время испытания, и оно поддерживалось еще в течение 3-х месяцев после прекращения введения NUC-1031.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (9 месяцев).

Пациентка 011 с карциносаркомой матки: Стабильное заболевание.

Женщина (67 лет).

У этой пациентки была диагностирована карциносаркома матки (рецидивирующая МММТ матки) и метастазы в печени, легких и в узелковой области вокруг аорты. В июне 2011 г. была проведена хирургическая операция по поводу радикальной гистерэктомии и билатерального удаления придатков матки с яичниками. С июня 2011 г. по ноябрь 2012 г. пациентка получила адъювантную терапию цисплатином и доксорубицином - всего 6 циклов (наблюдался хороший ответ на лечение с почти полной ремиссией).

В июне 2012 г. была проведена дополнительная операция по передней экзентерации, рассечению прямой кишки и репарации и формированию подвздошного канала с анастомозом "конец в конец". В июне 2012 г. была проведена еще одна операция по лапаротомии с имплантацией мочеочника в подвздошной канал и процедура Хартмана по удалению ректального свища. В марте 2013 г. было проведено 6 циклов еженедельного введения паклитаксела, но после проведения этого курса лечения опухоль прогрессировала.

15 апреля 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 375 мг/м² 2 раза в неделю, и было проведено 2,6 цикла. У пациентки наблюдалось стабильное заболевание по оценке RECIST с уменьшением объема опухоли на 26%. Во время лечения наблюдались транзиторная нейтропения (G3) и низкий гемоглобин (G2). По желанию пациентки, схема лечения была заменена на еженедельную схему введения дозы 625 мг/м² во время цикла 4, и был проведен еще 1 цикл. По окончании цикла 4 (конец 4 месяца) КТ, проведенная в августе 2013 г., указывала на прогрессирующее заболевание. Было выявлено три новых поражения: два в легких и одно в лимфоузле в задней части полой вены. Размер исходных поражений печени продолжал снижаться, а другое исследуемое поражение в легких оставалось стабильным. Эта пациентка была исключена из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (4 месяца).

Пациентка 012 с холангиокарциномой: Стабильное заболевание.

Женщина (48 лет).

У этой пациентки была диагностирована холангиокарцинома на стадии IV, 3 степени в 2013 году после обследования по поводу жалобы на боль в правой части живота. КТ указывала на метастазы в пе-

чени, легких и перитонеальной области. С января по апрель 2013 г. пациентке проводили 3 цикла лечения цисплатином+гемцитабином, но заболевание быстро прогрессировало.

16 мая 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 375 мг/м² два раза в неделю, и было проведено 3 цикла. По желанию пациентки, схема лечения была заменена на еженедельную схему введения дозы 625 мг/м² в течение цикла 4, и было проведено 3 дополнительных цикла с хорошей переносимостью лечения. По окончании испытаний у пациентки наблюдалось стабильное заболевание, и было проведено еще 2 цикла, а всего было проведено 8 циклов.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (8 месяцев).

Пациентка 013 с раком шейки матки: Частичный ответ.

Женщина (51 год).

В сентябре 2011 г. был диагностирован неоперабельный слабо дифференцированный плоскоклеточный рак шейки матки (стадия 2b, G2/3). Пациентке проводили лечение цисплатином (4 цикла) и лучевую терапию, и, по оценке врача-клинициста, у нее наблюдался "хороший ответ".

В июле 2012 г. у пациентки наблюдалось прогрессирование заболевания, и в период с июля 2012 г. по ноябрь 2012 г., она получала 6 доз карбоплатина+паклитаксела+цедираниба (по схеме CIRCCA), в результате чего достигалось стабильное заболевание. В апреле 2013 г. МРТ показала прогрессирование заболевания с увеличением степени поражения лимфоузлов подвздошной кишки.

28 мая 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно и было проведено 2 цикла. Затем дозу уменьшали до 625 мг/м² и проводили еще 4 цикла. До испытания пациентка ощущала боль в нижней области таза, но после лечения эта боль ослаблялась даже при значительном уменьшении приема опиоидов.

У пациентки появились проблемы, связанные с рецидивирующими инфекциями мочевых путей, еще до начала лечения с использованием NUC-1031 и во время лечения из-за установки билатеральных металлических уретральных стентов.

У пациентки наблюдался частичный ответ после завершения испытания ProGeml, а затем было проведено еще 3 цикла с еженедельным уменьшением дозы до 500 мг/м², и всего было проведено 9 циклов лечения NUC-1031. Опухоль у пациентки сократилась до такой степени, что ее снова обследовали для проведения дополнительной хирургической операции по удалению опухоли.

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

Пациентка 014 с мезотелиомой: Прогрессирующее заболевание.

Женщина (51 год).

В 2012 году была диагностирована рецидивирующая эпителиоидная мезотелиома в правой половине грудной клетки. Пациентке проводили 4 цикла лечения перметрекседом+карбоплатином. После прогрессирования заболевания в декабре 2012 г. пациентка была включена в программу клинического испытания с введением дазатиниба, но оказалась невосприимчивой к лечению, и заболевание прогрессировало.

20 июня 2013 г. начинали вводить NUC-1031 еженедельно в дозе 750 мг/м², и был проведен 1 цикл. Затем дозу снижали до 625 мг/м² и проводили еще 1 цикл. Пациентка была исключена из испытания.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 015 с раком (неизвестной этиологии): Частичный ответ.

Мужчина (54 года).

У пациента был диагностирован рак неизвестной этиологии в сентябре 2012 г. после его обследования по поводу жалоб на боли в животе.

В это время у него наблюдались метастазы в печени и в легких. Биопсия печени показала слабо дифференцированную карциному с дифференцировкой фокальных зернистых клеток. Затем ему проводили 8 циклов лечения эпирубицином+цисплатином+капецитабином с октября 2012 г. по апрель 2013 г. в рамках клинического испытания "CUP", но у него развивалось прогрессирующее заболевание с отеком, плевральными выпотами и асцитной жидкостью, а также с увеличением массы тела на 20 кг. Пациент испытывал сильную тошноту и рвоту и усталость после прохождения этого курса лечения.

20 июня 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно и было введено 2 дозы. Затем дозу снижали до 625 мг/м² и завершали цикл 1, после чего проводили еще 5 циклов при более низкой дозе. На момент начала испытаний, у пациента наблюдался явный отек нижних конечностей и асцит в области живота (приблизительно 20 кг). После 1 цикла сообщалось, что отек и асцит исчезли, и самочувствие пациента значительно улучшалось. Во время цикла 1, на день 8 наблюдались тромбоцитопения (G3), лимфопения (G3) и нейтропения (G2), а поэтому делали двухнедельный перерыв в лечении. По окончании цикла 2 томография показала уменьшение всех поражений по оценке RECIST для стабильного заболевания. По окончании цикла 4 томография показала дальнейшее уменьшение всех обследуемых поражений по оценке RECIST для частичного ответа, и такое уменьшение сохранялось до конца испытаний. По просьбе пациента из чувства сострадания ему было проведено 3 дополнительных цикла с введением этой дозы. Далее при подсчете на 8-й день каждого цикла наблюдалось постепенное снижение числа форменных элементов крови. После 10 цикла дозу еще снижали до 500 мг/м² до достижения желаемого эффекта и проводили еще 10 циклов (всего 19 циклов).

Самая последняя КТ, проводимая 9 января 2015 г., показала устойчивый частичный ответ (приблизительно уменьшение размера опухоли на 58%), и при этом поражение мезентеральных узелков больше не наблюдалось. У пациента наблюдалось образование жидкости в обеих ногах во время цикла 10, но он хорошо реагировал на спиринолактон, и жидкость полностью исчезала. Через 19 месяцев 12 декабря 2014 г. схему лечения Хикмана заменяли, и при этом побочных эффектов не наблюдалось. Клиническое состояние пациента было очень хорошим. После обсуждения с врачом-клиницистом (CI) пациент с удовольствием согласился сделать перерыв в лечении, после чего он был снова направлен к онкологу, чтобы обсудить варианты лечения.

Частичный ответ по текущей оценке RECIST (20+ месяцев; PFS 24+ месяцев).

Пациентка 017 с раком легких: Частичный ответ.

Женщина (60 лет).

В сентябре 2011 г. была диагностирована аденокарцинома легких, с метастазами в легкие, печень и кору надпочечника. Также наблюдались поражения в области средостения, внутри брюшной полости и в шейных лимфоузлах. У пациентки наблюдались плевродез в декабре 2011 г., после чего было проведено 3 цикла лечения цисплатином+пеметрекседом, которые были завершены в марте 2012 г. и в результате которых достигался частичный ответ. С марта по сентябрь 2012 г. пациентке было проведено всего 6 циклов лечения доцетакселом с частичным ответом. В апреле 2013 г. заболевание прогрессировало, и курс лечения доцетакселом повторяли, но уже через 2 цикла заболевание прогрессировало.

В июле 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно и была введена 1 доза. Дозу уменьшали до 625 мг/м², а затем вводили 2 дозы и цикл 1 завершали, после чего проводили еще 5 циклов. Затем делали перерыв в лечении на 4 недели из-за легочных инфекций и низкого числа тромбоцитов. Значимый ответ наблюдался в пораженных лимфоузлах, в частности, в области шеи.

Подвергаемые лечению поражения продолжали сокращаться, на что указывала КТ после цикла 2 и цикла 4. На этой стадии, по оценке RECIST, ответ был классифицирован как стабильное заболевание.

По окончании цикла 6 КТ указывала на дальнейшее снижение поражений, и в конце испытания оценку RECIST изменили на частичный ответ во всех целевых поражениях. По просьбе пациентки и из чувства сострадания ей было проведено 3 дополнительных цикла. Пациентка хорошо переносила лечение с использованием NUC-1031, и при этом наблюдалось снижение хрипоты и дисфагии. По окончании цикла 9 компьютерная томография, проведенная 17 апреля 2014 г., указывала на прогрессирующее заболевание с увеличением имеющихся поражений и появлением новых поражений печени. Пациентка была исключена из испытания.

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

Пациентка 018 с раком легких: Стабильное заболевание.

Женщина (65 лет).

В мае 2011 г. был диагностирован плоскоклеточный рак легких. С июня по октябрь 2011 г. было проведено 6 циклов лечения гемцитабином+цисплатином по схеме SquiGe. В апреле 2012 г. наблюдался рецидив заболевания, и пациентке проводили один цикл паллиативной лучевой терапии в области правых ворот и 6 циклов лечения доцетакселом с мая по сентябрь 2012 г.

В октябре 2012 г. наблюдалось прогрессирование заболевания. В декабре 2012 г. было начато лечение эрлотинибом в течение 3 месяцев, но уже в марте 2013 г. наблюдалось прогрессирование заболевания в области правых ворот.

25 июля 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 625 мг/м² еженедельно и было проведено 4 цикла. По оценке RECIST заболевание было стабильным (4 месяца). Пациентка была исключена из испытания из-за обострения симптомов, вызванных обструкцией полой вены. Для устранения такой обструкции была проведена лучевая терапия в низких дозах, и по просьбе пациентки и из чувства сострадания ей снова вводили NUC-1031. После введения еще одной дозы NUC-1031 было решено исключить пациентку из программы испытаний по ее просьбе и из чувства сострадания. После исключения из испытания общее состояние пациентки было стабильным.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (4 месяца).

Пациентка 021 с раком фаллопиевых труб: Частичный ответ.

Женщина (61 год).

В 2008 году была диагностирована рецидивирующая эндометриоидная аденокарцинома яичника стадии 2a, 2-й степени. В октябре 2008 г. пациентке было проведено 6 циклов лечения карбоплатином+паклитакселом. В июне 2011 г. у нее наблюдался рецидив, и было отмечено поражение плевры, субкапсулярной области печени, сальника и мезентеральных узелков, и эта пациентка была включена в программу испытания ICON6, включающую 6 циклов лечения карбоплатином+паклитакселом ± цедиранибом. У пациентки наблюдался частичный ответ на терапию. До марта 2012 г. продолжали поддерживающую терапию цедиранибом, а затем лечение прекращали из-за увеличения числа CA125 и прогрессирующего перитонеального заболевания.

С марта по июль 2012 г. пациентке еженедельно проводили 6 циклов лечения паклитакселом с хорошим ответом на радиологическое лечение исходного перитонеального заболевания. В феврале 2013 г. у пациентки были обнаружены новые выпоты и осложнение перитонеального заболевания. Ей начали

давать карбоплатин+паклитаксел и ежедневно ингибитор АКТ по программе испытания AKTRES, но уже в мае 2013 г., после 3 циклов, заболевание прогрессировало (с появлением новой опухоли в области таза).

28 августа 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 625 мг/м² еженедельно и было проведено 6 циклов. Было отмечено значительное снижение абдоминального асцита; причем до начала испытаний потребовался дренаж через каждые две недели, но после начала приема NUC-1031 дренаж больше не потребовался. Пациентка хорошо переносила лечение NUC-1031. По окончании испытания, заболевание было стабильным по оценке RECIST. По просьбе пациентки из чувства сострадания ей был проведен еще один цикл.

По окончании цикла 7 26 февраля 2014 г. КТ указывала на дальнейшее снижение объема опухоли, что подтверждало частичный ответ по оценке RECIST. Значимый ответ по CA125: снижение на 91% от исходного уровня (372) до конца цикла 6 (35).

Наилучший общий ответ на данный момент времени представляет собой частичный ответ (3 месяца) согласно RECIST или частичный ответ (9 месяцев) в соответствии с критериями GCIG.

Частичный ответ.

Пациентка 024 с раком неизвестной этиологии: Прогрессирующее заболевание.

Женщина (51 год).

В апреле 2012 г. был диагностирован рак неизвестной этиологии. С апреля по октябрь 2012 г. было проведено 8 циклов лечения CAPOX. В октябре 2012 г. пациентка получала иринотекан, а в ноябре 2012 г. она дополнительно получала бевацизумаб, но ответ на лечение отсутствовал.

26 сентября 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 675 мг/м² еженедельно и было проведено 2 цикла. По окончании цикла 2, КТ указывала на прогрессирующее заболевание.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 025 с мезотелиомой: Стабильное заболевание..

Мужчина (54 года).

В марте 2013 г. была диагностирована эпителиоидная мезотелиома T4 N3 MO правого легкого. С мая по август 2013 г. было проведено 4 цикла лечения пеметрекседом+цисплатином.

23 октября 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 725 мг/м² еженедельно и было проведено 4 цикла. По окончании цикла 4 КТ указывала на прогрессирующее заболевание. Пациент был исключен из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (4 месяца).

Пациентка 026 с раком прямой и ободочной кишки: Стабильное заболевание.

Женщина (63 года).

В феврале 2007 г. был диагностирован рак прямой и ободочной кишки, T4 N2, с метастазами в легких и в мочевом пузыре. В ноябре 2007 г. проводили 12 циклов адьювантной терапии FOLFOX.

Наблюдалось рецидивирующее заболевание таза, и в 2009 году пациентка получала капецитабин.

После рецидива в 2012 году пациентка получила FOLFIRI в сентябре 2012 г. капецитабин+иринотекан до января 2013 г. В июле 2013 г. КТ указывала на прогрессирующее заболевание, рецидивирующую опухоль в пресакральной области, вызывающую разрушение крестца и образование узелков в легких.

17 октября 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 725 мг/м² еженедельно и было проведено 4 цикла. Наблюдалось значительное ослабление боли с резким сокращением применения опиоидных анальгетиков. По окончании цикла 4 КТ указывала на прогрессирующее заболевание.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (4 месяца).

Пациентка 027 с раком яичника: Стабильное заболевание.

Женщина (46 лет).

В декабре 2009 г. была диагностирована серозная аденокарцинома обоих яичников. После полной гистерэктомии, билатерального удаления придатков матки и яичника и оментектомии было проведено 6 циклов лечения карбоплатином+паклитакселом, после чего в мае 2010 г. достигался полный ответ. В июне 2011 г., у пациентки наблюдался рецидив, и ей проводили 6 циклов лечения карбоплатином+паклитакселом (испытание ICON6). В декабре 2012 г. пациентке проводили еще 3 цикла лечения гемцитабином+карбоплатином, но из-за аллергической реакции на карбоплатин его заменяли цисплатином. После завершения 6 циклов в апреле 2013 г. наблюдался частичный ответ. Затем в течение 6 месяцев вводили тамоксифен, но в июле 2013 г. КТ указывала на новое поражение лимфоузлов средостения и увеличение уровней CA125. В октябре 2013 г. КТ показала увеличение размера перитонеальных отложений.

30 октября 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 725 мг/м² еженедельно. После проведения цикла 1, в день 1 наблюдалась повышенная активность ALT (G3) с увеличением от 96 на исходном уровне до 256 на 7-й день, из-за DLT для этой группы. Уровень ALT восстановился до G2 через несколько дней, что позволило провести пациенту 1 цикл на день 8 со сниженной дозой 675 мг/м².

По окончании цикла 1 с пониженной дозой пациентке проводили еще 3 цикла. У пациентки наблюдалось стабильное заболевание по оценке RECIST со снижением объема опухоли на 23%. Число CA125

сократилось с 188 на исходном уровне до 99 по окончании цикла 6. Для цикла 5 доза была снова снижена до 625 мг/м² за-за слабой нейтропении. Испытание завершали в этой дозе без каких-либо побочных эффектов. По просьбе пациентки из чувства сострадания ей был проведен еще 1 цикл.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (8 месяцев).

Пациентка 029 с раком молочной железы: Стабильное заболевание.

Женщина (53 года).

В 2002 году был диагностирован метастазирующий рак молочной железы (ER- и PGR-положительный) с множественными метастазами в кости и в печени. Пациентке было проведено 6 циклов FEC, адъювантной лучевой терапии и тамоксифена с гозерелином. В 2010 году были обнаружены новые метастазы в кости, и было проведено лечение золадексом, летрозолом и памидронатом. В июле 2011 г. лечение было переведено на золадекс и экземестан, а в ноябре был добавлен фаслодекс. При дальнейшем прогрессировании заболевания в 2012 году проводили лечение капецитабином+зометой, а затем паклитакселом только 3 цикла. В мае 2013 г. начинали лечение рукапарибом. В июле 2013 г. наблюдалось прогрессирующее заболевание печени, и было проведено 3 цикла лечения гемцитабином+карбоплатином.

14 ноября 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 725 мг/м² еженедельно. Было проведено 3 цикла. К сожалению, у пациентки был приступ с летальным исходом, который случился у нее дома и не был связан с испытанием.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (4 месяца).

Пациентка 030 с раком яичника: Стабильное заболевание.

Женщина (62 года).

В 2012 году была диагностирована серозная аденокарцинома яичника. В июле 2012 г. было проведено 6 циклов адъювантной терапии карбоплатином+паклитакселом, после чего достигался полный ответ. В августе 2013 г. заболевание прогрессировало, после чего пациентке проводили лечение карбоплатином+целиксом, но по окончании 3 циклов заболевание прогрессировало.

21 ноября 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 725 мг/м² еженедельно. Было проведено 3 цикла, и пациентка хорошо переносила испытание с использованием этого препарата. По окончании цикла 2 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST. Нарушение режима питания приводило к обезвоживанию и истощению, что влекло за собой длительные перерывы в лечении. Пациентка была исключена из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (3 месяца).

Пациентка 031 с холангиокарциномой: Прогрессирующее заболевание.

Женщина (76 лет).

8 июля 2013 г. была диагностирована холангиокарцинома. 27 июля была проведена модифицированная процедура Уиппла. Во время операции было обнаружено множество метастазов в печени. В августе 2013 г. пациентке назначили лечение гемцитабином+оксалиплатином, которые давали через каждые две недели в течение 6 циклов.

9 декабря 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно и было проведено 2 цикла. По окончании цикла 2 КТ показала прогрессирующее заболевание.

Пациентка была исключена из испытания.

Пациент 032 с раком пищевода: Стабильное заболевание.

Мужчина (56 лет).

В июне 2013 г. была диагностирована плоскоклеточная карцинома пищевода. С июля по сентябрь 2013 г. было проведено 3 цикла лечения цисплатином+капецитабином. Наблюдалось прогрессирование заболевания с метастазами в брюшине и в легких. В октябре 2013 г. в пищевод был вставлен стент для устранения симптомов дисфагии.

16 декабря 2013 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно, и было проведено 2 цикла. По окончании цикла 2 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST. У пациентки появились свищи в легких/трахее. Пациентка была исключена из испытания из-за прогрессирования заболевания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (2 месяца).

Пациентка 033 с холангиокарциномой: Стабильное заболевание.

Женщина (37 лет).

В июне 2013 г. была диагностирована прогрессирующая холангиокарцинома с метастазами в печени, брюшине и в лимфоузлах вокруг аорты и с небольшими узелками в легких. В июне была сделана биопсия печени, которая показала вероятно слабо дифференцированную холангиокарциному с некоторыми признаками первичного поражения печени. В июле 2013 г. начата химиотерапия с гемцитабином и цисплатином, и было проведено 6 циклов с некоторым перерывом в цикле 5 из-за появления нейтропического сепсиса.

К сожалению, хотя промежуточное сканирование показало частичный ответ, однако после лечения КТ, проведенная 28 ноября 2013 г. указывала на прогрессирующее заболевание со стабильным поражением печени, но с увеличением размера метастазов в легких и некоторых новых перитонеальных отло-

жений. Кроме того, пациентка имела, как известно, литическое поражение грудины.

3 января 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 750 мг/м² еженедельно, и было проведено 4 цикла. По окончании цикла 2 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST. По окончании цикла 4 сканирование указывало на прогрессирующее заболевание, и пациентка была исключена из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (3 месяца).

Пациент 036 с карциномой почек: Стабильное заболевание.

Мужчина (20 лет).

В декабре 2012 г. была диагностирована медуллярная почечноклеточная карцинома. С января по июль 2013 г. было проведено 5 циклов лечения гемцитабином+паклитакселом+карбоплатином, что приводило к стабилизации заболевания во время лечения. Пациент делал перерывы в лечении из-за тромбоцитопении и нейтропении, которые требовали введения G-CSF. После рецидива в июле 2013 г. было проведено лечение гемцитабином+доксорубицином, но по окончании 2 циклов в сентябре 2013 г. заболевание прогрессировало.

28 января 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и было проведено 4 цикла. Во время цикла 1 пациент испытывал усталость и утомление. Прием лоразепама был прекращен, и пациент испытывал возрастающее чувство тревоги. Он сообщил, что он гораздо лучше перенес лечение NUC-1031, чем лечение по предыдущей схеме. По окончании цикла 4 КТ указывала на устойчивое стабильное заболевание со снижением объема опухоли на 7%. По окончании цикла 5 на день 1 у него развивалась тромбоцитопения (G3), и доза была снижена до 750 мг/м². По окончании цикла 5 на день 8 у пациента появилась усталость, потеря аппетита и нежелание проходить любое последующее лечение. Пациент был исключен из программы испытаний из-за прогрессирования заболевания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (5 месяцев).

Пациентка 037 с раком поджелудочной железы: Частичный ответ.

Женщина (70 лет)

В марте 2013 г. диагностирована аденокарцинома поджелудочной железы. Процедура Уиппла была запланирована на 26 марта 2013 г., но из-за обширных спаек рак был признан неоперабельным, а поэтому была проведена только биопсия. Резекция клиновидной части печени подтвердила наличие метастазов. Гистология показала умеренно дифференцированную аденокарциному. Пациентке было проведено 6 циклов лечения гемцитабином с мая по октябрь 2013 г. В ноябре 2013 г. КТ предположительно указывала на частичный ответ опухоли поджелудочной железы, но с новыми метастазами в латеральной левой доле печени.

4 февраля 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 1000 мг/м² еженедельно, и с этой дозой был проведен 1 цикл. В это время специалисты DSMC решили уменьшить дозу для всех пациентов в этой группе до 900 мг/м² из-за DLT у одного пациента (пациент 039). Пациентке был проведен еще один цикл с новой дозой. По окончании цикла 2 КТ показала стабильное заболевание по оценке RECIST с уменьшением объема опухоли на 18,4%.

Боль в животе и спине значительно уменьшилась; пациентка принимала оксиконтин в дозе 80 мг два раза в день и больше не принимала морфин. Также наблюдалось очень заметное снижение маркеров опухоли: СА19.9 от исходного уровня 15000 до 4000 и СЕА от исходного уровня 536 до 42. После каждого цикла серьезной проблемой стала усталость. 29 апреля 2014 г. КТ показала дальнейшее сокращение объема опухоли на 30%, в результате чего достигался частичный ответ по оценке RECIST. У пациентки наблюдались потеря аппетита и сильная усталость, а поэтому она была исключена из испытания.

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

Пациентка 038 с раком яичника: Прогрессирующее заболевание.

Женщина (65 лет).

В 2000 году была диагностирована рецидивирующая серозная аденокарцинома яичника на стадии 3с 3-й степени. В ноябре 2000 г. прошла полную абдоминальную гистерэктомию с билатеральным удалением придатков матки и яичников и хирургическую операцию по удалению массы опухоли, после чего наблюдалось минимальное остаточное заболевание. До марта 2001 г. ей было проведено 6 циклов лечения карбоплатином+паклитакселом 3 раза в неделю. После рецидива в 2002 году проводили 6 циклов лечения карбоплатином+этопозидом до полной ремиссии в марте 2003 г.. После рецидива в 2005 году ей была сделана еще одна хирургическая операция по удалению опухоли, а затем было проведено 6 циклов лечения карбоплатином+гемцитабином, которые закончились в июле 2006 года с полным ответом. После рецидива в 2009 году ей потребовалась дополнительная хирургическая операция по удалению основной массы опухоли, включая спленэктомию. Затем было проведено 6 циклов лечения карбоплатином+целиксом и наблюдался полный ответ. В 2010 году появился рецидив в правой части таза возле сосудов в правой внешней части подвздошной кишки, и этот рецидив был признан неоперабельным. Пациентке было проведено 6 циклов лечения карбоплатином и паклитакселом, которые были завершены в апреле 2011 г. с частичным ответом. В октябре 2011 г. у нее наблюдалось прогрессирование заболевания, а поэтому было проведено 6 циклов лечения топотеканом до марта 2012 г., после чего заболевание становилось стабильным. В это время пациентке встраивали стент в правую уретральную область из-за гид-

ронефроза. В июне 2012 года, после дальнейшего прогрессирования заболевания с новыми билатеральными метастазами в легких, было начато еженедельное лечение карбоплатином+паклитаксолом+бевацизумабом до марта 2013 г., а затем проводили поддерживающую терапию бевацизумабом+летрозолом до сентября 2013 г. После этого проводили 3 цикла лечения циклофосфамидом+бевацизумабом, но промежуточное сканирование показало прогрессирующее заболевание, и 11 ноября 2013 г. лечение было прекращено.

Правый уретральный стент был удален в январе 2014 г.

4 марта 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, и было проведено 2 цикла. Из-за усталости начало введения основных токсических веществ было отложено на 3-4 дня. Сканирование в конце цикла 2 показало прогрессирующее заболевание с увеличением объема опухоли на 25%. Пациентка была исключена из испытания.

Прогрессирующее заболевание.

Пациентка 040 с холангиокарциномой: Стабильное заболевание.

Женщина (69 лет).

В мае 2013 г. была диагностирована внутривенная холангиокарцинома 2 степени с опухолевой массой печени 11 см, вызывающей обструкцию общего желчного протока и желтуху. Пациентке был вставлен билиарный стент. С августа по декабрь было проведено 7 циклов лечения гемцитабином+цисплатином.

20 февраля 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 1000 мг/м² еженедельно, и пациентка получила 1 дозу. 27 февраля, т.е. на день 8 цикла 1 наблюдались лихорадка, озноб и повышенный билирубин. После госпитализации и обнаружения источника инфекции (G3) был встроен стент, блокирующий опухоль и кисты желчных путей. Два новых стента работали хорошо. Цикл 1 был проведен с 900 мг/м² из-за DLT в этой группе. Было проведено 3 цикла. По окончании цикла 2 23 мая КТ показала стабильное заболевание по оценке RECIST с небольшим уменьшением объема опухоли от исходного 85 до 82,1. На 4 июня количество СА 19,9 снизилось с исходного 664 до 155. В июне 2014 г. пациентка была госпитализирована с делирием, и у нее была диагностирована инфекция мочевых путей. Дальнейшее обследование также выявило прогрессирующее заболевание печени. Пациентка была исключена из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (4 месяца).

Пациентка 041 с раком молочной железы: Стабильное заболевание.

Женщина (54 года).

Была диагностирована метастазирующий инвазивный рак протоков молочной железы (ER- и PR-положительный) с метастазами в билатеральных подмышечных лимфоузлах, в легких и в печени. Затем было проведено лечение: 3 цикла - FEC, 9 циклов - паклитаксолом, 8 циклов - капецитабином, 3 цикла - эврибутином и 1 доза гемцитабина+карбоплатина. Последнюю дозу химиотерапии пациентка получала 19 декабря 2013 г., и последняя КТ до включения в программу испытаний показала прогрессирующее заболевание.

18 марта 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, и было проведено 3 цикла. После проведения цикла 1 на день 8 и день 15 было сделано два перерыва в лечении из-за нейтропении, которая затем спонтанно исчезла через одну неделю. По окончании цикла 2 КТ показала стабильное заболевание по оценке RECIST. 19 мая 2014 г. число опухолевых маркеров СА 15.3 увеличивалось от исходного значения 726 до 845 в цикле 2 (C2) и на 19 мая 2014 г. составляло 824 (ранее этот опухолевый маркер всегда был самым надежным показателем ответа). Во время цикла 3 пациентка жаловалась на усталость (G3), и прием опиоидов был значительно сокращен. Дозу NUC-1031 уменьшали до 825 мг/м² во время цикла 4. По окончании цикла 4 сканирование показало прогрессирующее заболевание с увеличением участков поражения и с появлением новых костных поражений. Пациентка была исключена из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (4 месяца).

Пациент 042 с холангиокарциномой: Прогрессирующее заболевание.

Мужчина (48 лет).

В январе 2013 г. была диагностирована метастазирующая холангиокарцинома. В феврале 2013 г. была сделана частичная гепатэктомия. Затем пациент был включен в программу обследования в испытании BILCAP (эта программа включала сравнение результатов терапии капецитабином с результатами, наблюдаемыми после хирургической операции по поводу рака желчных путей). После обнаружения прогрессирования заболевания начали вводить гемцитабин и цисплатин × 6 циклов. В ноябре 2013 г. наблюдалось дальнейшее прогрессирование заболевания, и пациенту начали вводить капецитабин. Однако это лечение было прекращено через два месяца из-за стенокардии. При дальнейшем прогрессировании заболевания начинали вводить 5FU × 6 недель, но заболевание прогрессировало с метастазами в легкие, печень и кости.

Последнее лечение проводили в январе 2014 г. 20 января 2014 г. была проведена паллиативная лучевая терапия для ослабления боли, вызываемой метастазами в кости правого плеча.

18 марта 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, и проводили 2 цикла.

На дни 3-5 после введения исследуемого препарата делали перерыв в лечении из-за жалоб на усталость (G2). По окончании цикла 2КТ показала 9% уменьшение объема опухоли в первичном участке поражения, но появление новых поражений в легких и кости. Пациент был исключен из испытания. Прогрессирующее заболевание.

Пациентка 043 с раком яичника: Стабильное заболевание.

Женщина (54 года).

Был диагностирован папиллярный серозный перитонеальный рак на стадии 4 3-й степени. В сентябре 2007 г. пациентка прошла полную абдоминальную гистерэктомию с билатеральным удалением придатков матки и яичников и оментэктомию. Затем ей было проведено 4 цикла лечения карбоплатином+паклитакселом и 2 цикла только карбоплатином из-за невропатии, и этот курс лечения завершали в январе 2008 г. В апреле 2011 г. пациентке была сделана вторая хирургическая операция по удалению основной массы рецидивирующей опухоли таза. Пациентка не дала согласия на проведение адъювантной химиотерапии или лучевой терапии. В июле 2012 г. снова наблюдался рецидив заболевания, и был вставлен стент для устранения гидронефроза. В августе 2012 г. наблюдался рецидив заболевания, и пациентка начала вводить карбоплатин+гемцитабин. В марте 2013 г. КТ выявила прогрессирование заболевания, и в октябре 2013 г. пациентке было проведено 6 циклов лечения целиксом. В начале 2014 года наблюдалось прогрессирование заболевания с плевральными выпотами, в результате чего потребовался регулярный дренаж.

20 марта 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, и было проведено 6 циклов. 7 апреля 2014 г. было проведено ПЭТ-сканирование, которое указывало на стабильное заболевание и SUV в некоторых опухолях снижался. Количество СА125 1.099 снижалось с исходного значения до 783 в начале цикла 2. Объем жидкости из плеврального выпота также уменьшился (с 300 мл в неделю до 150 мл в неделю). На дни 4 и 5 и на стадии G1 во все другие периоды времени делали перерыв в лечении из-за жалоб на усталость (G2). По окончании цикла 6 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST при общем 10% сокращении объема опухоли по сравнению с исходным. 15 июля число СА125 снижалось от исходного 1099 до 910. По просьбе пациентки из чувства сострадания лечение продолжили. В 7 цикле дозу уменьшили до 750 мг/м² и провели еще 1 цикл. На G3 развивался отек ноги, при этом заболевание не прогрессировало, но был предпринят поиск новых вариантов лечения, и пациентка была исключена из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (13 месяцев).

Пациентка 044 с раком легких: Стабильное заболевание.

Женщина (64 года).

В феврале 2010 г. была диагностирована аденокарцинома легких (левой нижней доли) после жалоб на непрекращающийся кашель в течение 7 месяцев. В период с января 2011 г. по апрель 2012 г. пациентка получала гефитиниб 250мг, но заболевание прогрессировало. С апреля 2012 г. по ноябрь 2012 г. пациентка получала афатиниб (но доза была снижена из-за токсического воздействия препарата на кожу), но заболевание продолжало прогрессировать. С ноября 2012 г. по июнь 2013 г. пациентка получала эрлотиниб после обострения кашля и прогрессирования первичного поражения. В июне 2013 г. наблюдалось нарушение зрения и черные тени в левом глазу, и были обнаружены хороидальные метастазы, после чего пациентке проводили лучевую терапию на обоих глазах, и зрение улучшалось. В июне 2013 г. было начато проведение 6 циклов лечения пеметрекседом+карбоплатином, а затем, когда было диагностировано прогрессирующее заболевание, проводили поддерживающую терапию пеметрекседом до 6 февраля 2014 г.

27 марта 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, и было проведено 2 цикла. 19 апреля на стадии G3 была обнаружена инфекция легких, которая хорошо поддавалась лечению антибиотиками. Затем начали цикл 2 с уменьшенной дозой 825 мг/м² и проводили еще 2 цикла. По окончании цикла 2 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST с уменьшением объема опухоли на 10%. Лечение 2 раза прерывали для дренажа асцита и еще два раза для устранения тромбоцитопении. По окончании цикла 4 сканирование указывало на прогрессирующее заболевание с метастазами в легких и с новыми метастазами в печень. Пациентка была исключена из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (5 месяцев).

Пациент 046 с карциномой коры надпочечников: Стабильное заболевание.

Мужчина (36 лет)

В августе 2011 г. была диагностирована аденокортикоидная карцинома большого размера, 20×19×9 см. Число митотических клеток Ki 67 составляло 35-40%, а поле зрения составляло 25/50 по оценке Вейса 6 с опухолью, расширяющейся на 0,3 мм от внешней границы, но без поражения почек. Пациент получил адъювантную терапию митотаном до января 2012 г., но затем терапию прекращали из-за тошноты и диареи. Введение митотана возобновили в июне 2012 г. В июне 2013 г. наблюдался рецидив с новыми метастазами в печени, и начали вводить этопозид+карбоплатин.

В сентябре 2013 г. поэтапная КТ указывала на различные ответы, но в целом, на стабильное заболевание, и пациенту проводили еще 3 цикла, после чего заболевание оставалось стабильным до ноября 2013 г. В январе 2014 г. наблюдалось прогрессирующее заболевание печени.

16 апреля 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 1000 мг/м² еженедельно и проводили 1 цикл. Во время 1-го цикла испытания делали перерыв в лечении из-за усталости, тошноты и рвоты у пациента (все на стадии G3). Во время цикла 2 доза была уменьшена до 900 мг/м², и с этой дозой было проведено еще 5 циклов до завершения испытания. По окончании цикла 6 КТ указывала на уменьшение объема опухоли на 12,6% по сравнению с исходным уровнем. По просьбе пациента из чувства сострадания испытание продолжили, и было проведено еще 3 цикла. После проведения цикла 8 на D1 наблюдались усталость (G3) и нейтропения (G2), и дозу уменьшали до 750 мг/м² в течение цикла 8, а затем проводили еще 2 цикла. Хотя на стадии G1 наблюдалось улучшение, однако усталость сохранялась, а также появлялись тошнота и рвота, а поэтому на C11 доза была снижена до 625 мг/м². Было введено еще две дозы. Пациент был исключен из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (11 месяцев).

Пациентка 048 с раком яичника: Стабильное заболевание.

Женщина (63 года).

В 2000 году была диагностирована опухоль зернистых клеток яичника на стадии 1a, и пациентка прошла полную абдоминальную гистерэктомию с билатеральным удалением придатков матки и яичников и оментэктомию. После рецидива в феврале 2004 г. было начато 3 цикла лечения БЭЦ (блеомицином+этопозидом+цисплатином), но заболевание прогрессировало. Вторичное иссечение опухоли проводили в июле 2004 г.

В июне 2006 г. была проведена частичная гепатэктомия, спленэктомия и удаление отложений из желудка и брюшной полости. Затем проводили радиочастотную абляцию для удаления отложения в печени. В сентябре 2008 г. были сделаны лапаротомия и резекция четырех дополнительных метастатических отложений. В марте 2009 г. начинали лечение карбоплатином+паклитакселом 3 раза в неделю со смешанным ответом. 12 мая 2009 г. лечение меняли на еженедельное введение карбоплатина+низкой дозы паклитаксела. В октябре 2009 г. анализ на PR и CA-125 был отрицательным. В октябре 2011 г. проводили дополнительную хирургическую операцию по удалению массы опухоли, но наблюдались осложнения, требующие длительного пребывания в Отделении интенсивной терапии (ОИТ). В апреле 2014 г. КТ указывала на увеличение размера поражения в сегменте 8 печени, на новые небольшие перитонеальные метастазы в желудочно-печеночной связке и некоторые новые лимфаденопатии небольшого объема в брыжейке тонкого кишечника и дополнительные небольшие отложения в перитонеальной области таза вокруг ректально-сигмовидного сочленения.

29 апреля 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 1000 мг/м² еженедельно, и пациентка получила 1 дозу. После цикла 1 на день 1 наблюдались ALT (G3, DLT); AST и нейтропения (G2); ALP (G1). Дозу уменьшали до 900 мг/м² в течение цикла 1 на день 8. На дни 8 и 15 уровни ALT возвращались до уровня на G3. Во время цикла 2 доза была снижена до 825 мг/м². По окончании цикла 1 результаты ПЭТ-сканирования указывали на стабильное заболевание и снижение в SUV на участках поражения. В январе 2014 г. уровень ингибина В составлял 430 и увеличивался до 1038 еще до начала испытаний. В июле 2014 г. уровень ингибина В стабилизировался до 1106, в августе до 1148 и в сентябре до 1053. Во время цикла 4 на день 15 доза была снижена до 750 мг/м² из-за нейтропении (G3), несмотря на введение G-CSF. Испытание завершали с этой дозой. По окончании цикла 6 КТ на 11 ноября подтвердило стабильное заболевание по оценке RECIST. По просьбе пациентки из чувства сострадания испытание продолжали. Из-за диареи, возникающей после каждой дозы, цикл 7 начинали со сниженной дозы 625 мг/м². В это время наблюдалась эмболия, близкая к линии Хикмана, и, несмотря на восприимчивость к клексану, пациент был исключен из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (8 месяцев).

Пациентка 050 (202) с раком пищевода: Прогрессирующее заболевание.

Женщина (41 год).

В ноябре 2013 г. была диагностирована плоскоклеточная карцинома пищевода на 4-й стадии с метастазами в печени. С декабря 2013 г. по апрель 2014 г. было проведено 6 циклов лечения цисплатином+капецитабином. Сканирование, проведенное после лечения, указывало на прогрессирующее заболевание и на новые отложения в легких.

21 мая 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, и было проведено 3 цикла. После цикла 1 на день 1 наблюдалось наличие ALT и усталости, и то и другое на G3, а поэтому во время цикла 1 на день 8 дозу снижали. По окончании цикла 2 сканирование показало прогрессирование заболевания, хотя оставалась неопределенность в отношении некоторых базовых поражений.

Поскольку у пациентки наблюдался клинический эффект со снижением дисфагии, то было принято решение провести еще один цикл. По окончании цикла 3 сканирование подтвердило прогрессирование заболевания, и пациентка была исключена из испытания.

Прогрессирующее заболевание.

Пациентка 051 (203) с раком заднего прохода: Прогрессирующее заболевание.

Женщина (51 год).

В октябре 2013 г. была диагностирована метастазирующая плоскоклеточная карцинома заднего прохода. С октября 2013 г. по март 2014 г. после проведения 6 циклов лечения цисплатином+5-FU, опу-

холь прогрессировала.

3 июня 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, и было проведено 2 цикла. При проведении цикла 2 потребовалось переливание крови, но пациентка перенесла лечение хорошо. По окончании цикла 2 КТ указывала на прогрессирующее заболевание.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 052 (204) с раком пищевода: Стабильное заболевание.

Мужчина (66 лет).

В декабре 2012 г. был диагностирован рак пищевода стадии IV. С января 2013 г. по июль 2013 г. пациент получал FOX с частичным ответом. В апреле 2014 г. болезнь прогрессировала. Затем в пищевод был установлен стент.

10 июня 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно и проводили 1 цикл. Из-за усталости пациента доза была снижена до 825 мг/м² в течение цикла 2 с хорошим эффектом.

Было проведено еще 2 цикла с этой дозой. По окончании цикла 2 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST. У пациента продолжались боли в костях, но сканирование показало, что это не было связано с заболеванием. Наблюдалось обострение дисфагии. 10 ноября, по окончании цикла 4, КТ указывала на прогрессирование заболевания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (5 месяцев).

Пациентка 053 (205) с раком толстой кишки: Прогрессирующее заболевание.

Женщина (31 год).

В 2008 году была диагностирована аденокарцинома толстой кишки T3 N1 M0. В 2009 году были проведены резекция и 12 циклов лечения FOLFOX. После прогрессирования заболевания в 2011 году, было проведено 13 циклов лечения FOLFIRI (из них 6 циклов включали авастин). При дальнейшем прогрессировании в 2012 году было проведено 12 циклов лечения FOLFIRI (из них 6 циклов включали авастин). В январе 2014 г. наблюдалось дальнейшее прогрессирование заболевания с метастазами в легкие и позвоночник. Затем проводили лучевую терапию позвоночника.

12 июня 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, и был проведен 1 цикл. У пациентки наблюдался ряд инфекций, и потребовалась дефункционирующая илеостомия. После нескольких перерывов в лечении проводили цикл 2 на день 15, и по окончании цикла 2 КТ указывала на прогрессирующее заболевание с новыми поражениями в легких и печени.

Прогрессирующее заболевание.

Пациентка 055 (207) с раком яичника: Стабильное заболевание.

Женщина (42 года).

В январе 2002 г. была диагностирована папиллярная серозная аденокарцинома яичника на стадии 2с 1-й степени. В июне 2002 года пациентка прошла полную абдоминальную гистерэктомию с билатеральным удалением придатков матки и яичников и оментектомиию с 6 циклами адьювантной терапии карбоплатином+паклитакселом.

В январе 2012 г. был диагностирован новый первичный рак брюшины на стадии 3с 3-й степени с поражением ректально-сигмовидного сочленения. Затем была проведена задняя эвисцерация, включающая резекцию слепой кишки, прямой кишки и сигмовидной кишки, а также оментектомию и удаление перитонеальной жидкости. С марта по август 2012 г. было проведено 6 циклов адьювантной терапии карбоплатином+паклитакселом.

В январе 2013 г после рецидива заболевания проводили 6 еженедельных циклов лечения паклитакселом до мая 2013 г. В октябре 2013 г. после дальнейшего прогрессирования заболевания проводили 3 еженедельных цикла лечения паклитакселом+карбоплатином+ингибитором АКТ ежедневно по программе испытания AKTRES. В мае 2014г. КТ указывала на новые поражения и прогрессирующее заболевание.

2 июля 2014 г начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, и был проведен 1 цикл. Во время цикла 2 доза была уменьшена до 825 мг/м² по причине усталости пациентки, и было проведено еще 4 цикла. После химиотерапии наблюдалась тошнота и рвота, а поэтому во время цикла 6 дозу уменьшали до 625 мг/м² и проводили еще один цикл. 16 декабря 2014 г., по окончании цикла 6, КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST со снижением объема опухоли на 18% от исходного уровня. СА 125 у пациентки сначала составлял 36 и доходил до 24 в январе 2015 г. Испытание было завершено, но по просьбе пациентки из чувства сострадания испытание продолжали. Затем проводили еще 2 цикла в рамках Программы оказания помощи пациенту во время испытаний без побочных эффектов. Пациентка была исключена из испытания, поскольку ей необходимо было далеко уехать, и она попросила о перерыве.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (10+ месяцев).

Пациентка 057 (209) с раком яичника: Стабильное заболевание.

Женщина (58 лет).

В октябре 2011 г. был диагностирован серозный рак яичника на стадии 3с 3-й степени. Затем было проведено 3 цикла неадьювантной терапии карбоплатином+таксол, но во время цикла 3 появилась аллергия на таксол. 21 декабря 2011 г. была проведена задняя эвисцерация, удаление опухоли яичника,

резекция передней части с первичным анастомозом и оментэктомией. В марте 2012 г. было проведено 3 цикла лечения карбоплатином+доцетакселом. В июне 2013 г. заболевание рецидивировало, и было проведено 6 циклов лечения карбоплатином+целиксом до ноября 2013 г. В феврале 2014 г. КТ указывала на рецидивирующее заболевание, и с марта по июнь 2014 было проведено 3 цикла лечения карбоплатином+гемцитабином.

9 июля 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 900 мг/м² еженедельно, и было введено 2 дозы. 30 июля во время цикла 1 на день 15 наблюдалась анемия и асцит, и то и другое на G3.

Во время цикла 2 доза была уменьшена до 825, и было проведено еще 2 цикла. По окончании цикла 4 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST с уменьшением объема опухоли на 10% от исходного уровня.

Был проведен дренаж плевры и через каждую неделю брали приблизительно 1000 мл очень кровянистой жидкости. Затем в день 1 цикла 4 дозу снижали до 750 мг/м² из-за усталости пациентки и проводили еще один цикл. Количество абдоминальной жидкости увеличивалось. Пациентка была исключена из испытания из-за прогрессирования заболевания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (5 месяцев).

Пациент 058 (210) с раком легких: Стабильное заболевание.

Мужчина (54 года).

В январе 2014 г. была диагностирована метастазирующая немелкоклеточная аденокарцинома легких с метастазами в лимфоузлы и кости.

Было проведено 3 цикла лечения цисплатином и пеметрекседом с ответом в виде стабильного заболевания. В марте 2014 г. была начата поддерживающая терапия пеметрекседом, и было проведено 4 цикла по апрель 2014 г. В мае 2014 г. наблюдалось прогрессирование заболевания с билатеральными метастазами в легкие и была введена еще 1 доза пеметрекседа.

14 июля 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и был проведен 1 цикл. На день 15 цикла 1 был сделан перерыв на одну неделю из-за трансамината G3 (ALT), DLT, и доза была снижена до 750 мг/м². Однако некоторое увеличение уровня ферментов в печени могло быть связано с врожденной болезнью печени. Затем был проведен еще 1 цикл с дозой 750 мг/м². По окончании цикла 4 КТ указывала на прогрессирующее заболевание с новыми поражениями костей.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (4 месяца)

Пациентка 059 (211) с раком шейки матки: Стабильное заболевание.

Женщина (52 года).

В декабре 2012 г. была диагностирована плоскоклеточная карцинома шейки матки на стадии IV. В феврале 2013 г. была проведена химиотерапия карбоплатином+таксолом, которую прекращали из-за токсического действия, в частности, таксола (сыпь и зуд). С марта 2013 г. по июль 2013 г. было проведено 6 циклов лечения цисплатином+топотеканом, в результате чего было достигнуто стабильное заболевание. В октябре 2013 г. КТ показала прогрессирование заболевания. Пациентке было проведено 10 курсов лучевой терапии таза в дозе 30 Гр, которая была завершена в ноябре 2013 г. В декабре 2013 г. было начато лечение гемцитабином+карбоплатином и было проведено 3 цикла. Однако в феврале 2014 г. промежуточная КТ указывала на прогрессирование заболевания.

24 июля 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и был проведен 1 цикл. На день 15 цикла 1 был сделан перерыв на 1 неделю из-за тромбоцитопении (G3). Во время цикла 2 дозу уменьшали до 750 мг/м², и было проведено еще 2 цикла. По окончании цикла 4 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST. Из-за усталости (G3), наблюдаемой во время цикла 3, для цикла 4 дозу уменьшали до 625 мг/м², что давало хороший эффект. Затем было проведено еще 2 цикла с этой дозой. Стенты, вставленные в мочевые пути, оказались очень неудобными для пациентки, и в январе 2015 их заменили. Во время цикла 6 пациентка жаловалась на сильную усталость, и была исключена из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (7 месяцев).

Пациент 060 (212) с раком поджелудочной железы: Прогрессирующее заболевание.

Мужчина (83 года).

В январе 2014 г. был диагностирован метастазирующий рак поджелудочной железы (умеренно дифференцированная аденокарцинома) с множественными метастазами в печень. С января по июнь 2014 г. пациенту проводили паллиативную химиотерапию по программе испытания Maestro (гемцитабин в дни 1, 8 и 15 и активированный гипоксией TH302), но заболевание прогрессировало.

5 августа 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и был проведен 1 цикл. 10 сентября наблюдались ALP, AST, ALT, все на стадии G3. Затем потребовался новый стент. На 1 октября, после перерыва в лечении, цикл 2 завершали. КТ указывала на прогрессирующее заболевание с новыми поражениями в печени.

Прогрессирующее заболевание.

Пациентка 061 (213) с раком прямой и ободочной кишки: Стабильное заболевание.

Женщина (53 года).

В 2012 году был диагностирован рак толстой кишки. Была сделана хирургическая операция, вклю-

чающая билатеральное удаление придатков матки и яичника, оментэктомии и илеостомии петли. С января по июль 2013 г. было проведено 12 циклов лечения FOLFOX. В апреле 2014 г. после рецидива заболевания было проведено 8 циклов лечения FOLFIRI и цетуксимабом с апреля по июль 2014 г. После проведения всех курсов химиотерапии у пациентки была сильная тошнота и рвота.

11 августа 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и было проведено 4 цикла. Во время лечения тошноты или рвоты не наблюдалось. По окончании цикла 2 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST с уменьшением объема опухоли на 2%. По окончании цикла 4 КТ указывала на прогрессирующее заболевание с новыми поражениями селезенки и печени.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (3 месяца).

Пациентка 063 (215) с раком яичника: Стабильное заболевание.

Женщина (78 лет).

В мае 2011 г. была диагностирована рецидивирующая меланома вульвы (по уровню Кларка 4) и, одновременно с этим, рак яичника на стадии 3b. С августа по сентябрь 2011 г. было проведено 3 цикла лечения карбоплатином+паклитакселом, после чего проводили промежуточную хирургическую операцию по удалению опухоли, включающую полную абдоминальную гистерэктомию с билатеральным удалением придатков матки и яичников и оментэктомии. Затем пациентке проводили еще 3 цикла терапии карбоплатином+паклитакселом, и это лечение завершали в ноябре 2011 г. С сентября 2013 г. по февраль 2014 г. после прогрессирования заболевания начали 6 циклов лечения гемцитабином+карбоплатином+авастином. Затем, с апреля по июнь 2014 г. было проведено 2 цикла лечения целиксом.

27 августа 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и был проведен 1 цикл. На день 15 цикла 2 дозу уменьшали до 750 мг/м² из-за анемии и нейтропении и проводили еще 2 цикла. По окончании цикла 2 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST. На день 1 цикла 4 дозу уменьшали до 625 мг/м² из-за усталости (G3), которую испытывала пациентка во время цикла 3. При этом наблюдалась персистентная одышка. Пациентка была исключена из испытания.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (3 месяца).

Пациентка 064 (216) с трофобластным раком: Прогрессирующее заболевание.

Женщина (38 лет).

В июне 2011 г. была диагностирована рецидивирующая смешанная опухоль плаценты и эпителиоидная трофобластная опухоль стадии 3 (PSTT/ETT). После радикальной гистерэктомии и взятия образцов лимфоузлов проводили адьювантную химиотерапию паклитакселом+цисплатином, а затем паклитакселом+этопозидом с июня по октябрь 2011 г., после чего в ноябре 2011 г. делали хирургическую операцию по удалению просачивания лимфы, а в феврале 2012 г. осуществляли билатеральную имплантацию мочеоточника.

В феврале 2013 г. проводили операцию по удалению левого яичника и резекцию мочевого пузыря после рецидива серозного заболевания и с марта по июль 2013 г. проводили адьювантную химиотерапию с высокой дозой этопозидом, после чего делали трансплантацию аутологичных стволовых клеток. В январе 2014 г. проводили экзентерацию задней части, включающую резекцию верхнего влагалища, прямой кишки и мочевого пузыря, удаление левого яичника, переднего влагалища, брыжеечного узелка и правого мочеоточника. С февраля по май 2014 г. было проведено 5 циклов лечения пеметрекседом+карбоплатином. Из-за повышения уровней HCG это лечение заменили на лечение гемцитабином+карбоплатином. Было проведено 2 цикла, но промежуточная КТ показала поражение левой нижней доли легкого, которое рассматривалось как неоперабельное.

3 сентября 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и было проведено 2 цикла. По окончании цикла 2 КТ указывала на прогрессирующее заболевание с увеличением поражений в легких и в брюшине.

Прогрессирующее заболевание.

Пациент 066 (218) с раком прямой и ободочной кишки: Стабильное заболевание.

Мужчина (65 лет).

В мае 2011 г. была впервые диагностирована умеренно дифференцированная аденокарцинома сигмовидной толстой кишки pT4b pN0. В ноябре 2011 г. была проведена резекция передней части, а в январе 2012 г. была начата химиотерапия FOLFOX. После проведения 3 циклов наблюдалась периферическая невропатия, а поэтому это лечение заменяли на монотерапию 5-FU. Кроме того, возникли проблемы, связанные с перерывами из-за диареи и недомогания. После 3-месячного лечения 5-FU в июле 2012 г. наблюдался стабильный, но смешанный ответ в виде продуцирования маркеров по КТ. До мая 2013 г. ответ на лечение оставался стабильным, но затем КТ указывала на прогрессирование заболевания с увеличением уровней опухолевых маркеров в два раза. Затем снова начали лечение 5-FU+авастином, которое было завершено в октябре 2013 г. Лечение осложнялось многочисленными госпитализациями по поводу инфекций и болей в грудной клетке. С марта по июль 2014 г. было проведено 8 циклов лечения цетуксимабом. КТ указывала на прогрессирование заболевания, и это лечение было заменено на лечение 5-FU+авастином. В июне 2014 г. была проведена лапаротомия и разделение спаек, образующихся в результате метастазирующих отложений в брюшине пациента. Затем проводили еще один цикл лечения

авастином, но из-за увеличения уровней СЕА лечение было прекращено. Такое лечение вызывало много сопутствующих заболеваний, таких как ХОБЛ, ишемическая болезнь сердца и застойная сердечная недостаточность.

16 сентября 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и было проведено 2 цикла. Из-за усталости, наблюдаемой во время цикла 3, дозу уменьшали до 750 мг/м² и проводили еще 1 цикл. По окончании цикла 2 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST.

Пациент был два раза госпитализирован по поводу осложнений грыжи, что привело к перерыву в лечении. 30 декабря была проведена внеплановая КТ, которая указывала на стабильное заболевание с уменьшением объема опухоли на 16% от исходного объема. Из-за усталости пациента цикл 4 проводили с дозой, которая была дополнительно снижена до 625 мг/м². Затем был проведен еще 1 цикл с этой дозой без каких-либо побочных эффектов. Во время цикла 5 пациент был госпитализирован с острой болью в спине, вызванной старым переломом (не связанным с испытанием). После обследования была показана хирургическая операция. Пациент был исключен из испытания из-за перерыва в лечении.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (8+ месяцев).

Пациент 067 (219) с остеосаркомой: Стабильное заболевание.

Мужчина (38 лет).

В мае 2011 г. была диагностирована 24 февраля 2012 г. (?) остеосаркома правой проксимальной большеберцовой кости.

С февраля по ноябрь 2012 г. было проведено 6 циклов лечения цисплатином+доксорубицином+метотрексатом. В ноябре 2012 г. была проведена замена проксимальной большеберцовой кости, а затем была проведена химиотерапия мифамуртидом в течение 6 месяцев. В августе 2014 г. КТ указывала на метастазирующее рецидивирующее заболевание с новыми поражениями в легких и в перикарде ниже ВПВ и рядом с правым предсердием.

30 сентября 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и было проведено 5 циклов. По окончании цикла 4 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST. В конце каждого цикла наблюдалась тенденция к развитию нейтропении G2, но затем число клеток быстро возвращалось на исходный уровень. Испытание было завершено 3 марта 2015 г. У пациента была хорошая переносимость исследуемого препарата. КТ-сканирование указывало на стабильное заболевание по оценке RECIST с увеличением числа эозинофилов (EOS) на 1% по сравнению с исходным уровнем. Сканирование также показало значительную кальцификацию опухоли. По просьбе пациента из чувства сострадания испытание исследуемого препарата было продолжено и было завершено на С7 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. Это поражение, которое имело четкие границы с нормальной окружающей тканью, было полностью удалено. Пациент хорошо восстанавливался после операции.

Стабильное заболевание по оценке RECIST (7+ месяцев).

Пациент 068 (220) с раком легких.

Мужчина (60 лет).

В мае 2011 г. была диагностирована немелкоклеточная карцинома правого легкого T3 N3 M1b (аденокарцинома) с EGFR дикого типа, в феврале 2013 г. (?). С февраля по декабрь 2013 г. было проведено 10 циклов лечения пеметрекседом и цисплатином, а затем была проведена паллиативная лучевая терапия грудной клетки. С января по май 2014 г. пациент был включен в программу испытания POPLAR с введением доцетаксела.

3 октября 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и было проведено 2 цикла. По окончании цикла 2 КТ указывала на прогрессирующее заболевание. Пациент был исключен из испытания.

Прогрессирующее заболевание.

Пациентка 069 (221) с раком прямой и ободочной кишки.

Женщина (45 лет).

8 мая 2011 г. был диагностирован рак прямой и ободочной кишки. В августе 2011 г. была проведена неоадьювантная терапия капецитабином вместе с лучевой терапией, а затем в декабре 2011 г. проводили хирургическую операцию по удалению первичной опухоли. С января по июль 2012 г. проводили адьювантную терапию FOLFOX. В апреле 2013 г. наблюдался локальный рецидив в легком, который был удален. В июле 2013 г. был обнаружен рецидив в правой затылочно-теменной области, и этот рецидив был удален вместе с некоторыми кожными и подкожными опухолевыми отложениями. С сентября 2013 года было начато лечение цетуксимабом и FOLFIRI, а затем до сентября 2014 г. проводили поддерживающую терапию цетуксимабом. В сентябре 2014 г. метастазы в головном мозге удаляли с помощью гамма-ножа. Неврологические симптомы отсутствовали.

9 октября 2014 г. начинали вводить NUC-1031 в дозе 825 мг/м² еженедельно, и было проведено 3 цикла. ПЭТ-сканирование на 30/10 показало частичный ответ. В ходе предварительного обследования перед С2 число кожных и подкожных метастазов значительно снижалось либо они почти исчезали, а но-

вые не появлялись. По окончании С2 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST с уменьшением объема опухоли на 11% по сравнению с исходным объемом. Во время цикла 3 развивалась нейтропения (G4) и лейкопения (G3), а поэтому для цикла 4 дозу снижали до 750 мг/м². По окончании С4 КТ указывала на стабильное заболевание по оценке RECIST с уменьшением объема опухоли на 26% по сравнению с исходным объемом. После цикла 4 на D1 развивалась нейтропения и лейкопения (G3), а поэтому для цикла 4 на день 8 дозу снижали до 675 мг/м². Для С5 на D8 доза была уменьшена до 625 мг/м² из-за нейтропении и лейкопении, G2. У пациентки наблюдалось нарушение зрения, и КТ указывала на увеличения поражения головного мозга. Это поражение было удалено с помощью лазерного устройства CyberKnife. 29 апреля 2015 г пациентке снова вводили исследуемый препарат в день 1 (D1) С7 в уменьшенной дозе 500 мг/м².

Стабильное заболевание по оценке RECIST (7+ месяцев).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение NUC-1031 (гемцитабин[фенилбензокси-L-аланинил]фосфат) для нацеливания на раковые стволовые клетки в качестве средства первого ряда для лечения рака.

2. Применение NUC-1031 (гемцитабин[фенилбензокси-L-аланинил]фосфат) для нацеливания на раковые стволовые клетки в адьювантной или неoadьювантной терапии рака.

3. Применение по любому из предшествующих пунктов, где нацеливание на раковые стволовые клетки приводит к их гибели.

4. Применение NUC-1031 по любому из предшествующих пунктов для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из лейкоза, лимфомы, множественной миеломы, рака легких, рака печени, рака молочной железы, рака головы и шеи, нейробластомы, карциномы щитовидной железы, рака кожи (включая меланому), плоскоклеточной карциномы ротовой полости, рака мочевого пузыря, опухоли клеток Лейдига, билиарного рака, такого как холангиокарцинома или рак желчных протоков, рака поджелудочной железы, рака толстой кишки, рака прямой и ободочной кишки, остеосаркомы и рака женских половых органов, включая рак яичника, рак эндометрия, рак фаллопиевых труб, рак матки и рак шейки матки.

5. Применение NUC-1031 по п.4, где лейкоз 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 миелогенного лейкоза (также известного как хронический миелоидный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз или хронический гранулоцитарный лейкоз), хронического лимфоцитарного лейкоза, монобластного лейкоза и ретикулоэндотелиоза, в частности острого лимфобластного лейкоза.

6. Применение NUC-1031 по п.4, где лимфома выбрана из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина; неходжкинской лимфомы; лимфомы Беркитта и мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы.

7. Способ, представляющий собой терапию рака первого ряда посредством нацеливания на раковые стволовые клетки, где указанный способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества NUC-1031, достаточного для нацеливания на такие раковые стволовые клетки.

8. Способ по п.7, где нацеливание на раковые стволовые клетки приводит к их гибели.

9. Способ по п.7 или 8 для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из лейкоза, лимфомы, множественной миеломы, рака легких, рака печени, рака молочной железы, рака головы и шеи, нейробластомы, карциномы щитовидной железы, рака кожи (включая меланому), плоскоклеточной карциномы ротовой полости, рака мочевого пузыря, опухоли клеток Лейдига, билиарного рака, такого как холангиокарцинома или рак желчных протоков, рака поджелудочной железы, рака толстой кишки, рака прямой и ободочной кишки, остеосаркомы и рака женских половых органов, включая рак яичника, рак эндометрия, рак фаллопиевых труб, рак матки и рак шейки матки.

10. Способ по п.9, где лейкоз 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 миелогенного лейкоза (также известного как хронический миелоидный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз или хронический гранулоцитарный лейкоз), хронического лимфоцитарного лейкоза, монобластного лейкоза и ретикулоэндотелиоза, в частности острого лимфобластного лейкоза.

11. Способ по п.9, где лимфома выбрана из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, лимфомы Беркитта и мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы.

12. Способ, позволяющий определить, будет ли профилактика или лечение рака с использованием NUC-1031 оказывать благоприятное действие на пациента с раком или предраковым состоянием, где указанный способ включает анализ биологического образца, который является репрезентативным для пациента с раком или предраковым состоянием, на присутствие раковых стволовых клеток (РСК), где присутствие РСК в биологическом образце указывает на то, что у пациента будет наблюдаться эффект от лечения с использованием NUC-1031.

13. Способ по п.12, где раковыми стволовыми клетками, присутствующими в биологическом образце, являются CD34⁺, CD44⁺, CD133⁺ или CD90⁺-клетки.

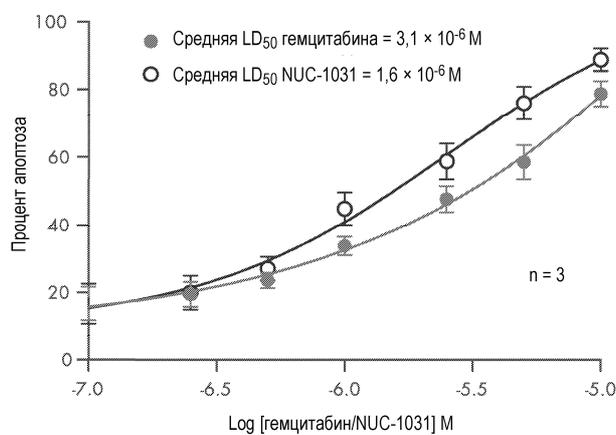
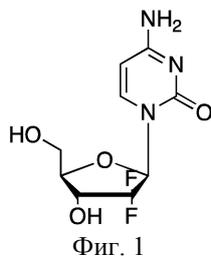
14. Способ по п.12 или 13, где раковыми стволовыми клетками, присутствующими в биологическом образце, являются Lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺-клетки.

15. Способ по любому из пп.7-11, где NUC-1031 вводят в еженедельной дозе от 250 до 1000 мг/м².

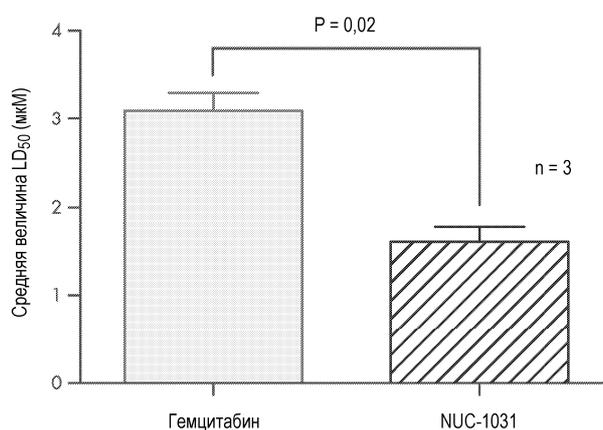
16. Способ по п.15, где NUC-1031 вводят в еженедельной дозе от 375 до 900 мг/м².

17. Способ по п.16, где NUC-1031 вводят в еженедельной дозе приблизительно от 500 до 825 мг/м².

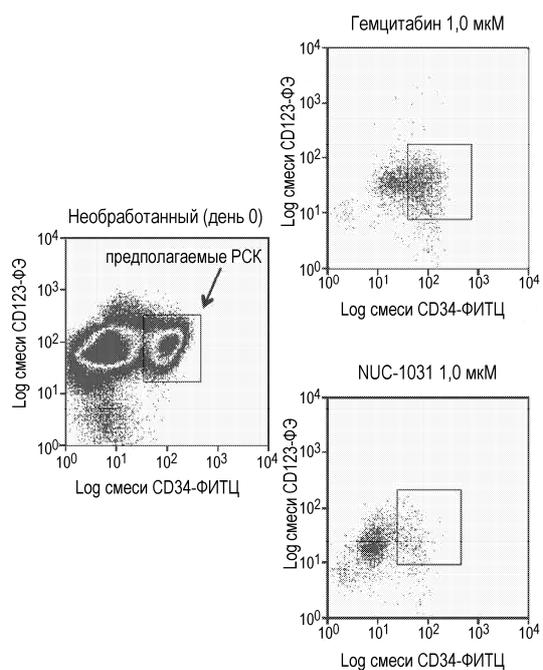
18. Способ по любому из пп.7-11, включающий введение NUC-1031 в дозе приблизительно от 500 до 1000 мг/м² в неделю по меньшей мере за один начальный цикл лечения, а затем введение в более низкой еженедельной дозе по меньшей мере за один дополнительный цикл лечения.



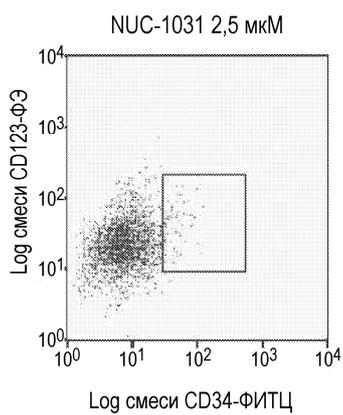
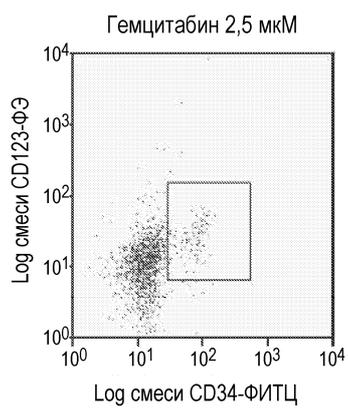
Фиг. 2а



Фиг. 2b

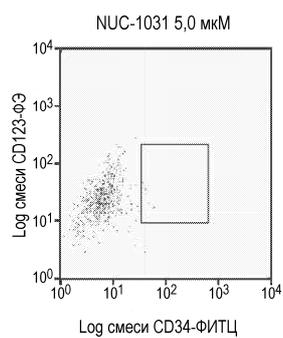
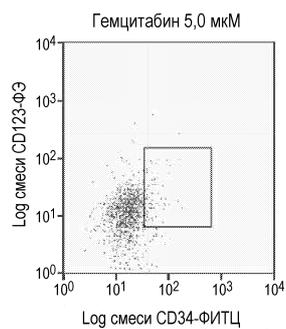


Фиг. 3а

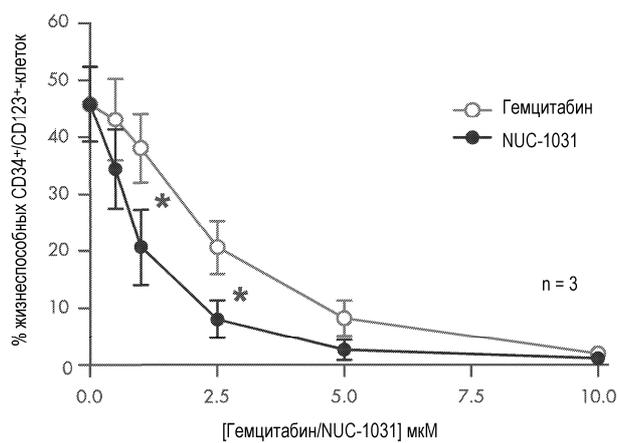


Фиг. 3б

040796

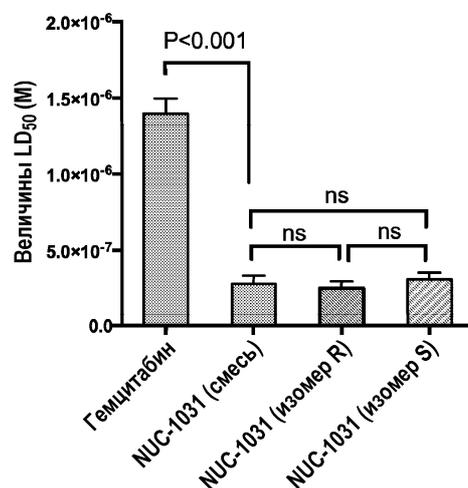


Фиг. 3с

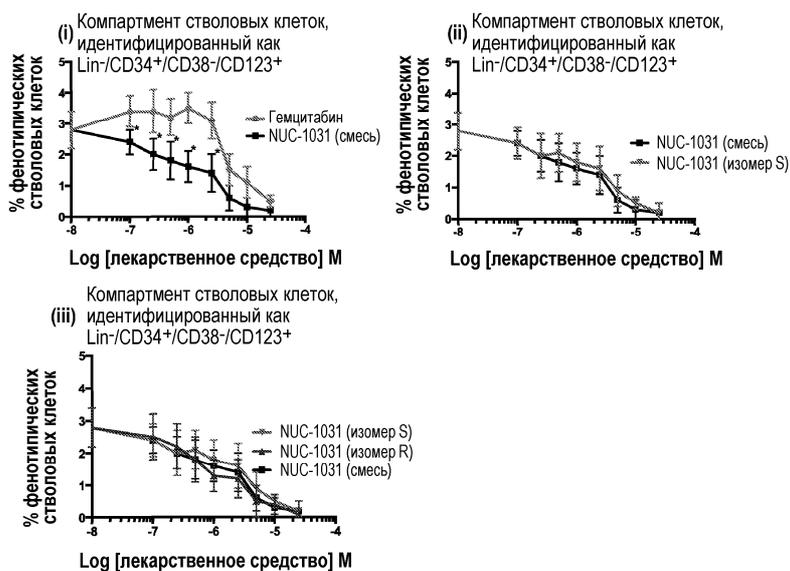


Фиг. 4

				LD ₅₀ (мкМ)
NUC-1031_mix	L-Ala	Bn	Ph	0.28
NUC-1031_(Rp)	L-Ala	Bn	Ph	0.25
NUC-1031_(Sp)	L-Ala	Bn	Ph	0.31
Гемцитабин	-	-	-	1.4



Фиг. 5



Фиг. 6

